

# Genomet og syns- og høresansen

Lisbeth Tranebjærg<sup>1,2,3</sup>, Nanna Dahl Rendtorff<sup>1,2,3</sup> & Karen Brøndum-Nielsen<sup>4,5</sup>

## STATUSARTIKEL

- 1) Audiologisk Afdeling, Bispebjerg Hospital
- 2) Øre-næse-halskirurgisk og Audiologisk Klinik, HovedOrtoCentret, Rigshospitalet
- 3) Institut for Cellulær og Molekylær Medicin, ICMM, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet
- 4) Kennedy Centret, Klinisk Genetisk Klinik, Juliane Marie Centret, Rigshospitalet
- 5) Institut for Klinisk Medicin, Det sundhedsvidenskabelige fakultet, Københavns Universitet

Ugeskr Læger  
2014;176:V06140365

I denne statusartikel omtales genetiske landvindinger, herunder udviklingen af *next generation sequencing* (NGS)-teknologier med betydning for diagnostik, forebyggelse og behandling af genetisk betingede sygdomme, der rammer henholdsvis hørelsen og synet.

## HØRENEDSÆTTELSE

Hørenedsættelse (HN) forekommer hos ca. et ud af 1.000 nyfødte børn, og hyppigheden stiger op igennem barndommen og voksenlivet. Siden midten af 1990'erne, hvor man kun kendte loci (kromosomområder) for arvelig hørenedsættelse, men ingen specifikke gener, har international forskning gjort meget store fremskridt i forståelsen af de mange arvelige faktorer, som menes at ligge til grund for mindst 50% af al permanent behandlingskrævende hørenedsættelse hos børn. I dag ved man, at mutation i ét af over hundrede gener kan forårsage hørenedsættelse, og af disse gener er omkring 80 identificeret.

## KLASSIFIKATION AF HØRENEDSÆTTELSE

HN kan klassificeres på mange måder: efter tidspunkt for debut, efter typen (konduktiv eller sensorineural), efter graden og efter tilstedeværende tillægssymptomer – syndromisk versus ikkesyndromisk HN. Af ikkesyndromiske HN er majoriteten på omkring 80% autosomt recessive, hvilket betyder, at man ikke

finder en positiv familiehistorie som ledetråd til formodning om genetisk betinget hørenedsættelse [1].

Siden indførelsen af landsdækkende neonatal hørescreening i Danmark i 2004 er diagnosealderen for alvorlig HN faldet meget [2] med store positive konsekvenser for tidlig adækvat behandling i form af høreapparat og/eller cochlear implantat. Internationale anbefalinger tilsiger, at alle, der får en HN-diagnose ved neonatal hørescreening, bør tilbydes genetisk udredning [3].

## SPEKTRET AF ARVELIG HØRENEDSÆTTELSE

Af flere grunde har man langt tilbage formodet, at der var meget stor genetisk heterogenitet som forklaring på HN. Denne mistanke er i høj grad blevet bekræftet, bl.a. ved at de 80 hidtil fundne gener for ikkesyndromisk HN indgår i syntesen af et bredt spektrum af proteiner, der indgår i signaltransduktion, transport af kaliumioner, cytoskeletale funktioner, *gap junction*-funktioner og mange andre funktioner som spejlbillede af cochleas komplekse biologiske struktur og funktion [4].

Som ved andre arvelige sygdomme afspejler mønstret af mutationer i gener hos personer med HN mutationerne i baggrundsbefolkningen, og der er meget store geografiske og regionale forskelle verden over. Ikke overraskende er nye HN-gener typisk blevet identificeret i populationer med stor hyppighed af netop de(t) gen(er). Det først identificerede ikkesyndromiske HN-gen, *GJB2* (genet for connexin 26), som ligger til grund for op til 30-40% af barndoms-HN i nogle lande, er stadig det eneste enkeltgen med så stor kausal andel. Hyppigheden i Nordeuropa er dog kun ca. 15% (egne undersøgelser) [5]. Dernæst har det vist sig, at Pendred syndrom (variabel grad af medfødt HN, der forekommer sammen med andre symptomer som Mondini dysplasi af cochlea (øre-snegl med færre snoninger end normalt), variabel forekomst af struma og stofskifteproblemer pga. mutationer i *SLC26A4*) er den klart næsthypigste identificerede arvelige årsag til HN i Danmark (egne undersøgelser) [6].

## DIAGNOSTISK STRATEGI

Som led i ætiologisk udredning af HN bør grundig udsøgelse/undersøgelse ske mhp. at finde en syndromisk årsag: øjenundersøgelse for at identificere



## FAKTABOKS

Neonatal hørescreening (siden 2004) har betydet tidlig diagnose af svær hørenedsættelse (HN).

Permanent sensorineural HN hos børn og voksne er arvelig i mindst 50% af alle tilfælde.

Kongenit cytomegalovirus infektion er en underkendt årsag til HN.

Arvelige monogene øjensygdomme er i Danmark en væsentlig årsag (30-50%) til svært synshandicap hos børn og yngre voksne.

Både arvelig ikkesyndromisk hørenedsættelse og arvelige nethindesygdomme udviser meget omfattende genetisk heterogenitet (> 100 gener for HN og > 200 for nethindesygdomme).

Hørenedsættelse eller synshandicap (eller begge) indgår i mange hundrede genetiske syndromer.

Molekylærgenetisk diagnostik er vigtig for prognose, behandling og genetisk rådgivning, både for patienter med hørenedsættelse og for synshandikappede. *Next generation sequencing* vil forbedre diagnostikken betydeligt i de kommende år.

Et stort antal genetiske risikofaktorer ved aldersrelateret maculadegeneration er afdækket og forventes at føre til bedre risikostratifikation.

Ushers syndrom, ekg for at identificere Jervell-Lange-Nielsens syndrom, og på mere selektiv basis UL-skanning af nyrer, undersøgelse af stofskifteparametre m.m. Et stort antal syndromiske HN-former kan verificeres molekylærgenetisk, og det har stor betydning for patientopfølgning og tidlig opmærksomhed på ledsagende medicinske problemer, der kræver behandling, som f.eks. diabetes mellitus ved visse former af HN. En lang række syndromer inkluderer dobbelt sansetab og klassificeres som døvblindhed, ofte med yderligere neurologiske, endokrinologiske eller psykiatriske symptomer. Den høje hyppighed af HN, der skyldes kongenit cytomegalovirus (CMV), berettiger til, at der undersøges for dette tidligt i udredningen, netop for at afklare om genetisk udredning i CMV-negative tilfælde er relevant.

Hidtil har diagnostisk strategi for recessive tilfælde været begrænset til sekventering af *GJB2* først og dernæst sekventering af *SLC26A4*, mens andre gener er undersøgt på selektiv basis, afhængig af klinisk og familiehistorie.

For familier med tydelig autosomal dominant arvelig forekomst af HN er der ikke et enkelt gen, som er umiddelbart oplagt at undersøge på basis af hyppighed [4], og kun få af familierne er store nok og statistisk informative nok til, at man ved hjælp af genetisk koblingsanalyse kan udpege en bestemt kromosomregion og dernæst undersøge gener i denne region. NGS-metoder er velegnede i sådanne tilfælde.

### PARADIGMESKIFTE I STRATEGI VED AUDIOGENETISK UDREDNING

Som det ses af **Figur 1**, er der en meget stor andel af formodet arvelige årsager til HN, hvilket hidtil ikke har kunnet afklares mere specifikt molekylærgenetisk [2]. Dette er under hurtig forandring, fordi nye avancerede sekventeringsmetoder kombineret med bioinformatisk analyse af rådata nu muliggør undersøgelse af alle kendte HN-gener i en og samme analyse (»genpakke/genpanel diagnostik«). Måltrettet NGS af denne art er særdeles velegnet til så heterogene tilstande som HN og f.eks. retinitis pigmentosa (RP).

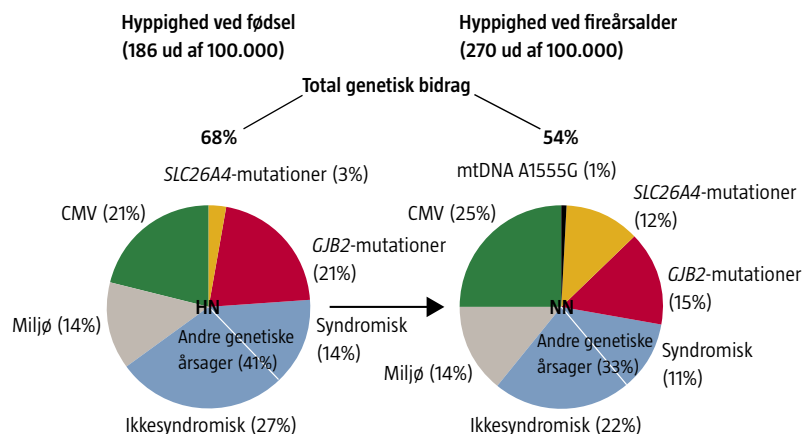
### NY UDREDNINGSSTRATEGI – LOVENDE METODER

Hos patienter med karakteristiske specifikke (syndromiske) lidelser ud over HN (RP, halsfistler, forlænget QT-interval på ekg) kan måltrettet sekventering af de(t) relevante gen(er) igangsættes.

I ikkesyndromiske tilfælde anbefaler man i dag NGS [4]. Fremtidig strategi bliver formentlig en mere eller mindre måltrettet undersøgelse af mange kendte HN-gener. Ved normale resultater af en genpakke-analyse kan man gå videre med analyse af data fra total exomsekventering, som er sekventering af alle

FIGUR 1

Hyppighed og ætologi ved hørenedsættelse. Modificeret efter [2].



CMV = cytomegalovirus; HN = hørenedsættelse.

proteinkodende dele af menneskets gener og dermed potentiel identifikation af en mutation et nyt HN-gen. NGS-analyser indebærer bl.a. bioinformatisk tolkning af mutationsfund, verifikation af mutationsfund med anden molekylærgenetisk metode og segregationsundersøgelse af andre familiemedlemmer. Grundig genetisk vejledning må anbefales i alle tilfælde.

De fleste resultater af avancerede molekylærgenetiske undersøgelser har man fået fra forhåndsselektede patienter med indikation på autosomal recessiv arv, og der er fundet en succesrate på ca. 30% [7]. Tilsvarende undersøgelser hos patienter med indikation på autosomal dominant arv har en lavere succesrate. Succesraten varierer i forhold til forhåndsselektion af patienter, antal gener i »genpakken« og en række tekniske og bioinformatiske faktorer. Der foreligger således et stort arbejde samlet set med at identificere nye mutationer og gener ved hjælp af genpakke- og/eller total exomsekventering i hvert land.

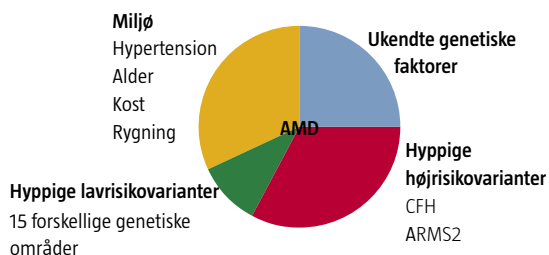
### KOMPLEKSE ARVELIGE ÅRSAGER TIL HØRENEDSÆTTELSE

Aldersrelateret HN (presbyacis) er meget hyppig, og der er mange indicier på genetiske dispositioner, men ingen enkelte gener er påvist, og man formoder at mange, hver især små, arvelige forhold tilsammen fører til risiko for presbyacis.

Ved mitokondriell arv følger nedarvningen af HN moders slægt. Mitokondrielt arvemønster er dog kompliceret af, at den kliniske tilstand hos dem, som har mutationen, er meget variabel. Personer, som er født med mitokondrie-DNA-mutationen A1555G, har en velkendt meget høj risiko for selv med terapeuti-

**FIGUR 2**

Årsagsfaktorer til aldersrelateret maculadegeneration. Modificeret efter [17].



AMD = aldersrelateret maculadegeneration; ARMS2 = *age-related maculopathy susceptibility 2*-genet; CFH = komplementfaktor H-genet.

ske doser af aminoglykosider at blive døve, hvilket bør føre til, at patienter bliver undersøgt for denne risiko før selektive indgreb, hvor aminoglykosid skal appliceres (behandling af patienter med Ménières sygdom, som viser sig som kraftig svimmelhed og nedsat hørelse). Bærerhyppigheden for denne mutation er ca. 1:400 i England [8], mens den præcise bærerhyppighed i Danmark ikke er kendt [9].

### IKKEARVELIGE ÅRSAGER AF RELEVANS FOR HØRENEDSÆTTELSE

Resultaterne af forskellige studier tyder på, at kongenit subklinisk CMV-infektion spiller en betydelig rolle (Figur 1), og det må anbefales, at der altid undersøges for tilstedeværelse af CMV-DNA på filterpapir fra neonatal screening hos patienter med HN, før en genetisk udredning iværksættes [10].

### ØJENSYGDOMME OG SYNSHANDIKAP

#### Monogent arvelige synshandikap

##### – betydning af gentestning og genetisk rådgivning

Arvelige synshandikap omfatter især arvelige retinale dystrofier, arvelig opticusatrofi, kongenit katarakt og kongenit glaukom. De udgør den væsentligste årsag til synshandikap hos børn og yngre voksne. Der er stor genetisk heterogenitet, dvs. at mutationer i mange forskellige gener kan føre til samme fænotype. Det gælder især for arvelige nethindesygdomme med over 200 forskellige gener [11]. Dette har hidtil vanskeliggjort klinisk brugbar mutationsdiagnostik.

NGS-teknologi med samtidig undersøgelse af et stort antal gener i genpaneler er nu etableret til klinisk molekylærgenetisk diagnostik, samtidig med at mere forfinet oftalmologisk diagnostik indgår i karakteristikkene af de mange subtyper. I et nyligt publiceret arbejde påviste man patogen mutation hos ca. halvdelen af en gruppe patienter med forskellige former

for RP ved at undersøge et genpanel med over 100 retinagener [12]. Ved sekventering af hele exomet kan yderligere nyerkendte gener påvises [13].

Påvisning af den molekulære basis er vigtig for optimal genetisk rådgivning af en patient og dennes familie, da arvegangen (recessiv, dominant, X-bunden) og gentagelsesrisikoen dermed kan fastslås. Det er især vigtigt i små familier og i familier, hvor der ikke er oplysning om andre afficerede. Der vil også kunne udføres anlægsbærediagnostik, hvilket især kan være relevant for X-bunden arvegang og i familier med konsangvinitet. Præsymptomatisk diagnostik og fosterdiagnostik kan også komme på tale, sidstnævnte især i forbindelse med syndromale nethindesygdomme, hvor der tillige er alvorlig multisysteminvolvement, f.eks. Bardet-Biedls syndrom (retina, nyrer, centralnervesystem m.m.). Syndromale former ses ved ca. 40% af generaliserede nethindesygdomme hos børn. Al gentestning bør ledsages af en genetisk rådgivning, som giver personen mulighed for informerede valg. Præsymptomatisk gentestning af børn bør nøje overvejes med fokus på, hvad der tjener barnets tarv, og generelt anbefales tilbageholdenhed, når der ikke er effektiv behandling eller forebyggelse [14].

Gentestning kan være relevant for forudsigelse af sygdomsforløb samt planlægning af opfølgning og intervention, som følgende eksempler viser. Aniridi er en dominant arvelig medfødt øjensygdom, og aniridi ses også i den syndromale form Wilms' tumor-aniridigenital abnormitetsretardering. Ved denne form ses en deletion af et område på kromosom 11p, der omfatter såvel aniridigenet *PAX6* som Wilms' tumorgenet *WT1* og en række andre gener. Et nyfødt barn med aniridi bør testes molekylærgenetisk for deletionen, da deletion af *WT1* medfører stærkt øget risiko for Wilms' tumor, hvorfor der skal iværksættes ultralydovervågning af nyrene i barndommen. Andre patienter med aniridi har punktmutationer i *PAX6*, men ingen øget tumorrisiko [15].

Kongenit og juvenilt glaukom kan forårsages af seks forskellige gener (*MYOC*, *PITX2*, *FOXC1*, *PAX6*, *CYP11B1* og *LTBP2*). Påvisning af en mutation kan føre til forbedret overvågning af mutationsbærere samt rettidig behandling af forhøjet tryk i øjet og kan dermed begrænse synstabet [16].

### KOMPLEKSE, MULTIFAKTORIELLE ØJENSYGDOMME

Sygdomme som aldersrelateret maculadegeneration (AMD) og sent debuterende glaukom er genetisk set komplekse, og der er ikke for øjeblikket basis for DNA-diagnostik i klinisk praksis. Selvom flere højriskogenotyper for AMD er kendt, er den prædiktive værdi begrænset. AMD er den hyppigste årsag til

blindhed i den vestlige verden, og interessen for at udforske de patofysiologiske mekanismer er meget stor.

I *genome wide association studies* har man på kromosom 1q31 og 10q26 identificeret relativt hyppige genvarianter, der bevirker signifikant øget risiko for udvikling af AMD, i henholdsvis komplementfaktor H-genet (*CFH*), og *age-related maculopathy susceptibility 2*-genet (*ARMS2*) samt det koblede *high temperature requirement factor*-gen. Dysfunktion af komplementsystemet er den væsentligste faktor i udviklingen af AMD. I yderligere studier har man identificeret en række andre genetiske risikovarianter [17]. Varianter i de to områder på kromosom 1q31 og 10q26 udgør det største genetiske bidrag til AMD, men kan ikke for øjeblikket bruges til forudsigelse af sværhedsgrad eller progression. Der er udført adskillige studier med henblik på om muligt at identificere farmakogenetiske faktorer med betydning for bl.a. respons på *anti-vascular endothelial growth factor*-intraokulære injektioner, som er dagens *state of the art*-behandling. Der er håb om, at man med yderligere forskning kan forbedre risiko- og responsstratifikation. I **Figur 2** vises de faktorer, der indgår i udviklingen af AMD.

### PRÆKLINISKE OG KLINISKE FORSØG MED GENTERAPI AF SYNSHANDIKAP

Øjet er velegnet for genterapi, da der er relativ let adgang til at administrere agens, og blod-retina-barrieren forhindrer systemisk spredning samt immunreaktion. Der er udført en del prækliniske såvel som kliniske forsøg [18]. Lebers kongenitte amaurose med mutationer i *RPE65* var det første eksempel på et klinisk fase I-forsøg og demonstrerede *proof-of-concept* for behandlingsprincippet hos mennesker [19]. Forsøg med genterapi af den X-bundne øjensygdom koroideremi har for nylig vist lovende resultater [20]. Genterapi for AMD ved hjælp af RNA-interferens med nedregulering af *vascular endothelial growth factor* er under udvikling [21]. På længere sigt må det forudses, at tidlig genterapeutisk intervention vil være optimalt, hvilket understreger behovet for gentestning, også af asymptomatiske personer.

### KONKLUSION: INTEGRERET PATIENTSERVICE KRÆVER TVÆRFAGLIGT SAMARBEJDE OG FORSKNING

Fremtidens optimale patientbehandling vil kræve, at gentestning og genetisk vejledning ses som en integreret del af den individuelle patientbehandling, dvs. at ørelæger og øjenlæger skal samarbejde tæt med klinisk genetiske laboratorier og genetiske rådgivere. Mange flere patienter, også voksne med HN og synshandikap, kan qua NGS-metoder allerede i dag få en

langt mere præcis diagnose end tidligere. Prognose og behandlingsstrategi bliver også tiltagende individuel i takt med denne udvikling. Translationel forskning forudsætter genetisk og klinisk velkarakteriserede patientmaterialer og samarbejder med akademiske institutioner nationalt og internationalt. På længere sigt vil det føre til nye behandlinger og forbedret livskvalitet for patienterne.

**KORRESPONDANCE:** Karen Brøndum-Nielsen, Kennedy Centret, Gl. Landevej 7, 2600 Glostrup. E-mail: kbn@kennedy.dk

**ANTAGET:** 1. oktober 2014

**INTERESSEKONFLIKTER:** Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

### LITTERATUR

1. Tranebjærg L. Genetics of congenital hearing – a clinical approach. Review for Int J Audiol 2008;47:535-45.
2. Morton CC, Nance WE. Newborn hearing screening – a silent revolution. N Engl J Med 2006;354:2151-64.
3. Yoshinaga-Itano C. Principles and guidelines for early intervention after confirmation that a child is deaf or hard of hearing. J Deaf Stud Deaf Educ 2014;19:143-75.
4. Hoefsloot LH, Feenstra I, Kunst HPM et al. Genotype phenotype correlations for hearing impairment. Clin Genet 2014;85:514-23.
5. Siem G, Fagerheim T, Jonsrud C et al. Causes of hearing impairment in the Norwegian paediatric cochlear implant program. Int J Audiol 2010;49:596-605.
6. Rendtorff N, Schrijver I, Lodahl M et al. SLC26A4 mutation frequency and spectrum in 109 Danish Pendred syndrome/DFNB4 probands and a report of nine novel mutations. Clin Genet 2013;84:388-91.
7. Schrauwen I, Sommen M, Cornevaux JJ et al. A sensitive and specific diagnostic test for hearing loss using a microdroplet PCR-based approach and next-generation sequencing. Am J Med Genet 2013;161A:145-52.
8. Rahman S, Ecob R, Costello H et al. Hearing in 44-45 year olds with m.1555A>G, a genetic mutation predisposing to aminoglycoside-induced deafness, a population based cohort study. BMJ Open 2012;2:e000411.
9. Skou A-S, Tranebjærg L, Jensen T et al. Mitochondrial 12S RNA A1555G mutation associated with cardiomyopathy and hearing loss following high-dose chemotherapy and repeated aminoglycoside exposure. J Pediatr 2014;164:413-5.
10. Karltorp E, Hellström S, Lewensohn-Fuchs I et al. Congenital cytomegalovirus infection – a common cause of hearing loss of unknown aetiology. Acta Paediatr 2012;101:e357-e362.
11. <https://sph.uth.edu/RetNet> (8. okt 2014).
12. O'Sullivan J, Mullaney BG, Bhasgar SS et al. A paradigm shift in the delivery of services for diagnosis of inherited retinal disease. J Med Genet 2012;49:322-6.
13. Koboldt DC, Larson DE, Sullivan LS et al. Exome-based mapping and variant prioritization for inherited Mendelian disorders. Am J Hum Genet 2014;94:373-84.
14. Brøndum-Nielsen K, Jensen H, Timshel S et al. Gentestning og genetisk rådgivning ved arveligt synshandikap. Ugeskr Læger 2013;175:2031-4.
15. Grønsvov K, Olsen JH, Sand A et al. Population based risk estimates of Wilms tumor in sporadic aniridia. Hum Genet 2001;109:11-8.
16. Wiggs JL, Pierce EA. Genetic testing for inherited eye disease – who benefits? JAMA Ophthalmol 2013;131:1265-6.
17. Bailey JNC, Sobrin L, Pericak-Vance MA et al. Advances in the genomics of common eye diseases. Hum Mol Genet 2013;22:R59-R65.
18. Petrs-Silva H, Linden R. Advances in gene therapy technologies to treat retinitis pigmentosa. Clin Ophthalmol 2014;8:127-36.
19. Jacobsen SG, Cideciyan AV, Ratnakaram R et al. Gene therapy for Leber congenital amaurosis caused by RPE mutations: safety and efficacy in 15 children and adults followed up to 3 years. Arch Ophthalmol 2012;130:9-24.
20. Huckfeldt RM, Bennett J. Promising first steps in gene therapy for choroideremia. Hum Gene Ther 2014;25:96-7.
21. Askou AL. Development of gene therapy for treatment of age-related macular degeneration. Acta Ophthalmol 2014;thesis 3:1-38.