

**KAJIAN MASALAH PENDENGARAN
DAN
SARINGAN MUTASI A1555G GEN DNA MITOKONDRIA (mtDNA)
DI KALANGAN KANAK-KANAK BERMASALAH PENDENGARAN
JENIS SENSORINEURAL TIDAK BERSINDROMIK
DI HOSPITAL UNIVERSITI SAINS MALAYSIA**

oleh

CHE ISMAIL BIN CHE LAH

**Tesis yang diserahkan untuk memenuhi keperluan bagi
Ijazah Sarjana Sains (Master of Science)**

JANUARI 2008

Dengan nama Allah yang Maha Pengasih, Maha Penyayang

DEDIKASI

*Tesis ditujukan khas kepada isteri, Hasnawati dan anakanda yang dikasihi,
Che Isma Nurdinie Syukriah, Che Isma Zaim Zufayri, Che Isma Fakhruddin Arrazi dan
Ayahanda Hj Che Lah, Bonda Hjh. Sadiyah dan kaum keluarga yang sentiasa memberi
dorongan, serta mentor-mentor yang sentiasa menunjuk jalan....*

PENGHARGAAN

Pertamanya saya memanjatkan kesyukuran kepada Allah swt yang telah memberi kekuatan dan hidayahNya kepada saya bagi menyiapkan kajian ini.

Dikesempatan ini juga, saya ingin merakamkan setinggi penghargaan kepada;

Penyelia-penyelia kajian, Profesor Madya Dr DinSuhami Sidek, Profesor Dr Mohd Nizam Isa dan Dr Narazah Mohd Yusoff (Pengarah Pusat Genom Manusia) di atas kerjasama dan sokongan sepanjang tempoh kajian berjalan,

Rakan-rakan dan staf di Pusat Genom Manusia, USM – Md Ros, Kak Siti,, Khairani, Aziz, Sarina, Norhafiza, Sy. Izwan, Yulia, Shahril, Azam dan Kak Yah yang banyak membantu dari segi moral dan material semasa membuat kerja-kerja makmal,

Staf Jabatan dan Klinik Otorinolaringologi-HNS yang telah memberikan kerjasama yang diperlukan dalam mendapatkan sumber kajian,

Staf Bahagian Siswazah, USM yang turut memberi panduan berguna bagi penyiapan tesis,

Penaja Geran Jangka Panjang IRPA (305/PPSP/6110242), Kementerian Sains Teknologi dan Alam Sekitar, Malaysia.

Penghargaan istimewa kepada Dr Susan Kupka, University of Tubingen, Jerman yang memberi sumbangan kawalan positif untuk A1555G DNA mitokondria.

Sesungguhnya, bantuan dan kerjasama yang dihulurkan amat dihargai. Semoga hasil kajian ini akan dapat menyumbang kepada sedikit peningkatan ilmiah untuk manfaat bersama.

Terima kasih di atas segalanya....

Che Ismail b. Che Lah
Universiti Sains Malaysia Kampus Kesihatan
Kubang Kerian, Kelantan

KANDUNGAN

Kandungan	Muka surat
TAJUK	
DEDIKASI	i
PENGHARGAAN	ii
SENARAI KANDUNGAN	iii
SENARAI JADUAL	ix
SENARAI RAJAH	x
SINGKATAN	xii
ABSTRAK – Versi Bahasa Melayu	xiii
ABSTRACT – English Version	xiv
BAB 1 PENGENALAN	1
1.1 Ulasan Kepustakaan	9
1.1.1 Sejarah masalah pendengaran pewarisan	9
1.1.2 Perkembangan pendengaran normal	10
1.1.3 Mekanisma pendengaran	11
1.1.4 Definasi masalah pendengaran	13
1.1.4(a) Masalah pendengaran dan kepekakan	13
1.1.4(b) Kongenital dan pewarisan	14
1.1.4(c) Sindromik dan kecacatan genetik	14

1.1.5	Pengkelasan masalah pendengaran	14
1.1.5(a)	Masalah pendengaran konduktif	16
1.1.5(b)	Masalah pendengaran sensorineural	16
1.1.5(c)	Masalah pendengaran campuran	17
1.1.6	Faktor risiko tinggi masalah pendengaran	17
1.1.7	Genetik masalah pendengaran	20
1.1.7(a)	Epidemiologi	20
1.1.7(b)	Heterogenisiti dalam masalah pendengaran	21
1.1.7(c)	Rangkaian gen, pengasingan gen dan penyelidikan mutasi	22
1.1.7(d)	Masalah pendengaran bersindromik	23
1.1.7(e)	Masalah pendengaran tidak bersindromik	24
1.1.7(f)	Corak pewarisan	26
1.1.7(f) i.	Resesif autosomal	26
1.1.7(f) ii.	Dominan autosomal	27
1.1.7(f)iii.	Rangkaian-X	27
1.1.7(f)iv.	Pewarisan mitokondria	28
1.1.8	Genom mitokondria dan asas genetik DNA mitokondria	28
1.1.8(a)	Perbezaan di antara DNA mitokondria dan DNA nukleus	30
1.1.8(b)	Genetik mitokondria	31
1.1.8(c)	Penyakit berkaitan DNA mitokondria	32
1.1.8(d)	Mutasi mtDNA yang menyebabkan masalah pendengaran dan penyakit genetik	36
1.1.9	Mutasi mtDNA dan masalah pendengaran	37
1.1.9(a)	Masalah pendengaran bersindromik	37
1.1.9(b)	Masalah pendengaran tidak bersindromik	38
1.1.10	Hubungan kesedaran dan kaitannya dengan genetik klinikal	40
1.1.11	Teknik-teknik penyiasatan dalam kajian saringan mutasi A1555G mtDNA	41

1.1.11(a)	Tindak Balas Rantaian Polimerase (PCR)	41
1.1.11(b)	Teknik Polimorfisma Kepingan Fragment Restriksi (RFLP)	43
1.1.12	Kepentingan dan implikasi penemuan gen penyebab masalah pendengaran	45
1.1.13	Justifikasi dan kepentingan kajian	47
1.2	Objektif kajian	47
1.3	Permasalahan kajian dan hipotesis	48
BAB 2	BAHAN DAN KAEDAH	49
2.1	Rekabentuk kajian	49
2.2	Kriteria pemilihan	51
2.3	Saiz sampel	52
2.4	Bahan-bahan, reagen dan enzim	53
2.4.1	Larutan penimbal lisis sel darah merah (RCLB)	53
2.4.2	Larutan penimbal Sodium Tris-EDTA (STE), pH 8.2	53
2.4.3	Larutan Sodium dodecil sulfat (SDS)	53
2.4.4	Larutan 6M sodium klorida tepu (NaCl)	54
2.4.5	Larutan penimbal TE (Tris-EDTA, pH7.5)	54
2.4.6	Larutan alkohol berperingkat	54
2.4.7	Proteinase K	55
2.4.8	Reagen untuk tindak balas PCR dan RFLP	55
2.4.9	Penimbal muatan dan penanda tetangga	56
2.4.10	Bahan pewarnaan	56
2.4.11	Alat kitaran terma	56
2.4.12	Sistem elektroforesis gel (mendatar)	56
2.5	Kaedah	57
2.5.1	Penentuan masalah pendengaran dan faktor risiko tinggi	57
2.5.2	Ujian pendengaran	57
2.5.2(a)	Ujian distraksi yang diubah suai	57
2.5.2(b)	Ujian distraksi	58

2.5.2(c) Audiometri nada tulen (PTA)	58
2.5.2(d) <i>Play Audiometry</i>	59
2.5.2(e) Pancaran oto-akaustik (OAE)	59
2.5.2(f) <i>Brain Stem Evoked Response</i> (BSER)	60
2.6.3 Klasifikasi masalah pendengaran	61
2.6.4 Penilaian faktor risiko tinggi masalah pendengaran	62
2.6.5 Takrifan masalah pendengaran dan jenis pewarisan	62
2.6 Analisa mutasi DNA mitokondria	63
2.6.1 Tatacara pembentukan primer	63
2.6.2 Pemencilan DNA mitokondria daripada darah utuh	64
2.6.3 Penentuan kualiti dan kuantiti DNA mitokondria	66
2.6.4 Tindak balas rantaian polimerase (PCR) untuk kajian mutasi A1555G mtDNA	66
2.6.4(a) Primer-primer oligonukleotida	67
2.6.4(b) Penyediaan 'master mix' untuk reaksi PCR	67
2.6.5 Penyediaan 2% gel agarosa elektroforesis	70
2.6.6 Teknik Polimorfisma Kepanjangkan Fragmen Restriksi (RFLP)	71
2.7 Analisa statistik	72
BAB 3 HASIL DAN KEPUTUSAN	73
3.1 Penentuan masalah pendengaran dan faktor risiko tinggi	73
3.1.1 Data demografi	73
3.1.2 Diagnosis dan umur pengesanan	77
3.1.3 Faktor risiko tinggi masalah pendengaran	80
3.1.4 Status sosio-ekonomi	82
3.1.5 Hubungan antara kumpulan pengesanan awal dan lewat dengan faktor: jantina, daerah, tahap pendengaran dan jumlah pendapatan	84
3.1.5(a) Kumpulan umur pengesanan dan jantina	84
3.1.5(b) Kumpulan umur pengesanan dan daerah	85

3.1.5(c)	Kumpulan umur pengesanan dan tahap pendengaran	87
3.1.5(d)	Kumpulan umur pengesanan dan jumlah pendapatan	89
3.1.6	Hubungan antara kumpulan pengesanan awal dan lewat dengan faktor risiko tinggi masalah pendengaran	91
3.1.6(a)	Kumpulan pengesanan dan sejarah keluarga	89
3.1.6(b)	Kumpulan pengesanan dan faktor risiko yang tidak diketahui	91 92
3.2	Analisa saringan mutasi A1555G DNA mitokondria	95
3.2.1	Maklumat pesakit dan diagnosis	95
3.2.2	Saringan mutasi A1555G mtDNA di kalangan kes masalah pendengaran sensorineural tidak bersindromik	99
3.2.2(a)	Pembentukan pencetus, pemencilan DNA mitokondria dan hasil PCR	99
BAB 4	PERBINCANGAN	105
4.1	Penentuan masalah pendengaran dan faktor risiko tinggi	105
4.2	Kajian saringan mutasi A1555G DNA mitokondria menggunakan teknik PCR-RFLP	123
4.3	Batasan kajian	141
4.4	Saranan kajian lanjutan	142
BAB 5	KESIMPULAN	143
RUJUKAN		145

LAMPIRAN

Lampiran A: Soalan soal selidik

Lampiran B: Borang permohonan kajian molekular

Lampiran C: Surat penerimaan kontrol positif mutasi A1555G daripada

Dr Susan Kupka, University of Tübingen, Germany

Lampiran D: Ujian statistik hubungan antara kumpulan pengesanan awal

dan lewat dengan parameter kajian

Lampiran E: Senarai pembentangan saintifik

SENARAI JADUAL

No. Jadual		Muka surat
Jadual 1.1	Klasifikasi masalah pendengaran	15
Jadual 1.2	Pencirian lokus bagi kepekakan sensorineural tidak bersindromik	25
Jadual 1.3	Gen-gen yang terlibat dalam masalah pendengaran tidak bersindromik	25
Jadual 1.4	Mutasi mtDNA yang dikaitkan dengan masalah pendengaran	35
Jadual 2.1	Pengkelasan tahap pendengaran	61
Jadual 2.2	Penyediaan <i>master mix</i> bagi tindak balas PCR	69
Jadual 3.1	Taburan umur dan jantina subjek	73
Jadual 3.2	Jenis ujian pendengaran yang dilakukan	78
Jadual 3.3	Faktor risiko tinggi masalah pendengaran	81
Jadual 3.4	Maklumat pesakit dan diagnosis	95
Jadual 3.5	Hubungan relatif dalam sejarah keluarga	98
Jadual 4.1	Frekuensi mutasi A1555G di dalam populasi kajian	125
Jadual 4.2	Frekuensi mutasi A1555G dikalangan populasi Jerman, Hungari dan Poland di Eropah	133

SENARAI RAJAH

No. Rajah		Muka surat
Rajah 1.1	Penglibatan faktor persekitaran dan genetik terhadap masalah pendengaran kongenital	5
Rajah 1.2	Struktur anatomi telinga manusia	12
Rajah 1.3	Peta DNA mitokondria manusia	29
Rajah 1.4	Manifestasi klinikal akibat mutasi mitokondria	34
Rajah 1.5	Jujukan A1555G pada gen 12s rRNA	39
Rajah 1.6	Kaedah PCR-RFLP. Peta dan lokasi tapak restriksi <i>BsmA1</i> yang spesifik kepada A1555G mtDNA	44
Rajah 2.1	Carta aliran metodologi kajian	50
Rajah 3.1	Taburan kes mengikut daerah di Kelantan	74
Rajah 3.2	Sumber rujukan bagi kanak-kanak bermasalah pendengaran	76
Rajah 3.3	Taburan umur semasa pengesanan masalah pendengaran	77
Rajah 3.4	Tahap masalah pendengaran	79
Rajah 3.5	Jumlah isi rumah setiap keluarga kajian (peratus)	82
Rajah 3.6	Pecahan jumlah pendapatan keluarga	83
Rajah 3.7	Taburan daerah mengikut kumpulan pengesanan	86
Rajah 3.8	Tahap pendengaran mengikut kumpulan pengesanan	88
Rajah 3.9	Jumlah pendapatan keluarga mengikut kumpulan pengesanan	90
Rajah 3.10	Jumlah subjek mengikut kumpulan pengesanan berdasarkan sejarah keluarga	92
Rajah 3.11	Jumlah subjek mengikut kumpulan pengesanan berdasarkan faktor yang tidak diketahui	94
Rajah 3.12	PCR hasil DNA mitokondria	100
Rajah 3.13	Analisa mutasi menggunakan kaedah PCR-RFLP (normal)	101

Rajah 3.14	Hasil elektroforesis gel agarose daripada produk PCR-RFLP (Mutasi)	102
Rajah 3.15	Hasil ujian Audiometri Nada Tulen (PTA)	104

SINGKATAN

ABR	Auditory Brain-stem Response (<i>Tindakbalas Auditori Batang Otak</i>)
BSER	Brain-stem Evoked Response
C.I 95%	Confident Interval 95% (<i>Selang Keyakinan 95 %</i>)
dB	Decibel
mtDNA	mitochondrial DNA
NSHL	Nonsyndromic Sensorinural Hearing Loss (<i>Masalah Pendengaran Jenis Sensorinural</i>)
OAE	Otoacoustic Emissions (<i>Pancaran Otoakoustik</i>)
O.R	Odd Ratio (<i>Nisbah Odd</i>)
PTA	Pure Tone Audiometry (<i>Audiometri Nada Tulen</i>)
PCR	Polymerase Chains Reaction (<i>Tindak Balas Rangkaian Polimerase</i>)
RCLB	Red Cell Lysis Buffer (<i>Penimbal Lisis Sel Darah Merah</i>)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (<i>Polimorfisma Kepanjangangan Fragmen Restriksi</i>)
SPSS	Statistical Package for Social Sciences

ABSTRAK

Penyelidikan ini dijalankan terutamanya melakukan saringan mutasi A1555G DNA mitokondria (mtDNA) di kalangan kanak-kanak bermasalah pendengaran jenis sensorineural tidak bersindromik di Hospital Universiti Sains Malaysia, Kelantan. Seramai 75 subjek kanak-kanak yang bermasalah pendengaran yang mendapatkan pemeriksaan lanjut di Klinik Otorinolaringologi-HNS, HUSM dikenalpasti faktor-faktor risiko yang mungkin dan umur pendiagnosaannya. Maklumat ini dilakukan bagi mendapatkan data dasar mengenai faktor-faktor yang mungkin menyebabkan kanak-kanak tersebut lewat didiagnosis. Sampel kajian dibahagikan kepada dua kumpulan umur iaitu pengesanan awal (≤ 3 tahun) dan pengesanan lewat (> 3 tahun). Analisa statistik dilakukan menggunakan ujian *Univariate Simple Regression* bagi menentukan kemungkinan terdapat perkaitan yang bererti antara kumpulan umur pengesanan dan parameter kajian seperti faktor demografi, sosio-ekonomi, dan faktor-faktor etiologi. Hasil kajian menunjukkan purata umur pendiagnosaan yang dicerap ialah 54 bulan, berbanding tempoh kritikal perkembangan bahasa dan pertuturan ialah antara 0-36 bulan. Kelewatan pendiagnosaan boleh membawa kesan yang lebih besar terhadap program rehabilitasi seterusnya. Selain itu terdapat kemungkinan perkaitan yang bererti diantara umur pendiagnosaan dan subjek yang positif kepada sejarah keluarga (CI 95%, $p < 0.05$, OR=0.263). Didapati, faktor demografi dan status ekonomi tidak menunjukkan sumbangan yang signifikan kepada kelewatan mendiagnosis masalah pendengaran. Sementara itu, analisa mutasi A1555G mtDNA dilakukan melalui teknik Tindak Balas Rantais Polimerase-Polimorfisma Kepanjangannya Fragmen Restriksi (PCR-RFLP) menggunakan pasangan pencetus spesifik pada nukleotida 1555 mtDNA. DNA mitokondria daripada 75 subjek bermasalah pendengaran dan 75 subjek kawalan diekstrak melalui kaedah bergaram yang diubahsuai. Dikalangan 150 sampel kajian, mutasi A1555G telah dikesan di dalam satu sampel pesakit (1/75) dan satu di dalam sampel kawalan (1/75). Kajian ini menunjukkan frekuensi mutasi A1555G di kalangan pesakit bermasalah pendengaran jenis sensorineural tidak bersindromik di Hospital USM dan populasi normal adalah serupa iaitu 1.3 peratus.

**HEARING IMPAIRMENT IN CHILDREN AND
A1555G MITOCHONDRIAL DNA (mtDNA) GENE MUTATION SCREENING
IN NON-SYNDROMIC SENSORINEURAL DEAFNESS
IN HOSPITAL UNIVERSITI SAINS MALAYSIA**

ABSTRACT

The main aim of the study was to screen for A1555G mitochondrial DNA mutation (mtDNA) among children with nonsyndromic sensorineural deafness at the Hospital Universiti Sains Malaysia. A total of 75 children with hearing impairment on follow-up the in Otorhinolaryngology-HNS Clinic, Hospital USM were selected. Data on the high risk factors and age at diagnosis were obtained. Subjects then were divided into either early detection (≤ 3 years old) or late detection (> 3 years old). Statistical analysis using Univariate Simple Logistic Regression was used to determine any significant relationship between age of diagnosis and other parameters such as aetiology, demographic and socio economic status. The average age of diagnosis is 54 months. There was a possible significant relationship between age of diagnosis and subjects with positive family history (OR=0.263, CI 95%, $p<0.05$). Generally the age of diagnosis was considerably late compared to the critical age for development of speech and language. This could effect the effectiveness of the rehabilitation program. The A1555G mtDNA mutation detection was performed using Polimerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) technique with paired specific primer for nucleotide 1555 mtDNA. DNA mitochondrial from 75 subjects and 75 controls were extracted through salting-out procedure. Among the 150 samples analysed, mutation analysis using PCR-RFLP technique had identified A1555G mtDNA mutation in one patient (1/75) and another one among the normal control subject (1/75). Our findings showed that the frequency of this A1555G mutation in non syndromic sensorineural hearing loss patients and normal population was 1.3% respectively.

BAB 1:
PENGENALAN

BAB 1. PENGENALAN

Masalah pendengaran merupakan sesuatu kecacatan saraf yang paling kerap berlaku di dalam suatu populasi manusia. Pertubuhan Kesihatan Sedunia (WHO) menganggarkan hampir 250 juta penduduk dunia mengalami masalah pendengaran (World Health Organisation, 1999). Kejadian masalah pendengaran kongenital dianggarkan seramai 1 hingga 3 orang di dalam setiap 1000 kelahiran. Kira-kira 50 peratus daripada kes berkenaan disebabkan oleh faktor genetik atau pendedahan kepada faktor persekitaran yang lain (Morton, 1991). Di Amerika Syarikat, masalah pendengaran kongenital terjadi 3 kali ganda lebih kerap daripada Sindrom Down, enam kali ganda lebih tinggi daripada penyakit *spina bifida* dan lebih 50 kali lebih tinggi daripada masalah *phenylketonuria* (Richard *et al.*, 2005). Laporan “Asia-Pacific Congress on Deafness” di Beijing, China pada 1988 menunjukkan terdapat 24 juta daripada 1.2 bilion penduduk negara itu mengalami masalah pendengaran (Prasansuk, 2000). Disamping itu, daripada 1.5 juta kanak-kanak sekolah pendidikan khas di China, kira-kira 50 peratus adalah dilahirkan pekak secara kongenital. Di Malaysia, tiada data rasmi yang diterbitkan mengenai insiden sebenar masalah pendengaran di kalangan kanak-kanak. Berdasarkan jumlah penduduk Malaysia seramai 23.8 juta orang pada tahun 2002, anggaran menunjukkan 840 bayi yang bermasalah pendengaran akan dilahirkan pada setiap tahun (ESCAP, 2002).

Sebanyak 70 peratus kes kepekakan kongenital yang dikaitkan dengan faktor genetik diklasifikasikan sebagai tidak bersindromik, sementara dalam 30 peratus lagi dikelaskan sebagai kepekakan bersindromik yang boleh didiagnosa secara klinikal dalam

satu atau lebih 400 bentuk sindrom berkaitan (Barbara *et al.*, 2001). Patologi sistem auditori sangat berbeza di kalangan individu yang mengalami masalah pendengaran dan ini termasuklah jenis sensorineural, konduktif atau kedua-duanya, samada unilateral atau bilateral, simetri atau tidak bersimetri dan progresif atau stabil.

Aspek umur kanak-kanak yang mengalami masalah pendengaran dan umur semasa pengesanan merupakan perkara yang penting dan serius dalam mempengaruhi perkembangan kemahiran bertutur-berbahasa, kognitif dan psikososial. Apabila semakin lewat masalah pendengaran kongenital didiagnosa, maka semakin besarlah potensi kanak-kanak tersebut mengalami kelewatan perkembangan kemahiran tersebut (McFarlan & Simmons, 1983). Oleh itu, adalah amat penting untuk menentukan perkaitan di antara umur pengesanan dan faktor yang mungkin mempengaruhinya seperti jantina, tahap pendengaran, status sosio-ekonomi dan kemudahan rujukan audiologi. Sebagai contoh, kajian di Jerman menunjukkan terdapat hubungan yang rapat diantara umur pengesanan dan tahap pendengaran di dalam populasi kanak-kanak yang bermasalah pendengaran (Finckh-Kramer *et al*, 1998). Negeri Kelantan, dengan kadar kemiskinan sebanyak 19.2 peratus dan pendapatan purata isi rumah sebanyak RM 1,249.00 (Rancangan Malaysia ke 7, 1997), mungkin dapat memberikan maklumat yang dapat mengaitkan status sosio ekonomi dan tahap umur pengesanan.

Kefahaman tentang teknik pendiagnosaan yang pelbagai dalam menangani kecacatan pendengaran di kalangan kanak-kanak adalah sangat bersangkutan dengan pengetahuan tentang etiologi bagi masalah pendengaran. Ini penting kerana pertamanya, insiden masalah pendengaran ini mungkin menurun disebabkan oleh rawatan ke atas

penyakit yang berkaitan dengannya. Keduanya, aspek sensitiviti alatan diagnostik boleh ditingkatkan bagi tujuan pendiagnosaan awal faktor yang berkaitan dengan masalah pendengaran. Seterusnya ini akan menyumbang kepada pemakaian alat pendengaran dan memulakan proses pemulihan pada peringkat awal yang amat penting bagi perkembangan pendengaran dan pertuturan kanak-kanak.

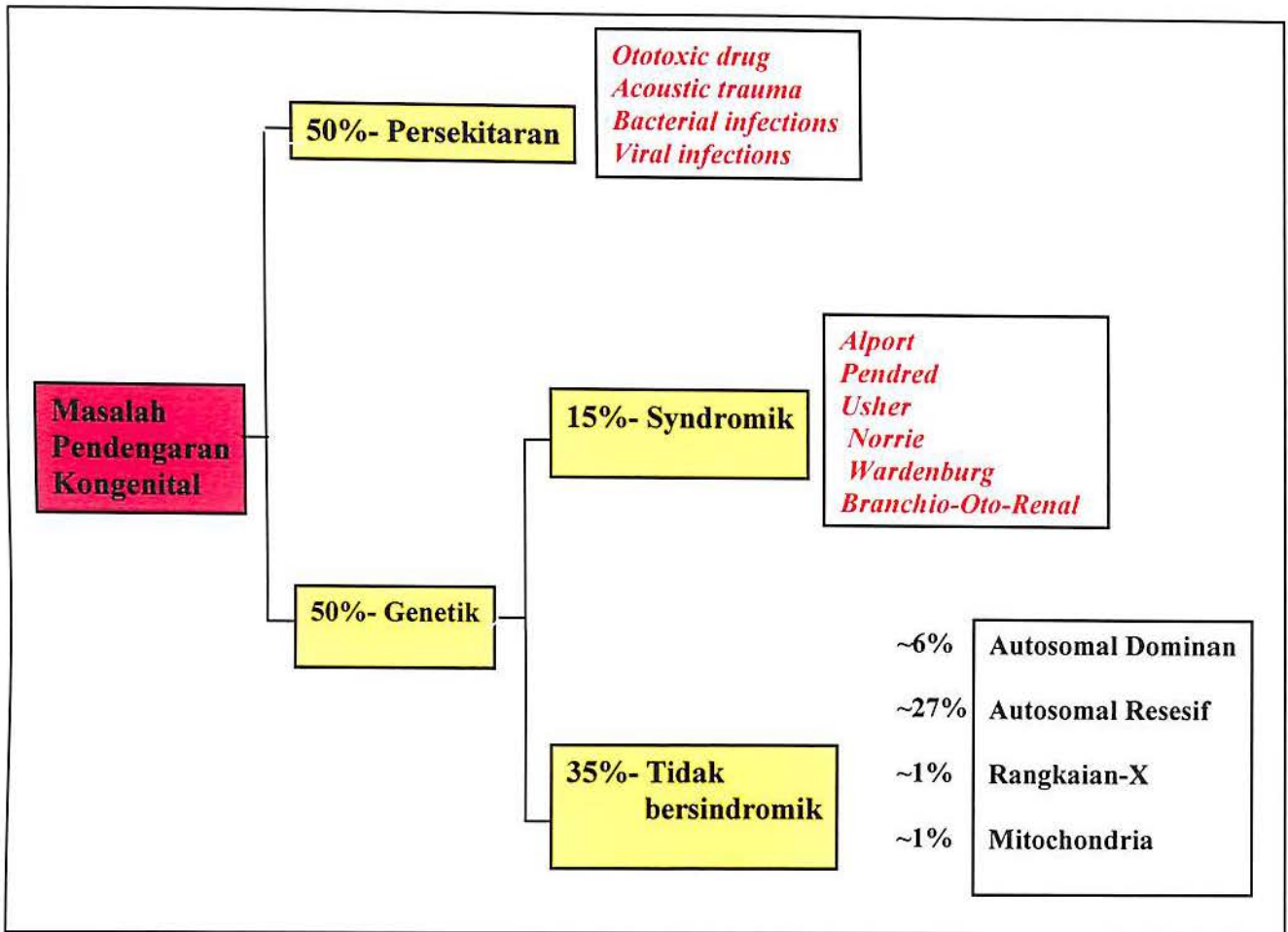
Keupayaan untuk mengumpul maklumat dari bunyi berkembang dengan cepatnya semasa setahun pertama kehidupan bayi. Potensi penuh perkembangan kemahiran ini kemudiannya berlangsung dengan perlahan sehingga mencapai umur 5 tahun. Kajian oleh Breir & Gray (1993) menunjukkan kanak-kanak yang mengalami atresia unilateral pada telinga luar berupaya menunjukkan perkembangan proses pertuturan di dalam persekitaran yang bising selepas pembedahan bagi rawatan atresia tersebut. Sebaliknya, kanak-kanak yang mengalami masalah pendengaran konduktif semasa di dalam kandungan menunjukkan keabnormalan auditori yang berpanjangan setelah menjalani pemeriksaan ABR pada umur 5 hingga 7 tahun, walaupun pemeriksaan ABR pada kali pertama menunjukkan pendengaran normal (Gunnarson & Finitzo, 1991). Penemuan ini menunjukkan kepentingan pengesanan dan rehabilitasi awal kanak-kanak yang mengalami masalah pendengaran kongenital.

Patologi sistem auditori masalah pendengaran tidak bersindromik (NSHL) juga boleh terjadi dalam pelbagai bentuk, tetapi kebanyakan kecacatan adalah jenis sensorineural. NSHL kongenital biasanya dibahagikan oleh beberapa mod pewarisan, dengan kira-kira 77 peratus daripada NSHL adalah resesif autosomal, 22 peratus dominant autosomal dan 1 peratus adalah rangkaian-X (Rajah 1.1). Suatu mod

pewarisan resesif dalam NSHL iaitu yang disebabkan pewarisan mitokondria dianggarkan 1 hingga 2 peratus sahaja, tetapi peratusan ini kemungkinan terjadi dalam jumlah yang lebih tinggi dalam populasi tertentu sehingga boleh mencapai antara 10-20 peratus (Usami *et al.*, 2000). Secara am, individu yang mengalami NSHL resesif autosomal mempunyai kepekakan pada peringkat pra bahasa, sementara mutasi dominan menjurus kepada fenotip yang pelbagai.

Lebih daripada 90 peratus kanak-kanak yang mengalami kepekakan jenis NSHL resesif autosomal dilahirkan oleh ibu bapa yang mempunyai pendengaran normal, sementara baki 10 peratus lagi atau kurang dilahirkan oleh ibu bapa yang pekak (Smith *et al.*, 2005)

Semenjak 5 tahun lepas, suatu pencapaian yang memberangsangkan telah dibuat oleh penyelidik dalam mengenalpasti lokus baru dan seterusnya mengklonkan gen-gen baru bagi masalah pendengaran. Sehingga mutakhir ini, sekurang-kurangnya 77 lokus bagi NSHL telah dipetakan, yang merangkumi 40 lokus dominan autosomal, 30 lokus resesif autosomal dan 7 lokus rangkaian-X. Sehingga Julai 2001, sebanyak 50 gen auditori telah dikenalpasti dan diujukkan meliputi 14 gen dominant autosomal, 9 gen untuk resesif autosomal, 2 gen untuk rangkaian-X, 5 gen mitokondria dan sekurang-kurangnya 31 gen untuk masalah pendengaran bersindromik (ACMG statement, 2002).



Rajah 1.1. Penglibatan faktor persekitaran dan genetik terhadap masalah pendengaran kongenital. Diadaptasi daripada Smith *et al.*, 2005.

Selain daripada DNA nukleus yang berjumlah 3 bilion pasangan bes (pb), setiap sel manusia mempunyai tambahan beberapa kali ganda salinan DNA ganda dua dalam setiap mitokondrion iaitu genom DNA mitokondria (mtDNA). Walaupun mtDNA hanya menyumbang kurang daripada satu peratus kepada keseluruhan kandungan asid nukleik selular, namun ia mempunyai asas yang penting kepada fungsi setiap tisu manusia.

mtDNA digambarkan sebagai kromosom ke 24 dan ia merupakan genom DNA pertama yang berjaya dijumpakan di dalam manusia (Scheffler, 2001).

Jujukan lengkap pertama mtDNA manusia telah diterbitkan pada 1981 oleh *Journal Nature* (Anderson *et al.*, 1981). Hanya kurang daripada satu dekad kemudian, patogenetik pertama mutasi mtDNA telah dikenalpasti pada manusia. Semenjak itu, lebih 100 mutasi jenis penyusunan semula dan 50 mutasi titik yang berlainan telah dikaitkan dengan penyakit manusia telah dikesan. Hasilnya perubatan mitokondria telah berkembang pesat meliputi pelbagai cabang disiplin perubatan dan di jangka memberi impak yang penting dalam abad baru ini.

Setiap molekul mtDNA mengandungi gen penkodan-poliipeptida dan 24 gen RNA yang terlibat dalam sintesis protein intramitokondria. Poliipeptida yang disintesis daripada 13 gen mtDNA berinteraksi dengan lebih daripada 60 poliipeptida penkodan-nuklear untuk membentuk rantaian respiratori mitokondria yang penting untuk metabolisme aerobik selular. mtDNA juga mengkodkan dua ribosomal RNA (rRNA) dan 22 pemindah RNA (tRNA). mtDNA yang berkaitan dengan penyakit dipindahkan kepada kedua-dua jantina manusia hanya melalui laluan maternal (Chinnery & Turnbull, 1999).

Beberapa sindrom termasuk masalah pendengaran telah dikaitkan dengan mutasi pada mtDNA. Penemuan pertama bagi kepekaan yang diakibatkan oleh mtDNA ditemui pada 1992 melalui kajian ke atas keluarga Arab-Israel yang mengalami masalah pendengaran (Prezant *et al.*, 1993). Dalam keluarga ini, analisa genetik menunjukkan

penglibatan sekurang-kurangnya dua mutasi iaitu satu mutasi mitokondria dan satu mutasi resesif autosomal. Mutasi homoplasmik A1555G telah dikesan dalam gen 12S rRNA mitokondria dalam individu pekak. Kebanyakan individu yang membawa mutasi A1555G telah mengalami masalah pendengaran tahap sangat teruk semasa bayi, sedikit yang mengalaminya pada usia kanak-kanak dan sebahagiannya mempunyai pendengaran normal. Mutasi ini juga telah di kenalpasti dalam beberapa keluarga yang disebabkan oleh kepekakan warisan maternal yang dikaitkan dengan pendedahan kepada antibiotik aminoglikosida.

Semenjak itu, beberapa kajian telah melaporkan penemuan mutasi A1555G dalam subjek pekak yang terdedah kepada aminoglikosida. Walaubagaimanapun, kajian ke atas individu pekak berbangsa Sepanyol menyatakan insiden yang tinggi iaitu sehingga 25 peratus kejadian mutasi A1555G di kalangan keluarga yang mengalami masalah pendengaran jenis sensorineural. Kebanyakannya tidak terdedah kepada pengambilan aminoglikosida (El-Schahawi *et al.*, 1997).

Namun, kajian terkini oleh Usami *et al.*, (2000) ke atas populasi di Jepun menunjukkan bahawa 10 peratus daripada individu pekak tanpa sejarah pengambilan atau rawatan aminoglikosida merupakan pembawa bagi mutasi A1555G mtDNA. Mutasi ini memberi kesan kepada nukleotida analogous pada gen 12S rRNA mitokondria. Tidak seperti gen 12S rRNA normal, gen 12S termutasi membentuk ikatan dengan aminoglikosida dengan afiniti yang kuat. Sehingga kini, mekanisma sebenar yang menyebabkan mutasi A1555G mtDNA bagi masalah pendengaran dikalangan individu

yang terlibat, terutamanya di dalam aspek kejadian dan tahap keterukan yang pelbagai masih tidak diketahui dengan jelas (Christine *et al.*, 2001).

Genetik mtDNA berbeza daripada gen-gen nukleus dalam banyak segi. MtDNA mengandungi lebih banyak maklumat berbanding DNA nuklear kerana jika dibandingkan dengan nuklear DNA, mtDNA mengandungi jumlah intron yang kurang dan tidak mempunyai jujukan panjang yang tidak dikodkan. Oleh sebab itu, mtDNA telah menjadi tumpuan di kalangan penyelidik sebagai penanda molekul yang paling baik untuk mengetahui mutasi yang menyebabkan penyakit manusia. Fliss *et al.* (2000), telah menjalankan kajian ke atas beberapa jenis barah menggunakan cairan badan manusia seperti darah dan air kencing. Keputusan beliau menunjukkan bahawa mutasi mtDNA adalah 19–220 kali ganda lebih tinggi berbanding mutasi gen p53 DNA nuklear.

Pengetahuan mengenai gen-gen tersebut dan hasil proteinnya telah merevolusikan pengetahuan kita mengenai proses peringkat molekular yang terlibat dalam pendengaran dan meningkatkan lagi pemahaman tentang bagaimana gangguan proses ini boleh menjurus kepada masalah pendengaran. Dengan pengetahuan ini, terdapat kemungkinan yang membolehkan aktiviti terapi mutasi-spesifik dilakukan bagi melambatkan atau menghalang bentuk tertentu kepekakan yang disebabkan faktor genetik. Antaranya mengadakan kaunseling bagi mengelakkan pengambilan aminoglikosida bagi mutasi spesifik yang disebabkan oleh mutasi mitokondria (ACMG statement, 2002).