

Otozomal Resesif Non-Sendromik İşitme Kayıplarının Moleküler Tanısı

Molecular Diagnosis of Autosomal Recessive Non-Syndromic Hearing Losses

Zeynep Ocak, Abdulgani Tatar, Ahmet Yesilyurt, Sıtkı Oztas

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Anabilim Dalı, Erzurum

Özet

Amaç: Bu çalışmada, Erzurum ili ve çevresinde işitme bozukluklarının genetik yönden araştırılması, non-sendromik otozomal resesif işitme kaybına neden olan GJB2 gen mutasyonlarının belirlenmesi ve mutasyon profilinin çıkartılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmaya 50 işitme kayıplı hasta ve 50 sağlıklı gönüllü alınmıştır. KBB servisinde muayene ve işitme testleri yapılan hastalar, sendromik açıdan bölümümüzde değerlendirilmiştir. DNA ekstraksiyonunu takiben GJB2 geni Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifiye edilmiş ve PCR-SSCP ve RFLP teknikleri kullanılarak; 35delG, 235delC, 167delT, 176-191del16, V95M ve W77X mutasyonlarının varlığı araştırılmıştır.

Bulgular: Çalışma grubumuzu oluşturan 50 hastanın GJB2 gen incelemesinde 10 hastada (7 homozigot ve 3 heterozigot) 35delG mutasyonu tespit edilmiştir. Bu 7 homozigot hastanın ulaşabildiğimiz iki tanesinin ebeveyninde heterozigot 35delG mutasyonu saptanmıştır. Çalışılan 50 sağlıklı kontrolün bir tanesinde heterozigot 35delG mutasyonu saptanmış olup, genetik danışmanlık verilmiştir. GJB2 genine ait diğer mutasyonlar (V95M, 176-191Del16, 235DelC, 167DelT, W77X) çalışılan her iki grupta da tespit edilememiştir.

Sonuç: Çalışmamızın sonucunda Erzurum bölgesinde GJB2 gen mutasyonlarının non-sendromik otozomal resesif işitme kaybı olan bireylerde hastalığın etiyolojisinde önemli bir neden olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: GJB2, Non-sendromik işitme kaybı, SSCP.

Abstract

Background: The aim of this study was to investigate the auditory disorders in or around Erzurum from the genetic aspects, to determine GJB2 gene mutations that lead to non-syndromic autosomal recessive hearing loss and to determine mutation profile for this gene.

Method: 50 patients with hearing loss and 50 healthy volunteers participated to this study. Patients whose examination and auditory tests were performed at the ear-nose-throat outpatient clinics were referred to us to be evaluated for an underlying syndrome. GJB2 gene was amplified with polymerase chain reaction (PCR) after DNA extraction and presence of 35delG, 235delC, 167delT, 176-191del16, V95M and W77X mutations were investigated by using PCR-SSCP and RFLP techniques.

Results: As a result of the GJB2 gene studies of the 50 patients in the study group, 35delG mutation was detected in 10 patients (7 homozygous and 3 heterozygous). Of these 7 patients with homozygous mutations, we could reach the parents of 2 patients and heterozygous 35delG mutation was detected in these. Among the 50 healthy control subjects, a heterozygous 35delG mutation was detected in 1 patient and this patient was given genetic counseling. The other mutations that belong to GJB2 gene (V95M, 176-191Del16, 235DelC, 167DelT, W77X) were not detected in either of the groups.

Conclusion: As a result of our study, GJB2 gene mutations were detected to be an important etiological factor in patients with autosomal recessive hearing disorders residing in or around Erzurum.

Keywords: GJB2, Non-sendromic hearing loss, SSCP.

Giriş

İnsanlar arasındaki iletişim yolları içinde en önemlisi ve en sık kullanılanı konuşarak anlaşma yoludur. Diğer koşulların varlığı halinde, konuşmanın öğrenilmesinde en önemli unsur işitmedir. İşitme kaybı sık karşılaşılan algılama bozukluklarından biri olup her 1000 çocuktan birinde görülmektedir (1).

İşitme bozukluklarının yaklaşık olarak %50'sinin sebebinin çevresel faktörler teşkil ederken, diğer yarısının %70'ini non-sendromik ve %30'unu sendromik olmak üzere tek gene bağlı bozukluklar oluşturmaktadır (2). Non-sendromik işitme bozukluklarının yaklaşık %80'i otozomal resesif,

%20'si otozomal dominant, %1'i X'e bağlı ve %1'den azı mitokondriyal kalıtım göstermektedir (3-5). Non-sendromik işitme kaybı üzerine yapılan genetik çalışmalar sonucunda 2007 yılı itibarıyla otozomal resesif işitme kaybına neden olan yaklaşık 34 gen, 100'den fazla lokus ve 207 adet Gap Junction Beta-2 gen mutasyonu rapor edilmiştir (6). Ayrıca iki mitokondriyal gende (12S rRNA ve tRNASer) mutasyonlar gösterilmiş ve bu mitokondriyal mutasyonların özellikle aminoglikozit kullanım öyküsü olan işitme engellilerde tanması gerektiği önerilmiştir (4,5). Çeşitli toplumlarda yapılan mutasyon taramaları sonucunda otozomal resesif non-sendromik işitme kayıplı

İletişim Bilgisi / Correspondence

Yard. Doç. Dr. Zeynep Ocak Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Anabilim Dalı, Bolu

Telefon: 03742534568 E-posta: zeynep_ipek@yahoo.com

Geliş tarihi / Received: Haziran / June 04, 2012; Kabul tarihi / Accepted: Haziran / June 18, 2012 Çıkar Çatışması / Conflict Of Interest: Yok /None



olguların yaklaşık %50'sinden GJB2 gen mutasyonlarının sorumlu olduğu gösterilmiştir (7,8).

Bu çalışmada, Erzurum ili ve çevresinde işitme bozukluklarının genetik yönden araştırılması, non-sendromik otozomal resesif işitme kaybına neden olan GJB2 gen mutasyonlarının belirlenmesi ve mutasyon profilinin çıkartılması amaçlandı.

Materyal ve Metod

Bu çalışma 2005-2007 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Kulak Burun Boğaz Anabilim Dallarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, ailesinde birden fazla işitme engelli olan 15-35 yaş aralığında 60 birey değerlendirilmeye alınmıştır. Ailelere ait pedigrî örnekleri çıkartılarak, olgular ve ailelerinden alınan bilgiler doğrultusunda işitme kaybının otozomal resesif geçiş gösterdiği düşünülen bireyler belirlenmiştir. Bu bireylerin klinik muayeneleri yapılarak, hastaların dış kulak yolu ve zar yapıları değerlendirilmiştir. Klinik muayene sonuçlarına göre sendromik işitme kaybı olduğu düşünülen bireyler çalışma grubundan çıkartılmış ve non-sendromik otozomal resesif işitme kaybı olduğu düşünülen 50 birey çalışmaya dahil edilmiştir. Taşıyıcılık sıklığının saptanması için, akrabalık ilişkisi bulunmayan ve yapılan işitme testleri neticesi normal işitme frekansına sahip 50 birey çalışmaya kontrol grubu olarak dahil edilmiştir.

DNA ekstraksiyonu için, hastalardan 2 ml periferik kan örneği alındı. Periferik kandan DNA izolasyon kiti (Gentra) ile firmanın vermiş olduğu protokole göre ekstraksiyon yapılmıştır. GJB2 geni Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifiye edilmiştir. Connexin26 geninin amplifikasyonu için hazırlanan primerler "http://www.ncbi.nlm.nih.gov" adresli veri kaynağından gen dizileri esas alınarak hazırlanmıştır. Her bir primerle PCR sonucu elde edilen ürünler %1,5'lik Agaroz jelde marker DNA ile yürütülerek kontrol edilmiştir. Daha sonra, her bir amplikon %8'lik poliakrilamid jel elektroforezinde (PAGE), SSCP tekniği ile yürütülerek şüpheli bant paternine sahip hastalar kaydedilmiştir. SSCP ile farklı bant paterni veren 13 otozomal resesif non-sendromik işitme kayıplı bireyde PCR-RFLP tekniği kullanılarak; 35delG, 235delC, 167delT, 176-191del16, V95M ve W77X mutasyonlarının varlığı araştırılmıştır. PCR ürünlerine endonükleaz en-

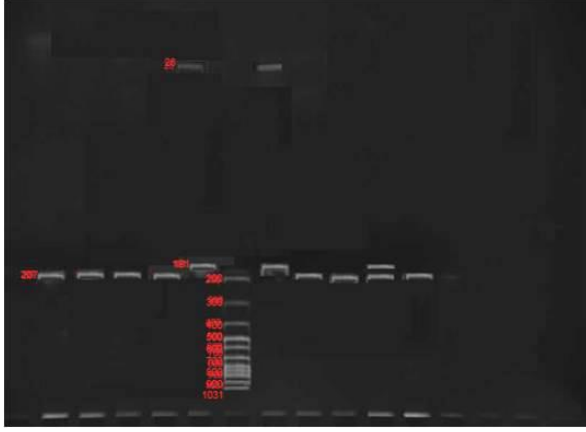
zimlerinin uygulanması (RFLP) için 0.5 ml'lik endopendorf tüpleri kullanılmıştır. Her olgu için firmanın verdiği protokoller uygulanmıştır. ECO721 (Fermantas) enzimi, GJB2geninin 283. pozisyonundaki V95M mutasyonunu saptamak için kullanılmıştır. GJB2geninde 176-191 arasındaki 16 bazlık delesyon mutasyonunu saptamak için AFIII (Fermantas) kullanılmıştır. Apal (Fermantas) GJB2geninde 235delC mutasyonunu, Bfml (Fermantas) GJB2geninde 167delT mutasyonunu, EcoO1091(Takara) GJB2geninde W77X mutasyonunu saptamak için kullanılmıştır. GJB2geninde 35delG mutasyonunu saptamak için Bsc4I (SibEnzyme) kullanılmıştır. PAGE elektroforez uygulaması ile fragmentler ethidium bromide ile görüntülenmiştir.

Bulgular

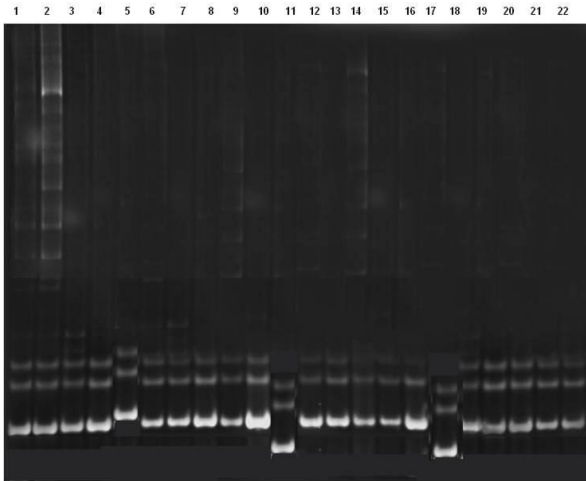
Çalışma kapsamında, Erzurum ili ve çevresinde otozomal resesif non sendromik işitme kaybı olan 50 bireyde GJB2 gen mutasyonları PCR-SSCP yöntemi ile taranmıştır. 50 bireyin 7'sinde homozigot ve 3'ünde heterozigot olarak 35delG mutasyonu belirlenmiştir (Şekil 1). Pedigrî analizlerinin incelenmesi sonucu 35delG mutasyonunu homozigot olarak taşıyan her bireyin ebeveynleri arasında akraba evliliği olduğu da gözlenmiştir (Tablo 1). Kalan 3 hastamızda SSCP çalışması sonucu GJB2 geninin 5. primer bölgesine ait PCR ürünüde mutasyon olduğuna işaret eden farklı bant paternleri olduğu gözlenmiştir (Şekil 2). Bu 3 hastaya Bsc4I restriksiyon enzimi uygulanarak yapılan RFLP çalışması sonucunda enzim kesiminin tanımlanan yerden farklı bir bölgede olduğu ve bu mutasyonun Bsc4I enzimi için yeni bir kesim noktası oluşturduğu görülmüştür. Pedigrî analizlerinin incelenmesi sonucunda bu üç bireyin anne-babası arasında akraba evliliği gözlenmemiştir.

Mutasyon tespit edilen bireylerden yapılan pedigrî analiz sonuçlarının otozomal resesif kalıtım modeli gösterdiği yani anne ve baba sağlıklı iken çocuklarında cinsiyet ayırt etmeksizin bir kısmında sağırılığın ortaya çıktığı gözlenmiştir. 35delG mutasyonlarını homozigot olarak taşıyan 3 bireyde bilateral derin işitme kaybı (Tablo 2 de 1.,3.,8. olgular), 4 bireyde bilateral total işitme kaybı (Tablo 2 de 2,5,6,7. olgular), 35delG mutasyonunu heterozigot olarak taşıyan 1 bireyde ise bilateral derin işitme kaybı saptanmıştır (Tablo 2 de

4. olgu). Taşıyıcılık sıklığının saptanması için, bir-biri ile herhangi bir akrabalık ilişkisi bulunmayan ve yapılan işitme testleri neticesi normal işitme frekansına sahip 50 kontrol grubu bireyin bir tanesinde 35delG mutasyonu heterozigot olarak bulunmuştur.



Şekil 1. Hasta ve sağlıklı kontrollere ait PCR ürünlerinin, 35delG mutasyonu varlığını tespit etmek için Bsc4I ile RFLP tekniği uygulandıktan sonra ethidium bromide ile boyanarak görüntülenmesi. Marker (M) DNA fragment büyüklükleri sırası ile 80, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1031 bp uzunluklarındadır. 5 ve 6 numaralı örnekler 181 ve 26 bp lik iki fragmentlik farklı bant paternleri göstermektedir, 1 ve 10 nolu örnekler sağlıklı kontrollere aittir. (Okun yönü jelin yürüme yönünü göstermektedir.)



Şekil 2. Hasta ve sağlıklı kontrollere ait PCR ürünlerinin, SSCP tekniği uygulandıktan sonra ethidium bromide ile boyanarak görüntülenmesi. 5,11,17 numaralı örnekler farklı bant paternleri göstermektedir, 1 ve 22 nolu örnekler sağlıklı kontrollere aittir.

Sendromik işitme kaybı olan yedi hastanın değerlendirilmesi sonucu ise klinik tanı olarak, iki olguda Treacher-Collins sendromu, iki olguda Distal Renal Tubuler Asidoz ve işitme kaybı, iki olguda Apert sendromu ve bir olguda da Leopard sendromu düşünülmüştür.

Tartışma

İşitme kayıplarına neden olan genetik faktörlerin yaklaşık %30'u sendromlarla birlikte gözlenirken, %70'ini non-sendromik işitme kayıpları oluşturmaktadır (9,10). Günümüze kadar işitme kaybının tanısında ve taşıyıcılığının belirlenmesinde 35delG mutasyonunu ortaya koymaya yönelik farklı metotlar ortaya konmuştur. Bu metotlar içerisinde en popüler olanı, Kupka ve ark.'nın geliştirdiği ve 35delG için özel olarak hazırlatılan mutant primerlerin kullanılarak yapıldığı mutasyon analizidir. Normalde GJB2 genindeki 35delG bölgesinde herhangi bir restriksiyon enzim kesimi bulunmamaktadır. Fakat dizayn edilen mutant primerler ile üretilen PCR fragmentinde enzim kesim bölgesi oluşturularak, 35delG'nin homozigotluğu veya heterozigotluğu gösterilebilmiştir (11).

Bizim çalışmamızda PCR-SSCP ile yapılan mutasyon taraması sonucunda otozomal resesif non-sendromik işitme kayıplı 50 bireyin 13'ünde farklı bant paterni görülmüştür. Elde ettiğimiz verilerin değerlendirilmesi sonucunda, GJB2 mutasyonları içinde en fazla 35delG mutasyonunun varlığı tespit edilmiştir. Bu mutasyonun 50 hasta bireyde test edilen 100 alleldeki görülme sıklığı %17 olarak tespit edilmiştir. Bu mutasyonun 50 sağlıklı kontrolde test edilen 100 alleldeki görülme sıklığı ise 1:50 olarak saptanmıştır. Değişik ülkelerdeki 35delG mutasyonunun taşıyıcılık sıklıkları Yunanistan'da 1:33, İspanya'da 1:40, Tunus'ta 1:77, Malta'da 1:36 olarak bildirilmiştir (7,9,10). Bu oranın adı geçen ülkelerde yaygın olarak görülen ve kistik fibrozise yol açan CFTR genindeki ΔF508 mutasyondan daha sık olduğu rapor edilmiştir (3).

Otozomal resesif non-sendromik işitme kayıplı bireylerin, Avrupa'da %46'sında, Japonya'da %12'sinde, Kore'de %8'inde GJB2 mutasyonları görülürken, Türkiye'de yapılan değişik çalışmalarda bu mutasyon oranları sırasıyla %19.7, %31.7, %64 ve %27.8 olarak rapor edilmiştir (3,12,13).

Tablo 1. 35delG mutasyonu saptanan 10 bireye ait yaş, moleküler genetik sonuç, akrabalık durumu.

Olgu No	Yaş	Moleküler genetik sonuç	Akrabalık durumu
1	18	homozigot 35delG	+
2	20	homozigot 35delG	+
3	19	homozigot 35delG	+
4	22	homozigot 35delG	+
5	23	homozigot 35delG	+
6	24	homozigot 35delG	+
7	20	heterozigot 35delG	-
8	21	homozigot 35delG	+
9	16	heterozigot 35delG	+
10	18	heterozigot 35delG	-

Tablo 2. 35delG mutasyonu saptanan 8 bireyin odyometri sonuçları.

Olgu No	Odyometri	Timpanometri	Akustik refleks ve eşığı
1	113 dB/95 dB NSİK	N/N	Φ/ Φ 110dB/110 dB
2	Bilateral Total NSİK	N/N	Φ/ Φ 110dB/110 dB
3	Bilateral 100 dB NSİK	N/N	Φ/ Φ 110dB/110 dB
4	110 dB/90 dB NSİK	N/N	Φ/ Φ 110dB/110 dB
5	Bilateral Total NSİK	N/N	Φ/ Φ 110dB/110 dB
6	Bilateral 103 dB NSİK	N/N	Φ/ Φ 110dB/110 dB
7	Bilateral Total NSİK	N/N	Φ/ Φ 110dB/110 dB
8	Bilateral 100 dB NSİK	N/N	Φ/ Φ 110dB/110 dB

Bizim çalışmamızda ise bu oran %26 olarak tespit edilmiştir. Türkiye'deki çalışmalarda farklı sonuç arzeden Tekin ve ark.'nın 11 ailede yaptığı GJB2 mutasyon taraması %64 olarak raporlanmıştır. Bu çalışmada sonucun diğerlerinden daha yüksek bulunması, incelenen hasta sayısının daha az olmasına bağlı olduğunu düşündürmektedir. Diğer taraftan otozomal resesif non-sendromik işitme kayıplı 50 bireyde Uyguner ve ark.'nın yaptığı çalışmada, bu oran % 27.8 olarak belirlenmiştir. Bu sonuç, hemen hemen aynı sayıda hasta ve kontrol grubuna sahip olması ve hasta ve kontrol grubu belirlenirken aynı kriterlerin göz önüne alınması nedeniyle bizim sonuçlarımızla paralellik göstermiştir (13).

Çalışma grubumuzda otozomal resesif non-sendromik işitme kayıplı bireylerde CX26 geninde 35delG mutasyonları, 7 homozigot ve 3 heterozigot yapıda olarak toplam 10 hastada tespit edilirken, Türkiye'de bu konuda yapılan diğer çalışmalarla paralel olarak V95M, 176-191 Del 16, 235 Del C, 167Del T, W77X mutasyonları tespit edilememiştir.

Türk toplumunda yaklaşık %20-25 arasında görülen akraba evliliği (15) çalışma grubumuzu oluşturan otozomal resesif işitme engelli ailelerde %60 olarak tespit edilmiştir. Bu durum diğer otozomal resesif hastalıklarda olduğu gibi non-

sendromik işitme kayıplarında da akraba evliliğinin hastalık insidansını arttırdığını göstermiştir.

GJB2 mutasyonlarının genellikle şiddetli ve derin prelingual sensorinöral işitme kaybına neden olduğu gösterilmiştir (3). Bizim çalışmamızda GJB2 mutasyonunu homozigot olarak bulunan hastalarımızın işitme seviyeleri karşılaştırıldığında bu mutasyonun, her iki kulakta asimetrik, derin ve şiddetli işitme kaybına neden olduğu gözlenmiştir. Wilcox ve ark.'nın (16,17) sonuçlarıyla uyumlu olarak GJB2 mutasyonlarının neden olduğu işitme kaybında işitme seviyelerinin ayırıcı tanı kriteri olamayacağı da görülmüştür. Bu durum moleküler tanı testlerinin önemini bir kez daha göstermiştir.

Sonuç olarak bu çalışma ile elde ettiğimiz veriler bizlere, Erzurum ili ve çevresi ile Türk populasyo-

nu ve diğer ülkelerdeki non-sendromik işitme kayıplarını karşılaştırma olanağı vermiştir. Bu çalışmanın bölgemizde non-sendromik otozomal resesif işitme kayıplarının genetiğinde etkili olan GJB2 mutasyonlarının taranması konusunda yapılmış ilk çalışma olması dolayısıyla literatüre önemli bir katkı sağlayacağını öngörmekteyiz. Daha sağlıklı nesiller için bu konuda yapılan çalışmaların kapsamlı hale getirilmesi ile çalışılan genlerin sayısının arttırılması ve çalışmaların rutine dönüştürülmesi oldukça önemlidir. Bu sayede elde edilecek sonuçların, işitme kayıplarının erken dönemde teşhis edilmesi, konjenital işitme kaybı öyküsü bulunan ailelerde prenatal tanının yapılabilmesi ve erken dönemde tedavinin başlatılması açısından büyük önem taşıyacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- 1- Peter Turnpenny, Sian Ellard. Emery's Elements of Medical Genetics. Twelfth edition. Elsevier Churchill Livingstone, London, 2005:161-79
- 2- Man YK, Trollove C, Tattersall D, Thomas AC, Papakonstantinou A, Patel D, Scott C, Chong J, Jagger DJ, O'toole EA, Navsaria H, Curtis MA, Kelsell DP. A Deafness-Associated Mutant Human Connexin 26 Improves the Epithelial Barrier In Vitro. Membr Biol. 2007; 218: 29-37.
- 3- Petersen MB, Willems PJ. nonsyndromic autosomal recessive deafness. Clinical Genetics 2006; 69: 371-92
- 4- Prezant TR, Agapian JV, Bohlman MC, Bu X, Öztaş S, Qiu WQ, Arnos KS, Cortopassi GA, Jaber L, Rotter JI, Shohat M, and Fischel-Ghodsian N. Mitochondrial Ribosomal RNA Mutation Associated with Both Antibiotic-induced and Non-Syndromic Deafness, Nature Genetics 1993; 4: 289-94.
- 5- Fischel-Ghodsian N, Prezant TR, Bu X, Oztas S. Mitochondrial Ribosomal RNA Gene Mutation in a Patient With Sporadic Aminoglycoside Ototoxicity, American Journal of Otolaryngology 1993; 14: 399-403.
- 6- The Human Gene Mutation Database <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>
- 7- Sandra Iossa^{1,2}, Elio Marciano² and Annamaria Franzé GJB2 Gene Mutations in Syndromic Skin Diseases with Sensorineural Hearing Loss. Current Genomics 2011; 12: 475-85
- 8- Nina Danilenko, Elena Merkulava, Marina Siniauskaya, Olga Olejnik, Anastasia Levaya-Smaliak, Alena Kushniarevich, Andrey Shymkevich, Oleg Davydenko Spectrum of Genetic Changes in Patients with Non- Syndromic Hearing Impairment and Extremely High Carrier Frequency of 35delG GJB2 Mutation in Belarus. PLoS One. 2012; 7-5
- 9- Morell RJ, Kim HJ, Hood JL, et al. Mutation in the connexin 26 gene (GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness. New Eng J Med 1998; 19:1500-5.
- 10- Lopez-Bigas N, Olive M, Rabionet R. Connexin 31 (GJB3) is expressed in the peripheral and auditory nerves and causes neuropathy and hearing impairment. Hum Mol Genet 2001; 15: 947-52.
- 11- Kupka S, Mirghomizadeh F, Haug T, Braun S, Leistschneider P, Schmitz-Salue C, Arold R, Blin N, Zenner HP, Pfister, M. Mutational analysis of the connexin26 gene in sporadic cases of moderate to profound deafness. HNO, 2000; 48: 671-4.
- 12- Tekin M, Akar N, Cin S, Blanton SH, Xia XJ, Liu XZ, Nance WE, Pandya A. Connexin 26 (GJB2) mutations in the Turkish population: implications for the origin and high frequency of the 35delG mutation in Caucasians. Hum Genet 2001; 108: 385-389.
- 13- Uyguner O, Emiroglu M, Uzumcu A. Frequencies of gap- and tight-junction mutations in Turkish families with autosomal-recessive non-syndromic hearing loss. Clin Genet 2003; 64: 65-69.
- 14- L Van Laer, P Coucke, R F Mueller, G Caethoven, K Flothmann, S D Prasad, G P Chamberlin, M Houseman, G R Taylor, C M Van de Heyning, E Franssen, J Rowland, R A Cucci, R J H Smith, G

- Van Camp. A common founder for the 35delG GJB2 gene mutation in connexin 26 hearing impairment J Med Genet 2001; 38:515-518
- 15-ŞB Özvarış, GO Koçođlu, AA. Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, 1983 Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması Hacettepe Üniversitesi yayını, Ankara, 1987
- 16-Wilcox SA, Saunders K, Osborn, AM, Arnold A, Wunderlich J, Kelly T, Collins V, Wilcox LJ, McKinlay, Gardner RJ, Kamarinos M, Cone-Wesson B, Williamson R, Dahl H High frequency hearing loss correlated with mutations in the GJB2 gene. Hum Genet 2000; 106:399-405.
- 17-Wilcox ER, Burton QL, Naz S. Mutations in the gene encoding tight junction claudin 14 cause autosomal recessive deafness DFNB29. Cell 2001; 12:104-165