



# Frequenza e fenotipo delle mutazioni *GJB2* in pazienti con ipoacusia neurosensoriale non-sindromica congenita: analisi di una coorte della Sicilia Occidentale

Francesco Martines<sup>1</sup>, Pietro Salvago<sup>1</sup>, Sergio Ferrara<sup>1</sup>, Federico Sireci<sup>1</sup>, Eleonora La Mattina<sup>2</sup>, Marianna Mucia<sup>2</sup>, Enrico Martines<sup>2</sup>

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

<sup>1</sup>DIPARTIMENTO DI BIOMEDICINA SPERIMENTALE E NEUROSCIENZE CLINICHE (BioNeC) - SEZIONE DI ORL  
<sup>2</sup>DIPARTIMENTO DI BIOTECNOLOGIE MEDICHE E MEDICINA LEGALE (DIBIMED) - SEZIONE DI AUDIOLOGIA E FONIATRIA

## Introduzione

La sordità neurosensoriale genetica è classificata in sindromica e non-sindromica, con una modalità di trasmissione autosomica recessiva in circa il 70% dei casi; percentuali più basse sono associate alle forme a trasmissione autosomica dominante (15-20%), X-linked (1%) e mitocondriali (1%).

Ad oggi sono state identificate più di 60 mutazioni correlate a sordità neurosensoriale non-sindromica (NSHL). In particolare le mutazioni del gene *GJB2* svolgono un ruolo preminente nella patogenesi di tale condizione. Il gene *GJB2*, espresso nella coclea, codifica per una proteina «gap junction» chiamata Connexina 26 (Cx26) la cui funzione è cruciale per la comunicazione intercellulare. Nello specifico regola i processi di ricircolo dello ione K<sup>+</sup> e la permeabilità all'IP3 consentendo non solo un accoppiamento cellulare elettrico ma anche metabolico in grado di generare un potenziale endococleare.

Anche le mutazioni di *GJB6*, un gene codificante per la Connexina 30 (una proteina «gap junction» colocalizzata nella coclea con la Cx26), possono essere responsabili di NSHL.

La mutazione c.35delG è in assoluto la più frequente nella razza Caucasica (Denoyelle et al, 1997), con una frequenza dei portatori nella popolazione Europea compresa tra l'1 e il 4% (Kenneson et al, 2002). L'area Mediterranea presenta la più alta prevalenza della suddetta mutazione; in particolare la Grecia ne costituisce il «centro geografico» (Lucotte et al, 2007). In Sicilia uno studio effettuato su 1040 neonati sottoposti a screening genetico ha rivelato una frequenza del 2.9% di portatori di c.35delG (Niceta et al, 2007).

GENOTIPI	N(%)	Grado dell'ipoacusia				Soglia uditiva (dB HL)		
		Lieve	Moderata	Severa	Profonda	Media	Deviazione Standard	Mediana
35delG/35delG	49(48.03)	0	2	8	39	96.79	±21.11	100
35delG/non-35delG	15(14.7)	1	4	4	6	73.8	±27.41	80
35delG/Wild type	19(18.62)	1	3	4	11	87.78	±26.9	90
35delG / -23+1G>A	6(5.88)	0	1	4	1	65.33	±24.06	70
35delG/167delT	5(4.9)	0	1	1	3	86.6	±17.95	90
35delG/269T>C	3(2.94)	1	1	0	1	43.66	±19.86	45
167delT/Wt	3(2.94)	1	0	0	2	82.33	±39.77	95
457G>A/Wild type	3(2.94)	0	1	1	1	80.33	±23.71	80
167delT/139G>T	2(1.96)	0	0	0	2	105.5	±16.4	110
-23+1G>A/Wild type	2(1.96)	0	1	1	0	53	±19.6	47.5
101T>C/Wild type	2(1.96)	0	1	0	1	79	±29.51	77.5
313del14/-23+1G>A	2(1.96)	0	0	1	1	87	±21.49	80
167delT/167delT	1(0.98)	0	0	0	1	107	/	/
35delG/535G>C	1(0.98)	0	0	0	1	103	/	/
310del14/551G>C	1(0.98)	0	0	0	1	104	/	/
101T>C/269T>C	1(0.98)	0	1	0	0	48	/	/
380G>A/Wild type	1(0.98)	0	0	0	1	106	/	/
301del3/Wild type	1(0.98)	0	1	0	0	46	/	/
<b>TOTAL</b>	<b>102</b>	<b>3</b>	<b>13</b>	<b>20</b>	<b>66</b>	<b>88.82</b>	<b>±26.52</b>	<b>90</b>

## Risultati

Su un totale di 102 pazienti (età media=13.72±9.75 anni) affetti da NSHL, il 95.1% (97/102) ha presentato un'ipoacusia di tipo simmetrico, mentre il restante 4.9% di tipo asimmetrico. 66 soggetti sono risultati affetti da sordità di grado profondo (64.72%), 20 di grado severo (19.6%), 13 moderato (12.74%) e 3 lieve. (2.94%); la PTA<sub>0.25-4kHz</sub> media è stata 88.82±26.52 dB HL. In particolare è stato evidenziato un progressivo incremento nei valori di soglia uditiva media delle frequenze 0.25 kHz (73.65±22.06 dB HL), 0.5 kHz (83.45±23.67 dB HL), 1 kHz (93.38±24.38 dB HL), 2 kHz (96.78±26.6 dB HL) e 4 kHz (96.83±27.79 dB HL).

Tutti i pazienti studiati sono risultati positivi ad almeno una mutazione del gene *GJB2*. Nessuna mutazione del gene *GJB6* è stata individuata; 15 diverse mutazioni e 17 genotipi sono stati identificati nei suddetti pazienti. L'81.37% (83/102), il 10.78% (11/102) e il 9.8% (10/102) dei soggetti è risultato rispettivamente portatore di almeno una mutazione c.35delG, c.167delT e c.-23+1G>A.

Lo studio del profilo audiologico dei pazienti con genotipo c.35delG/c.35delG ha rivelato una PTA<sub>0.25-4kHz</sub> media di 96.79±21.11 dB HL ; 39 soggetti erano affetti da NSHL profonda, 8 da severa e 2 da moderata.

La mutazione c.167delT è stata identificata in 11 pazienti (10.78%) e associata a 4 differenti genotipi: c.167delT omozigote, c.167delT/c.35delG, c.167delT/c.139G>T, c.167delT/Wild type. Dallo studio dei dati audiometrici dei portatori della mutazione c.167delT è risultata una PTA<sub>0.25-4kHz</sub> media di 90.18±26.49 dB HL e una NSHL di grado profondo nella maggior parte dei casi (72.72%, 8/11). I 5 soggetti con un genotipo c.167delT/c.35delG hanno presentato un grado variabile di perdita uditiva (1 moderata, 1 severa e 3 profonda) e una PTA<sub>0.25-4kHz</sub> media di 86.6±17.76dB HL, più bassa degli individui con genotipo non c.35delG /c.35delG ma senza nessuna differenza statisticamente significativa (P=0.067).

La mutazione c.-23+1G>A è stata evidenziata in 10 pazienti (9.8%) e distribuita in tre genotipi (c.-23+1G>A /c.35delG, c.-23+1G>A /c. 313del14, c.-23+1G>A /Wild type; 2 individui sono risultati affetti da NSHL profonda, 4 da severa, 3 da moderata e uno da lieve (PTA<sub>0.25-4kHz</sub> media di 67.2±24.8 dB HL, più bassa dei portatori della mutazione c.167delT (P=0.006).

## Conclusioni

Lo studio evidenzia l'elevata frequenza di determinate mutazioni (c.35delG, c.167delT, c.-23+1G>A) in Sicilia tra i soggetti affetti da NSHL e portatori di mutazioni del gene *GJB2*. In particolare, su 173 alleli mutati, si è riscontrata una mutazione c.35delG nel 76.3% dei casi, in linea coi principali Stati dell'area Mediterranea, come la Tunisia (85.4%), la Spagna (82%), la Francia (69%), il Portogallo (85%), il Marocco (90.8%) e la Grecia (95.2%). E' importante sottolineare che le mutazioni del gene *GJB6*, cui tutti i pazienti sono risultati negativi, costituiscono solo una piccola percentuale delle mutazioni DFNB1 nel nostro Paese, con una differenza evidente tra Nord e Sud Italia.

Analizzando i dati emerge una reale difficoltà ad identificare precise correlazioni genotipo-fenotipo, anche in presenza di certi genotipi (es:c.35delG) che sono prevalentemente associati ad un determinato grado di perdita uditiva. Nuove ricerche devono essere indirizzate ad identificare e comprendere pienamente il ruolo dei «modifier genes» e dei fattori ambientali come cause della variabilità del fenotipo.

## Scopo del lavoro

Lo scopo del lavoro è stato quello di valutare la frequenza delle mutazioni *GJB2* in pazienti Siciliani affetti da sordità neurosensoriale congenita non-sindromica, cercando una correlazione tra il genotipo e la severità della perdita uditiva. In particolare, considerata l'elevata prevalenza di c.35delG osservata nella popolazione in esame, è stata analizzata la variabilità del grado della sordità tra soggetti sia omozigoti che eterozigoti per la mutazione c.35delG.

## Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto su 102 pazienti affetti da sordità neurosensoriale congenita non sindromica bilaterale e portatori di almeno una mutazione del gene *GJB2*. Gli individui con ipoacusia sindromica, unilaterale o acquisita, non sono stati inclusi.

Tutti i pazienti sono stati esaminati mediante otomicroscopia, esame audiometrico e timpanogramma. E' stato effettuato un test genetico in ogni soggetto per analizzare il promotore basale, l'esone 1 e la regione codificante del gene *GJB2*; è stato inoltre studiato il gene *GJB6* per escludere la presenza delle due principali mutazioni del(*GJB6*-D13S1830) e del(*GJB6*-D13S1854) descritte in letteratura.