

# İdyopatik ani işitme kayıplı olguların genetik yapılarının analizi

## Genetic constitution analysis of idiopathic sudden hearing loss

Dr. Adem Bora,<sup>1</sup> Dr. Emine Elif Altuntaş,<sup>1</sup> Dr. Öztürk Özdemir,<sup>2</sup> Dr. İsmail Önder Uysal,<sup>1</sup> Dr. Suphi Müderris<sup>1</sup>

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi <sup>1</sup>Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, <sup>2</sup>Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

**Amaç:** Bu çalışmada Türk toplumunda ani işitme kaybına yol açan genetik faktörlerin nedeninin belirlenmesi amaçlandı. Bu genetik etmenlerin bilinmesi, toplumumuzda görülen ani işitme kaybının moleküler patogenezinin daha iyi anlaşılabilmesini ve tedavisi için daha gerçekçi yaklaşımların bulunabilmesini sağlayacaktır.

**Hastalar ve Yöntemler:** Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kulak Burun Boğaz Kliniğine Ocak 2008 - Haziran 2009 tarihleri arasında ani işitme kaybı ile başvuran, öykü, fizik muayene ve odyolojik inceleme sonucunda ani işitme kaybı tanısı konulan 40 hasta (Grup 1; 19 erkek, 21 kadın; ort. yaş 37.9±15.6 yıl; dağılım 9-76 yıl) ve işitme kaybı öyküsü olmayan 20 sağlıklı gönüllü (Grup 2: Kontrol grubu; 14 erkek, 6 kadın; ort. yaş 31.7±4.4 yıl; dağılım 24-43 yıl) çalışmaya dahil edildi. Hastaların tümü Genetik kliniği tarafından değerlendirildi ve MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) yöntemi ile GJB2, GJB3, GJB6 ve WFS1 genlerine yönelik mutasyon analizi yapıldı.

**Bulgular:** Hastaların periferik kan örneklerinin WFS1 ekson 8 ve konneksin 26, 30 ve 31 gen bölgelerinde heterozigot mutasyon açısından MLPA yöntemi kullanılarak yapılan analizlerinde iki grup arasında istatistiksel açıdan bir fark saptanmadı ( $p=0.291$ ,  $p>0.05$ ). Grup 1'deki dört hastada (%10) değerlendirilen hedef gen bölgelerinde heterozigot mutasyon saptandı. Heterozigot mutasyon bu hastaların ikisinde WFS1 ekson 8 bölgesinde; ikisinde ise WFS1 ekson 1 bölgesinde idi.

**Sonuç:** Gelecekte yapılacak ani işitme kaybı çalışmaları kokleada stria vascularis (stV), bazal membran (BM), spiral limbus (Li) ve spiral ligament (SL) bölgelerinde yer alan konneksin 26, konneksin 30 ve diğer gap-junction fonksiyonlarını etkileyebilecek gen mutasyonlarını içermelidir. Bu çalışmalar geniş katılımlı hasta gruplarıyla ve ani işitme kayıplı bireylerin aile fertlerinin de bu çalışmalara katılımıyla yapılmalıdır.

**Anahtar Sözcükler:** Konneksin 26; konneksin 30; konneksin 31; wolframin; ani işitme kaybı.

**Objectives:** The purpose of this research is to understand the etiology of sudden hearing loss due to genetic factors in Turkish people. Determination of these genetic factors and better understanding of molecular pathogenesis may guide more realistic planning and treatment recommendations.

**Patients and Methods:** Forty patients (Group 1; 19 males, 21 females; mean age 37.9±15.6 years; range 9 to 76 years) who presented with sudden hearing loss to the Ear, Nose and Throat Clinic of Medical Faculty Hospital of Cumhuriyet University between January 2008 and June 2009, and were diagnosed with sudden hearing loss through history, physical examination and review of audiometric findings, and 20 healthy volunteers (Group 2; 14 males, 6 females; mean age 31.7±4.4 years; range 24 to 43 years) for the control group were included in this study. All Patients were evaluated by the genetic clinic for the GJB2, GJB3, GJB6 and WFS1 gene using multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) method mutation analysis.

**Results:** No difference was found in the peripheral blood sample analyses of the two groups at WFS1 exon 8 and connexin 26, 30 and 31 gene zones using the MLPA method with respect to heterozygous mutation ( $p=0.291$ ,  $p>0.05$ ). In four patients in group 1 heterozygous mutation was detected at the target gene zone. Heterozygous mutation was in the WFS1 exon 8 zone in two patients; and in the WFS1 exon 1 zone in other two patients.

**Conclusion:** Sudden hearing loss studies in the future should include connexin 26, connexin 30 and other gene mutations that may affect the function of the gap-junction located in the region of the cochlea stria vascularis (stV), basal membrane (BM), spiral limbus (Li) and spiral ligament (SL). These studies should be performed on larger series, and should include family members of patients with sudden hearing loss.

**Key Words:** Connexin 26; connexin 30; connexin 31; wolframin; sudden hearing loss.

Ani işitme kaybı (AİK) genel olarak üç günden kısa sürede gelişen, ardı ardına üç frekansta 30 dB'den daha fazla bir kayıpla ortaya çıkan ya da ani başlayıp 12 saat veya daha kısa sürede ilerleyen sensörinöral tipte işitme kaybı (SNİK) olarak tanımlanmaktadır. Ani işitme kaybının etyolojisinde vasküler, viral, otoimmün, enfeksiyöz, neoplastik, travmatik, ototoksik, immünolojik, gelişimsel, psikojenik pek çok neden rol oynamakla birlikte olguların büyük bir çoğunluğunda etyolojik nedenler ortaya konulamadığından idyopatik olarak kabul edilmektedir. Ani işitme kaybı tedavisinde hekim öncelikle etyolojide tedavi edilebilen nedenlere odaklanmalıdır. Her ne kadar vazodilatörler, plazma genişleticileri ve steroidler gibi pek çok ilacın hastalığın tedavisinde faydalı olduğu bulunmuşsa da, günümüzde halen üzerinde fikir birliğine varılmış bir tedavi protokolü bulunmamaktadır.<sup>[1-6]</sup>

Bu çalışmada etyolojisinde pek çok etmenin rol oynadığı AİK'de Türk toplumundaki genomik fenotipin rolünün araştırılması, belirlenebilen genetik etmenler ile toplumumuzda görülen AİK'nin moleküler patogenezinin daha iyi anlaşılması ve tedavisi için daha gerçekçi yaklaşımların bulunabilmesine aracılık edebilmek amaçlandı.

## HASTALAR VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı kliniğine Ocak 2008 - Haziran 2009 tarihleri arasında işitme kaybı yakınması ile başvuran, öykü, fizik muayene ve odyolojik inceleme ile AİK tanısı konulan 40 hasta (Grup 1; 19 erkek, 21 kadın; ort. yaş 37.9±15.6 yıl; dağılım 9-76 yıl) ve işitme kaybı öyküsü olmayan 20 sağlıklı gönüllü (Grup 2; 14 erkek, 6 kadın; ort. yaş 31.7±4.4 yıl; dağılım 24-43 yıl) olmak üzere toplam 60 kişi üzerinde yapıldı. Çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi İnsan Etik kurulundan onay alınarak yapıldı.

Çalışmaya dahil edilen olgularda; üç günden kısa zamanda, ardı ardına üç frekansta, 30 dB'den daha fazla SNİK olması ve işitme kaybı olan kulakta daha önce otolojik hastalık veya ameliyat öyküsü olmaması, işitme kaybının başlangıcından itibaren en fazla iki hafta geçmiş olması; doğuştan koklear malformasyon, mekanik travma, işitme kaybına neden olduğu bilinen nörolojik hastalıklar, damar hastalığı, son bir ay içerisinde herhangi bir ototoksik ilaç alımı, hipertansiyon, hipotiroidi ve karaciğer, böbrek yetersizliği gibi sistemik hastalık öykü-

sü, sifiliz gibi işitme kaybına neden olabilen enfeksiyon hastalıkları ve son bir ay içerisinde herhangi bir nedenle kemoterapi ya da radyoterapi almamış olma şartı arandı.

Hastaların tümünün ayrıntılı öyküsü alındı; tam bir kulak burun boğaz ve baş boyun muayenesi yapıldı. Tedavi başlamadan önce ve tedavi bitiminde hastaların tümüne Interacoustics Clinic Audiometry marka, AC-40 model (Interacoustics, Assen, Denmark) cihaz ile tam odyolojik değerlendirme yapıldı. Odyolojik incelemede hava yolu saf ses eşikleri 250, 500, 1000, 2000, 4000, 6000 Hz'de, kemik yolu saf ses eşikleri 500, 1000, 2000, 4000, 6000 Hz'de bakıldı. İşitme seviyeleri, Katzs Handbook of Clinical Audiology kitabında verilen gösterge çizelgesine göre sınıflandırıldı. Buna göre hastaların işitme kaybı, 25-40 dB arası hafif, 41-56 dB arası orta, 57-70 dB arası orta şiddetli, 71-90 dB arası şiddetli ve 91 dB'den yukarı olan değerler ise ağır işitme kaybı olarak kabul edildi.

Ayrıca tüm hastaların açlık kan şekeri, tiroid hormon düzeyleri, kolesterol, lipit seviyeleri değerlendirildi.

Ani işitme kaybı tanısı konulan hastaların tümüne Genetik kliniği tarafından GJB2, GJB3, GJB6 ve WFS1 genlerine yönelik MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) yöntemi ile mutasyon analizi yapıldı.

### Kandan deoksiribonükleik asit (DNA) izolasyonu

Total genomik DNA izolasyonu spin blood DNA izolasyon kiti kullanılarak periferik kan-EDTA dokusundan yapıldı (Invitek Invisorb, Austria). Hasta ve kontrol gruplarından elde edilen DNA'lar etiketlendi ve -20 °C'de çalışılmak üzere saklandı.

### DNA denatürasyonu ve MLPA problemlerinin hibridizasyonu

Tüm hastaların hedef gen bölgeleri MLPA tekniği ile genotiplendirildi. Hedef GJB eksonları 1-3 (konneksin 26, 30 ve 31) ve wolfram proteinini kodlayan WFS1 ekson 1 ve 8 genleri multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) tekniği ile amplifiye edildikten sonra PZR ürünleri öncelikle agaroz jelde kontrol edildi ve uygun ürünler 11 adet ekzonik gen alt birimi olası mutasyon analizlerinin tespiti için genotiplendirildi. Sonuç olarak bu yöntemde her olguya ait 5 µl (150 ng) genomik DNA örneği beş dakika 98 °C, ardından 25 °C'ye soğutulmuş

**Tablo 1.** Çalışmaya katılan olguların cinsiyetlerine göre dağılımları

	Cinsiyet				Toplam	
	Erkek		Kadın		Sayı	Yüzde
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde		
Grup 1	19	47.5	21	52.5	40	100
Grup 2	14	70	6	30	20	100
Toplam	33	55	27	45	60	100

t=1.74; p=0.086; p>0.05.

denatüre edildikten sonra hedef genlere ait SALSA prob karışımı ile 60 °C'de 16 saat hibridize edildikten sonra, prob ligasyonu için ortama 32 µl ligase 65 eklenerek 54 °C'de 15 dakika inkübe edilerek (MLPA Kit P163, MRC, Netherlands) analiz için materyaller toplandı.

### Polimeraz zincir reaksiyonu

Yeni tüplere 4 µl PZR buffer + 26 µl su + 10 µl MLPA ligasyon reaksiyonu ürünü karıştırıldıktan sonra PZR cihazında 60 °C'de iken 10 µl polimeraz karışımı eklenip hemen PZR reaksiyonu başlatıldı. Elde edilen PZR ürünleri kapiller elektroforez cihazında (ABI 310 Prism, USA) öncelikle manuel genotiplendirildi ve Coffalyser V8 programında ayrıntılı analizleri yapıldı.

### İstatistiksel analiz

Elde edilen veriler Windows için SPSS 14.0 versiyon (SPSS Inc., Chicago, Illinois USA) paket prog-

ramı ile analiz edildi. Verilerin analizinde iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi, Ki-kare testi, Fisher exact Ki-kare testi kullanıldı.

## BULGULAR

İki grup arasında cinsiyetler açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $\chi^2=2.72$ ,  $p=0.099$ ,  $p>0.05$ ) (Tablo 1).

İki grup arasında yaş açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $t=1.74$ ,  $p=0.086$ ,  $p>0.05$ ).

Çalışmaya alınan bireyler sigara ( $\chi^2=0.89$ ,  $p=0.344$ ,  $p>0.05$ ) ve alkol ( $\chi^2=1.42$ ,  $p=0.232$ ,  $p>0.05$ ) kullanma alışkanlıkları açısından sorgulandığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Ani işitme kaybına eşlik eden semptomlar açısından hastalar değerlendirildiğinde; grup 1'deki hastaların sekizinde (%20) vertigo yakınması vardı. Hastaların tümü geçirilmiş üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYE) diyabetes mellitus (DM), hipertansiyon (HT) ve tiroid hastalıkları açısından sorgulandı ve laboratuvar incelemeleri yapılarak karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 2).

Hastaların tümü ailelerinde geçirilmiş AİK öyküsü açısından da sorgulandı (Tablo 3).

Çalışmaya katılan grup 1'deki hastalara tedavi öncesinde ve sonrasında; grup 2'deki kontrollerine ise bir kez tam odyometrik inceleme yapıldı.

**Tablo 2.** Çalışmaya katılan olguların tıbbi öykülerinin değerlendirilmesi

	Gruplar				Toplam		p
	Grup 1		Grup 2		Sayı	Yüzde	
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde			
Üst solunum yolu enfeksiyonu öyküsü							
Var	6	15	0	0	6	10	p=0.165
Yok	34	85	20	100	54	90	p>0.05
Diyabetes mellitus							
Var	6	15	0	0	6	10	p=0.165
Yok	34	85	20	100	54	90	p>0.05
Hipertansiyon							
Var	8	20	3	15	11	18.3	p=0.736
Yok	32	80	17	85	49	81.7	p>0.05
Tiroid fonksiyonları							
Ötiroid	38	95	20	100	58	96.7	p=0.596
Hipotiroid	1	2.5	0	0	1	1.7	p>0.05
Hipertiroid	1	2.5	0	0	1	1.7	p>0.05

**Tablo 3.** Grup 1 ve 2'deki olguların aile öykülerinin ani işitme kaybı açısından karşılaştırılması

	Gruplar				Toplam	
	Grup 1		Grup 2		Sayı	Yüzde
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde		
Aile öyküsü var	6	15	0	0	6	10
Aile öyküsü yok	34	85	20	100	54	90
<i>Toplam</i>	40	100	20	100	60	100

p=0.165; p&gt;0.05.

Nörootolojik açıdan tamamen sağlıklı bireylerden oluşan grup 2'deki kontrollerin tümünün işitmesi 0-20 dB arasındaydı. Grup 1'deki hastaların medikal tedavi öncesindeki odyometrik değerlendirmeleri ile grup 2'deki kontrollerin odyometrik değerlendirmeleri tablo 4'de özetlendi.

Grup 1'deki hastaların 33'ünde (%82.5) tedavi sonrasında nüks görülmezken; yedisinde (%17.5) tedaviyi takip eden bir yıl içinde nüks saptandı.

Grup 1'deki hastaların ve grup 2'deki kontrollerin periferik kan örneklerinin WFS1 ekson 8 ve konneksin 26, 30 ve 31 gen bölgelerinde heterozigot mutasyon açısından MLPA yöntemi kullanılarak yapılan analizlerinde iki grup arasında bir farklılık saptanmadı (sırasıyla, p=0.291, p>0.05). Grup 1'deki hastaların dördünde (%10) değerlendirilen hedef gen bölgelerinde heterozigot mutasyon saptandı; bu olguların ikisinde WFS1 ekson 8 (konneksin 30 proteininden sorumlu) bölgesinde; ikisinde ise WFS1 ekson 1 bölgesinde heterozigot mutasyon saptandı (Tablo 5).

### TARTIŞMA

İnsanlarda duyuusal bozukluklar içerisinde en sık rastlanılan işitme kaybıdır ve dünya nüfusunun yaklaşık %10'unu etkilemektedir. Kalıcı orta ve ağır derecede SNİK'nin prevalansının 1000 canlı doğumda bir ile üç arasında olduğu tahmin edilmektedir.<sup>[7]</sup> Literatürdeki İAİK'nin insidansı

**Tablo 4.** Grup 1'deki olguların tedavi öncesi odyolojik değerlendirme sonuçları ile grup 2'deki olguların odyolojik değerlendirme sonuçları

	Gruplar			
	Grup 1		Grup 2	
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
<i>Odyometri değerleri</i>				
Normal	0	0	20	100
Hafif	13	32.5	0	0
Orta	15	37.5	0	0
İleri	9	22.5	0	0
Total işitme kaybı	3	7.5	0	0
<i>Toplam</i>	40	100	20	100

üzerinde yapılan pek çok epidemiyolojik çalışma bulunmakla birlikte spontan düzelme oranının yüksek ve kayıtlara geçen olgu sayısının az olması nedeniyle gerçek insidansı tam olarak bilinmemekle birlikte Fetterman ve ark.nın<sup>[8]</sup> yaptıkları bir çalışmada İAİK'nin insidansının 5-20/100.000 arasında değiştiği bildirilmiştir. Otojik aciller arasında yer alan AİK en çok 4. dekatta ortaya çıkar, kadın ve erkeklerde eşit oranda görülür. Ani işitme kaybı olguların %90-98'inde tek taraflı olarak görülür; iki taraflı tutulum ise nadirdir.<sup>[9,10]</sup> Rauch'un<sup>[11]</sup> İAİK'li 7500 olgu üzerinde yaptığı çalışma hastalığın daha çok 43-53 yaş aralığında; kadın ve erkeklerde eşit olarak görüldüğünü ortaya koymuştur. Bu çalışmada 40 AİK'li hastanın yaş ortalaması 37.9±15.6 yıl ve kadın/erkek oranı 1.1 idi ve literatürdeki çalışmalar ile benzer sonuçlar göstermekte idi.

Ani işitme kaybının etyolojisi ve tedavisi, yıllardır süregelen bir tartışma konusu olmuştur. Bu konuda yayınlanan çok sayıda araştırmaya rağmen, dünyada kabul görmüş bir fikir birliği bulunmamaktadır. Etiyolojisinde birçok etmen bulunmasına ve tabloyu açıklamaya çalışan birçok fizyopatolojik senaryoya rağmen olguların çoğu idyopatik

**Tablo 5.** Olguların genetik mutasyonlar açısından dağılımı

	Gruplar				Toplam	
	Grup 1		Grup 2		Sayı	Yüzde
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde		
Genetik mutasyon (+)	4	10	0	0	4	6.7
Genetik mutasyon (-)	36	90	20	100	56	93.3
<i>Toplam</i>	40	100	20	100	60	100

p=0.291; p&gt;0.05.

olarak değerlendirilmektedir.<sup>[12]</sup> Geçen yüzyılda koklea fonksiyonunun fizyolojisini anlayabilmek için birçok çalışma yapılmasına karşın günümüzde iç kulak hastalıklarının tanı ve tedavisinde gerektiği kadar hızlı ilerleme gösterebilmek için yeterli bilgi bulunmamaktadır.<sup>[1,2]</sup>

İşitme kayıpları başladığı yaşa (pre- ya da postlingual), iletim tipine (sensörinöral ya da mikst), derecesine (hafif, orta, ağır ya da şiddetli) ve sendromik/nonsendromik olmasına göre sınıflandırılabilir. Kalıtsal işitme kayıpları; beraberinde başka bir bulgu olmaksızın saptandığında nonsendromik işitme kaybı olarak adlandırılır. Çocukluk çağı işitme kayıplarının yarısından fazlası kalıtsal nedenlere bağlıdır. Genetik işitme kayıplarının %70'ini nonsendromik (%22'sinde otozomal dominant, %77'sinde otozomal resesif, %1'inde X'e bağımlı ve %1'inden azında ise mitokondrial kalıtım söz konusudur), %30'unu ise sendromik işitme kayıplı olgular oluşturmaktadır. Son yıllarda işitme kayıplı olguların genetik haritalarının çıkartılması konusunda yapılan çalışmalarda büyük bir artış olmuştur. Bu çalışmaların sonucunda sendromik işitme kaybına neden olan 100, nonsendromik işitme kaybına neden olan 132'den fazla gen bölgesi tespit edilmiştir.<sup>[13,14]</sup> Günümüzde tek bir gendeki patolojinin de işitme kaybına neden olabileceği bilinmektedir. Nonsendromik işitme kayıplarının etyolojisinde rol oynayabileceği bildirilmiş olan ilk gen konneksin 26 (Cx26)'yı kodlayan GJB2 gap-junction proteindir. Konneksinler gap-junction proteinlerini kodlayan genler olup iç kulaktaki iyon dengesini sağlamaktan sorumludurlar ve dolaşımdaki kan hücreleri ve erişkin iskelet kası dışındaki memelilerin tüm dokularında yer alırlar. Konneksin 26 gap-junctionların oluşumunda rol oynayan proteinler ailesinin bir elemanıdır ve Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'da mutasyon sıklığı %10-60 arasında değişmektedir. İnsanda 22, farede ise 19 adet tanımlanmış konneksin genomu bulunmaktadır.<sup>[13]</sup> Konneksin 26'daki mutasyonlar kalıtsal işitme kayıplarının hem resesif DFNB1 (DFN: Deafness, B1: resesif) hem de dominant DFNA3 (DFN: Deafness, A3: Dominant) formlarından sorumludur. Konneksin 26'nın dışında yapılan çeşitli çalışmalarda Cx30, 31, 32 ve 43'ün işitme kayıpları ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir.<sup>[7]</sup> Konneksin 26 gibi Cx30, 31 ve 32'de kokleanın heterotipik iyon kanallarında yer almaktadır.<sup>[9,10,15]</sup> Lefebvre ve ark.<sup>[16]</sup> kokleada stria vascularis (stV), bazal membran (BM),

spiral limbus (Li) ve spiral ligament (SL) bölgelerinde Cx26, Cx30 ve diğer gap-junction fonksiyonlarını etkileyebilecek gen mutasyonlarının olduğunu göstermişlerdir. Vahava ve ark.<sup>[17]</sup> Cx26 geninin iç kulağın gelişiminde önemli rolü olmasının yanı sıra; gelişim sonrasında ortaya çıkan işitme kayıplarında da önemli bir rolünün olabileceğini göstermişlerdir. Balcı ve ark.nın<sup>[18]</sup> nonsendromik işitme kaybı olan hastalarda yaptıkları bir araştırmada tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de en yaygın görülen gen mutasyonunun GJB2 mutasyonu olduğunu bildirmişlerdir. Tekin ve Cin'in<sup>[19]</sup> GJB2 mutasyon prevalansını %1.8 olarak bildirdikleri toplam 256 nonsendromik işitme kayıplı olgu üzerinde yaptıkları çalışmada işitme kaybına başka hiçbir patolojik organ veya laboratuvar bulgusunun eşlik etmediği durumda etyolojisinde genetik nedenli işitme kayıplarının araştırılmasını gerektiğini savunmuşlardır. Diğer yandan Gürtler ve ark.nın<sup>[20]</sup> otozomal resesif nonsendromik işitme kayıplı toplam 32 hastada MLPA yöntemi ile Cx26, 30 ve 31 gen bölgelerinde yaptıkları bir araştırmada yapısal mutasyon (duplikasyon, delesyon vb) bildirilmemiştir. İsveç nüfusunda otozomal resesif nonsendromik işitme kayıplı olgularda sık görülen mutasyonlardan biri de bialelik Cx26 mutasyonudur. Bununla birlikte digenik ve nokta mutasyonları ile Cx30 ve 31 genlerinde geniş delesyon veya duplikasyonların bulunması ise son derece nadirdir. Gürtler ve ark.nın<sup>[20]</sup> İsveç'deki otozomal resesif nonsendromik işitme kayıplı hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada GJB6 tespit edilen tek patolojik delesyon olmuştur. Greinwald ve Hartnick<sup>[21]</sup> yaptıkları çalışmada elde ettikleri sonuçlar ışığında işitme kayıplarının etyolojisinde genetik faktörlerin önemli bir yeri olduğunu, bu olgularda işitme kaybının erken belirlenmesi ve aileye genetik danışmanlık verilmesinin önemini vurgulamışlardır.

Mutasyon analizinde MLPA tekniği yüksek bir performansa sahiptir. Bu teknik özellikle GJB6 mutasyonunun tespitinde son derece duyarlı bir testtir. İsveç nüfusuna ait nonsendromik işitme kayıplarında MLPA tekniği kullanılarak yapılan bir araştırmada yapısal mutasyonlara rastlanmazken, Brezilya nüfusunda yapılan bir başka araştırmada üçlü kombine konneksin gen mutasyonu bildirilmiştir.<sup>[22]</sup> Bu durum, resesif kalıtıldıkları halde genlerde heterozigot giden birden fazla mutasyonun varlığı ile kombine (ikili, üçlü) etki göstererek ani işitme kaybına neden

olabileceklerini göstermektedir. Bu çalışmada MLPA tekniği ile toplam 40 AİK'li hastada hedef GJB2-6 genleri genotiplendirildi. Araştırmada, diğer hedef genlerde yapısal bir mutasyon saptanmazken birinci derece akraba bireylerin dördünde (%10) WFS1 gen mutasyonu saptandı. Ancak çalışmamızın az sayıda olgu üzerinde yapılması nedeniyle, biz elde ettiğimiz sonuçların güvenilir olamayacağı kanısındayız.

Sonuç olarak, bu çalışmada ani işitme kaybı ile ilişkili olabileceği düşünülen GJB2 (Cx26), GJB6 (Cx30), GJB (Cx31) ve WFS1 (Wolframin1)'in frekans analizinin incelenmesi yapılarak Türk nüfusundaki AİK'nin moleküler patolojisi ortaya konmaya çalışıldı. Bu sayede elde edilen sonuçların hastalığın etyolojisindeki moleküler nedenlerin ortaya konması, tedavi yaklaşımlarının belirlenmesi ve genetik danışmanlık gibi konularda kulak burun boğaz hekimlerine yardımcı olabilmesi amaçlandı. Ayrıca bizim literatürde ulaştığımız çalışmalar içerisinde AİK'li hastalarda Cx26, 30 ve 31 genleri için spesifik mutasyonların prevalans oranlarının MLPA tekniği ile araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamızda bu genetik analizler sonucunda iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Ancak bu elde ettiğimiz sonuçların olgu sayımızın az olması nedeniyle güvenilir olamayacağı kanısındayız. Hastalığın nispeten az görülmesi, yüksek spontan geri dönüş nedeniyle hastaneye başvurunun düşük kalması gibi etkenler nedeniyle AİK tedavisi için yapılacak çalışmalar genelde az sayıda olgu üzerinde yapılabilmektedir. Bu nedenle çokmerkezli çalışmaların yapılması, daha fazla örnek sağlama ve elde edilen sonuçların daha anlamlı olması açısından önemlidir. Gelecekte kokleada stV, BM, Li ve SL bölgelerinde yer alan Cx26, Cx30 ve diğer gap-junction fonksiyonlarını etkileyebilecek gen mutasyonlarının araştırılmasında hem daha geniş çalışmalar kullanılmalı hem de AİK'li bireylerin aile fertlerinin de bu çalışmalara dahil edilmesi gerektiği kanısındayız.

#### KAYNAKLAR

1. Duckert LG. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear, and middle ear. In: Cummings CW, Frederickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schüller DE, editors. Otolaryngology head & neck surgery. 3rd ed. St. Louis: Mosby; 1998. p. 2533-46.
2. Shikowitz MJ. Sudden sensorineural hearing loss. Med Clin North Am 1991;75:1239-50.
3. Nomura Y. Diagnostic criteria for sudden deafness, mumps deafness and perilymphatic fistula. Acta Otolaryngol Suppl 1988;456:7-8.
4. Gürsan Ö, Akçay A. Ani işitme kayıpları. Türk ORL Arşivi 1992;30:17-9.
5. Moskowitz D, Lee KJ, Smith HW. Steroid use in idiopathic sudden sensorineural hearing loss. Laryngoscope 1984;94:664-6.
6. Lamm K, Lamm H, Arnold W. Effect of hyperbaric oxygen therapy in comparison to conventional or placebo therapy or no treatment in idiopathic sudden hearing loss, acoustic trauma, noise-induced hearing loss and tinnitus. A literature survey. Adv Otorhinolaryngol 1998;54:86-99.
7. Özkarataş H. İşitme kaybı ve genetik. In: Koç C, editör. Kulak burun boğaz hastalıkları ve baş ve boyun cerrahisi. Bölüm 4.4, 1. Baskı. Ankara: Güneş Kitapevi; 2004. s. 89-108.
8. Fetterman BL, Saunders JE, Luxford WM. Prognosis and treatment of sudden sensorineural hearing loss. Am J Otol 1996;17:529-36.
9. Vasama JP, Linthicum FH Jr. Idiopathic sudden sensorineural hearing loss: temporal bone histopathologic study. Ann Otol Rhinol Laryngol 2000; 109:527-32.
10. Lazarini PR, Camargo AC. Idiopathic sudden sensorineural hearing loss: etiopathogenic aspects. Braz J Otorhinolaryngol 2006;72:554-61.
11. Rauch SD. Intratympanic steroids for sensorineural hearing loss. Otolaryngol Clin North Am 2004; 37:1061-74.
12. Penido NO, Cruz OL, Zanoni A, Inoue DP. Classification and hearing evolution of patients with sudden sensorineural hearing loss. Braz J Med Biol Res 2009;42:712-6.
13. Lingala HB; Sankarathi, Penagaluru PR. Role of connexin 26 (GJB2) & mitochondrial small ribosomal RNA (mt 12S rRNA) genes in sporadic & aminoglycoside-induced non syndromic hearing impairment. Indian J Med Res 2009;130:369-78.
14. Jacobs HT, Hutchin TP, Käppi T, Gillies G, Minkkinen K, Walker J, et al. Mitochondrial DNA mutations in patients with postlingual, nonsyndromic hearing impairment. Eur J Hum Genet 2005;13:26-33.
15. Loughran S. Management of sudden sensorineural hearing loss: a consultant survey. J Laryngol Otol 2000; 114:837-9.
16. Lefebvre PP, Van De Water TR. Connexins, hearing and deafness: clinical aspects of mutations in the connexin 26 gene. Brain Res Brain Res Rev 2000; 32:159-62.
17. Vahava O, Morell R, Lynch ED, Weiss S, Kagan ME, Ahituv N, et al. Mutation in transcription factor POU4F3 associated with inherited progressive hearing loss in humans. Science 1998;279:1950-4.
18. Balcı B, Gündeşli H, Dinçer P. Popülasyonumuzdaki nonsendromik işitme kayıplarında 35delG mutasyonunun önemi. Hacettepe Tıp Dergisi 2006;37:89-92.
19. Tekin M, Cin Ş. İşitme kaybının genetik özellikleri. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2002;55:211-6.
20. Gürtler N, Egenter C, Bösch N, Plasilova M. Mutation

- analysis of the Cx26, Cx30, and Cx31 genes in autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment. *Acta Otolaryngol* 2008;128:1056-62.
21. Greinwald JH Jr, Hartnick CJ. The evaluation of children with sensorineural hearing loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;128:84-7.
22. de Oliveira CA, Alexandrino F, Christiani TV, Steiner CE, Cunha JL, Guerra AT, et al. Molecular genetics study of deafness in Brazil: 8-year experience. *Am J Med Genet A* 2007;143A:1574-9.