

Analysis of Gjb2 (Connexin 26) Mutation in Patients with Congenital Non-Syndromic Sensorineural Hearing Loss

Konjenital Non-Sendromik Sensorinöral İşitme Kayıplı Hastalarda Gjb2 (Konneksin 26) Mutasyon Analizi

Original Investigation
Özgün Araştırmalar

Emin Kaskalan¹, Ebru Etem Önalın², İrfan Kaygusuz³, Turgut Karlıdağ³, Erol Keleş³, Abdulvahap Akyığıt⁴, Şinasi Yalçın³

¹Clinic of Otolaryngology, Adıyaman University Training and Research Hospital, Adıyaman, Turkey

²Department of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, Fırat University, Elazığ, Turkey

³Department of Otorhinolaryngologic Diseases, Faculty of Medicine, Fırat University, Elazığ, Turkey

⁴Clinic of Otolaryngology, Elazığ Training and Research Hospital, Elazığ, Turkey

Abstract

Objective: This study was performed to investigate the GJB2 (connexin 26) gene mutations that are the most frequent cause of sensorineural deafness in patients with congenital non-syndromic sensorineural hearing loss in our region.

Methods: Sixty patients (35 (58.3%) male and 25 (41.7%) female) between the age of 2-43 years (12.11±9.03) diagnosed with congenital non-syndromic sensorineural hearing loss were included in the study. The control group consisted of 60 individuals with similar demographic features having no hearing problems. 35delG, 167delT, delE120 and 235delC of GJB2 gene mutations and GJB6 gene mutations, and the presence of new mutations were also investigated by analysis of DNA sequences in all individuals.

Results: Mutations were identified in 6 (10%) of the 60 patients in the study group. Five of these (8.3% of total)

had 35delG and one (1.7%) had a delE120. No mutation was detected in control group individuals. In the study group, a statistically significant correlation was determined between the presence of familial sensorineural hearing loss history and 35delG or delE120 mutation (p=0.011, p=0.034).

Conclusion: This is the first study which investigated the GJB2 gene mutation in our region, and our results indicate that 35delG mutation was the most frequent. We believe that our results are noteworthy for the identification of heterozygous or homozygous individuals and the genetic counseling of patients with congenital non-syndromic sensorineural hearing loss and their family.

Key Words: Congenital hearing loss, mutation, GJB2, 35delG, 167delT

Özet

Amaç: Bu çalışma, bölgemizde konjenital non-sendromik sensorinöral işitme kaybı olan hastalarda, işitme kaybına en sık neden olan GJB2 (konneksin 26) gen mutasyonlarını araştırmak amacıyla yapıldı.

Yöntemler: Konjenital non-sendromik sensorinöral işitme kaybı tanısı alan 2-43 (12.11±9.03) yaşları arasında 35 (%58.3) erkek ve 25 (%41.7) kadın olmak üzere 60 hasta alındı. Kontrol grubu ise işitme açısından tamamen normal olan benzer demografik verilere sahip, 60 olgudan oluşturuldu. GJB2 gen mutasyonlarından 35 delG, 167 delT, delE120, 235delC ile GJB6 gen mutasyonları ve tüm olgularda DNA dizi analizi yapılarak, yeni mutasyonların varlığı araştırıldı.

Bulgular: Çalışma grubundaki 60 hastanın 6'sında (%10) gen mutasyonu tespit edildi. Bunların beşinde (%8.3'ü) 35delG ve birinde (%1.7) delE120 mutasyo-

nuydu. Kontrol grubunu oluşturan olguların hiçbirinde gen mutasyonuna rastlanmadı. Çalışma grubundaki hastaların ailelerinde, sensorinöral işitme kaybı öyküsünün varlığı ile 35delG ve delE120 mutasyonu varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu belirlendi (p=0.011, p=0.034).

Sonuç: Bölgemizdeki GJB2 gen mutasyonlarının araştırıldığı ilk çalışma olan araştırmamızın sonuçlarına göre en sık 35delG mutasyonunu saptanmıştır. Konjenital non-sendromik sensorinöral işitme kayıplı hastalara ve onların ailelerine verilecek genetik danışmanlık ve heterozigot/homozigot bireylerin tanımlanması açısından elde ettiğimiz bulguların önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Konjenital işitme kaybı, mutasyon, GJB2, 35delG, 167delT

Devletleri'nde her 1000 doğumda 0.4-1.1 arasında; ülkemizde ise her 1000 doğumda 2 oranında rastlanmaktadır (1, 2).

Doğumsal işitme kayıpları, olguların yaklaşık yarısında genetik diğer yarısında ise çevresel faktör-



Address for Correspondence/Yazışma Adresi:
Abdulvahap Akyığıt, Clinic of Otolaryngology, Elazığ
Training and Research Hospital, Elazığ, Turkey
Phone: +90 424 233 33 44
E-mail: cerrah23@gmail.com
Received Date/Geliş Tarihi: 17.12.2013
Accepted Date/Kabul Tarihi: 28.01.2014

© Copyright 2014 by Official Journal of the Turkish
Society of Otorhinolaryngology and Head and
Neck Surgery Available online at
www.turkarchotolaryngol.net
© Telif Hakkı 2014 Türk Kulak Burun Boğaz ve Baş
Boyun Cerrahisi Derneği Makale metnine
www.turkarchotolaryngol.net web sayfasından
ulaşılabilir.
DOI:10.5152/tao.2014.277

Giriş

İşitme kaybı kişinin sosyal, eğitim ve zekâ gelişimini olumsuz yönde etkileyen; konuşma, ifade etme, kavrama ve psikososyal gelişiminde olumsuz değişikliklere neden olan durumlardan biridir. Doğumsal işitme kayıplarına, Amerika Birleşik

lere bağılı olarak oluşmaktadır (3). Genetik temeli kesin olarak belirlenmiş olgular ise sendromik ve non-sendromik sensorinöral işitme kayıpları (NSSNİK) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Non-sendromik sensorinöral işitme kayıpları'nın yaklaşık %80'i otozomal resesif, %15-20'si otozomal dominant, %1-2'si ise X'e bağılı kalıtım biçimi göstermektedir. Bunların yanı sıra etnik gruplara göre değişmekle birlikte, olguların %1-5 kadarında mitokondrial kalıtımın olduğu bildirilmiştir (4).

İşitme mekanizmasında etkin olan genlerin ürünleri arasında, iyon hemostazında görev alan "konneksin" proteinleri başta olmak üzere, transkripsiyon faktörleri, ekstraselüler matriks proteinleri, hücre iskeleti proteinleri ve fonksiyonu henüz tanımlanmamış olan birçok protein yer almaktadır (5).

Konneksin genlerinden, özellikle konneksin 26 (GJB2) ve daha az sıklıkla konneksin 30 (GJB6) ve 31 (GJB3) genlerindeki mutasyonlar NSSNİK önemli bir yere sahiptir (4).

GJB2 geni, küçük moleküllerin ve iyonların hücreler arasındaki difüzyonunu sağlayan "Gap Junction" kanallarının oluşumunda görevli, konneksin 26 (Cx26) proteinini kodlamaktadır (4, 6). Cx26 proteini işitme mekanizmasında işlevsel olan potasyum (K+) iyonlarının, tüy hücreleri ve endolenf sıvısı arasındaki hareketinde son derece önemli bir role sahiptir (4).

Otozomal resesif geçiş yapan NSSNİK'nın yaklaşık olarak %50'si, GJB2 geninde meydana gelen mutasyonlar sonucunda oluşmaktadır. GJB2 geninde şu ana kadar 90'ın üzerinde mutasyon tanımlanmıştır (7). Tanımlanan mutasyonlar arasında, arka arkaya gelen 6 guanin bazından birinin delesyonu sonucunda oluşan 35delG mutasyonunun, Akdeniz Bölgesi, Kuzey Amerika, Kuzey ve Güney Avrupa kökenli otozomal resesif kalıtılan işitme kayıplı olgularının, yaklaşık yarısından sorumlu olduğu saptanmıştır (4, 8). 35delG mutasyonunun yüksek oranda görülmesi, hem etkilenmiş bireylere, hem de genetik danışma açısından ebeveynlere (taşıyıcılık açısından) analiz yapılmasını gerekli kılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, bölgemizde konjenital NSSNİK olan olgularda görülen GJB2 gen mutasyonlarının sıklığını belirlemek ve GJB2 geninin bölgemizdeki yeni mutasyonlarını araştırmaktır.

Yöntemler

Çalışma ve Kontrol Grubu

Bu çalışma, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alınarak, Aralık 2009 ile Aralık 2010 tarihleri arasında kliniğimize başvuran; konjenital ve bilateral sensörinöral işitme kaybı (SNİK) tanısı alan 60 hasta ile kulak hastalıkları dışındaki bir sorunla polikliniğimize başvuran, odyolojik incelemede işitme açısından tamamen normal olan 60 olgu üzerinde yapıldı. Çalışmaya alınan tüm olgulara (18 yaşından küçüklerde velisinin onayı alınarak) çalışma hakkında, sözlü olarak bilgi verildi ve bilgilendirilmiş onam formu doldurularak izinleri alındı.

Çalışmaya alınan tüm olguların ayrıntılı öyküsü alınarak fizik muayeneleri yapıldı. Pediatrik yaş gurubundaki hastalar sendromik hastalıklar açısından değerlendirilmek üzere pediatri kliniğine konsülte edildi ve gerekli görülenlere ek testler (oftalmolojik değerlendirme, tiroid fonksiyon testleri, renal ultrasonografi ve elektrokardiyografi) yapıldı. Sendromik nedenli işitme azlığı saptananlar, çevresel faktörlere bağılı işitme azlığı geliştiği şüphesi ya da kanıtı olanlar, kronik otit ya da benzer hastalığa bağılı işitme kaybı gelişen hastalar çalışmaya alınmadı. Bu ve benzeri durumda olduğu saptanan hastalar çalışmadan çıkarıldı.

İşitmenin Değerlendirilmesi

Çalışmaya alınan olguların işitme düzeyleri saf ses odyogram, otoakustik emisyon ve uyarılmış işitsel beyinsapı cevabı (BERA) testlerinden biri veya birkaçı kullanılarak saptandı. Goodman sınıflamasına göre (8), orta ve üzeri derecede bilateral SNİK saptanan hastalar çalışmaya alındı.

GJB2 ve GJB6 Mutasyonlarının Belirlenmesi

Çalışma ve kontrol grubundaki olgulardan 3 mL periferik venöz kan alındı. Kan örnekleri DNA izolasyonu yapılmaya kadar +4°C'de saklandı ve daha sonra örnekler Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda gen mutasyonu analizine alındı.

DNA izolasyonu, üretici firmanın yöntemine uygun olarak hastaların periferik kan örneklerinden Wizard Genomik DNA izolasyon kiti (Promega Corp, Madison, USA) kullanılarak yapıldı. GJB2 mutasyonlarının belirlenmesi için restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP; restriction fragment length polymorphism) ve GJB6 mutasyonunun belirlenmesi için allel spesifik oligonükleotid polimeraz zincir reaksiyonu (ASO-PZR) yöntemi kullanıldı. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) işlemi sonrası oluşan ürünler mutasyon spesifik restriksiyon enzimleriyle su banyosunda 16 saat süreyle bekletildi. Kesim sonrası oluşan PZR ürünleri %3.5'lik jelde yürütüldü. Jel görüntüleme sisteminde ultraviyole ışık altında incelenerek, bant büyüklüklerine göre mutasyonlar tespit edildi (9-13).

GJB2 geninin dizi analizi işlemi ABI 310 DNA dizileme cihazı (Refgen, Ankara, Türkiye) kullanılarak yapıldı. Sonuçlar Fasta genom veri bankasıyla karşılaştırılarak mutasyonlar belirlendi.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel değerlendirmede, Windows için hazırlanmış SPSS 15,0 paket istatistik programı (SPSS Inc. Chicago IL, USA) kullanıldı. Parametreler arası ilişkilerin saptanmasında Pearson korelasyon analizi; olguların genotip ve allel sıklıklarının dağılımı için Ki-kare analizi ve gruplar arası farklılıkların değerlendirilmesinde Mann-Whitney U testi kullanıldı. Değerlendirmelerde p<0.05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya, 2-43 (12.11±9.03) yaşları arasında konjenital non-sendromik sensörinöral işitme kaybı tanısı alan 35 (%58.3) erkek ve 25 (%41.7) bayan olmak üzere 60 hasta alındı. Kontrol grubu

ise işitme açısından tamamen normal olan 8-50 (20.38±9.64) yaşları arasında 35 (%58.3) erkek ve 25 (%41.7) bayan olmak üzere 60 olgudan oluşturuldu (Tablo 1). İşitme kayıpları açısından bakıldığında çalışma grubundaki hastaların %3.3'ünde orta-ileri derecede, %40'ında ileri derecede ve %56.7'sinde ise çok ileri derecede işitme kaybı saptanmışken kontrol grubundaki tüm olguların işitmeleri normal olarak bulundu (Tablo 1). Çalışma ve kontrol gruplarındaki olgular işitme kaybı açısından, karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0.001$).

Çalışma grubundaki hastaların 11'inin (%18.3) ailesinde SNİK öyküsü varken, kontrol grubundaki olguların hiçbirinin ailesinde SNİK öyküsü saptanmadı. İki grup arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.001$).

Çalışma grubundaki hastaların altısında (%10), gen mutasyonu tespit edildi. Bunların beşinde 35delG (%8.3) ve birinde de (%1.7) delE120 gen mutasyonu saptandı. Kontrol grubunda ise, hiçbir olguda gen mutasyonuna rastlanmadı (Tablo 1). Çalışma grubunda beş hastada 35delG gen mutasyonu görülmesine rağmen, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, bu açıdan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p=0.057$). Otuz beş delG mutasyonu için yapılan PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforez fotoğrafı Şekil 1'de gösterilmiştir.

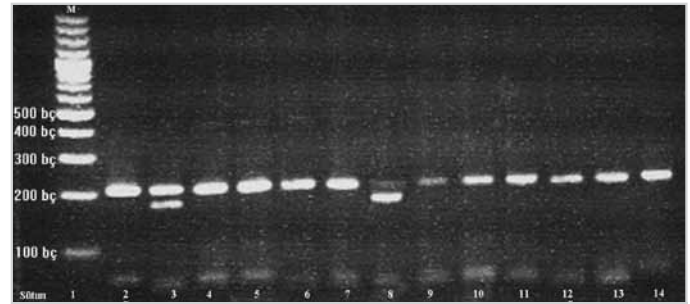
Çalışma grubundaki hastaların birinde (%1.7) delE120 mutasyonu (homozigot) bulunurken, kontrol grubundaki hastaların hiçbirinde delE120 mutasyonu bulunamadı. Gruplar arasında delE120 mutasyonunun görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ($p=1.000$). GJB2

Tablo 1. Olguların demografik özellikleri ve bulgular

Özellikler	Çalışma grubu	Kontrol grubu
<i>Olgu Sayısı (n)</i>	60	60
Cinsiyet		
Kadın	25 (%41.7)	25 (%41.7)
Erkek	35 (%58.3)	35 (%58.3)
Ortalama Yaş (Yıl±SD, yaş aralığı)	12.11±9.03 (2-43)	20.38±9.64 (8-50)
İşitme kaybının düzeyi		
Normal işitme (0-25 dB)	-	60 (%100)
Orta-ileri (56-70 dB)	2 (%3.3)	-
İleri (71-90 dB)	24 (%40.0)	-
Çok ileri (≥91 dB)	34 (%56.7)	-
GJB2 mutasyonları	6 (%10.0)	-
35delG	5 (%8.3)	-
delE120	1 (%1.7)	-
235delC	-	-
167delT	-	-
GJB6	-	-

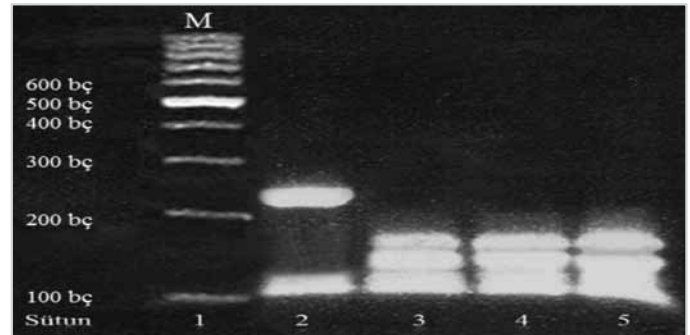
genindeki delE120 mutasyonu için yapılan PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforez fotoğrafı Şekil 2'de gösterilmiştir. GJB2 genindeki delE120 mutasyonu için yapılan DNA dizilemede, mutasyonun görülmediği bir hastanın DNA dizilimi Şekil 3'te; delE120 homozigot mutasyonu görülen hastanın DNA dizilimi ve mutasyonun yeri ise Şekil 4'de gösterilmiştir. Çalışma ve kontrol gruplarındaki tüm olgular 235delC, 167delT, GJB6 mutasyonları açısından da incelenmiş, ancak hiçbir olguda bu mutasyonlara rastlanmamıştır.

Çalışma grubunda, ailelerinde SNİK öyküsü olanlar ile 35delG mutasyonu arasındaki ilişki incelendiğinde; ailelerinde SNİK



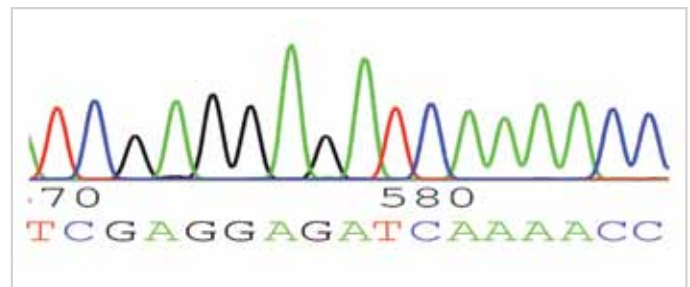
Şekil 1. Otuz beş delG mutasyonu için yapılan PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. (Sütun 1'de 100bç'lik DNA boyut markırı, sütun 2'de vahşi tip allel (234 bç), sütun 3'de heterozigot mutasyon (234bç+211bç+23bç) ve sütun 8'de homozigot mutasyon (211bç+23bç) görülmektedir)

PZR: polimeraz zincir reaksiyonu

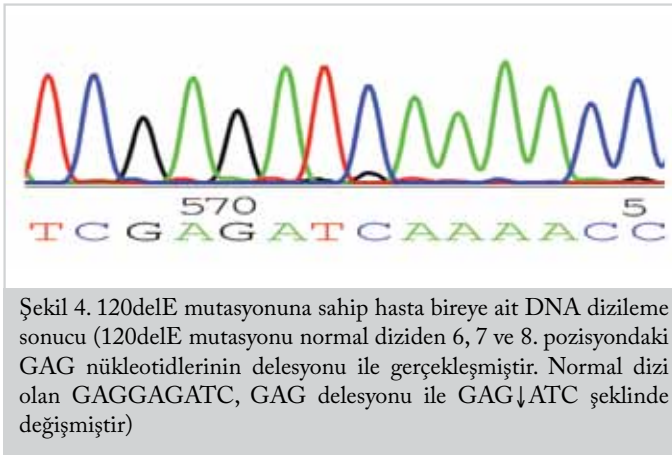


Şekil 2. delE120 mutasyonu için yapılan PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü (Sütun 1'de 100bç'lik DNA boyut markırı, sütun 2'de 120delE homozigot mutasyonu (243bç) ve diğer sütunlerde (3-6) vahşi tip allel (127bç+116bç) görülmektedir)

PZR: polimeraz zincir reaksiyonu



Şekil 3. 120delE için vahşi tip bir örneğe ait DNA dizileme sonucu



öyküsü olanların %27.3'ünde 35delG mutasyonu tespit edilirken, ailelerinde SNİK öyküsü olmayanlarda bu oran %4.1 olarak bulundu. Çalışma grubunda, ailelerinde SNİK öyküsü olanlar ile delE120 mutasyonu arasındaki ilişki incelendiğinde; ailelerinde SNİK öyküsü olanların %9.1'inde delE120 mutasyonu tespit edildi.

Çalışma grubundaki hastalarda, 35delG ve delE120 mutasyonları varlığı ile işitme bulguları ve cinsiyetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilemedi ($p>0.05$). Çalışma grubundaki hastaların ailelerinde SNİK öyküsünün varlığı ile 35delG mutasyonu varlığı arasında pozitif yönde zayıf bir ilişki ($r=0.325$; $p=0.011$) tespit edildi. Benzer şekilde ailede SNİK öyküsünün varlığı ile delE120 mutasyonu varlığı arasında da pozitif yönde zayıf bir ilişki ($r=0.275$; $p=0.034$) bulundu.

Tartışma

Genetik nedenli işitme kayıplarının yaklaşık %70'ini non-sendromik, %30'unu ise sendromik işitme kayıpları oluşturmaktadır (14). Otozomal resesif NSSNİK'nın klinik seyirleri genellikle prelingual başlangıçlı, progresif olmayan ve ağır işitme kayıpları şeklindedir. Otozomal dominant NSSNİK'nın ise genellikle post-lingual başlangıçlı, progresif, orta-ağır işitme kaybı olarak görülmektedir (4). Non-sendromik sensorinöral işitme kayıplarının yaklaşık %50'sini GJB2 mutasyonları oluşturmaktadır. Konneksin 26 proteininin ekspresyonunu kodlayan GJB2 geninde oluşan mutasyonların, K^+ iyonlarının endolenfe geri dönüşümünü bozduğu ve korti organında ilerleyici hasara yol açtığı bildirilmiştir (15).

GJB2 mutasyonları toplumun etnik kökenine bağlı olarak, belirgin bir şekilde değişmektedir. Bu gendeki en sık görülen mutasyon 35delG'dir. Avrupa, Kuzey Amerika ve Akdeniz toplumlarında görülen patolojik GJB2 mutasyonlarının yaklaşık %70'ini 35delG oluşturmaktadır (16). Ülkemizde de farklı şehirlerde 35delG mutant allel görülme oranının %5 ile %53 arasında değiştiği bildirilmiştir (17, 18). Yapılan çalışmalarda 35delG dışında başka etnik gruplarda yüksek frekanslı GJB2 mutasyonları da bulunmuştur. Bunlar arasında Aşkenazi Yahudilerinde 167delT, uzak doğuda özellikle Japon toplumunda 235delC ve Afrikalılarda R143W mutasyonları sayılabilir (19-21). Biz de çalışma-

mızda, GJB2 genindeki 35delG, 167delT, delE120, 235delC mutasyonları ile GJB6 genindeki mutasyonları araştırdık.

Dünyada farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda, 35delG homozigot mutasyonu farklı oranlarda saptanmıştır. Hatta aynı ülkede, farklı popülasyonlar arasında yapılan çalışmalarda bile çok büyük farklar ortaya çıkabilmektedir. Minarik ve ark. (22) tarafından yapılan çok merkezli bir çalışmada, homozigot 35delG mutasyonunun Doğu Slovakya Roman popülasyonunda %1.9, Slovakya'da ise %40 oranında olduğunu bulunmuştur. Bazı çalışmalarda ise homozigot 35delG mutasyonuna rastlanmadığı bildirilmiştir (4, 23). Tekin ve ark. (18), ülkemizde Ankara, Afyon, Amasya ve Denizli illerinde işitme engelliler okullarında eğitim gören prelingual başlangıçlı NSSNİK'lı hastaların %15'inde homozigot 35 delG mutasyonu, %7.81'inde ise heterozigot 35 delG mutasyonu saptandığını bildirmişlerdir. Kalay ve ark. (24), çalışmalarında %21.5 homozigot, %4.3 heterozigot 35delG mutasyonu rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise hastaların %8.3'ünde 35delG mutasyonu tespit edilmiştir. 35delG mutasyonu tespit edilen bu hastaların üçünde (%4.98) homozigot mutasyon saptanırken, ikisinde (%3.32) heterozigot mutasyon bulunmuştur. Bizim çalışmamızda, ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla kıyaslandığında, 35 delG mutasyonları açısından daha düşük mutasyon oranları bulunmuştur. Literatürde de görüldüğü gibi bölgeler ve toplumlar arasında 35delG mutasyonu görülme sıklığı farklılıklar göstermektedir.

GJB2 geninde 35delG mutasyonu her iki allelde mutant olduğu durumda SNİK'e neden olmaktadır. Ailesel otozomal resesif kalıtım kalıbına uyan NSSNİK'lı hastalarda 35delG homozigot mutasyon oranı %17.5-21.7 arasında; heterozigot mutasyonu oranı ise %1.9-4.3 arasında rapor edilmiştir (18, 25, 26). Araştırmamızdaki çalışma grubundaki hastaların soy geçmişlerine bakıldığında hastaların %18,3'ünün ailesinde, en az bir bireyde daha konjenital NSSNİK varlığı saptanmıştır. Ailede SNİK öyküsü ile 35delG mutasyonu arasındaki ilişki incelendiğinde; ailelerinde SNİK öyküsü olanların %27.3'ünde 35delG mutasyonu (%18.1 homozigot, %9.2 heterozigot) tespit edilirken, ailelerinde SNİK öyküsü olmayanlarda bu oran %4.1 olarak bulunmuştur. Bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. 35delG homozigot mutasyonu ailesel otozomal resesif NSSNİK'lı hastalarda %18.1 oranında saptanmıştır ve bu oran çalışma grubunun genel mutasyon oranına (%8.3) göre daha yüksek bir değerdir. Bu sonuç, literatürle uyumlu olarak NSSNİK'lı hastalarda aile öyküsünün önemli olduğunu göstermektedir. 35 delG mutasyonunun taşıyıcılık oranlarının dünyanın farklı bölgelerinde %0-4 arasında olduğu saptanmıştır (7). Ülkemizde ise bu oranın farklı çalışmalarda %0.8 ile %2.7 arasında değiştiği bildirilmiştir (7, 25, 26). Bizim çalışmamızda yer alan kontrol grubundaki 60 hastanın hiçbirinde mutant allel izlenmemiştir. Bu sonuç bölgeler arası farklılığa ya da kontrol grubumuzda incelenen hasta sayısının az olmasına bağlı olabilir.

Aşkenazi Yahudilerinde en sık (%84) görülen ve tek bir kökenden ortaya çıktığı düşünülen 167delT mutasyonunda taşıyıcılık

oranı %4.03 olarak rapor edilmiştir (19, 27). Ülkemizde yapılan bir çalışmada 167delT mutasyonuna bir allelde (%0.3) rastlandığı bildirilmiştir (17). Aşkenazi Yahudi toplumu dışında nadir görülen bu mutasyona bizim çalışmamızda da rastlanmamıştır.

Konneksin 26 geninde 120. pozisyonadaki glutamin amino asidinin delesyonu sonucu oluşan delE120 mutasyonu çalışmamızda araştırılan bir diğer mutasyondur. Ülkemizde bu mutasyonun %1.07- 1.66 arasında görüldüğü bildirilmiştir (18, 24, 25). Bizim çalışmamızda, çalışma gurubunda yer alan bir hastada (%1.66) homozigot delE120 mutasyonu tespit edilirken kontrol gurubunda delE120 mutasyonu saptanmamıştır. Bizim sonuçlarımız da literatürle uyumludur. Çalışma gurubunda delE120 mutasyonu tespit edilen hastada, aile öyküsünün de pozitif olduğu görülmüştür. Çalışma grubunda, ailelerinde NSSNİK öyküsü ile delE120 mutasyonu arasındaki ilişki incelendiğinde; ailelerinde konjenital NSSNİK öyküsü olan 11 hastanın birinde (%9.1) delE120 mutasyonu tespit edilirken, ailelerinde NSSNİK öyküsü olmayanların hiçbirinde delE120 mutasyonu saptanmamıştır (p=0.034).

Japonya'da konjenital NSSNİK'lı hastalarda 235delC mutasyonuna yüksek oranlarda (%44.8) rastlanmıştır. 235delC mutasyonu, 235. pozisyonadaki sitozin amino asidinin delesyonuna bağlı çerçeve kayması şeklinde oluşmaktadır (20). Bizim çalışmamızda olduğu gibi ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda da 235delC mutasyonuna rastlanmamıştır (24-26). Türkiye'de yapılan çalışmalarda, konjenital NSSNİK'lı hastalarda del (GJB6-D13S1830) mutasyonları bildirilmemiştir (24, 25). Ülkemizdeki çalışmalarda uyumlu olarak, bizim çalışmamızda da GJB6 mutasyonu saptanmamıştır.

Bu çalışma GJB2 geni mutasyonlarının araştırıldığı yöremizdeki ilk çalışmadır. Sonuçlarımız genel olarak Türkiye ortalamasının altında bulunmuştur. Bu durum mutasyon oranlarının bölgele göre farklılık göstermesi ile açıklanabilir. Çalışmanın kısıtlılıkları ise hasta sayısının az olması ve bu bölgedeki mutasyon oranlarını karşılaştırabileceğimiz eski verilerin olmamasıdır. Bu nedenle bölgemizde daha geniş bir hasta serisi ile bu çalışma desteklenmelidir.

Sonuç

Genetik hastalıklar hakkında toplumsal bilincin artması, işitme kayıplı hasta ve ailelerinin hastalığın genetik sebepleri için yapılan testlere katılımını da arttıracaktır. Hasta tabanlı genetik danışmanlık, işitme kaybının etyolojisinin belirlenmesinde, genetik testlerle heterozigot ve homozigot bireylerin tanımlanmasında son derece önemlidir. Bu bireylerin tanınması ile GJB2 geni mutasyonu taşıyıcısı olanlara muhtemel gebeliklerindeki riskler, gebelik öncesi ve sonrasında yapması gerekenler, hastalığının seyri, tedavi yöntemleri ve bunların sonuçları konusunda genetik danışmanlık hizmeti verilebilir.

Ethics Committe Approval: Ethics committee approval was received for this study from the ethics committee of Elazığ Cli-

nical Investigation of General Directorate for Pharmaceuticals and Pharmacy in 2009.

Informed Consent: Written informed consent was obtained from parents of the patients who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - E.K., E.Ö.; Design - E.K., E.Ö.; Supervision - E.K., İ.K.; Funding - E.K., E.Ö.; Materials - E.K., E.Ö.; Data Collection and/or Processing - E.K., E.Ö.; Analysis and/or Interpretation - E.K., E.Ö.; Literature Review - E.K., E.Ö.; Writing - E.K., E.Ö.; Critical Review - E.K., İ.K.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: This study was supported by the Department of Scientific Research Projects of Fırat University.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı T.C Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü Elazığ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 2009 yılında alınmıştır.

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastaların ebeveynlerinden alınmıştır.

Hakem değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - E.K., E.Ö.; Tasarım - E.K., E.Ö.; Denetleme - E.K., İ.K.; Kaynaklar - E.K., E.Ö.; Malzemeler - E.K., E.Ö.; Veri toplanması ve/veya işlemesi - E.K., E.Ö.; Analiz ve/veya yorum - E.K., E.Ö.; Literatür taraması - E.K., E.Ö.; Yazıyı yazan - E.K., E.Ö.; Eleştirel İnceleme - E.K., İ.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek: Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

1. Marazita ML, Ploughman LM, Rawlings B, Remington E, Arnos KS, Nance WE. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the U.S. school-age population. *Am J Med Genet* 1993; 46: 486-91. [CrossRef]
2. Kenneson A, Van Naarden Braun K, Boyle C. GJB2 (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: A huge review. *Genet Med* 2002; 4: 258-74. [CrossRef]
3. Van Camp G, Willems PJ, Smith RJ. Nonsyndromic hearing impairment: unparalleled heterogeneity. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 758-64.
4. Petersen MB, Willems PJ. Non-syndromic, autosomal-recessive deafness. *Clin Genet* 2006; 69: 371-92. [CrossRef]

5. Kelsell DP, Dunlop J, Stevens HP, Lench NJ, Liang JN, Parry G, et al. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. *Nature* 1997; 387: 80-3. [\[CrossRef\]](#)
6. Sundstrom RA, Van Laer L, Van Camp G, Smith RJ. Autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *Am J Med Genet* 1999; 89: 123-9. [\[CrossRef\]](#)
7. Gasparani P, Rabionet R, Barbujani G, Melchionda S, Petersen P, Brondum-Nielson K, et al. High carrier frequency of the 35 delG deafness mutation in European populations. *Eur J Hum Genet* 2000; 8: 19-23. [\[CrossRef\]](#)
8. Goodman A. Reference zero levels for pure tone audiometers. *ASHA* 1965; 7: 262-3.
9. Storm K, Willcox S, Flothmann K, Van Camp G. Determination of the carrier frequency of the common GJB2 (Connexin 26), 35delG mutation in the Belgian population using an easy and reliable screening method. *Hum Mutat* 1999; 14: 263-6. [\[CrossRef\]](#)
10. Simsek M, Al-Wardy N, Al-Khabory M. Seminested PCR test for simultaneous detection of two common mutations (35delG and 167delT) in the connexin-26 gene. *Mol Diagn* 2001; 6: 63-7. [\[CrossRef\]](#)
11. Tang HY, Xia A, Oghalai JS, Pereira FA, Alford RL. High frequency of the IVS2-2A>G DNA sequence variation in SLC26A5, encoding the cochlear motor protein prestin, precludes involvement in hereditary hearing loss. *BMC Med Genet* 2005; 6: 30. [\[CrossRef\]](#)
12. Cordeiro-Silva MF, Barbosa A, Santiago M, Proveti M, Dettogni RS, Tovar TT, et al. Mutation analysis of GJB2 and GJB6 genes in Southeastern Brazilians with hereditary nonsyndromic deafness. *Mol Biol Rep* 2010; 8: 1309-13.
13. Gazzaz B, Weil D, Rais L, Akhyat O, Azeddoug H, Nadifi S. Autosomal recessive and sporadic deafness in Morocco: high frequency of the 35delG GJB2 mutation and absence of the 342-kb GJB6 variant. *Hear Res* 2005; 210: 80-4. [\[CrossRef\]](#)
14. Kalatzis V, Petit C. The fundamental and medical impacts of recent progress in research on hereditary hearing loss. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1589-97. [\[CrossRef\]](#)
15. Lefebvre PP, Van De Water TR. Connexins, hearing and deafness: clinical aspects of mutations in the connexin 26 gene. *Brain Res Rev* 2000; 32: 159-62. [\[CrossRef\]](#)
16. Scott DA, Kraft ML, Carmi R, Ramesh A, Elbedour K, Yairi Y, et al. Identification of mutations in the connexin 26 gene that cause autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *Hum Mutat* 1998; 11: 387-94. [\[CrossRef\]](#)
17. Tekin M, Duman T, Bogoclu G, Incesulu A, Comak E, Ilhan I, et al. Spectrum of GJB2 mutations in Turkey comprises both Caucasian and Oriental variants: roles of parental consanguinity and assortative mating. *Hum Mutat* 2003; 21: 552-3. [\[CrossRef\]](#)
18. Tekin M, Bogoclu G, Arican ST, Orman MN, Tastan H, Elsayed S, et al. Evidence for single origins of 35delG and delE120 mutations in the GJB2 gene in Anatolia. *Clin Genet* 2005; 67: 31-7. [\[CrossRef\]](#)
19. Morell RJ, Kim HJ, Hood JL, Goforth L, Friderici K, Fisher R, et al. Mutation in the connexin 26 gene (GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness. *New Eng J Med* 1998; 19: 1500-5. [\[CrossRef\]](#)
20. Kudo T, Ikeda K, Kure S, Matsubara Y, Oshima T, Watanabe Ki, et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) responsible for childhood deafness in the Japanese population. *Am J Med Genet* 2000; 90: 141-5. [\[CrossRef\]](#)
21. Kudo T, Ikeda K, Oshima T, Kure S, Tammasaeng M, Prasansuk S, et al. GJB2 (Connexin 26) mutations and childhood deafness in Thailand. *Otol Neurotol* 2001; 22: 855-61. [\[CrossRef\]](#)
22. Liu XZ, Xia XJ, Xu LR, Pandya A, Liang CY, Blanton SH, et al. Mutations in connexin 31 underlie recessive as well as dominant nonsyndromic hearing loss. *Hum Mol Genet* 2000; 1: 63-7. [\[CrossRef\]](#)
23. Liu XZ, Walsh J, Mburu P, Kendrick-Jones J, Cope MJ, Steel KP, et al. Mutations in the myosin VIIA gene cause non-syndromic recessive deafness. *Nat Genet* 1997; 16: 188-90. [\[CrossRef\]](#)
24. Kalay E, Caylan R, Kremer H, Brouwer APM, Karagüzel A. GJB2 mutations in Turkish patients with ARNSHL: prevalence and two novel mutations. *Hear Res* 2005; 203: 88-93. [\[CrossRef\]](#)
25. Uyguner O, Emiroglu M, Uzumcu A, Hafiz G, Ghanbari A, Baserer N, et al. Frequencies of gap- and tight-junction mutations in Turkish families with autosomal-recessive non-syndromic hearing loss. *Clin Genet* 2003; 64: 65-9. [\[CrossRef\]](#)
26. Bayazit YA, Cable BB, Cataloluk O, Kara C, Chamberlin P, Smith RJ, et al. GJB2 gene mutations causing familial hereditary deafness in Turkey. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2003; 67: 1331-5. [\[CrossRef\]](#)
27. Zelante L, Gasparini P, Estivill X, Melchionda S, D'Agruma L, Govea N, et al. Connexin26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1605-9. [\[CrossRef\]](#)