

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ
KESİN RAPORU

Proje Başlığı

**GJB2 GENİNDE 35DELG MUTASYONU OLANLARDA AİLE İÇİ VE AİLELER ARASI
İŞİTME KAYBI DEĞİŞKENLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Proje Yürütücüsü

Suna YILMAZ

Yardımcı Araştırmacılar

Mustafa TEKİN

Aysen KÖSE

S. Kenan KÖSE

Proje Numarası

08B3630001

Başlama Tarihi

01 / 02 / 2008

Rapor Tarihi

18 / 10 / 2011

Kabul Tarihi

18 / 01 / 2012

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Ankara - 2011

I. Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve Özetleri

GJB2 Geninde 35delG Mutasyonu Olanlarda Aile İçi ve Aileler Arası İşitme Kaybı Değişkenliğinin Araştırılması

The investigation of intrafamilial and interfamilial hearing loss variability who have 35delG mutations in GJB2 Gene

Türkçe Özet: İşitme kaybı 1000 yenidoğanda 1-2 insidans ile toplumlarda en sık karşılaşılan duyu bozukluğudur. İşitme kaybının derecesi çok hafiften çok ileri dereceye değişebildiği gibi tek taraflı veya çift taraflı olarak da değişkenlik gösterebilir. Oluşum nedenine göre ise işitme kayıpları genetik ve çevresel nedenli olarak sınıflandırılmaktadır. Bugün 70'den fazla gendeki mutasyonların işitme kaybı ile sonuçlandığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalar farklı toplumlarda işitme kayıplarının genetik nedenlerinin farklı olduğunu göstermektedir ve bu nedenle de Türkiye' de *GJB2* gen mutasyonlarının araştırılması büyük önem taşımaktadır.

GJB2 geninde aynı mutasyonları taşıdığı halde hastalar arasında işitme derecesi açısından belirgin farklılıklar olmaktadır. Çalışmamızda *GJB2* geninde homozigot 35delG mutasyonu bulunan kişilerde işitme kaybının dereceleri hesaplanarak, bu dağılımın aileler arasındaki dağılıma göre farklı olup olmadığı incelenmiştir. Aile içi etki aileler arası etkiye göre işitme kaybı derecelerini daha fazla etkilemiştir. Buna göre *GJB2* geni mutasyonlarının işitsel fenotipe yansımalarının genetik faktörlerle modifiye edildiğini söylemek mümkündür.

Abstract: Hearing loss is the sensation disorder with 1-2 incidence in 1000 newborns. Hearing loss degree can change from mild to profound as vary in monaural or binaural. Hearing disorders are classified to reason for becoming according to genetic or environmentally caused. Today, it is known that mutations more than 70 genes resulted in the hearing loss. Studies Show

that the genetic causes of the hearing loss are different in different populations and for this reason it is very important to investigate mutations in GJB2 gene in Turkey.

Although GJB2 gene having the same mutations, there are significant differences between patients in terms of the degree of hearing. In our study, degree of hearing loss in individuals with homozygous 35delG mutation in GJB2 gene being evaluated, whether there is a difference between this distribution and the intrafamilial distribution is examined. Rather than intrafamilial effect, the degrees of hearing loss have been influenced much more by the interfamilial effect. Accordingly, it is possible to say that auditory reflection of the phenotype of mutations in GJB2 gene has been modified by genetic factors.

II. Amaç ve Kapsam

Bu çalışmanın amacı *GJB2* geninde homozigot 35delG mutasyonu olan kişilerde işitme kaybının derecesini ve diğer özelliklerini değerlendirerek aile içi ve aileler arası değişkenliğin derecesini saptamaktır. 35delG homozigot olanlarda işitme kaybının değişken olduğu daha önce gösterilmiş olmakla birlikte (Snoeckx ve ark.(2005) tarafından yapılan uluslararası bir araştırmada 889 35delG homozigot bireyde saf ses ortalamalarının değişkenliği çok net olarak tanımlanmıştır) bunun nedeninin ne olduğunu gösteren bir araştırma bulunmamaktadır. Bu araştırma ilk kez 35delG homozigotların işitme kaybı değişkenliğinde, genetik faktörlerin rolünü ortaya koymaktadır.

III. Materyal ve Yöntem

Bugüne kadar yaptığımız çalışmalarda klinik olarak sendromik olmayan işitme kaybı olduğu saptanmış ve yapılan DNA analizleri sonucunda *GJB2* geninde 35delG mutasyonu homozigot olan 66 aile bulunmuştur. Bu aileler telefon ile çağrılarak işitsel özellikleri değerlendirilmiştir.

GJB2 geninde 35delG mutasyonu homozigot olan toplam 52 aile çalışmaya dahil edilmiştir.

Ailelere göre işitme kaybından etkilenen birey sayısı aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 1. Ailelere göre etkilenen birey sayısı

	Aile sayısı	İşitme kaybı olan birey sayısı
	27 aile	2
	21 aile	1
	2 aile	4
	2 aile	3
Toplam	52 aile	89

Genotip-fenotip ilişkisini saptamak üzere yaptığımız çalışmaya katılan bireyler 35 i kadın (%39,3) 54 ü erkek (% 60,7) olmak üzere toplam 89 olgudan oluşmaktadır. Tüm bireylerin ortalama yaşı 15 iken en küçük yaşın 1 en büyük yaşın 69 olduğu görülmektedir. İşitsel değerlendirme aşağıdaki işlemleri içermiştir;

- 1- Klinik muayene
- 2- Odyometrik ölçümler (Saf ses hava-kemik yolu işitme eşikleri, konuşmayı anlama ve ayırt etme testleri)
- 3- İmpedansmetrik ölçüm (orta kulak basıncı ve akustik reflekslerin ölçümü)
- 4- Otoakustik Emisyon Ölçümleri (sadece çok hafif ve hafif derecede işitme kaybı olanlarda)
- 5- Beyin sapı odyometrisi (BERA) ölçümleri

IV. Analiz ve Bulgular

İstatistiksel analiz: Tüm bireylerin aile içi ve aileler arası korelasyonlarının işitme eşiği ortalamalarına olan etkisi konusundaki istatistiksel analizler SAS paket programında yapılmıştır. Değerlendirmelerde aile içi korelasyon katsayıları (ICC) hesaplanmış ve test edilmiştir. Ayrıca akrabalık ve anne-babanın işitme kayıplı olup olmamasına göre karşılaştırmalar bağımsız örneklerde t testi ve frekanslara göre etkiler tekrarlı ölçümlerde iki yönlü varyans analizi ile değerlendirildi. Anlamlılık sınırı 0.05 olarak alındı.

Bulgular: 52 ailenin % 25.8' inde anne ve/veya babada işitme kaybı olduğu gözlenmiştir. 52 ailenin % 41,6' sında akraba evliliğinin mevcut olduğu görülmektedir. İşitme eşiği derecelerinin cinsiyetten etkilenmediği görülmüştür. Sağ, sol kulaktaki işitme eşiği ortalamaları arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmemiştir.

GJB2 geni mutasyonundan bağımsız olarak nöropati yapabilen bir mutasyonun olabileceği ve bunun da işitme kaybı derecesini etkileyebileceği bilinmektedir (1). Bir miktar işitme kaybı ile birlikte ya da işitme kaybı olmadığı halde işitsel nöropati bulunması sebebiyle tüm bireylerin otoakustik emisyon ölçümleri ile beyinsapı cevabı (BAER) ölçümleri yapılmıştır. İşitsel nöropati bulgusu otoakustik emisyon ölçümünden cevap alınabildiği halde beyinsapı cevabı (BAER) cevabının bozulmuş olması ya da cevap elde edilememesidir. Çalışmamızda hem otoakustik emisyon ölçümlerinden hem de beyinsapı cevabı (BAER) ölçümlerinde (90 dB'de clik uyarana) cevap gözlenmemiştir. Bu nedenle çalışmamıza katılan 52 ailenin 89 bireyinde işitsel nöropatiyi destekleyecek bir bulgu elde edilmemiştir.

Tüm bireylerin aile içi ve aileler arası korelasyonlarının işitme eşiği ortalamalarına olan etkisi incelendiği zaman; aile içinin işitme eşiği ortalamalarına etkisinin istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) görülmüştür (Tablo 2).

Tablo 2. Tüm bireylere ait aile içi korelasyonlar.

ICC (interclass correlation coefficient)	Standart Error (SE)	P
0,316	0,144	0,0328*

* $p < 0,05$

Anne ve/veya babanın işitme kayıplı olması ve akraba evliliği için düzeltme yapılarak aile içi ve aileler arası korelasyonlar hesaplanmıştır. Etkilenen bireylerin anne ve/veya babasının işitme kayıplı olması durumu incelendiği zaman anne ve/veya babada işitme kaybı yoksa aile içi etkinin istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) olduğu, anne ve babada işitme kaybı varsa aile içi etkinin anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) bulunmuştur (Tablo3).

Tablo 3. Anne ve/veya babadaki işitme kaybının aile içi korelasyonları (* $p < 0,05$)

Anne ve/veya babada işitme kaybı	ICC	Standart Error (SE)	P
Yok	0,425	0,153	0,0083*
Var	0,0001	0,0007	0,9999

Akraba evliliğinin etkisi incelendiğinde; akraba evliliği olan ailelerde aile içinin işitme eşiği derecelerine olan etkisi istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$), akraba evliliği olmayan ailelerde ise bu etkinin anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Akraba evliliğinin aile içi korelasyonları.

Akraba evliliği	ICC	Standart Error (SE)	P
Yok	0,170	0,178	0,3464
Var	0,512	0,186	0,0122*

* $p < 0,05$

V. Sonuç ve Öneriler

Aile içinin tüm bireylerin işitme eşiği derecelerine olan etkisi incelendiğinde; aile içi etkinin ön plana çıktığı görülmektedir. Bir başka deyişle aile içi etkinin işitme kaybı derecesini arttırdığı belirlenmiştir. Ayrıca akraba evliliğinin olması aile içi korelasyonu artırıcı bir unsurdur. İşitme kayıplarına ilişkin çalışmalarda çevresel etkiler ile birlikte genetik etkilerin de önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

VI. Kaynaklar

1. Cheng X, Li L, Brashears S, Morlet T, Ng SS, Berlin C, Hood L, Keats B, “Connexin 26 Variants and Auditory Neuropathy/Dys-Synchrony Among Children in Schools for The Deaf”. *American Journal of Medical Genetics*, 2005; 139A:13-18.
2. Hişmi, BÖ, Yılmaz, ST, Incesulu, A, Tekin, M, “Effects of GJB2 Geneotypes on The Audiological Phenotype: Variability is Present For All Genotypes”, *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 2006;70 (10),1687-1694.
3. Kalatsiz V, Petit C, “The Fundamental and Medical Impacts of Recent Progress in Research on Hereditary Hearing Loss”. *Human Molecular Genetics*, 1998;7 (10),1589-97.
4. Keats BJB, Berlin CI, “Genomics and Hearing Impairment”. *Genome Research*, 1999; 7-16.
5. Morton NE, “Genetic Epidemiology of Hearing Impairment”. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1991; 630, 16-31.
6. Norris VW, Arnos KS, Hanks WD, Xia X, Nance WE, Pandya A. Does universal newborn hearing screening identify all children with GJB2 (Connexin 26) deafness? Penetrance of GJB2 deafness. *Ear Hear.* 2006 Dec; 27(6):732-41.
7. Resendes, BL, Williamson, R.E., Morton, C.C., “At the Speed of Sound: Gene Discovery in the Auditory System”. *Am. J. Hum. Genet.*, 2001; 69, 923-935.

8. Sennarođlu, L, Konjenital Sensörinöral İşitme Kayıpları, “Pediatrik Kulak Burun Bođaz Hastalıkları” (Ed. M.U. Akyol)’da, Güneř Kitapevi, Ankara, 2003;51-58.
9. Steel KP, Self TJ, Liu XZ, Avraham KB, Brown SDM, Of Mice and Men, “ Genetics and Hearing Loss” (Ed. CI Berlin ve BJB Keats)’de. Singular Publishing Group, San Diego, 2000;1-30.
10. Tekin M, Arnos KS, Pandya A, “Advances in Hereditary Deafness”. The Lancet, 2001; 358, 1082-1090.
11. Tekin M, Arici ZS. Genetic epidemiological studies of congenital/prelingual deafness in Turkey: population structure and mating type are major determinants of mutation identification. American Journal of Medical Genetics, 15 Jul 2007; 143A (14), 1583-91.
12. Tekin M, Bogoclu G, Arican ST, Orman MN, Tastan H, Elsayed S, Akar N. “Evidence for single origins of 35delG and delE120 mutations in the GJB2 gene in Anatolia”. Clinical Genetics, 2005; 67,31-37.
13. Tekin M, Duman T, Bogođlu G, Incesulu A, Çomak E, Ilhan I, Akar N. “Spectrum of GJB2 Mutations in Turkey Comprises Both Caucasians and Oriental Variants: Roles of Parental Consanguinity and Assortative Mating”. Human Mutation, 2003; 21(5): 552-3.
14. Snoeckx RL, Huygen PL, Feldmann D, Marlin S, Denoyelle F, Waligora J, Mueller-Malesinska M, Pollak A, Ploski R, Murgia A, Orzan E, Castorina P, Ambrosetti U,

Nowakowska-Szyrwinska E, Bal J, Wiszniewski W, Janecke AR, Nekahm-Heis D, Seeman P, Bendova O, Kenna MA, Frangulov A, Rehm HL, Tekin M, Incesulu A, Dahl HH, du Sart D, Jenkins L, Lucas D, Bitner-Glindzicz M, Avraham KB, Brownstein Z, del Castillo I, Moreno F, Blin N, Pfister M, Sziklai I, Toth T, Kelley PM, Cohn ES, Van Maldergem L, Hilbert P, Roux AF, Mondain M, Hoefsloot LH, Cremers CW, Lopponen T, Lopponen H, Parving A, Gronskov K, Schrijver I, Roberson J, Gualandi F, Martini A, Lina-Granade G, Pallares-Ruiz N, Correia C, Fialho G, Cryns K, Hilgert N, Van de Heyning P, Nishimura CJ, Smith RJ, Van Camp G.

"GJB2 mutations and degree of hearing loss: a multicenter study". American Journal of Human Genetics, 2005; 77, 945-957.

VII. Ekler

a) Mali Bilanço ve Açıklamaları

SESSİZ KABİN (1 adet) : yaklaşık maliyeti 43 000 TL

İŞİTSEL BEYİN SAPI ODYOMETRESİ (BERA) (1 adet): yaklaşık maliyeti 50 000 TL

BİLGİSAYAR (masa üstü, monitör ve yazıcı) (1 adet): yaklaşık maliyeti 1500 TL

Kalan: yaklaşık 10 500 TL

b) Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar

Sessiz Kabin Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalı içerisinde yer almaktadır. Proje bitiminden sonra diğer teçhizat (BERA ve bilgisayar) ile birlikte gene aynı birimde hastaların işitmelerinin değerlendirilmesinde kullanılmaya devam edecektir.

c) Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar (varsa Kesim III'de yer almayan analiz ayrıntıları)

d) Sunumlar (bildiriler ve teknik raporlar) (**Altyapı Projeleri için uygulanmaz**)

Proje ile ilgili bir sunum henüz yapılmamıştır. Makalenin yazım süreci devam etmektedir.

d) Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler (**Altyapı Projeleri için uygulanmaz**)

NOT: Verilen kesin rapor bir (1) nüsha olarak ciltsiz şekilde verilecek, kesin rapor Komisyon onayından sonra ciltlenerek bir kopyasının yer aldığı CD ile birlikte sunulacaktır. Kesin raporda proje sonuçlarını içeren, ISI' nın SCI veya SSCI veya AHCI dizinleri kapsamında ve diğer uluslar arası dizinlerce taranan hakemli dergilerde yayınlanmış makaleler, III. Materyal ve Yöntem ve IV. Analiz ve Bulgular bölümleri yerine kabul edilir.