

**A COCHLEÁRIS IMPLANTÁCIÓ INDIKÁLÁSÁNAK
NEHÉZSÉGEI ÉS BUKTATÓI ISMERT ÉS ISMERETLEN
BELSŐ FÜL LÉZIÓ OKOZTA GYERMEKKORI
SÜKETSÉGBEN**

A Ph.D. értekezés összefoglalója

Dr. Torkos Attila

Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika

Szegedi Tudományegyetem

Szeged

2008

Intézet:

Szegedi Tudományegyetem Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika

Ph.D. program:

Klinikai és kísérletes kutatás a helyreállító és szervkímélő sebészetben

Programvezető:

Prof. Dr. Czigner Jenő

Alprogram:

A funkciómegtartás és helyreállítás sebészi lehetőségeinek klinikai és kísérletes kutatása a fül-orr-gégészetben és fej-nyaksebészetben

Téma:

A percepció halláskárosodás javítására szolgáló sebészi módszerek kutatása – cochleáris implantáció

Témavezető:

Prof. Dr. Jóri József

Szigorlati bizottság:

Prof. Dr. Mihály András
Prof. Dr. Pytel József
Prof. Dr. Répássy Gábor
Dr. Katona Gábor (tartalék)

Bíráló bizottság:**Elnök:**

Prof. Dr. Boros Mihály

Opponensek:

Prof. Dr. Pytel József
Dr. Küstel Marianna
Dr. Katona Gábor (tartalék)

Tagok:

Prof. Dr. Répássy Gábor
Dr. Gerlinger Imre
Dr. Katona Gábor (tartalék)

1. BEVEZETÉS ÉS AZ ÉRTEKEZÉS CÉLJAI

A cochleáris implantáció (CI) egy sebészi beavatkozás, mely a kétoldali percepció halláskárosodás olyan eseteinek kezelésére szolgál, amelyet a Corti-szerv hibás működése okoz. A károsodott szőrsejtek működését egy, a ganglion spirale sejtek szomszédságába beültetett eszköz pótolja. A cochleáris implantátum (CI) elektromos impulzusokat használ a hallóideg és ezen keresztül a hallóközpont ingerlésére, melyeket a környezet hangjainak transzformálásával állít elő, így pótolva a hibás cochleából hiányzó mechanoelektrikus transzdukciónak.

A CI indikációs területe a koncepció és eljárás kifejlesztése óta folyamatosan bővül. Ez a hallássérült betegekről, az implantátum cochleára, hallóidegre és központi idegrendszerre gyakorolt hatásáról összegyűjtött, gyarapodó tudásunknak, az implantációs szövődmények felismerésének, az implantátumfejlesztésnek és az egészséges hallásmechanizmus és a kóros hallás- és beszédfejlődés jobb megértésének köszönhető.

Értekezésem céljai a következők voltak:

1. A genetikai szűrővizsgálatok bevezetése a sükettség genetikai hátterének jobb megismeréséhez, a sükettség diagnosztikájának pontosabbá válásához és a sebészi beavatkozások megalapozottabb indikálásához vezet. Célom volt egy olyan, nem invazív eljárás kifejlesztése és megbízhatóságának vizsgálata, mely vérvétel nélkül teszi lehetővé bármely életkorú beteg (elsősorban kisgyermek) szűrését az ismert, sükettséghez vezető genetikai károsodásokra a korai, pontos genetikai diagnózis, a megalapozottan indikált CI és a teljes beteg(re)habilitáció érdekében.

2. Az implantált betegek számának növekedésével egyre több, úgynevezett speciális eset is műtetre kerül. Elhatároztam, hogy klinikánk három különleges esetének ismertetésével bemutatom, hogy megfelelő szakmai óvatosság mellett érdemes olyan gyermekeket is implantálni, akik korábban rosszindulatú daganatban szenvedtek, illetve hogy érdemes vállalni olyan betegek műtétének fokozott sebészi nehézségeit és kockázatát is, akik szokatlan, eddig ismeretlen belső fül fejlődési rendellenességben szenvedtek.

3. Célul tűztem ki, hogy vázoljam a CI fejlődésének várható irányvonalait. Elhatároztam, hogy bemutatom, hogyan járul hozzá egy laboratóriumi vizsgálati eljárás az implantátumok fejlesztéséhez, a CI indikációinak bővítéséhez és egyes, posztimplantációs szövődmények (pl. meningitis purulenta) hátterül szolgáló patomechanizmusok megértéséhez.

2. A COCHLEÁRIS IMPLANTÁCIÓ INDIKÁCIÓI

Az első cochleáris implantációt Djourno és Eyriès végezte 1957-ben Párizsban egy postlingualis süket felnőttön. *A CI-t eredetileg a felnőttkori, kétoldali, teljes postlingualis sükettség kezelésére fejlesztették ki.* 1980-ban azonban House elvégezte a világon az első CI-t egy prelingualis süket gyermekben, ezzel megnyitva a hallás(re)habilitáció útját egy másik betegcsoport előtt is.

Értekezésemben megpróbáltam a különböző indikációkat számos szemszögből ismertetni, egyidejűleg vázolva kikristályosodásuk történetét is. Itt most egy rövid áttekintést adok csupán.

2.1. Életkor, a halláscsökkenés kezdete és mértéke

Felnőttek: A CI első indikációja a felnőttkori, kétoldali, postlingualis teljes sükettség volt (anacusis, >121 dB HL). *A legfrissebb irodalmi adatok szerint a CI már a súlyos fokú halláscsökkenés olyan eseteiben is indikált, ahol a nyitott beszédértés optimális hallókészülékekkel 65 dB HL-en 40% alatti.* A CI kezdeti korszakában prelingualis süket felnőtteken is végeztek műtétet. Az implantátumok dinamikus fejlődése és bizonyos betegcsoportok váratlanul jó posztoperatív eredményei azonban mind az orvosok, mind a betegek elvárásait magasabb szintre emelte. Ezek tükrében a prelingualis süket felnőttekkel elért eredmények már nem tűntek olyan biztatóknak, ezért a kezdeti lelkesedést követően ezen betegcsoportban csak ritkán végeztek műtétet. *Ma – megfelelő betegválasztás, visszafogott optimizmus és elvárások mellett – a prelingualis süket felnőttek számára is indikálunk CI-t.*

Gyermekek: Az első gyermekkori CI-t House végezte el 1980-ban egy prelingualis süket gyermeken. *2004-ben a gyermekkori CI alsó korhatára – kivételes esetektől eltekintve – 1 év volt.* Egy 2007-es közlemény azonban több szerzőt idéz, akik szerint az 1 éves kor alatt implantált gyermekek jobb beszédfejlődési eredményeket produkálnak, mint azok, akit 1 és 2 éves kor közt kapnak implantátumot. A gyermekkori CI kezdetén csak kétoldali teljes sükettségben szenvedő gyermekeket implantáltak. Az indikációs terület az utóbbi években e betegcsoportban is a reziduális hallással rendelkezők irányában bővült, csakúgy, mint a felnőtteknél. *Deggouj 2007-es cikke szerint a gyermekkori CI a 85 dB HL-t meghaladó mértékű kétoldali halláscsökkenés eseteiben indikált.* Ugyanakkor Deggouj és más szerzők is hangsúlyozzák, hogy a hallásromlás mértékét a lehető legnagyobb gondossággal kell meghatározni a műtét indikálása előtt. Az a gond, hogy ez egyre nehezebbé válik, ahogy a CI alsó korhatára folyamatosan csökken. Mivel a beszédértés a jelenleg rendelkezésre álló eljárásokkal csak 5 éves kor felett mérhető meg pontosan, új beszédaudiometriás eljárások kifejlesztése és más vizsgálati metódusok bevezetése szükséges, hogy a műtétet kétségek nélkül indikálhassuk.

2.2. Labyrinthitis ossificans

E jelenség lényege egy gyulladási folyamat, mely többnyire meningitis purulenta kapcsán lép fel, és a belső fül csontos elzáródásához vezet. *A sükettség sebészi kezelése ebben az esetben is a CI, melyet érdemes minél előbb elvégezni.* A legjobb, ha az obliteratív folyamatot megelőzzük az implantációval. Ez volt az a betegség, melyben a sebészek először merték a CI alsó határát a 2 éves kor alá vinni. Cohen 2004-es közleménye szerint az 1 éves kor alatti implantáció ebben a betegségben általánosan elfogadott, és a legfiatalabb gyermek, akit a New Yorki Orvosi Egyetem fül-orr-gégészeten ezen okból megoperáltak, 6 hónapos volt. Ugyanebben az évben volt szerencsém szemtanúja lenni Hannoverben, amint Thomas Lenarz professzor egy, meningitis miatt kétoldali sükettségben szenvedő 4 hónapos csecsemőn kétoldali CI-t hajtott végre az obliteratív folyamat megelőzése és a teljes audiológiai rehabilitáció érdekében.

2.3. Belső fül/sziklacsontrajz fejlődési rendellenességek

Manapság számos, halláscsökkenéssel járó minor és major belső fül fejlődési rendellenességben végzünk CI-t. Ezek az esetek különleges figyelmet és sebészi felkészültséget igényelnek, és gyakran szükségessé teszik a standard CI technikák módosítását. Néhány malformációban a CI nem jelent megoldást, de agytörzsi implantáció megkísérélhető.

2.4. Társuló fogyatékoságok – többszörös fogyatékoság

A CI kezdetén a kétoldali sükettséghez társuló egyéb fogyatékoságok a CI ellenjavallatát képezték. *Ma – gondos mérlegelést követően – a többszörös fogyatékkal élő süket betegeken gyakrabban végzünk CI-t.* Számos fogyatékoság-kombinációban ígéretesek az eredmények.

2.5. Kétoldali cochleáris implantáció

Az első, kétoldali CI-ról szóló jelentés 1978-ból Johnsson, House és Linthicum tollából származik. Azóta egyre növekvő számban végeznek bilaterális CI-t világszerte.

Míg azonban az egyoldali CI indikációiról beszélhetünk, addig nem tehetjük meg ugyanezt a kétoldali CI esetében. Vagy, hogy pontosabban fogalmazzunk: *a kétoldali CI indikációi megegyeznek az egyoldaliéival*. Ha az egyoldali CI indikációi fennállnak egy adott beteg esetében, és a bilaterális műtét technikailag kivitelezhető, akkor csak az adott ország egészségbiztosítási rendszerén, az operatőr döntésén és a beteg kívánságán múlik, hogy egyoldali vagy kétoldali CI történik.

2.6. Reziduális hallás, elektroakusztikus stimuláció

A reziduális hallás meglétét a CI javallatain és ellenjavallatain kívül egy másik szemszögből is meg kell vizsgálnunk, mely részben túlmutat a CI kérdéskörén. Az elektroakusztikus stimulációt (EAS) mint jelenséget és hallásrehabilitációs eljárást von Ilberg definiálta és demonstrálta 1999-ben. Nem sokkal később Gantz és mtsai bemutatták az EAS-re képes első hibrid/bimodális implantátumot.

Az eljárás lényege, hogy reziduális hallással rendelkező fülbe olyan, speciális implantátumot ültetünk, mely csupán a hagyományos hallókészülékkel nem javítható hangtartományban végez elektromos stimulációt, miközben ugyanazon fül hallásmaradványát továbbra is – az elektromos stimulációval egy időben – hagyományos hallókészülékkel, azaz akusztikusan ingereljük. Az eljárást a gyakorlatban az teszi használhatóvá, hogy az emberi fül és halló idegrendszer képes a szimultán elektromos és akusztikus stimulációból származó információt integrálni, és hogy kellően finom CI-s technikával a reziduális hallás az implantált fülben megőrizhető.

Az EAS ma olyan betegek számára indikált, akiknek mindkét fülén számottevő hallásmaradványuk van a mély frekvenciákon, miközben hallásküszöbük a közepes frekvenciák felé haladva drámai gyorsasággal eléri a süketséget vagy az azzal határos fokú halláscsökkenést („balsarkos” audiogram). 2007-ig csak felnőttekben történt EAS-ról jelentek meg közlemények. 2007-ben azonban Skarzynski és munkacsoportja tanulmányt jelentetett meg a mély frekvenciákra lokalizálódó, számottevő residualis hallással rendelkező gyermekeken végzett CI-ről és ezt követő EAS-ról. Megfigyeléseik alapján az EAS előbb megfogalmazott indikációja nemcsak felnőttekre, hanem gyermekekre is fennáll.

3. SÜKETSÉGET OKOZÓ, ISMERT GENETIKAI KÁROSODÁSOK SZŰRÉSÉRE SZOLGÁLÓ NEM INVAZÍV ELJÁRÁS

3.1. Bevezetés

A veleszületett halláskárosodás a fejlett országok újszülötteinek 0,1%-át érinti. Újabb genetikai megfigyelések szerint a veleszületett halláscsökkenések legalább 50%-ának genetikai oka van. Jelenleg néhány száz olyan gént ismerünk, melyek bármelyikének mutációja hereditár halláscsökkenéshez vezethet; a leggyakoribb közülük a GJB2 gén károsodása. E gén a connexin-26 (Cx26) fehérjét kódolja. A Cx26 (vagy GJB2, azaz gap junction beta-2) egyike a cochleában expresszálandó számos connexinnek, melyek a sejtmembránokban gap junction csatornákká állnak össze.

A Cx26 a cochleában mind az epitheliális sejthálózatban (a Corti-szerv támasztósejtjei és a csatlakozó epithelsejtek), mind a kötőszöveti sejthálózatban (a ligamentum spirale fibrocytái, a stria vascularis basalis és intermedier sejtjei) jelen van. A gap junction csatornák számos ion (K^+ , Ca^{2+}) és alacsony súlyú molekula (cAMP, $InsP_3$) transzmisszióját lehetővé

teszik. Úgy tűnik, kulcsszerepet játszanak a mechanoelektrikus transzdukciónak során a szőrsejtek, endolympha és stria vascularis közti K^+ körforgásban és ugyanezen ion pufferezésében a transzdukciónak után.

A Cx26 mutációi a K^+ recirkuláció befolyásolásával akadályozzák a gap junctionok normál működését, halláscsökkenést okozva. A GJB2 gén számos domináns mutációját leírták. Ezek prelingualis kezdetű percepciók halláscsökkenéshez vezetnek, melyet a magas frekvenciák küszöbének progresszív emelkedése jellemez.

A Cx26 génjének recesszív mutációi általában stabil percepciók halláscsökkenést okoznak prelingualis kezdettel. Eddig több, mint 70 ilyen mutációt írtak le. Az európai populáció leggyakoribb autoszomális recesszív mutációja a 35delG, egy kereteltolódási (frameshift) mutáció, mely a Cx26 szintézis korai terminálódásához vezet. Ennek eredménye egy rövid, működésképtelen Cx26 produktum. A bekövetkező veleszületett halláscsökkenés általában kétoldali, nem progresszív jellegű, süketséggel határos fokú, és nem jellemzi progresszió vagy fluktuálás. Az esetek kis hányadában azonban ugyanezen mutáció kevésbé súlyos halláscsökkenést is előidézhethet, és a betegek 10-20%-ában leírtak progresszív romlást is.

Mivel egyes országokban a Cx26 mutációi akár az autoszomális recesszív, nem szindrómás halláscsökkenések 60%-áért is felelősek lehetnek, a genetikai eredetű halláscsökkenések genetikai vizsgálatának legígéretesebb első lépése a GJB2 gén mutációinak szűrése. Számos megbízható módszert ajánlanak e célra, melyek mindegyike a leggyakrabban használt DNS forrást, azaz a vért (leukocytákat) használja fel. Felnőttekből általában nem nehéz vért venni, kisgyermekektől azonban sokszor igen. Ez utóbbi igen gyakran időigényes manőver, mely mint a páciens, mind a szülő számára nem kívánatos traumát jelent. Emiatt úgy véltük, egy könnyen hozzáférhető, alternatív DNS forrásra van szükség. Elméletileg minden sejtmagot tartalmazó szövet alkalmas erre, de ezidáig csupán néhány közlemény foglalkozott a véren kívül bármilyen más forrás gyakorlati felhasználhatóságával a Cx26 mutációk detektálásához.

A nyálkahártyák felszíne kézenfekvő sejtforrás, melyek közül a szájüreg mucosája a legkönnyebben hozzáférhető. 2006-ban közzétettünk egy tanulmányt, mely a vérből és orális nyálkahártyakenetből származó DNS minőségi és mennyiségi összehasonlításáról szólt. Munkánk célja az volt, hogy demonstráljuk, a szájnyálkahártya-kenet megfelelő DNS forrás a Cx26 gén 35delG mutációjának szűrésére, és hogy bemutassuk a nyálkahártyakenetek használatának előnyét a vérral szemben a süketség genetikai vizsgálatában kisgyermekes esetén [7].

3.2. Beteganyag és módszerek

2004 október és 2005 február közt 60 süket beteget vizsgáltunk meg a Hannoveri Orvostudományi Egyetem Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinikáján. Mivel a tanulmány célja az volt, hogy nagyon fiatal gyermekeknél demonstráljuk a szájnyálkahártya-kenetek használhatóságát, betegeinket két csoportra osztottuk. A 3 éves vagy ennél fiatalabb betegek (29 beteg, 1,5 év átlagéletkor) alkották az 1. csoportot, a 3 év feletti (31 beteg, átlagéletkor 29,1 év) a 2. csoportot. Minden betegtől vért és szájnyálkahártya-kenetet vettünk.

Buccalis kenetvétele: Steril vattapálcát dörzsöltünk a buccalis nyálkahártyához és a felső gingivához. A vattákat 400 μ l PBS-t (foszfáttal puffertolt sóoldat, 0,1 mol/l, pH 7,4) tartalmazó csövekbe helyeztük, és belőlük azonnal genomiális DNS-t (gDNS) izoláltunk, vagy a mintákat -80°C -ra fagyasztottuk későbbi felhasználás céljából.

Vérvétele: A felnőttek és a 12 évnél idősebb gyermekek ébren voltak a vérvételkor, a 12 év alatti gyermekektől pedig a CI előtti altatásos kivizsgálás közben vettünk vért. A vérvétel EDTA-s csöbe történt, és a mintákat azonnal felhasználtuk, vagy későbbi felhasználás céljából -80°C -ra fagyasztottuk.

Genomiális DNS kivonása a vérmintákból: Az eljárást a gyártó útmutatásainak megfelelően végeztük (QIAamp® DNA Mini Kit and QIAamp DNA Blood Mini Kit, QIAGEN). Kivonást követően a gDNS-t +4 °C-n tároltuk vagy azonnal analizáltuk.

Genomiális DNS kivonása a buccalis kenetektől: Az eljárást a gyártó útmutatásainak megfelelően végeztük (QIAamp® DNA Mini Kit and QIAamp DNA Blood Mini Kit, QIAGEN). Kivonást követően a gDNS-t +4 °C-n tároltuk vagy azonnal analizáltuk.

A vérmintákból és buccalis kenetektől kivont gDNS kvantitatív analízise: Mind a vérmintákból, minr a buccalis kenetektől nyert gDNS filtrátumok koncentrációját UV fotométerrel (Eppendorf BioPhotometer) határoztuk meg. A koncentrációt a minták 260 nm-es fényabszorpciójából számítottuk ki. Referenciaként a DNS kivonás végső fázisában használt AE puffer 260 nm-es fényabszorpciója szolgált. A források DNS tartalmának életkorfüggését vizsgálandó, az 1. csoport vérmintáiból nyert DNS koncentrációkat statisztikailag összevetettük a 2. csoportéival. Hasonló statisztikai összehasonlítást végeztünk a két csoport buccalis kenetektől nyert DNS koncentrációi közt.

A vérmintákból és buccalis kenetektől kivont gDNS kvalitatív analízise:

1. Polimeráz láncreakció (PCR): A 35delG mutáció detektálását a Storm és mtsai által leírt módszer szerint végeztük. A vérből és buccalis kenetből kivont gDNS-ek 10 µl-ét egyenként Eppendorf csőben elegyítettünk 25 µl Taq polimeráz keverékkel (Ready Mix™ REDTaq™ PCR reaction mix with MgCl₂, Sigma), 5 µl Connexin-26-1 primerrel (Con 26-1, 5'-GGT GAG GTT GTG TAA GAG TTG G-3', MWG-Biotech AG), 5 µl Connexin-26-2 primerrel (Con 26-2, 5'-CTG GTG GAG TGT TTG TTC CCA C-3', MWG-Biotech AG) és 5 µl vízzel (Water PCR reagent, Sigma). A keveréket PCR Express készülékbe (Thermo Hybaid, Egyesült Királyság) helyeztük, és a gDNS-t polimeráz láncreakcióval amplifikáltuk. A PCR terméket azonnal enzimatis emésztésnek vetettük alá, vagy későbbi analízis céljából +4 °C-ra helyeztük. Minden mintát 3 alkalommal dolgoztunk fel.

2. Enzimatis emésztés: 12 µl amplifikált gDNS-t (PCR terméket) Eppendorf csőben összekevertünk 0,95 µl vízzel (Water PCR reagent, Sigma), 1,5 µl NE 3 pufferrel (10x töménység, New England BioLabs, Inc.), 0,15 µl bovin szérumantigénnel (Purified BSA 100x 10 mg/ml, New England BioLabs, Inc.) és 0,4 µl BSI Y1 restrikciós endonukleázzal (New England BioLabs, Inc.). A keveréket PCR Express készülékbe (Thermo Hybaid, Egyesült Királyság) helyeztük az emésztés elősegítésére. A restrikciós terméket azonnal analizáltuk agaróz gélelektroforézissel.

3. Elektroforézis: Az enzimatis emésztés közben agaróz gélt készítettünk: 100 ml 10x TBE-t (TRIS-borát-EDTA puffer: TRIS-borát 1 mol/l, pH 8,3; EDTA 20 mmol/l) alaposan elkevertünk 900 ml desztillált vízzel. Melegítés és keverés révén az előbbi keverék 150 ml-ében 3,75 g 2,5% Broad Range Agarose-t (Carl Roth GmbH) oldottunk fel, majd a teljes feloldódást követően 7,5 µl 1%-os ethidium-bromidot (10 mg/ml, Carl Roth GmbH) adtunk az elegyhez. Megszilárdulás után a maradék puffert a géltre öntöttük. A restrikciós termékeket (egyenként 15 µl) a gél zsebeibe töltöttük, majd 100 V feszültséggel, 100 mA áramerősséggel, 20 W teljesítménnyel 2 órán át futtattuk (Power Ease 500, Novex, San Diego, CA, U.S.A.). Negatív kontrollként minden elektroforézishez egy adag, előzetesen PCR-nek, majd restrikciónak alávetett vizet használtunk a DNS templát hiányában keletkezett fals PCR termékek jelenlétének kizárására. Pozitív kontrollként minden elektroforézishez egy ismert 35delG homozigóta mutáns beteg amplifikált és emésztett gDNS-ét, valamint 3 µl pUC19/Msp I DNS markert (50 µg/500µl, Carl Roth GmbH) adtunk. A DNS sávokat UV kamrában (Biostep Co.) detektáltuk, Olympus C4040 Zoom kamerával fényképeztük, és Argus X1 szoftverrel (Biostep Co.) számítógépen rögzítettük.

3.3. Eredmények

A minták DNS tartalmának kvantitatív analizéséhez az 1. és 2. csoport vérmintáiból kivont gDNS koncentrációkat statisztikailag összehasonlítottuk. Hasonló összehasonlítást végeztünk a két csoport buccalis kenetéből izolált gDNS koncentrációi közt is.

A vérmintákból nyert gDNS mennyiségek: A vérmintákból nyert gDNS koncentrációk átlaga az 1. csoport esetén $15,9 \pm 1,8$ $\mu\text{g/ml}$ (átlag \pm s.e.) volt. Ugyanez az átlag a 2. csoportnál $14,6 \pm 1,9$ $\mu\text{g/ml}$ (átlag \pm s.e.). A két csoport gDNS koncentrációjának átlaga közt kétmintás t-próbával nem találtunk szignifikáns eltérést ($p=0,63$), ami arra utal, hogy a vérminták DNS tartalma nem volt életkortól függő.

A buccalis kenetből nyert gDNS mennyiségek: A buccalis kenetből nyert gDNS koncentrációk az 1. csoportban $9,5 \pm 1,4$ $\mu\text{g/ml}$, a 2. csoportban $8,6 \pm 1,4$ $\mu\text{g/ml}$ voltak (átlag \pm s.e.). A két csoport gDNS koncentrációjának átlaga közt kétmintás t-próbával nem találtunk szignifikáns eltérést ($p=0,67$), ami arra utal, hogy a buccalis kenetek DNS tartalma szintén nem volt életkortól függő.

A vérmintákból és buccalis kenetéből kivont gDNS mennyiségek összehasonlítása: A vérmintákból nagyobb mennyiségű gDNS-t tudtunk kivonni, mint a buccalis kenetéből. A buccalis kenetéből izolált gDNS azonban emellett is megfelelő volt mind mennyiségben, mind minőségben a PCR-hez és az azt követő analizishez.

A 35delG mutáció kimutatása a vérmintákból és buccalis kenetéből izolált gDNS-ben: A kvalitatív gDNS analizis a Cx26 gén 35delG mutációjának kimutatásán alapult. Erre a célra polimeráz láncreakcióval végzett, hely-specifikus mutagenézist és BSI Y1 restrikciós emésztést használtunk. A két keletkező GJB2 fragmentum (181 és 26 bázispár) az elektroforézis során jól láthatóan elkülönült a restrikciós enzim által nem emésztett vad GJB2 alléltól. A vérminták és buccalis kenetek analizise az 1. csoportban hat homozigóta és három heterozigóta 35delG mutánst, míg a 2. csoportban két homozigóta és két heterozigóta 35delG mutánst talált. A buccalis kenetéből izolált DNS analizise minden egyes egyén esetében ugyanazt az eredményt hozta, mint a vérből kivont DNS analizise.

3.4. Megbeszélés

A kvantitatív DNS vizsgálat eredményei azt bizonyították, hogy sem a vérminták, sem a buccalis kenetek DNS tartalma nem életkorfüggő. Mindkét fajta mintából megfelelő mennyiségű gDNS-t tudtunk kivonni PCR és genetikai vizsgálat céljára. Az adataink azt is mutatták, hogy a 35delG mutáció kimutatásával kapott eredmények minden egyes alany vérmintája és buccalis kenete esetében egymással megegyezők; ez pedig azt bizonyítja, hogy a buccalis kenetek megbízható DNS forrást jelentenek a genetikai vizsgálatok számára.

A Cx26 gén 35delG mutációja homozigóta formában többnyire súlyos fokú, congenitalis, prelingualis, kétoldali halláscsökkenést okoz. Ugyanakkor leírtak enyhe és közepes fokú, illetve progresszív jellegű halláscsökkenést is ugyanezen mutáció esetén. Emiatt a hallássérült gyermekek genetikai szűrése e mutációra fontos, mert az eltérés jelenlétének ismerete mind a családtervezési tanácsadásra, mind a halláscsökkenés korai kezelésére befolyással van.

A 35delG mutáció vérből történő szűrése gyors és megbízható módszer. A vérvétel azonban néha maga is kihívás, és alkalmanként akár szövődményekhez is vezethet. Különösen kisgyermekes esetében jelenthet technikai nehézséget. A buccális kenetéről több tanulmány kimutatta, hogy jó alternatív genomiális DNS forrást jelentenek. Munkánk a buccalis kenetek 35delG mutáció szűrésében való használhatóságára fókuszált kisgyermekes esetében. A buccalis kenetéből származó gDNS kvalitatív és kvantitatív vizsgálatát is elvégeztük. Vizsgálataink bebizonyították, hogy a buccalis kenetéből kivont gDNS mind mennyiségileg, mind minőségileg minden esetben megfelelő volt PCR és ezt követő genetikai vizsgálat céljára.

A buccalis kenetek vétele a 35delG mutáció szűréséhez szükséges anyagnyerés egyszerű, gyors és nem invazív módszerének bizonyult, mely a legkisebb gyermekek esetén is minden esetben működőképes, kevesebb stresszt okoz a páciensnek és nem hordoz szövődményveszélyt. Eredményeink azt is bizonyították, hogy a Cx26 gén 35delG mutációjának szűrése buccalis kenetkből ugyanolyan érzékeny és megbízható, mint vérből. Munkánkban azért erre a mutációra összpontosítottunk, mert ez a leggyakoribb genetikai defektus a sükettség hátterében, és így a halláscsökkenések genetikai szűrésében a leginkább javasolt kiindulási pont illetve kezdő lépés. Mivel azonban demonstrálni tudtuk, hogy a buccalis kenetek megfelelő mennyiségű gDNS-t szolgáltatnak, megállapíthatjuk, hogy ugyanezen forrásból más gének halláscsökkenést okozó mutációinak egész sorát is szűrhetjük párhuzamos módon.

Az öröklött halláscsökkenés minden formája korai audiológiai beavatkozást igényel: hagyományos hallókészülék felírását, korrekciós fülműtétek végzését, Baha vagy CI beültetését. Bizonytalan/megkérdőjelezhető audiológiai diagnózis esetén – ilyennel pedig egyre gyakrabban fogunk találkozni, ahogy a CI alsó életkori határa folyamatosan csökken – egy halláscsökkenést okozó mutáció meglétének biztos tudása határozottan segítséget fog jelenteni a halláscsökkenés tényének megállapításában. Ennek értelmében a halláskárosodások genetikai szűrése jelentős adalékul szolgálhat a CI korai indikálásához, vagy bármely egyéb audiológiai intervenció kezdeményezéséhez. A buccalis kenetek ezt az információt nem invazív módon biztosítják, mely főleg nagyon kisgyermekek esetében fontos.

4. COCHLEÁRIS IMPLANTÁCIÓ MALIGNUS TUMORBÓL GYÓGYULT BETEGEKEN

4.1. Bevezetés

Figyelembe véve, hogy az agy plaszticitása az egyén élete során folyamatosan csökken, megállapítható, hogy minél hamarabb kap CI-t egy megsüketült gyermek, annál jobb (re)habilitációs eredmények várhatóak. Nem lehetséges azonban ezt a logikát követni, ha a sükettség egy malignus, recidívára hajlamos betegség kezelésének következtében alakul ki. Néhány évvel ezelőttig csak egyetlen jelentés volt olvasható az irodalomban malignus tumorból kigyógyított beteg CI-járól. Jól ismert tény, hogy malignus tumorról kezelt betegeket csak 5 év daganatmentesség után szabad gyógyulniuk nyilvánítani. Emiatt nem szokás olyan, jelentősebb nagyságrendű műtéteket végezni, melyek nem függenek össze a daganat gyógyításával, amíg a beteg sorsa onkológiailag nem dől el.

Nagyon nehéz helyzetben találja magát a cochleáris implantációs munkacsoport, amikor úgy kell mérlegelni egyrészt a garantált onkológiai tumormentességet, másrészt a jó rehabilitáció érdekében a minél korábbi életkorban végzendő, rendkívül költséges implantációt, hogy a beteg egy perilingualisan megsüketült gyermek. Míg ugyanis az implantációval kivárjuk a tumor szanációját követő öt évet, hogy onkológiailag gyógyulniuk minősíthessük a gyermeket, addig csökken az agy előbbiekben említett plaszticitása, mely tendencia a hallás jó rehabilitálhatósága ellenére a beszédfejlődésben szerényebb prognózist vetít előre.

Ne implantáljuk meg tehát azt a gyermeket, aki ilyen hosszú ideig meg volt fosztva az akusztikus információtól, hanem adjuk a drága implantátumot helyette egy másik, a hallásrehabilitáció szempontjából ígéretesebb gyermeknek? Vagy halasszuk egy jó jelölt CI-ját későbbre, ezáltal hónapokat elveszítve fejlődéséből azért, hogy a korlátozott számú implantátumok egyikét egy olyan gyermeknek adjuk, aki akár kudarcot is vallhat a rehabilitáció során?

A CI dátuma nem ilyen kritikus, amennyiben a sükettség postlingualisan alakul ki egy gyermekben (vagy felnőttben). Ebben az esetben a páciens halló, beszédértő és beszédmozgató agyközpontja már teljesen működőképes a sükettség beálltakor, és ezek a kérgi területek abban az esetben is működőképesek maradnak, ha megszűnik az akusztikus input. Ez a tény még akkor is jó hallásrehabilitációs eredményeket vetít előre, ha az implantáció csak több éves akusztikus depriváció után történik meg.

2002 augusztusában és 2005 júniusában implantációs munkacsoportunk egy-egy közleményt publikált. Mindkét cikk egy olyan gyermekről szólt, aki korábban rosszindulatú betegségben szenvedett, majd az onkológiai gyógyulást követően CI-t kapott klinikánkon [2, 4, 6].

4.2. Első esetismertetés: Cochleáris implantáció rhabdomyosarcoma sikeres kezelése után

Bevezetés: A rhabdomyosarcoma a gyermekkori malignus daganatok 3%-át képviseli. Ez a leggyakoribb lágyrész-sarcoma gyermekekben. Általában gyors növekedés jellemzi, és jól reagál kemo- és radioterápiára. A prognózisa kedvező, a rhabdomyosarcomás gyermekek 2/3-a meggyógyítható.

Esetismertetés: Gy.D. eseménytelen terhességből szövődménymentes szüléssel született 1990. szeptember 25-én. Hallása jó, beszédfejlődése zavartalan volt első életéveiben. 1992 szeptemberében a jobb orbitájában és jobb frontobasalis térségében rhabdomyosarcomát diagnosztizáltak, melyet 1993 januárjában sebészi úton eltávolítottak. A gyermek kombinált posztoperatív kemoterápiát kapott. A 11 hónapos citosztatikus kezelés utolsó ciklusa után 2 héttel purulens meningitis lépett fel, melyet antibiotikummal meggyógyítottak. A meningitis szövődményeként azonban kétoldali, süketességgel határos mértékű, perilingualis halláskárosodás alakult ki. A gyermek mindkét fülére hallókészüléket kapott. Ezek a hangos zajok meghallásában segítettek ugyan, de a mindennapos kommunikációhoz elégtelenek voltak, így a gyermeket felvettük CI várólistánkra. Kapcsolatba léptünk az onkoterápiát végző intézménnyel, ahol az illetékes szakemberek megerősítették, hogy 6 év nyomonkövetés után a gyermek onkológiailag gyógyultnak minősül. 1999. június 10-én a gyermek bal fülébe Nucleus 24M implantátumot ültettünk. A műtét óta a gyermek nagyon jó hallásrehabilitációs eredményeket mutat, a leghalkabb hangokat is meghallja. Tisztahang-hallásküszöbe a korábbi 100-110 dB-eshez képest 25-35 dB. Hangfelismerése, beszédértése és beszédkézsége jelentősen javult.

4.3. Második esetismertetés: Cochleáris implantáció Langerhans-sejtes histiocytosis sikeres kezelése után

Bevezetés: A Langerhans-sejtes histiocytosis (LCH) a histiocyták ismeretlen eredetű neoplastikus proliferációja. Többnyire gyermekkorban fordul elő. Az érintett szervek alapján három klinikai variáns különböztethető meg. Az egyik az eosinophil granuloma, mely egy unifokális betegség, többnyire a csontok érintettségével. Egy másik variáns a Hand-Schüller-Christian betegség, mely multifokális, de egy szervrendszert érint – többnyire szintén a csontokat. A harmadik változat, a Letterer-Siwe betegség egy multifokális, egyszerre több szervrendszert is involváló kórkép. Az összesített túlélés az unifokális változatnál 95% felett van, mely érték két érintett szerv esetén 75%-ra esik vissza, és tovább csökken minden egyes újabb szerv involváltságával. Az egygócú eosinophil granuloma kezelése sebészi vagy radioterápia, a multifokális változatokra viszont a kemoterápia a legjobb választás. A kemoterápia azonban magával hozza saját szövődményeit, melyek egyike a halláskárosodás. A citosztatikumok egy részének ototoxikus hatása az irodalomban jól dokumentált tény, és ez

fokozott figyelmet követel az LCH esetében, hiszen e betegség többnyire a különböző hallás- és beszédfejltségű gyermekeket érinti.

Esetismertetés: P.B. 1988-ban született eseménytelen terhességből. Hallása és beszédfejlődése zavartalan volt első életévei alatt. 1991-ben a koponyaacsontokat érintő LCH-t (Hand-Schüller-Christian klinikai variáns) diagnosztizáltak a gyermekben. Polikemoterápiát kezdtek, mely 1994 tavaszáig tartott. A gyermek jól reagált a kezelésre, histiocytosisa teljes remisszióba került. Az elhúzódó citosztatikus kezelés alatt mindkét fülön progresszív halláscsökkenés jelentkezett. A gyermek, akinek hallása korábban jó volt, és aki már megtanult beszélni, 1994-ben mindkét fülére hallókészüléket kapott. 1995-re készülékei már csak az erős zajok meghallásában nyújtottak segítséget. A gyermeket felvettük implantációs várólistánkra. Onkohematológusok ismét megvizsgálták és gyógyultnak minősítették. 2002 októberében a gyermek jobb fülén Nucleus 24M készülékkel CI-t hajtottunk végre. Hallásküszöbe a műtét előtti jobb oldali anacusishoz és bal oldali 90 dB-es halláscsökkenéshez képest 10-20 dB-re javult. 3 hónappal később már képes volt implantátumára hagyatkozni a mindennapi kommunikációban.

4.4. Megbeszélés

Közleményünket megelőzően csak egy olyan cikk volt található a nemzetközi irodalomban, mely malignus tumorból meggyógyult beteg CI-jéről számolt be.

Első, rosszindulatú daganat eredményes kezelése utáni implantációról szóló közleményünket 2002-ben publikáltuk (4.2.) Tudomásunk szerint ez nem egyszerűen a második közölt eset volt a nemzetközi irodalomban, hanem egyben az első olyan közlemény is, mely egy *gyermekről* szólt, akinek küzdelme a malignus tumorról beszédfejlődése közben kezdődött. A munkacsoportunk előtt álló feladat egy igazi ritkaságnak számított, és így a CI indikálása komoly dilemmát és felelősséget jelentett. Nagy gonddal kellett mérlegelnünk, hogy a hallásától öt éve megfosztott, kilenc éves gyermek elég jól profitálna-e abból az igen költséges műtétből, mely egy nála jóval fiatalabb, másik süket gyermek számára várhatóan több segítséget nyújtott volna a halló és beszélő világba történő rehabilitációhoz. Egy olyan országban, ahol a CI számára elkülönített pénzügyi keret kevésbé korlátozott, ez talán kisebb kérdés lett volna, de még ott is dilemmát jelentett volna eldönteni, hogy vajon a várható hatékonyság szempontjából érdemes-e a CI-t elvégezni. A tény azonban, hogy ezen ritka CI nem csupán sebészi szempontból, hanem a posztoperatív eredmények szempontjából is nyilvánvalóan sikeres volt, demonstrálja, hogy érdemes volt felvállalni a döntéshozatal felelősségét.

2005-ben egy második közlemény követte első, malignomás-implantációs cikkünket (4.3.). Bár ekkor már nem járatlan ösvényt tapostunk, a döntési folyamat nem volt kevésbé nehéz. Ebben az esetben mérlegelnünk kellett azt is, hogy a gyermek rosszindulatú betegsége egy rendszerbetegség. Annak ellenére, hogy a műtétet több évvel azután végeztük el, hogy a gyermek elvesztette a hallását, kitűnő eredményekről számolhattunk be nem csupán a hallásküszöb, hanem a beszédértés terén is. Ez annak köszönhető, hogy a páciens postlingualisan süketült meg, és azt bizonyítja, hogy a halló agykéreg fejlődése és érése négy és fél éves korra gyakorlatilag befejeződik.

Két bemutatott esetünk sikere bizonyítja, hogy a CI-t nem szabad elvetni mint a malignus betegségből meggyógyult, süket betegek hallásrehabilitációjának módszerét. Két közleményünk óta számos további cikk jelent meg olyan betegekről, akiken fej-nyaki malignoma kezelését követően CI-t végeztek. Ezek megerősítették előbbi véleményünket. Saját tapasztalataink, és a többi hasonló közlemény alapján a rosszindulatú fej-nyaki folyamatok vagy azok kezelése által előidézett kétoldali, súlyos halláskárosodást hozzá kell tennünk a CI folyamatosan bővülő indikációs köréhez.

5. COCHLEÁRIS IMPLANTÁCIÓ EGY ÚJONNAN LEÍRT BELSŐ FÜL MALFORMÁCIÓBAN

5.1. Bevezetés

A posztimplantációs bakteriális meningitisről szóló első, átfogó tanulmány 2002-ben jelent meg, miután néhány, ezen betegség által okozott halálesetet jelentettek. A 2002 óta született számos tanulmány szummázata az, hogy a CI valóban növeli az otogen meningitis gyakoriságát, ez azonban a modern vakcinák birtokában, a CI-ből származó előnyök figyelembe vételével nem képezheti ellenjavallatát a CI-nek – egészséges belső fül viszonyok esetén legalábbis semmiképpen.

A rendellenes belső fül fejlődés okozta morfológiai eltérések abnormális kommunikációs útvonalakat jelenthetnek a belső fül folyadék és az agyvíz közt, jelentősen megnövelve a posztimplantációs bakteriális meningitis kockázatát. A malformációk rendszerezésére a szakirodalomban számos próbálkozás történt, melyek közül ma a Jackler és mtsai által 1987-ben közzétett klasszifikációt tekintik leginkább referencia értékűnek. Jackler és mtsai a fejlődési rendellenességeit az embrionális fejlődés idő előtti leállításával (arrested embryogenesis) magyarázzák, és a leállás időpontja, azaz a belső fül kifejelettségének mértéke alapján osztályozzák. Ez a logikus rendszer azonban nem képes minden, ezidáig leírt malformációra magyarázattal szolgálni, amint azt maguk a szerzők is megjegyzik. Véleményük szerint az idő előtti fejlődésleállással nem magyarázható rendellenességeikért a kóros módon végbemenő, azaz aberráns embrionális belső fül fejlődés (aberrant embryogenesis), vagy az előbbi és az utóbbi kombinációja lehet felelős.

Nyilvánvaló, hogy a CI indikációja komoly szakmai hozzáértést és etikai felelősséget igényel egy süketiséggel társuló belső fül malformáció esetén. Vajon a CI mellett voksolva és egyúttal a beteget fokozott meningitisveszélynek kiteve, vagy pedig a CI-t ellenjavallva és ezzel a beteget egy életre szurdításra kárhoztatva döntünk helyesen? Értekezésem erre a dilemmára is keresi a választ egy rendkívüli eset tanulságai kapcsán.

5.2. Esetismertetés

K.N. fiúgyermek zavartalan, kétpetējű ikerterhességéből a 38. gesztációs héten született szövődmenymentes szüléssel, halló szülőktől, „A” gyermekként. A halláscsökkenést a házi orvos fedezte fel a gyermek 2 hónapos korában. A családban más hallássérültről nem tudnak; leány ikertestvére („B” gyermek) jól hall.

A halláscsökkenés diagnózisának audiometriás megerősítése után gyermeket felvettük implantációs várólistánkra. Sziklacsont CT tanúsága szerint mindkét belső fülben fejlődési rendellenesség állt fenn, melyet a Jackler-klasszifikáció szerinti „cochleáris hypoplasiának”, esetleg „common cavity-nek” véltünk. MRI készítését nem tartottuk szükségesnek.

A gyermek cochleáris implantációjára 2 éves korában, 2006. januárjában került sor a jobb fülön Nucleus 24R készülékkel. A műtét során olyan belső fül malformációt találtunk, mely nem egyezett a Jackler-féle beosztásban szereplők egyikével sem. A rendellenesség az implantációt jelentősen megnehezítette, komoly intraoperatív liquorfolyást eredményezve, melyet a műtét végére megszüntettünk. Az első posztoperatív napon otoliquorrhoea jelentkezett. Lumbális tehermentesítő liquordrain bevezetését követően a liquorrhoea 4 nap után megszűnt.

Az implantátumot 4 héttel később aktiváltuk. A később elvégzett audiometria jelentős tisztahang-hallásküszöb javulást igazolt a preoperatív 80-90 dB-ről 40 dB-re.

A CI után fél évvel bakteriális agyhártyagyulladás alakult ki, melyet antibiotikummal meggyógyítottak. A betegség idején mindkét fül negatív volt. 2006 novemberében kétoldali acut mastoiditis miatt jobb oldalon mastoidectomiát, bal oldalon mastoidectomiát kellett

végezni más intézményben. A bal oldali műtét során talált belső fül rendellenességet (mely megegyezett az általunk a jobb oldali implantáció során találttal) ért véletlen sérülés posztoperatív otoliquorrhoeához és következményes meningitishez vezetett. Az utóbbit antibiotikummal meggyógyították, de az előbbi perzisztálása sebészi feltárást és a bal közép/belső fül obliterációját tette szükségessé. Ezt követően a gyermek még két meningitises epizódot szenvedett el 2007 áprilisában és egy évvel később. Mindkettőt antibiotikummal gyógyították meg.

A cikk írásának idején 4 éves gyermek a legutóbbi meningitises epizód óta panaszmentes. Implantátumát rendszeresen használja, környezetének hangjaira figyel, és néhány egyszerű szót már tiszta artikulációval tud mondani.

5.3. Megbeszélés

A nemzetközi szakirodalomban számos tanulmány igazolja, hogy az otogen/labyrinthogen meningitis incidenciája belső fül fejlődési rendellenességekben magasabb, mint normális belső fül anatómia esetén. Az ilyen esetekben kóros összeköttetés áll fenn a középfül és a subarachnoidealis tér közt a belső fülön keresztül, mely lehetővé teszi, hogy – például otitis media esetén – a baktériumok elérjék az agyburkokat.

Komoly dilemmát jelent tehát annak eldöntése, hogy egy süketséggel társuló belső fül fejlődési rendellenesség esetén végezhetünk-e CI-t. Míg ugyanis egyes malformációk esetén a középfül és a subarachnoidealis tér közt a kommunikáció eleve adott, addig mások esetén az egymással abnormális mértékben kommunikáló perilympa- és liquortér a középfültől egészen addig elzárt, míg a CI során elkészített cochleostomával meg nem nyitjuk.

Véleményünk szerint a bemutatott gyermek recidív meningitiseit belső fülének sajátos pathoanatómiája magyarázza. A meningitiseknek csak elindítója volt a rajta elvégzett CI, de ugyanilyen módon előidézője lehetett volna bármelyik oldali purulens otitis media vagy paracentesis is.

Egyes, süketséggel járó belső fül fejlődési rendellenességek esetén a CI indikációja komoly orvosi és erkölcsi dilemmát jelenthet. Vajon mikor döntünk helyesen? Ha az implantációt javasolva a megfelelő hallás- és beszédfejlődés érdekében a fokozott meningitis kockázat felé visszük a gyermeket? Vagy ha a kockázatot túl nagyra ítélve a műtétet ellenjavalljuk, és ezzel egy életre a surditas állapotára „kárhozzátjuk” a beteget? A döntésben inkább akadály, semmint segítség az a jelen példából is látható tény, hogy némelyik belső fül malformáció pontos mibenléte csak a műtéti exploráció során tisztázódik. Betegünk gondokkal és buktatókkal teli története ellenére – a szép hallás- és beszédfejlődési eredmények tükrében – úgy gondoljuk, hogy a szülőket a lehetséges problémák és szövődmények ismeretébe beavatva, a döntési folyamatba teljes mértékben bevonva, hasonló helyzetben ismét a CI indikációja mellett kell döntenünk.

2009 elején esetünket újonnan leírt kétoldali belső fül malformációként közöltük, melynek pontos anatómiai leírását részben a CT-re, részben a kettős műtéti leletre támaszkodva tesszük itt meg. A cochlea basalis kanyarulatának proximális fele (kb. 180°) definiált, de szokatlanul tág volt, majd distalisan egy tagolatlan üregben folytatódott. A modiolus nem fejlődött ki. A vestibulum enormisan tág volt (részben magába foglalva a horizontális ívjáratot). A sagittalis és a frontális ívjárat jól definiálódott. A belső hallójárat kórosan tágult volt. A labyrinth ürege és a belső hallójárat között a csontpartitio defektes volt, lehetővé téve a liquor cerebrospinalis és a perilympa állandó kommunikációját. A laterális labyrinthfal nagy területen – mint egy hatalmasra tágult ovális ablak – hiányzott, mely defektuson át a labyrinth endosteuma egy perilymphát-liquort tartalmazó tömlő formájában a dobüregbe és az aditus ad antrumba herniálódott. Az aquaeductus vestibuli kórosan tág volt.

E leírás alapján egyértelmű, hogy a malformációt nem lehet a Jackler és mtsai által közzétett, az embrionális belső fül fejlődés idő előtti leállításával magyarázott rendszer szerint

klasszifikálni. Kialakulását sokkal inkább aberráns embriogenezis okozhatta, melynek hátterében – figyelembe véve a negatív terhességi anamnézist illetve a gyermek kétpetéjű ikertestvérének normál anatómiájú fülét és jó hallását – vélhetően nem teratogén ártalom, hanem genetikai hiba áll. Úgy véltük, a gyermek két fülében – szimmetrikusan – észlelt dysplasia az irodalomban eddig közölt belső fül fejlődési rendellenességek egyikével sem volt azonosítható. Véleményünket megerősítette az a tény, hogy az *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* újonnan leírt dysplasiaként fogadta el és közölte e malformációt [3].

6. ULTRAFINOM COCHLEA-CSISZOLÁS – COCHLEÁRIS IMPLANTÁCIÓ UTÁNI INTRACOHLEÁRIS VISZONYOK VIZSGÁLATÁRA ALKALMAS LABORATÓRIUMI MÓDSZER

6.1. Bevezetés

A CI tudományában a fejlődést az indikációs terület folyamatos bővülése mellett döntően a kutatólaboratóriumi eszközfejlesztések határozzák meg. Ezen eszközfejlesztések egyik elengedhetetlen feltétele, hogy az implantátumok beültetés utáni helyzetét *in vitro*, *in vivo* és *ex vivo* detektálhassuk.

Értekezésemben bemutattam az ultrafinom cochlea-csiszolás nevű laboratórium vizsgálati eljárást, mely egyedülálló módon képes a CI utáni intracochleáris viszonyokat megjeleníteni *in vitro* és *ex vivo*. A módszer számára a szubmilliméteres mérettartomány is hozzáférhető (a hagyományos röntgen, a CT és az MRI számára nem), és a nyert képekből a részletgazdagságon túl nem hiányzik a mélység, a térbeliség érzése sem.

Az eljárást a Hannoveri Orvostudományi Egyetem Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinikájának kutatólaboratóriumában alkalmazzák különböző, új terápiás koncepciókon alapuló, kísérleti cochleáris implantátumok intracochleáris viselkedésének és hatásainak tanulmányozására. 2004-2005-ben szerencsém volt e kutatás egy szakaszában részt venni. Mivel a kipróbálás alatt álló implantátumok jelenleg is fejlesztés alatt állnak, a vizsgálat sorozat nem zárult le, és így konkluzív eredményekről nem számolhatunk be. Ugyanakkor saját, cochlea-csiszolásos munkám egy részét referenciaanyagként felhasználták egy kapcsolódó kutatáshoz, melyben a „flat panel volume CT” (fpvCT) nevű képalkotó eljárást adaptálták a cochlea képi megjelenítésére [1]. Dolgozatomban bemutattam, hogyan segít a cochlea-csiszolás a posztimplantációs meningitis patogenezisének megértésében, és felvázoltam néhány irányt, melyek felé a CI-ok fejlődése a közeli jövőben várhatóan fordul majd.

6.2. Anyag és módszer

A vizsgálatokhoz humán cadaver sziklacsonthoz használtunk fel.

Cochleáris implantáció: A sziklacsonton laboratóriumi körülmények közt szabályos cochleáris implantációt hajtottunk végre: az ingerlő elektródaszálat az adott kísérleti implantátumtípus specifikációinak megfelelően vezettük a cochleába.

Konzerválás és dehidráció: Ezt követően a sziklacsontot azonnal konzerváltuk foszfáttal (0,1 M, pH 7,4) pufferolt 4 %-os glutárdialdehiddel. Miután a csont 4 óráig állt az oldatban, további 2 órára foszfát pufferbe helyeztük. Az áztatás után a csontot dehidrálni kellett, mely felszálló alkohol-aceton sorban áztatással történt, majd a csontot 16 órára 60 °C-os szárítókamrába helyeztük.

Beágyazás: A teljesen kiszáradt sziklacsontot ezt követően epoxigyantába (TekMek, Struers A/S, Ballerup, Dánia) ágyaztuk, feltöltve a cochleostomán át a belső fül üregrendszerét, majd a dobüreget és a mastoidectomiás üreget. Az epoxigyanta 8 óra alatt megszilárdult. A labirinthblokkot a beágyazott sziklacsonthoz egy forgópengés géppel

(Labotom 3, Struers A/S, Ballerup, Dánia) kivágtuk, majd friss epoxigyantával ismét beágyaztuk. Az eredmény egy csiszolható epoxihenger lett, közepén labirinthblokkal.

Csiszolás: Az epoxihenger ultrafinom csiszolását csiszológéppel (LaboPol-5 – LaboForce-1, Struers A/S, Ballerup, Dánia) végeztük. Az eljárás egyenletesen csiszolt felszín eredményezett, egy-egy alkalommal mindig 200 µm vastag réteget csiszolva el a beágyazott cochleából. Az epoxihenger felszínét (a csiszolás révén egyre jobban feltáruuló cochleát) minden egyes csiszolási menet után festettük, mikroszkóppal vizsgáltuk és a látottakat fényképezőgéppel dokumentáltuk.

Festés: A frissen csiszolt felszínre 1 %-os ezüst-nitrát oldatot cseppentettünk, majd az epoxihengert 1 percre ultraibolya sugárzásnak tettük ki UV kamrában. A sugárzás felgyorsította az ezüst-nitrát fotokémiai reakcióját, melynek eredményeként a csiszolt felszín csontos képletei ezüstösre festődtek. Az oldatot 40 °C-os vízzel lemostuk a felületről, melyet ezután hagyunk megszáradni. Az ezüst-nitrátot a felszínre cseppentett 2,5 %-os nátrium-tioszulfáttal fixáltuk, melyet 4 perc múlva mostunk le vízzel. Ezt követően a csiszolt felszín lágyrészeit fukszinnal pirosra festettük, a festéket 45 másodperc múlva vízzel mostuk le.

Vizsgálat, dokumentálás: Az ezüst-nitráttal festett és fukszinnal ellenfestett felszín Leica M26-os transzmissziós fénymikroszkóppal vizsgáltuk, és Canon Eos D60-as digitális fényképezőgéppel dokumentáltuk. Dokumentálást követően újabb 200 µm-nyit csiszoltunk el, majd a csiszolt felszín ismét a fent leírt módon festettük és vizsgáltuk, egészen addig, míg lépésről lépésre teljesen „el nem csiszoltuk” a cochleát.

Miután a teljes cochleát feldolgoztuk, a fényképeket sorban megvizsgálva rendkívül pontosan megítélhettük a tesztelt elektródaszál helyzetét, helyzetét, esetleges megtörését, vagy a szálvég visszahajlását, illetve a beültetés során a cochlea finom lágyrész-csontstruktúrájában bekövetkezett károsodásokat.

6.3. Megbeszélés

A cochleáris implantáció során kialakuló intracochleáris viszonyok és a csigába vezetett elektródaszál helyzetének ismerete mind a gyakorló fülbész, mind az implantátumfejlesztő kutató számára fontos. Az előbbi számára a posztoperatív röntgenfelvétel és a készülék működését ellenőrző szakember visszajelzése elegendő, hogy a műtét eredményességéről meggyőződjön, a kutató azonban ennél pontosabb képet kell, hogy kapjon a csigában történekről.

A laboratóriumi körülmények közt implantált cochleák epoxigyantába való beágyazása és ultravékony rétegű csiszolása ideális helyzetet teremt a csigában kialakult viszonyok tanulmányozására. Az eljárással megnyitott csontos csigát sztereoszkopikus mikroszkóppal vizsgálva a csiszolt felszínen látottak mellett a mélységi viszonyokat is jól érzékelhetjük, az egyes csiszolások után készült fényképeket egymás után lejátszva pedig „virtuális endoszkópos utazást” tehetünk a cochleostomától a csiga távoli csontos faláig

Számos új, prototípus CI intracochleáris viselkedését figyeltük meg és értékeltük vizsgálataink során. A Lehnhardt által „endostealis elektródának” nevezett implantátum izolált magashanghallás-károsodás kezelésére szolgál a közepes és mély frekvenciák – egyébként megfelelő – fiziológiás hallásmechanizmusának megőrzése mellett. Ennek érdekében az elektródasort a cochleostomán át a csontos és a hártás csiga fala közé (az endosteum alá) vezetik be, és rövidebb volta miatt a tonotopikus szörsejtrendeződésnek megfelelően csupán fél kanyarulatot ír le a cochleában. A maradványhallás megőrzésére szánt további kísérleti elektródaköteg-variációk a „karcsú laterális” illetve az „apikális” fantázianévre hallgatnak. Egy másik, még kísérleti stádiumban lévő eszköz, a „modiolusimplantátum”, mely nevének megfelelően a csiga tengelyébe kerül beültetésre.

A glutárdialdehydes szövetkonzerválás, a dehidráció és az ezt követő epoxigyantás feltöltés anatómiai helyzetben őrzik meg a hártás csiga struktúráit, lehetővé téve még a

beültetés során bekövetkezett mikrotraumák felismerését is. Ezen megfigyelések alapján érthetjük meg, hogyan idézhet elő az implantáció posztimplantációs meningitishez vezető direkt kommunikációt a liquor cerebrospinalis és a perilympa közt.

A módszer értékét tükrözi, hogy egyéb kutatási módszerek kifejlesztésében is felhasználták már: a flat panel volume CT cochleára történő adaptációjakor a CT leletek értékelésénél a vizuális igazolást és referenciát a cochleacsiszolással nyert mikroszkópos felvételek jelentették [1].

A csiga epoxigyantás feltöltése és ultravékony rétegű csiszolása az intracochleáris viszonyok tanulmányozásának egyedülállóan jó módszere, mely a jobban bevezethető, jobban pozicionálódó, kevésbé traumatizáló elektródaszállal rendelkező cochleáris implantátumok és az új terápiás elvekre épülő implantátumok kifejlesztéséhez ma már elengedhetetlen, bár időigényes és költséges laboratóriumi vizsgálati eljárás.

7. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS ÚJ EREDMÉNYEK

Sikerült kifejlesztem egy nem invazív eljárást, mely az ismert, süketiséget okozó genetikai károsodások szűrését vérvétel nélkül teszi lehetővé [7]. A módszer használhatóságát azzal demonstráltam, hogy összehasonlítottam a GJB2 gén 35delG mutációjának szűrésí eredményét ugyanazon betegek véréből és szájnyálkahártya-kenetéből. A vizsgálat bebizonyította, hogy a szájnyálkahártya-kenetek használata ismert, süketiséget okozó mutációk szűrésére ugyanolyan megbízható, mint a vérminták szűrése. Ennek értelmében egy atraumatikus eljárást tudunk kínálni a süketiség genetikai hátterének vizsgálatára kisgyermekekben (valójában minden életkorban). Az ilyen genetikai diagnózis nagyban hozzájárulhat a halláscsökkenés diagnózisának megalapozottabb felállításához, mely egyre fontosabb, ahogy a CI alsó életkori határának folyamatos csökkenésével a csecsemők és kisgyermekek hallásának pontos mérése egyre nehezebbé válik.

2005-ig – az ilyen jellegű közlemények szinte teljes hiánya szerint – nem volt elfogadott gyakorlat, hogy CI-t végezzenek egy korábban rosszindulatú daganattól szenvedő, hallássérült betegen. Két sikeres betegünk bemutatásával sikerült demonstrálnunk, hogy a CI-t mint hallásrehabilitációs módszert nem szabad kizárni malignus betegségből való gyógyulás után. ***Ennek értelmében sikerült a CI indikációit kibővítenünk a korábban malignus betegségben szenvedő betegek halláscsökkenésével [4, 6].***

Leírtunk egy új, eddig ismeretlen belső fül malformációt [3]. Az eset bemutatásával demonstráltuk azon véleményünket, miszerint egy ismeretlen belső fül fejlődési rendellenesség implantációjának sebészi nehézségei és esetleges szövődményei a jó audiológiai és beszédfejlődési eredmények tükrében elfogadhatóak.

Ertekezésemben szerettem volna bemutatni a CI-ok közeljövőben várható fejlődési irányvonalait. Demonstráltam, hogyan járul hozzá egy laboratóriumi vizsgálati módszer az eszközfejlesztés és tesztelés menetéhez, és egyes implantációs szövődmények kialakulásának megértéséhez. Néhány, új terápiás koncepción alapuló implantátum bemutatásával illusztráltam, milyen irányokban várható a CI indikációinak bővülése a közeljövőben. ***Saját hozzájárulásom az eszközfejlesztéshez abban áll, hogy egy sor új elektróda prototípusának intracochleáris viselkedését megvizsgáltam, melyek többsége a közeli jövőben a fülsebészek kezébe fog kerülni mint végleges CI termék. Cochlea-csiszolós munkámmal az fpvCT cochleára való adaptálásában is részt vettem [1].***

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Sokáig tartott, mire értekezésem elkészült. Egyesek azt mondják, hamarabb is megírhattam volna, és valószínűleg igazuk is van. Abban az esetben azonban egy jóval szegényebb mű lett volna az eredmény, melyből teljes egészében hiányzik az 5. fejezet. Én úgy vélem, érdemes volt megvárni, hogy igazán megérjen a szüretre.

Hálás vagyok Czigner Jenő professzor úrnak, tanszékünk korábbi vezetőjének azért, hogy bevett a cochleáris implantációs munkacsoportba és hogy vezérelte a tollamat, amikor írásra került a sor. Szerencsére ezt azóta is megteszi időnként.

Köszönetemet fejezem ki Jóri József professzor úrnak, klinikánk jelenlegi vezetőjének, aki engedte, hogy tovább folytassam a munkámat az implantációs munkacsoportban, szakmai és tudományos támogatást nyújtott mind az orvoslásban, mind a tudományos tevékenységben, és minden lehetséges módon támogatta hannoveri kutatásomat.

Köszönöm szépen klinikánk implantációs csoportjának minden tagjának (Kiss József Géza, Szamosközi Alice, Tóth Ferenc, Szabados Éva, Nagy Attila, Jarabin János) és az asszisztenseknek is a tőlük kapott támogatást.

Őszinte hálám Thomas Lenarz és Timo Stöver professzoroknak, amiért szívesen láttak Hannoverben. Csodálatos kutatási programot kínáltak fel nekem, és mind az út bejárásában, mind az eredmények publikálásában irányt mutattak számomra. Nagyon hálás vagyok Peter Erfurtnak a labormunka betanításáért és minden segítségéért.

Most pedig itt az ideje, hogy köszönetet mondjak családomnak is. Feleségem, Ági mindvégig ott volt velem, meleg otthont teremtve számunkra – még Hannoverben is, elfogadva a barátok és rokonok nélküli egyhangúságot. Dalma lányunk állandó örömmel töltötte meg életünket, és ahogy intelligenciája bontakozni kezdett, lassan megtanulta, hogy néha igenis le kell ülnöm, hogy a vele való játék helyett butaságokat írjak. Fiatalabb gyermekünk, Ádám még épp időben érkezett, hogy tudományos erőfeszítéseim utolsó hónapjaihoz csatlakozzon. Isten hozott a fedélzeten, fiam!

Csak megkísérelni tudom, hogy kifejezzem legmélyebb hálámat szüleim és nagyszüleim iránt a rendíthetetlen támogatásért, melyet életem kezdetétől kaptam tőlük. Mindig a szeretet, tudás és emberség forrása voltak, őrizve utamat, és a mai napig ott vannak nekünk. Áldja meg az isten őket!

Köszönöm testvéremnek, Robinak, hogy életem egy jelentős részét megosztotta velem, és hogy testvérem mellett barátom is. Feleségem szüleinek is hálásan köszönöm mindazt a segítséget, melyet nyújtottak és nyújtanak számunkra.

Végül külön köszönet kedves kollégámnak, Rovó Lászlónak. Miközben a stuhlecki sípályán, egy meleg menedékházban ebédeltünk, azt mondta nekem: „Minden anyagod megvan. Mire vársz? Írd meg!”. Így hát megírtam.

A SZERZŐ ÉRTEKEZÉSSEL KAPCSOLATOS TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓI

1. Bartling SH, Gupta R, **Torkos A**, Dullin C, Eckhardt G, Lenarz T, Becker H, Stöver T (2006) Flat-panel volume computed tomography for cochlear implant electrode array examination in isolated temporal bone specimens. *Otol Neurotol* 27:491-498
2. Jóri J, Kiss JG, Szamosközi A, Tóth F, **Torkos A** (2002) A Szegedi Cochleáris Implantációs Centrum megalakulása és működése 1995-2002 között. *Fül-Orr-Gégegyógyászat* 48:272-282
3. **Torkos A**, Czigner J, Jarabin J, Tóth F, Szamosközi A, Kiss JG, Jóri J (2009) Recurrent bacterial meningitis after cochlear implantation in a patient with a newly described labyrinthine malformation. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 73:163-171

4. **Torkos A**, Czigner J, Kiss JG, Tóth F, Szamosközi A, Jóri J (2005) Cochlear implantation for treatment-induced ototoxic deafness in Langerhans cell histiocytosis. A case report. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 262:496-500
5. **Torkos A**, Erfurt P, Lenarz T, Stöver T (2009) Ultrafinom cochlea-csiszolás – Cochleáris implantáció utáni intracochleáris viszonyok vizsgálatára alkalmas laboratóriumi módszer. *Fül-, Orr-, Gégegyógyászat*, közlésre elfogadva
6. **Torkos A**, Jóri J, Tóth F, Szamosközi A, Kiss J G, Czigner J (2002) Successful cochlear implantation in a child after recovery from a head and neck malignancy: a case report. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 259:343-346
7. **Torkos A**, Teschner M, Erfurt P, Paasche G, Lenarz T, Stöver T (2006) The use of buccal smears for a non-invasive screening of the 35delG mutation of the Connexin-26 gene in hearing impaired young children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 70:965-971