

# Występowanie mutacji 35delG w genie koneksyny 26 wśród dzieci głuchych i niedosłyszących oraz ich rodziców

## The incidence of 35delG mutation in Connexin 26 gene in deaf children and their parents

MARIOLA ŚLIWIŃSKA-KOWALSKA <sup>1/</sup>, PIOTR KOTYŁO <sup>1/</sup>, MACIEJ BOROWIEC <sup>2/</sup>, ANNA GAJDA-SZADKOWSKA <sup>1/</sup>, MAREK L. KOWALSKI <sup>2/</sup>

<sup>1/</sup> Centrum Profilaktyki i Leczenia Zaburzeń Głosu i Słuchu Instytutu Medycyny Pracy w Łodzi, ul. Św. Teresy 8, 90-950 Łódź

<sup>2/</sup> Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej Akademii Medycznej w Łodzi, Pomorska 251, 92-213 Łódź

**Wprowadzenie.** Wystąpienie genetycznie uwarunkowanej, izolowanej postaci głuchoty u ludzi rasy białej związane jest najczęściej z mutacją typu 35delG w obrębie genu kodującego syntezę białka – koneksyna 26. Białko to jest obecne w połączeniach międzykomórkowych komórek podporowych narządu Cortiego, warunkując przemieszczanie się m.in. jonów potasowych. W przypadku braku tego mechanizmu dochodzi do intoksykacji tkanek i utraty słuchu.

**Cel.** Celem badań była ocena występowania mutacji 35delG genu koneksyny 26 u dzieci z uszkodzeniami słuchu, uczęszczających do jednej ze szkół dla niedosłyszących oraz ich rodziców.

**Materiał i metody.** Krew do badań pobrano łącznie od 47 osób (28 dzieci i 19 dorosłych), w tym 30 osób z niedosłuchem. Obecność mutacji oceniano metodą bezpośredniego sekwencjonowania DNA. U członków rodzin obciążonych mutacją oceniono audiometrycznie stan słuchu.

**Wyniki.** U 15 spośród 28 dzieci (ok. 54%) podejrzewano tło genetyczne niedosłuchu. W podgrupie tej u 6 (40%) osób stwierdzono mutację 35delG, przy czym pięcioro dzieci było homozygotami, a jedno heterozygotą. U wszystkich obciążonych genetycznie dzieci stwierdzono odbiorcze, obustronne, głębokie uszkodzenie słuchu. Wśród 19 rodziców dzieci głuchych u 6 (ok. 32%) stwierdzono nosicielstwo mutacji 35delG. Wszystkie te osoby miały słuch prawidłowy.

**Wnioski.** Przeprowadzone badania wskazują, że mutacja 35delG w genie kodującym syntezę koneksyny 26 jest częstą przyczyną występowania głuchoty uwarunkowanej genetycznie w populacji polskiej. Metoda sekwencjonowania stwarza możliwości szybkiej diagnostyki i może być zastosowana w szerokich badaniach dla celów poradnictwa rodzinnego.

*Otorinolaryngologia, 2003, 2(3), 126-132*

**Słowa kluczowe:** głuchota, genetyka, koneksyna 26, mutacja 35delG

**Introduction.** 35delG mutation in Connexin 26 gene is the most frequent mutation responsible for deafness in Caucasians. Connexin 26 is the plasma membrane protein forming the gap junctions between supporting cells of the organ of Corti. Gap junctions constitute the major system of intracellular communication, including K<sup>+</sup> ions recycling. Deficit in this mechanism results in tissue intoxication and deafness.

**Aim.** The aim of the study was to assess the incidence of 35delG mutation in Connexin 26 gene in children with hearing loss attending the school for hard-hearing students and their parents.

**Material and methods.** Blood samples were collected in total from 47 subjects (28 children and 19 adults), 30 of them with hearing deficit. 35delG mutation was detected using direct sequencing of DNA. In the members of families with the mutation, the hearing was assessed by means of pure-tone audiometry.

**Results.** The genetic background of deafness was suspected in 15 out of 28 children. In this subgroup 35delG mutation in Connexin 26 gene was found in 6 children (40%), 5 of them were homozygous individuals and one was heterozygote. All these children had profound or moderate bilateral sensorineural hearing loss. Among 19 parents of deaf children, 6 subjects were 35delG/N heterozygous carriers. None of these adults had hearing loss.

**Conclusions.** The results of the study indicate that 35delG mutation in Connexin 26 gene is a frequent cause of hereditary hearing loss in Polish population. The method of DNA sequencing is fast and promising for genetic counselling and screening.

*Otorinolaryngologia, 2003, 2(3), 126-132*

**Key words:** deafness, genetics, connexin 26, 35delG mutation

Głębokie uszkodzenie słuchu lub całkowita głuchota dotyczy 1 na 1000 noworodków. Ponad 50% tych zaburzeń jest uwarunkowana genetycznie. W większości (70%) głuchota występuje jako wada izolowana, u pozostałych – w zespole wad (w tym z wadami twarzoczaszki, nerek, serca, skóry etc).

Izolowana głuchota w niemal 80% przypadków jest dziedziczona w sposób autosomalny recesywny (ciężka głuchota nawet w 90%). Najczęściej jej wystąpienie związane jest z mutacją w genach odpowiedzialnych za syntezę białek – koneksyn. Koneksyny są białkami błonowymi, odgrywającymi istotną rolę w formowaniu kanałów

błonowych w połączeniach międzykomórkowych zwanych „gap junction” [1]. Połączenia te tworzą główny system międzykomórkowego komunikowania się i wymiany elektrolitów, neuroprzekazników i metabolitów. Sieć kanałów koneksyn w fibrocytach i nabłonkowych komórkach podporowych ucha wewnętrznego pozwala m.in. na przemieszczanie się jonów potasowych, spełniających istotną rolę w procesie słyszenia. Podczas pobudzenia komórek słuchowych przedostają się one z endolimfy do rzęsek i ciał komórkowych, powodując ich depolaryzację. Dzięki połączeniom typu „gap junction”, „zużyte” jony potasowe są transportowane przez komórki podporowe do pęczka naczyniowego, a stąd z powrotem do endolimfy. Dzięki „recykulacji” jonów potasowych zapewniony jest stale wysoce dodatni (+80 mV) potencjał endolimfatyczny, konieczny dla procesów słyszenia. W przypadku braku tego mechanizmu dochodzi do intoksykacji tkanek jonami K<sup>+</sup> i uszkodzenia słuchu [1].

Mutacje koneksyn, które mogą mieć znaczenie w uszkodzeniach słuchu u ludzi dotyczą genów koneksyny 26 i 31 w rodzinach z izolowanymi głuchotami oraz genu koneksyny 32 w uszkodzeniach słuchu występujących w zespole Charcot-Marie-Tooth, zależnym od dziedziczenia sprzężonego z genem X [2].

Gen koneksyny 26, zlokalizowany jest na chromosomie 13q11. Mutacja genu koneksyny 26 nazywana jest również mutacją GJB2 (od *gap junction protein beta 2*). Był to pierwszy gen, którego udział udowodniony został w występowaniu głuchot izolowanych, dziedziczonych w sposób autosomalny recesywny, a mutacje w tym genie są najczęściej występującymi mutacjami związanymi z głuchotą izolowaną. Głuchota opisywana jest skrótowo jako DFNB1 (DFN – skrót od ang. *deafness*, B – dla oznaczenia formy recesywnej dziedziczenia oraz 1 – kolejność porządkowa wykrycia mutacji). Uszkodzenie słuchu jest z reguły wrodzone i stałe (słuch pogarsza się po urodzeniu tylko nieznacznie), a głębokość uszkodzenia waha się od umiarkowanego do bardzo głębokiego [3,4].

Jedną z mutacji genu koneksyny 26 polega na delecji guaniny w pozycji 35 (35delG) i znajdująca jest u większości chorych z głuchotą rasy białej, u których uszkodzenie słuchu związane jest z lokalizacją DFNB1 [5]. Inną mutacją tego genu, rzadziej występującą w Europie, za to znacznie częściej u Żydów Ashkenazi jest delecja tyminy w pozycji 167 genu (167delT) [6,7].

Mutacje genu koneksyny 26 szacunkowo dotyczą od 20-60% dzieci głuchych rasy białej [5,7-11]. Częstość ta w Europie jest największa w krajach basenu Śródziemnomorskiego, najmniejsza zaś w krajach północnych. Ocenia się, że nosicielami tej mutacji jest od 1-3% całej populacji Europejczyków. Stąd skryning molekularny w zakresie mutacji genu koneksyny 26 staje się ważnym narzędziem diagnostyki głuchoty uwarunkowanej genetycznie, ujawniającej się przed wykształceniem mowy (przedlingwalnej).

Celem pracy była ocena występowania mutacji typu 35delG w obrębie genu odpowiedzialnego za syntezę koneksyny 26 u dzieci głuchych i niedosłyszących uczęszczających do jednej ze szkół dla niedosłyszących oraz ich rodziców. U części członków rodzin z mutacją oceniono również stan słuchu.

## PACJENCI I METODY

### Badani

Przeprowadzenie badań genetycznych zaproponowane zostało wszystkim dzieciom uczęszczającym do szkoły dla niedosłyszących oraz ich rodzicom. Badania poprzedziło spotkanie z rodzicami, w czasie którego przedstawiono aktualną wiedzę na temat genetycznych uwarunkowań niedosłuchów oraz znaczenia wykonywania tego typu badań dla potrzeb poradnictwa rodzinnego. Uczestnictwo w badaniach było całkowicie dobrowolne, wszystkie osoby dorosłe wyraziły pisemną zgodę na ich przeprowadzenie w imieniu swoim i dzieci, a projekt uzyskał akceptację Komisji Etycznej przy Instytucie Medycyny Pracy w Łodzi.

Ogółem badaniami objęto 47 osób, w tym 28 dzieci (16 dziewczynek i 12 chłopców) w wieku od 7 do 16 lat, oraz 19 dorosłych (17 matek oraz 2 ojców) w wieku od 30 do 51 (śr. wieku kobiet 36,4; śr. wieku mężczyzn 37,2; śr. wieku osób dorosłych 38,2). U wszystkich osób zebrano wywiad i przeprowadzono badania genetyczne. Dodatkowo u 9 osób – członków 3 rodzin z mutacją, które zgłosiły się do Centrum Profilaktyki i Leczenia Zaburzeń Głosu i Słuchu IMP, wykonano badania słuchu (3 osoby w tej podgrupie nie miały wykonywanych badań genetycznych).

### Metody

#### Wywiad

Kwestionariusz zawierał pytania o dane osobowe, cechy osobnicze, przebieg ciąży i porodu (w odniesieniu do dzieci), przebyte choroby, przyjmowane leki, wywiad rodzinny oraz moment rozpoznania niedosłuchu, jego głębokość, charakter i ewentualną przyczynę.

#### Badania genetyczne

Pacjentom pobierano krew pełną z żyły odłokciowej metodą próżniową, w ilości ok. 5 ml do sterylnej probówki typu Vacutainer, zawierającej antykoagulant – EDTA (K<sub>2</sub>). Krew pełną zamrażano w temp. -20°C do czasu rozpoczęcia procedury izolacji DNA.

#### Izolacja DNA

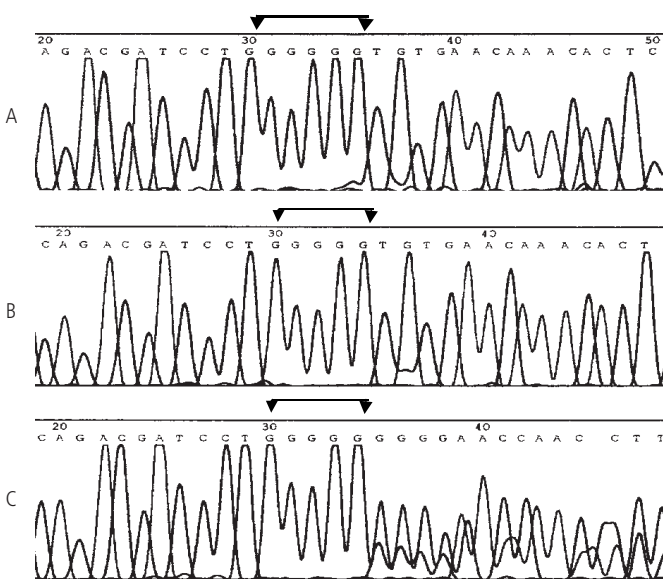
Genomowe DNA izolowano z komórek jądrzastych krwi obwodowej wykorzystując zestaw „DNA Blood prep Plus” (A & A Biotechnology, Polska). Jeden ml krwi

obwodowej pobranej dodawano do 0,5 ml roztworu lizującego, wirowano, do osadu dodawano proteinazę K i inkubowano przez 20 min. w temp. 37°C, a następnie przez 5 min. w temp. 75°C. Roztwór wirowano przez kolumnienki zawierające złoża krzemionkowe adsorbujące DNA, a po wyluowaniu DNA z kolumnienki, strącano je 70% alkoholem etylowym i zawieszano w buforze TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH 8,0).

### Sekwencjonowanie genu koneksyny 26

W celu identyfikacji mutacji w obrębie sekwencji genu koneksyny 26, powielano fragment genu w łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). W pracy wykorzystano uprzednio zaprojektowaną parę starterów A 5' GCA TTC GTC TTT TCC AGA GC 3' i B 5' CTT CTC CTG TCT CCG GTA GG 3'. W reakcji amplifikacji PCR uzyskiwano produkt o wielkości 325 par zasad, który identyfikowano w procesie elektroforezy w 2% żelu agarozowym zawierającym bromek etydyny. Amplifikację prowadzono w termocyklerze MJR PTC-150 (MJResearch, USA), ustalając temperaturę hybrydizacji starterów na poziomie 56,2°C.

Następnie produkt oczyszczano z nadmiaru substratów reakcji PCR i, wykorzystując jeden ze starterów reakcji PCR, poddawano cyklicznemu sekwencjonowaniu metodą fluorescencyjnie znakowanych dideoksyterminalnych nukleotydów z wykorzystaniem zestawu „BigDye Terminator Cycle Sequencing kit v2.0” (Perkin-Elmer, USA) i analizatora genetycznego ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Perkin-Elmer, USA). Uzyskane sekwencje porównywano z sekwencją genu prawidłowego (GeneBank AF281280), w przypadku niejednoznacznej interpretacji sygnału sekwencjonowanie powtarzano wykorzystując drugi starter.



Ryc. 1. Przykładowe wyniki sekwencjonowania DNA genu koneksyny 26 w obszarze występowania mutacji 35delG. A – osoba zdrowa, B – homozygota z mutacją 35delG/35delG, C – heterozygota z mutacją 35delG/norma.

### Badania słuchu

Słuch oceniano za pomocą audiometrii tonalnej, w zakresie częstotliwości od 125 do 8000 Hz. Badanie wykonywano w sposób standardowy, w audiometrycznej kabinie ciszy, przy użyciu audiometru klinicznego typu AC 40 firmy Interacoustics.

### WYNIKI

#### Badania ankietowe i genetyczne

Zbiorczo wyniki badań uzyskane u uczniów i ich rodziców, u których wykonano badania genetyczne, zebrane zostały w tabeli 1. Niedosłuch lub głuchotę stwierdzono łącznie u 30 osób, w tym u 28 dzieci i 2 osób dorosłych (matki).

U wszystkich 28 badanych dzieci występował znaczny niedosłuch lub głuchota. U 15/28 (ok. 54%) osób podejrzewano tło genetyczne choroby. U 9/28 (ok. 32%) dzieci prawdopodobną przyczyną niedosłuchu było otrzymywanie we wczesnym dzieciństwie antybiotyków aminoglikozydowych (gentamycyna, biodacyna i Amikin), a u pozostałych 4 (ok. 14%) osób – inne czynniki mogące uszkadzać słuch (w tym niedotlenienie okołoporodowe – 3 osoby i przebyta przez matkę w trakcie ciąży różyczka – 1 osoba).

Rycina 1 przedstawia przykładowe wyniki sekwencjonowania genu koneksyny 26 w obszarze występowania mutacji 35delG. Pierwszy zapis pochodzi od osoby zdrowej. W pozycjach 30-35 widocznych jest 6 prążków dla kolejnych zasad nukleotydowych guaniny. Drugi z zapisów pochodzi od dziecka z mutacją 35delG, przy czym jest to homozygota. W przedziale pozycji 30-35 brak jest jednego prążka dla guaniny. Ostatni wynik pochodzi od osoby z mutacją 35 delG, przy czym jest to heterozygota. W pozycjach 30-35 geny jeden z alleli wykazuje brak jednej zasady guaninowej.

W podgrupie dzieci z prawdopodobnym tłem genetycznym choroby u 6/15 (40%) osób stwierdzono mutację typu 35delG genu koneksyny 26, przy czym pięcioro dzieci było homozygotami, a jedno heterozygotą. Niedosłuch u dzieci obciążonych genetycznie został wykryty między 6 miesiącem w wiekiem 2,5 lat (średnio 1 rok 2 miesiące) (tab. I).

Tabela 1. Liczba osób ze stwierdzoną mutacją typu 35delG w genie dla koneksyny 26 w grupie dzieci i ich rodziców

Grupy	n	35delG/35delG	35delG/norma
Dzieci (n=28)	prawdopodobna przyczyna genetyczna	15	5
	głuchoty		1
Rodzice (n=19)	pozagenetyczna przyczyna głuchoty	13	0
	z uszkodzeniem słuchu	2	0
	bez uszkodzenia słuchu	17	6
łącznie		47	7

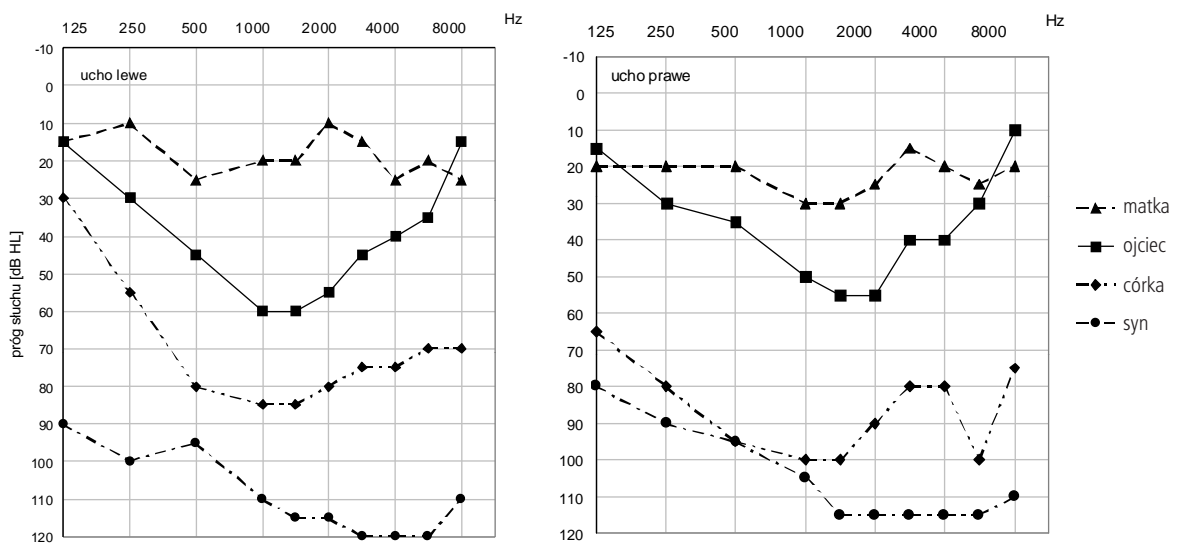
W grupie osób dorosłych upośledzenie słuchu stwierdzono u 2 z 19 badanych osób. U jednej z nich uszkodzenie słuchu wystąpiło po urazie głowy, u drugiej zaś przyczyna była nieznana (badania genetyczne nie potwierdziły mutacji genu koneksyny 26). Pozostałe osoby nie zgłaszały subiektywnych zaburzeń słuchu. W podgrupie tej u 6 osób stwierdzono nosicielstwo mutacji 35delG. Nosicielami mutacji byli w większości rodzice dzieci niedosłyszących, u których występowała mutacja (4 matki). W jednym przypadku nosicielstwo mutacji występowało w rodzinie nie obciążonej głuchotą.

Dodatkowo, upośledzenie słuchu podawały w badaniu ankietowym wszystkie 3 osoby – 2 dorosłych i 1 dziecko, członkowie rodzin obciążonych dziedzicz-

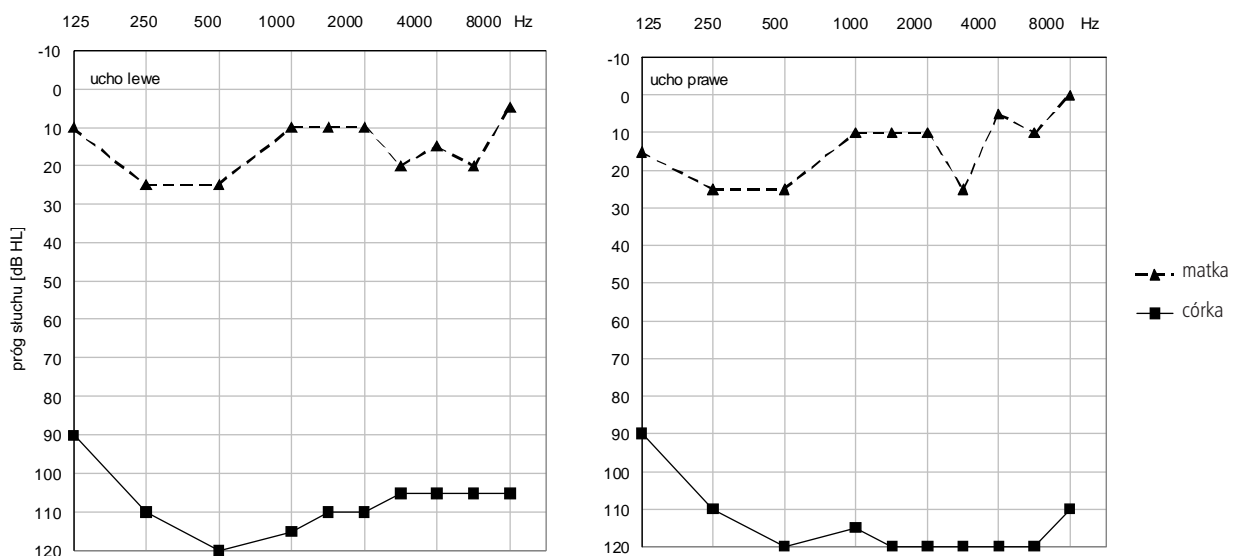
nie głuchotą, u których nie przeprowadzone badań genetycznych (wykonano jedynie badania słuchu).

### Ocena słuchu u członków rodzin obciążonych mutacją 35delG

Wyniki audiometrii tonalnej wykonane u 9 osób – członków 3 rodzin obciążonych genetycznie mutacją 35delG genu koneksyny 26 przedstawione są na rycinach 2, 3 i 4. W dwóch rodzinach, uszkodzenie słuchu u dzieci było głębokie lub bardzo głębokie, graniczące z głuchotą (ryc. 2, 3). U dziecka w trzeciej rodzinie uszkodzenie słuchu było głębokie w jednym uchu i średniego stopnia – w drugim uchu (ryc. 4).

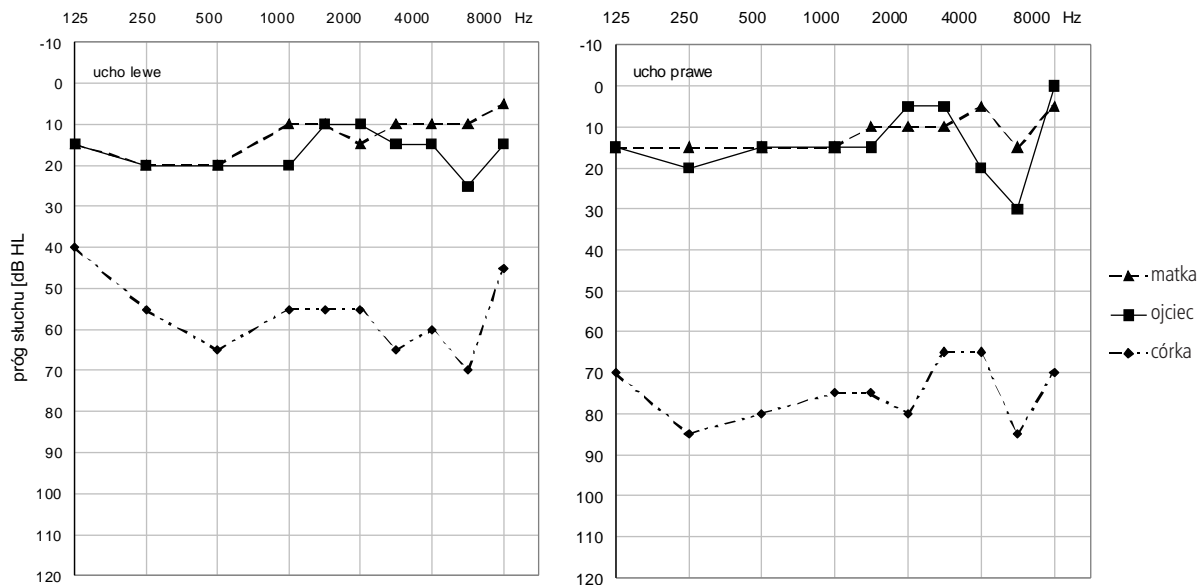


Ryc. 2. Wyniki audiometrii tonalnej u członków rodziny D. obciążonej mutacją 35delG. Matka – heterozygota 35delG/norma i syn – homozygota 35delG/norma. U ojca i córki brak wyników badań genetycznych. Nie stwierdzono niedosłuchu u matki niedosłyszących dzieci. Na wykresach, dla uproszczenia ryciny, przedstawiono jedynie krzywe przewodnictwa powietrznego (wartości prawidłowe progów słuchu ≤ 20 dB HL).



Ryc. 3. Wyniki audiometrii tonalnej u członków rodziny R. obciążonej mutacją 35delG. U córki z głębokim uszkodzeniem słuchu od urodzenia wykryto mutację, u dobrze słyszącej matki stwierdzono nosicielstwo mutacji 35delG. Ojciec dziecka nie żyje. Z wywiadu wynika, że nie miał zaburzeń słuchu. Na wykresach, dla uproszczenia ryciny, przedstawiono jedynie krzywe przewodnictwa powietrznego (wartości prawidłowe progów słuchu ≤ 20 dB HL).





Ryc. 4. Wyniki audiometrii tonalnej u członków rodziny B. obciążonej mutacją 35delG. U córki, będącej homozygotą 35delG/35delG stwierdzono obustronne uszkodzenie słuchu, większe w uchu lewym. Oboje rodzice dziecka są nosicielami mutacji i nie mają uszkodzenia słuchu. Uszkodzenia słuchu nie stwierdzono również ani u dziadków dziecka, ani w dalszej rodzinie (mutacja sporadyczna).

Na wykresach, dla uproszczenia ryciny, przedstawiono jedynie krzywe przewodnictwa powietrznego (wartości prawidłowe progów słuchu  $\leq 20$  dB HL).

W pierwszej rodzinie, państwa D. u 14-letniego syna z mutacją 35delG genu koneksyny 26 stwierdzono bardzo głębokie obustronne uszkodzenie słuchu (ryc. 2). Głębokie uszkodzenie słuchu, jakkolwiek mniejszego stopnia, występowało również u jego 16-letniej siostry (brak badania genetycznego). U obojga dzieci uszkodzenie słuchu występowało od urodzenia, a po jego wykryciu w wczesnym dzieciństwie włączona została rehabilitacja słuchu. Obecnie dziewczynka jest całkowicie zrehabilitowana i chodzi do szkoły normalnej, natomiast u chłopca występuje deficyt słuchu (porozumiewa się częściowo językiem mówionym, częściowo migowym) i uczęszcza do szkoły dla niedosłyszących. U 30-letniej matki dzieci stwierdzono nosicielstwo mutacji 35delG, jednakże audiometria tonalna nie wykazała istotnego uszkodzenia słuchu. U ojca dzieci, który twierdził, że subiektywnie słyszy dobrze, stwierdzono średniego stopnia obustronne uszkodzenie słuchu w częstotliwościach średnich (1-2 kHz). Brak jest jednak informacji o ew. mutacji 35delG, ponieważ ojciec dzieci nie zgłosił się na badania genetyczne.

Rycina 3 przedstawia audiogramy dziecka i matki rodziny R. U 15-letniej córki od urodzenia występowała całkowita obustronna głuchota, w badaniach genetycznych potwierdzono mutację genu koneksyny 26 typu 35delG. Dziecko porozumiewa się tylko językiem migowym. U matki, lat 40, subiektywnie słyszącej dobrze, stwierdzono nosicielstwo mutacji 35delG (heterozygota) i słuch praktycznie w normie (w badaniu audiometrycznym – minimalne obniżenie ostrości słuchu w częstotliwościach niskich). Ojciec dziecka nie żyje, z wywiadu wynika, że słyszał dobrze. Również dalsza rodzina słyszy dobrze.

W trzeciej rodzinie, państwa B, u 12-letniej córki (homozygota 35delG) stwierdzono średniego stopnia uszkodzenie słuchu w uchu prawym i głębokie – w uchu lewym. Oboje rodzice dziecka (matka lat 39 i ojciec lat 40) są nosicielami mutacji (heterozygotami) i nie mają uszkodzenia słuchu. Córka jest ich jedynym potomkiem, u dziadków i w dalszej rodzinie brak było przypadków głębokiego uszkodzenia słuchu.

## DYSKUSJA

### Częstość występowania mutacji 35delG

Przeprowadzone badania, jakkolwiek na małym materiale, wskazują, że mutacja typu 35delG w obrębie genu koneksyny 26 występuje u ok. 40% dzieci z wrodzoną głuchotą, u których wykluczono inne, poza genetycznymi, przyczyny niedosłuchu. Podobne wyniki dotyczące populacji polskiej uzyskali inni autorzy [12]. Odsetek ten plasuje Polskę w połowie skali północ Europy (ok. 20%) – południe Europy (ok. 60%), ustalonej wg częstości tego typu mutacji w populacji osób niedosłyszących [10,13]. Mutacja 25delG genu koneksyny 26 występuje również często na innych kontynentach. W USA jej częstość w populacji dzieci głuchych szacowana jest na 28% (odsetek łączny dla wszystkich typów mutacji genu koneksyny 26, z których 35delG jest najczęstsza), a w Australii na 21% [14,15].

Przeprowadzone badania wskazują również na istotny problem nabytych przyczyn niedosłuchu u dzieci, zwłaszcza spowodowanych stosowaniem leków ototoksycznych (głównie antybiotyków aminoglikozydowych).

U co 3-ciego z badanych dzieci z niedosłuchem, stwierdzono jego prawdopodobny związek z jatrogennym działaniem lekarzy.

### Aspekty kliniczne

Zgodnie z opisami literaturowymi [3,4] u wszystkich dzieci – homozygot w zakresie mutacji typu 35delG genu koneksyny 26, uszkodzenie słuchu było głębokie lub bardzo głębokie i występowało od urodzenia, przed wykształceniem mowy. Niedosłuch wykrywany był stosunkowo wcześnie, najpóźniej w wieku 2,5 lat, a po jego wykryciu wszystkie dzieci poddane zostały rehabilitacji słuchu i mowy. Świadczy to o dość dobrej opiece audiologicznej i surdologopedycznej w Polsce.

Mutacja 35delG dziedziczona jest w sposób autosomalny recesywny, co oznacza, że dotyczy obojga płci, a głuchota występuje jedynie u homozygot, nie występuje natomiast u heterozygot. W istocie, w badanej populacji dzieci niedosłyszających pięcioro było homozygotami i miało głęboki niedosłuch, natomiast w populacji rodziców sześcioro było heterozygotami i nie miało defektu słuchu. Jednakże w grupie dzieci jedno było heterozygotą i mimo to stwierdzono u niego głębokie uszkodzenie słuchu. Przyczyną niedosłuchu w tym ostatnim przypadku mogła być mutacja w obrębie innej części genu, nie poddanej sekwencjonowaniu. Należy również podkreślić, że u osób obciążonych dziedzicznie głuchotą często występuje brak lub niecałkowita zgodność między genotypem a fenotypem. Przykładowo, głębokość uszkodzenia słuchu u homozygotów z 35delG może wykazywać różnice wewnątrz i międzyrodzinne i objawiać się różnym stopniem uszkodzenia słuchu – od średniego do głębokiego [7]. Należy to tłumaczyć dużym polimorfizmem genetycznym występującym u ludzi z głuchotą, czemu sprzyja częste od wielu pokoleń krzyżowanie się osób z ramach wąskich subpopulacji z defektem słuchu [16]. Dotychczas opisano ponad 100 genów oraz ponad 40 typów mutacji GJB2 mogących powodować głuchotę [11].

Na wystąpienie głuchoty uwarunkowanej genetycznie mogą mieć również wpływ tzw. geny modyfikujące. Przykładem są badania Riazuddina i wsp. [17] prze-

prowadzone na rodzinach pakistańskich obciążonych recesywną mutacją o lokalizacji DFNB26 na chromosomie 4q31. U 7 homozygot – członków badanych rodzin nie stwierdzono niedosłuchu, co wiązało się z obecnością dominującego genu modyfikującego DFNM1, hamującego ujawnienie się głuchoty.

W modelu dziedziczenia recesywnego mutacji głuche dziecko może urodzić się nie tylko w rodzinach obciążonych od wielu pokoleń tą wadą, ale również w rodzinie, w której oboje rodzice, a także dziadkowie słyszą dobrze. Z opisanych 3 rodzin obciążonych mutacją, u których członków wykonano badanie audiometryczne, tę sporadyczną formę głuchoty spowodowaną mutacją typu 35delG genu koneksyny 26 stwierdzono w przypadku dwóch rodzin (rodzina R i rodzina B). Każde z dzieci w obu rodzinach jest jedynym członkiem z uszkodzeniem słuchu. Wziąwszy pod uwagę niezmiernie częste nosicielstwo mutacji genu koneksyny 26, szacowane na 1-3% populacji ogólnej rasy białej, bardzo istotne znaczenie w poradnictwie rodzinnym miałyby skryningowe badania, w tym również prenatalne, na obecność tego defektu [8,16]. Jest to o tyle łatwe, że gen koneksyny 26 jest genem małym, z jednym tylko kodonem, stąd łatwym dla skryningu. Badania genetyczne są powszechnie stosowane w USA. Z oceny ankietowej przeprowadzonej wśród otolaryngologów wynika, że 71% lekarzy kierowało każde dziecko głuche na badania genetyczne, pozostali decyzję uzależniali od nacisku rodziców lub obciążenia głuchotą rodzeństwa [18]. Przeszkodą dla powszechnego wprowadzenia oznaczeń w praktyce medycznej może stanowić koszt badania, który jest dość wysoki przy zastosowaniu metody sekwencjonowania. Wprowadzenie tańszych technik, jak przykładowo ostatnio opisany nieradioaktywny test hybrydyzacji z użyciem specyficznych sond oligonukleotydowych, pozwalający na wykrywanie zarówno mutacji 35delG, jak i mutacji 167delT genu koneksyny 26, stanowić może efektywną formę profilaktyki tego najczęściej występującego genetycznego defektu narządu zmysłu u człowieka [6].

*Praca finansowana ze środków na działalność statutową (IMP 18.2/2002).*

### Piśmiennictwo

- Lefebvre PP, Van De Water TR. Connexins, hearing and deafness: clinical aspects of mutations in the connexin 26 gene. *Brain Res Rev* 2000; 32(1): 159-62.
- Kudo T i wsp. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJBs) responsible for childhood deafness in the Japanese population. *Am J Med Genet* 2000; 90(2): 141-5.
- Denoyelle F i wsp. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implication for genetic counseling. *Lancet* 1999; 353(9161): 1298-303.
- McGuirt WT, Smith RJ. Connexin 26 as a cause of hereditary hearing loss. *Am J Audiol* 1999; 8(2): 93-100.
- Tekin M i wsp. Advances in hereditary deafness. *Lancet* 2001; 358(9287): 1082-90.
- Dong J i wsp. Nonradioactive detection of the common connexin 26 167delT and 35delG mutations and frequencies among Ashkenazi Jews. *Mol Genet Metab* 2001; 73(2): 160-3.

7. Lerer I i wsp. Contribution of connexin 26 mutations to nonsyndromic deafness in Ashkenazi patients and the variable phenotypic effect of the mutation 167delT. *Am J Med Genet* 2000; 95(1): 53-6.
8. Antoniadis T i wsp. Prenatal diagnosis of prelingual deafness: carrier testing and prenatal diagnosis of the common GJB2 35delG mutation. *Prenat Diagn* 2001; 21(1): 10-3.
9. Gabriel H i wsp. Mutations in the connexin 26/GBJ2 gene are the most common event in non-syndromic hearing loss among the German population. *Hum Mutat* 2001; 17(6): 521-2.
10. Gasparini P i wsp. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. Genetic Analysis Consortium of GJB2 35delG. *Eur J Hum Genet* 2000; 8(1): 19-23.
11. Petit C i wsp. Molecular genetics of hearing loss. *Ann Rev Genet* 2001; 35: 589-645.
12. Wiszniewski W i wsp. High frequency of GJB2 gene mutations in Polish patients with prelingual nonsyndromic deafness. *Genet Testing* 2001; 5(2): 147-8.
13. Lucotte G, Mercier G. Meta-analysis of GJB2 mutation 35delG frequencies in Europe. *Genet Test* 2001; 5(2): 149-52.
14. Dahl HH i wsp. Prevalence and nature of connexin 26 mutations in children with non-syndromic deafness. *Med J Aust* 2001; 175 (4): 191-4.
15. Kenna MA i wsp. Connexin 26 studies in patients with sensorineural hearing loss. *Arch. Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 127(9): 1037-42.
16. Nance WE i wsp. Relation between choice of partner and high frequency of connexin 26 deafness. *Lancet* 2000; 356(9228): 500-1.
17. Riazuddin S i wsp. Dominant modifier DFNM1 suppresses recessive deafness DFNB 26. *Nat Genet* 2000; 26(4): 431-4.
18. Robin NH i wsp. Pediatric otolaryngologists' knowledge and understanding of genetic testing for deafness. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 127(8): 837-4.