

3. Rosselet Anne, Feihl François, Markert Michèle, et al. Selective iNOS Inhibition Is Superior to Norepinephrine in the Treatment of Rat Endotoxic Shock. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157:162-170.
4. Hasibeder W. Gastrointestinal microcirculation: still a mystery? *Br J Anaesth.* 2010;105(4):393-6. PubMed PMID: 20837720.
5. Мухин ЕА, Гикавый ВИ, Парий БИ. Гипертензивные средства. Кишинёв, 1983.
6. Парий БИ. Сравнительная фармакологическая характеристика этирона, адrenomиметиков и их комбинаций: Авторефер. канд. дис. Кишинев, 1973.
7. Corbett JA, Tilton RG, Chang K. Aminoguanidine, a novel inhibitor of nitric oxide formation, prevents diabetic vascular dysfunction. *Diabetes.* 1992;41:552.
8. Stratu E. Analiza comparativă a acțiunii musculotrope a derivaților izotioureici: Autoref. tezei de d.ș.m. Chișinău, 2001;3-23.
9. Spain DA, Kawabe T, Keelan PC, et al. Decreased alpha-adrenergic response in the intestinal microcirculation after "two-hit" hemorrhage/resuscitation and bacteremia. *J Surg Res.* 1999;84(2):180-5. PubMed PMID: 10357917.
10. Stanton Glantz. *Primer of Biostatistics.* Sixth Edition, 2005.

Hipoacuzia neurosenzorială genetică: particularități clinice și aspecte diagnostice

S. Parii

„Medpark” International Hospital, Department of Otorhynology, Nicolae Testemițanu State Medical and Pharmacology University
27, N. Testemitanu Street, Chisinau, Republic of Moldova

Corresponding author: sbparii@gmail.com, parii_sergiu@mail.ru. Manuscript received July 09, 2012; revised August 17, 2012

Genetic sensorineural hearing loss: clinical features and diagnostic aspects

Hearing loss is a public health problem with incidence of approximately 1 in 1000 newborns. Hearing loss may appear at birth or later at any age, from early childhood to adulthood. Early detection allows early intervention with rehabilitation and social integration. Genetic hearing loss is amonogenic diseases, characterized by high heterogeneity. Causes of hearing loss: 50% causes environmental or environment-gene interaction and 50% genetic, syndromic deafness of which 20% syndromic deafness and nonsyndromic 70% hearing loss. The most common GJB2 gene mutation, found in European population is 35delG mutation, is for 70% of all mutations of this gene. Genetic testing, especially for Conexina 26, must be part of the initial assessment of child deafness, for the better understanding of both the cause and the effectiveness of intervention in the recovery of auditory-verbal, but mainly for genetic counseling and implications for family.

Key words: genetic hearing loss, Conexina 26, genetic tests.

Генетическая нейросенсорная тугоухость: клинические и диагностические аспекты

Нейросенсорная тугоухость представляет собой проблему здравоохранения, затрагивающая 1 из 1000 новорожденных. Снижение слуха может появиться при рождении или после этого, в любом возрасте. Ранняя диагностика позволяет своевременно провести реабилитацию и социальную интеграцию данного контингента больных. Генетическая тугоухость представляет собой моногенетические заболевания, характеризующиеся высокой неоднородностью. Причины тугоухости: 50% от экологических причин или взаимодействия генетических факторов и окружающей среды; 50% генетические причины, из которых 20% синдромальная тугоухость и, соответственно, 80% – несиндромальная тугоухость. Наиболее распространенными мутациями гена GJB2, найденных в европейской популяции, это 35 delG, будучи ответственными за 70% всех мутаций гена. Генетическое тестирование, особенно для коннексина 26, должны быть частью первоначальной оценки ребенка со снижением слуха, для установления как причины, так и эффективности слухоречевой реабилитации.

Ключевые слова: генетическая тугоухость, коннексин 26, генетическое тестирование.

Surditatea (hipoacuzia) neurosenzorială reprezintă o afecțiune ce se manifestă clinic prin deficiență auditivă de tip percepție, acufene (tinitus). Antrenarea în procesul patologic a fibrelor porțiunii vestibulare a nervului cranian VIII, provoacă apariția simptomatice vestibulare. Hipoacuzia neurosenzorială afectează procesul de percepere a sunetelor. Substratul anatomic al acestor dereglări este situat nu la nivelul urechii externe și medii, dar la nivelul urechii interne (organul Corti), nervului auditiv, centrilor nervoși subcorticali și corticali [1].

Genomul uman conține aproximativ 35 000 de gene localizate în cei 23 de cromozomi. Moleculele de ADN cromozomial însumate realizează o lungime de 1 m, în care sunt incluse 3 x 10⁹ perechi de nucleotide. Structura particulară, proprietățile

fizice și biosintetice conferă macromoleculelor ADN proprietatea de a conserva și transmite informația genetică de la o generație la alta [2].

R. Smith și G. Van Camp [3] au clasificat hipoacuziile apărute în copilărie, conform factorului etiologic, în: hipoacuzii genetice (aproximativ 50% cazuri), hipoacuzii non-genetice – datorate, probabil, unor infecții, efecte adverse ale unor tratamente cu medicamente ototoxice, probleme structurale, prematuritate, hipoxie, hiperbilirubinemie, traumatisme fizice (expunere la zgomote puternice, leziuni ale capului, hipoxie, etc.) reprezintă 20-25% dintre cazuri, restul hipoacuziilor fiind de genă necunoscută (25-30%). Hipoacuzia genetică poate fi o unică manifestare, și atunci vorbim despre o hipoacuzie

nonsindromică, sau poate fi însoțită de afectarea altor organe sau sisteme – hipoacuzia sindromică. Surditățile genetice sunt boli monogenice, caracterizate, însă, de o mare heterogenitate [1, 3]. Fiecare genotip se află sub influența factorilor exogeni. Există factori din exterior care pot influența severitatea surdității în cazul genotipului modificat.

Hipoacuzia sindromică reprezintă aproximativ 18-25 % din cele de cauză genetică. La acești pacienți, pe lângă hipoacuzie se mai asociază și alte probleme de sănătate (tab. 1). De obicei, sunt boli rare în care pierderea auzului este considerată o caracteristică majoră, necesitând, pe lângă cele din sfera genetică și ORL, și alte evaluări medicale: oftalmologice, renale, cardiace etc. Asocieri clinice posibile ale hipoacuziei sindromice: dismorfism craniofacial, anomalii oculare, boli musculo-scheletale, anomalii de pigmentare cutanată, boli renale, metabolice, endocrine, cardiovasculare se produc deoarece ochii, inima, rinichii, alte organe se dezvoltă în aceeași perioadă embrionară cu urechea.

Hipoacuzia nonsindromică reprezintă 60-80% din surditățile genetice la copii. După modalitatea de transmitere genetică, cea mai frecventă este transmiterea autosomal recesivă (75-80%), urmată de transmiterea autosomal dominantă (18-20%), celelalte modalități de transmitere genetică – X-linkată și mitocondrială fiind întâlnite foarte rar.

Transmiterea autosomal recesivă. Pentru ca descendenții să prezinte boala, amândoi părinții, deși aud normal, trebuie să fie purtători ai genei (heterozigoți - au o genă cu defect și una normală) și să moștenească gena cu defect de la fiecare dintre părinți (descendenții vor fi homozigoți). În cazul stării heterozigote se observă o discontinuitate a bolii în succesiunea generațiilor. Riscul de transmitere la descendenți, conform legilor mendeliene, este de 25%. Până în prezent, au fost descrise ca fiind implicate în hipoacuzia nonsindromică autosomal recesivă, 40 de gene și 72 de locusuri, indicând o enormă eterogenitate genetică. Criterii privind transmiterea autosomal recesivă: 1-3 din caracterele monogenice; discontinuitatea bolii în succesiunea generațiilor;

manifestarea afecțiunii numai în stare homozigotă (a/a), în stare heterozigotă (N/a) boala nu apare deoarece efectul alelei normale (N) este suficient pentru realizarea funcției, cu toate că alela mutantă (a) produce o reducere a funcției controlată de locusul respectiv, consanguinitate. Dacă bolnavii se căsătoresc cu persoane sănătoase și homozigote, toți copiii vor fi sănătoși, se înregistrează astfel aspectul de discontinuitate a bolii în succesiunea generațiilor sau de cazuri izolate. Dacă un bolnav se căsătorește cu o persoană sănătoasă și heterozigotă, riscul de a avea descendenți bolnavi fete și băieți este de 50% (pseudo-dominanță), în acest caz, transmiterea mamă-fiică este posibilă [3, 4].

În cazul transmiterii **autosomal dominante** este afectată o singură genă, dar aceasta se manifestă chiar dacă cea de-a doua genă este normală. Riscul de transmitere la descendenți este de 50%. Surditatea nonsindromică autosomal dominantă este a doua ca frecvență și se manifestă atât în stare homozigotă cât și în stare heterozigotă. O singură copie a genei e suficientă pentru dezvoltarea fenotipului anormal. Bolnavul are, de obicei, un părinte afectat, iar fenotipul anormal apare în fiecare generație (continuitate în succesiunea generațiilor). Alte criterii privind transmiterea autosomal dominantă: în arborele genealogic se observă o transmitere verticală; indivizii sănătoși nu transmit boala; maladia se manifestă (cu frecvență și severitate relativ egală) atât la bărbați cât și la femei, iar gena mutantă poate fi moștenită și transmisă cu o probabilitate egală de către ambele sexe; transmiterea din tată în fiu este posibilă și caracteristică eredității autosomal dominante; doi bolnavi pot avea descendenți sănătoși, fete și băieți, iar dintre copiii afectați, o parte pot fi homozigoți, cu o formă mai gravă de boală [1, 3].

Transmiterea **X-linkată** (1%) este legată de gene localizate pe cromozomul X și, de obicei, bărbații sunt cei afectați (deoarece au un singur cromozom X). Este stabilită o singură formă: surditate mixtă cu labirint *geyser*. Particularități: bolnavii sunt, în general, descendenți ai unor indivizi sănătoși; transmitere genealogică oblică prin femei sănătoase dar purtătoare de

Tabelul 1

Hipoacuziile genetice sindromice

Sindromul	Alte simptome (în afară de hipoacuzie)
Alport	Afecțiuni renale
Pender	Mărirea glandei tiroide
Usher	Scăderea acuității vizuale (orbire progresivă)
Jervell Lange Nielsen	Probleme cardiace (aritmii)
Stickler	Trăsături faciale neobișnuite, probleme oculare, artrită
Neurofibromatoza tip 2	Tumori ale nervului cohleo-vestibular
Brahio-Oto-Renal	Chisturi în regiunea gâtului și afecțiuni renale
Waardenburg	Schimbări în pigmentarea pielii și heterocromie iriniană (ochii de culori diferite)
Norrie	Simptome oculare (pseudotumoră de retină, cataractă, hiperplazie retiniană), tulburări psihice cu sau fără retardare mentală
Treacher Collins	Boală a dezvoltării craniofaciale (fante palpebrale oblice, colobom, micrognație, urechi mici și alte anomalii ale urechii)
Goldenhar (Oculo-Auriculo-Vertebral)	Asimetrie facială de grade variate, anomalii oculare (anomftalmie), anomalii auriculare, modificări vertebrale cu malformații ale bazei craniului

Tabelul 2

Hipoacuziile genetice nonsindromice

Surditate autosomal dominantă	Surditate autosomal recesivă	Surditate X-linkată	Surditate mitocondrială
DFNA2, sindromul Jervell și Lange-Nielsen - surditate de percepție a frecvențelor înalte, progresivă datorată genei KCNQ4	DFNB9 - forma de surditate asociată mutațiilor genei pt otoferlină care participă la transformarea semnalului sonor în semnal electric de către celulele senzitive cohleare	DFN3 – surditate de percepție particulară, agravare bruscă și aspect caracteristic al RNM (dilatare majoră a conductului auditiv intern cu dilatare cohleovestibulară)	Mutația A1555G – surditate de transmisie, izolată+surditate iatrogenă (aminoglicozide; 17% izolat), debut tardiv, evoluție progresivă
DFNA9 – surditate de percepție, forma tardivă (15-65 de ani), rapid progresivă, datorată mutațiilor genei COCH	DFNB1,GJA1, GJB6, GJB3 (Conexinele 30, 31, 43) – surditate de percepție prelinguală, variabilitate evolutivă și stabilitate, fără modificări anatomice, variabilitate fenotipică, teste vestibulare normale		Mutația A7445G: surditate de intensitate variabilă, progresivă, keratodermatoză palmoplantară (posibila includere la surdități sindromice)
DFNA13 – surditate de percepție a frecvențelor medii, stabilă asociată cu mutații ale genei COL11A2	DFNB4 forma de surditate asociată mutațiilor genei pt pendrină: surditate profundă neurosenzorială bilaterală asimetrică, prelingual sau postlingual precoce, evoluție fluctuantă, malformații ale urechii interne		Inscripția (7472insC) descrisă inițial ca surditate asociată cu semne neurologice a fost raportată în afara acestui tablou, surditate izolată.

mutație; bărbații sănătoși au toate fiicele sănătoase; femeile bolnave nu pot avea fii sănătoși; riscul de recurență este de 25% [2, 6].

Transmiterea prin ADN-ul mitocondrial (1-2%) este o modalitate rară de transmitere, au loc mutații în genomul mitocondrial, care pot afecta producerea de energie prin sinteza de ATP și fosforilarea oxidativă. ADN-ul mitocondrial se moștenește, în cea mai mare parte, de la mamă; descendenți afectați 100%. Frecvența mare (25%) a evenimentelor ototoxice la administrarea de aminoglicozide ar impune căutarea acestei mutații înainte de tratament. Particularități: hipoacuzie progresivă, variabilitate clinică în aceeași familie, diagnosticul prenatal este dificil pentru bolile mitocondriale datorită heteroplasmiei ADN-ului mitocondrial [2, 4].

Locusurile cromozomiale responsabile de diferitele forme de surditate genetică au fost denumite cu acronimul DFN, după cuvântul englezesc *deafness* (deficiență auditivă). Acest acronim – DFN – este urmat de literele A sau B, care reprezintă modalitatea de transmitere (DFNA pentru transmiterea autosomal dominantă, respectiv DFNB pentru transmiterea autosomal recesivă) (tab. 2).

Cele mai frecvente mutații responsabile de hipoacuziile ereditare sunt cele legate de locusul DFNB1, care se găsește pe cromozomul 13qll. Pe acest locus, la distanță mică între ele, se găsesc două gene foarte importante: GJB2 și GJB6 (numele acestor gene este, de fapt, tot o prescurtare de la proteinele pe care le codifică, ce se numesc conexine, și sunt niște proteine de joncțiune intercelulară de la nivelul urechii interne – gap junction). Gena GJB2 codifică o proteină, numită conexina 26, iar gena GJB6 – conexina 30. Conexinele 26 și 30 sunt responsabile de majoritatea joncțiunilor intercelulare în cohlee, fiind implicate în susținerea celulelor epiteliale ale organului Corti. Atunci când există mutații ale genelor GJB2 sau GJB6, formarea acestor proteine este defectuoasă, având ca urmare imposibilitatea schimbului de ioni de potasiu și, deci, hipoacuzia [3, 4, 6].

Cea mai frecventă mutație a genei GJB2, întâlnită în populația europeană, este mutația 35delG, fiind responsabilă de aproximativ 70% dintre toate mutațiile acestei gene. Frecvența mutației 35delG în rândul purtătorilor sănătoși în populația Europei este de 1:34 [3], din această cauză, mutațiile acestei gene fiind responsabile de aproximativ jumătate din toate hipoacuziile genetice nonsindromice. Alte gene raportate ca fiind importante pentru această entitate la populația vest-europeană sunt: TMC1, OTOF și CDH23. La pacienții cu hipoacuzie progresivă și un posibil mod de transmitere autosomal recesivă trebuie luate în considerație mutațiile genei TMPRSS3. Vârsta de debut și rata progresiei hipoacuziei sunt variabile. Hipoacuzia nonsindromică autosomal recesivă DFNB8/10 este cauzată de mutațiile genei TMPRSS3. Un studiu publicat de Universitatea din Nijmegen a demonstrat că mutațiile acestei gene se pot clasifica în minore și severe și se asociază cu DFNB8 (hipoacuzie postlinguală cauzată de prezența unei mutații minore și a unei severe) sau DFNB10 (hipoacuzie prelinguală, cauzată de prezența a două mutații severe) [4]. Tot în acest studiu este descrisă o nouă mutație p.Vall99Met, pe lângă alte patru, descrise anterior p.Ala306Thr, p.Thr70fs, p.Ala38Glu și p.Cysl07Xfs. De asemenea, s-a stabilit că substituția aminoacizilor Ala426Thr afectează funcția proteinei și o consideră patogenică pentru mutațiile în gena TMPRSS3. Mai mult decât atât, s-a demonstrat că implantul cohlear este o bună opțiune de tratament pentru acești pacienți. Chiar dacă mutația genei TMPRSS3 este presupusă a fi o cauză rară a hipoacuziei neurosenzoriale autosomal recesive, la familiile cu debut postlingual al afecțiunii, este cel mai probabil factor după excluderea mutațiilor genei GJB2 [3, 4].

Repere diagnostice și terapeutice: bilanț etiologic: anamneza orientată: pre-, neo-, postnatal; semne familiare asociate, examen pediatric, investigații audiologice la pacienți și rude; consult ORL și oftalmologic; hematurie/proteinurie; ECG; CT Rochers.

Consult genetic al surdității: determinarea factorilor

favorizant; depistarea semnelor asociate; cazuri familiare; pronostic evolutiv; mod de transmitere; clinică, examene complementare, istoric familial, teste genetice, prevenție, indicații terapeutice, tratament.

Beneficiile testării genetice: identificarea cauzei surdității, stabilirea factorilor de risc pentru familie și sarcinile următoare, managementul pacienților cu hipoacuzie.

Limitele testării genetice: nu se poate aprecia severitatea hipoacuziei, o persoană poate avea mutații fără a avea hipoacuzie, nu totdeauna se poate obține un răspuns [1, 4, 7].

Testarea genetică reprezintă un proces complex, prin care se compară secvența unei gene particulare a persoanei investigate cu secvența stabilită ca normală (standard) pentru gena respectivă. Prin această comparare se pot identifica mutațiile, care determină oprirea sau funcționarea defectuoasă a genei. Este important de amintit că o persoană poate fi testată doar pentru genele care au fost descoperite și la care s-a stabilit secvența normală (mai pot fi implicate și alte gene, dar care încă nu au fost descoperite). Dintre genele descoperite, cea mai studiată este gena pentru conexina 26 (situată pe cromozomul 13). Gena determină sinteza unor proteine, ce formează un canal denumit Conexon. Prin acest canal se realizează schimburi de electroliti (K^+), implicați în reglarea balanței osmotice necesare celulelor ciliate. Unda sonoră lovește celulele ciliate, iar mișcarea acestora este transformată în semnal electric, care va fi trimis prin intermediul nervului auditiv la creier. După cum s-a menționat, 75-80% din cazurile de hipoacuzie sunt determinate de mutații în această genă, iar cea mai frecventă mutație întâlnită este 35delG. Se investighează clasic prezența sau absența acestei mutații. Totuși, lipsa acestei mutații nu exclude prezența altei mutații în genă. Acest lucru poate fi identificat prin secvențiere [1].

Exemplu: CTGGGGGGTGTGAACAAACAC...

Auz normal

CTGGGGGGTGTGAACAAACAC...

Hipoacuzie (mutație).

În cadrul mutației 35delG se pierde un singur acid nucleic (Guanina), iar acest lucru duce la funcționarea defectuoasă a genei și a sintezei proteice.

Metoda de lucru

Se recoltează minimum 1 ml de sânge în eprubetă cu EDTA (o sare potasică a Ethylene Diamine Tetra Acetic acid – anticoagulantul de elecție în astfel de tuburi).

Din acesta, în laboratorul de genetică, se izolează ADN-ul (materialul răspunzător de transmiterea caracterelor ereditare). Întrucât cantitatea de ADN obținută este foarte mică pentru a se putea lucra cu el, ADN-ul va fi multiplicat prin tehnica de PCR (Polymerase chain reaction). Se obțin în acest mod suficiente copii ale secvenței genei investigate, ce pot fi analizate ulterior.

ADN-ul multiplicat va fi introdus într-un sistem automatizat, computerizat în care se va identifica ordinea și secvența acizilor nucleici din gena studiată. ADN-ul va fi trecut prin dreptul unei raze laser, iar modificările în lungimea de undă vor fi interpretate computerizat în secvențele genelor. Secvența astfel obținută va fi comparată cu secvențele standard din băncile genomice internaționale, putându-se identifica orice modificare [1, 2].

Pentru determinarea originii handicapului auditiv, prevenirea surdității (grupul sensibil la medicamente ototoxice amionoglicozide etc), evaluarea riscului evolutiv prin studiul istoriei naturale a diverselor forme de surditate este nevoie de un diagnostic molecular. Pentru clinicieni este foarte important de a cunoaște posibilitățile și limitele testărilor genetice, folosite în cadrul diagnosticului deficiențelor de auz.

Concluzii

1. Deși un istoric familial poate ajuta la stabilirea cauzei genetice, absența anamnezei de hipoacuzie la membrii familiei nu înseamnă că deficiența auditivă nu e de origine genetică. Hipoacuzia genetică poate apărea la un copil ai cărui părinți aud normal, și care nu au avut rude cu surditate.

2. Este important să se coreleze informațiile obținute din examinarea fizică, testele clinice (inclusiv screening-ul auditiv la nou-născuți), istoricul familial (arborele genealogic) și testele genetice pentru a identifica cauza. Acest lucru poate ajuta în stabilirea tratamentului și managementului hipoacuziei, și poate prezice posibilitatea transmiterii acestei afecțiuni generațiilor următoare.

3. Testările genetice, în special pentru conexina 26, ar trebui să facă parte din evaluarea inițială a oricărui copil hipoacuzic, pentru o cunoaștere mai bună atât a cauzei cât și pentru eficiența intervenției în ceea ce privește recuperarea auditiv-verbală dar, mai ales, pentru sfatul genetic și implicațiile acestuia asupra familiei respective.

Bibliografie

1. Strungaru C. Hipoacuzia și cauzele genetice. www.orlonline.ro. București, România, 2009.
2. Rogoz I, Perciuleac L. Genetică Umană. Chișinău, 2002;273.
3. Radu A, Rizescu M. Hipoacuzia genetică. *ORL. Supliment medical*. 2012;1:10-11.
4. Papuc S, Masariu D. Hipoacuzia neurosenzorială nonsindromică progresivă de cauză genetică. *ORL. Supliment medical*. 2012;1:14-15.
5. Orlando S, Chiorini JA. Coordinated control of connexin 26 and connexin 30 at the regulatory and functional level in the inner ear. *Proc Natl Acad Sci*. 2008;105(48):18776-81.
6. Simth RJ, Van Camp G. A genotype-phenotype correlation for GJB2 deafness. *Journal of Medical Genetics*. 2007;41:147-154.
7. Van Laver G. Genetics Evaluation. Guidelines for the Etiologic Diagnosis of Congenital Hearing Loss. *Genetic Med*. 2002;4(3):162-171.