

NONSENDROMİK RESESİF İŞİTME KAYBINDA DFNB9 LOKUSU SAPTANMASI (+)

THE IDENTIFICATION OF DFNB9 LOCUS IN NONSYNDROMIC RECESSIVE HEREDITARY HEARING LOSS

Dr. Fazıl APAYDIN^(*), Dr. Markus PFISTER^(**), Dr. Emilia VITAE^(***),
Dr. Suzanne LEAL^(****), Dr. Metin IBER^(*), Dr. Tolga KANDOĞAN^(*),
Dr. Vecihi BİLGEN^(*), Dr. Hans-Peter ZENNER^(**)

ÖZET: İşitme kaybı insanda en sık görülen sensoriyel defektir. Ancak çocukta görülen ileri derecedeki işitme kaybı hariç günümüzde bu konuyla ilgili epidemiyolojik çalışmalar çok azdır. Çocukluk dönemi işitme kaybı prevalansı 1/1000'dir. ve bunun da %60'ı genetik bir nedene bağlıdır. Erken dönemde ortaya çıkan nonsendromik işitme kaybindan 100 kadar gen sorumlu tutulmaktadır. Bu genlerin haritalanması aşırı genetik heterojenite ve sınırlı odyolojik ayırıcı özellikler nedeniyle çok güçtür. Bu çalışmada amaç, otozomal resesif geçiş gösteren bir aile bireylerinin klinik özelliklerini ortaya koymak ve kısaca yapılan moleküler biyolojik analizler hakkında bilgi vermektir. Kulak-burun-boğaz muayenelerinde herhangi bir patoloji saptanmayan ve işitme kaybının tek semptom olduğu bu aile bireylerinde en önemli özellik, akraba evliliği sonrası ortaya çıkan ileri derecede nörosensoryel işitme kaybıdır. Hastalardan alınan kanın mikrosatellit işaretleyiciler ile yapılan bağlantı (linkage) analizinden sonra 2 p22-23 kromozomunda DFNB9 lokusunda defekt olduğu ortaya konmuştur. Sonuç olarak, işitme kaybının tek semptom olduğu ve birden çok etkilenen bireye sahip ailelerde, öncelikle fenotip özellikleri ortaya koyulmalı ve daha sonra da genotipi belirlemeye yönelik çalışmalara geçilmelidir. Ayrıca özellikle otozomal resesif geçişli genetik hastalıklardan kaçınmak için, akraba evliliklerinden kaçınılması için toplum her türlü yöntemle uyarılmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Odyometri, pür ton, işitme kaybı nörosensoryel/genetik, Linkage (genetik), Soyağacı, Fenotip, Nonsendromik

SUMMARY: Hearing loss is the most frequent sensory defect in humans. However, there are currently no consistent epidemiological data for hereditary hearing loss, except for severe and profound hearing loss in early childhood. The prevalence for sensorineural hearing loss during childhood is estimated to be 1/1000, and approximately 60% is due to a genetic cause. Dozens of genes are thought to be responsible for the early onset of nonsyndromic hearing loss. Moreover, the mapping of genes for non-syndromic hearing loss has been difficult due to extreme genetic heterogeneity and the limited audiological differentiation of hereditary hearing loss. The goal of this study is to describe the clinical characteristics of a family with an autosomal recessive mode of inheritance and briefly the result of linkage analysis. No additional symptoms and clinical findings other than sensorineural hearing loss of early onset were found during ENT examination. The major characteristic of the family was presence of the hearing handicapped members born after consanguineous marriages. The linkage analysis of this family's members by using microsatellite markers revealed that there was a defect on chromosome 2p22-23 (DFNB9). In conclusion, the phenotypic characteristics must be noted in detail in families with nonsyndromic hereditary hearing loss to enlighten the future molecular genetic investigations.

Key Words: Audiometry, Pure-Tone Loos, Sensorineural/genetics, Linkage (Genetics), Pedigree, Phenotype, Nonsyndromic

GİRİŞ

Genetik geçişli işitme kaybı, çocukluk çağında görülen işitme kayıplarının % 60'ından so-

rumludur². Bu oranın ülkemiz gibi akraba evliliği oranının yüksek olduğu bir ülkede daha da yüksek olması beklenir. Bu olguların % 75'ine de başka bir semptom eşlik etmemektedir. Nonsendromik prelingual işitme kayıplarının % 85'i otozomal resesif (DFNB), % 15'i otozomal dominant (DFNA), % 1-3'tü de X kromozomuna bağlı (DFN) olarak geçiş göstermektedir¹.

Tüm proteinlerin sentez bilgisi DNA içinde bulunmaktadır (bu konudaki tek istisna DNA yerine RNA içeren virüslerdir). DNA'nın kodlama

(*) Ege Üniv. Tıp Fak. KBB Anabilim Dalı

(**) Tübingen Üniv. Tıp. Fak. KBB Anabilim Dalı, Almanya

(***) New Jersey Tıp Fak. Mikrobiyoloji ve Moleküler Genetik Anabilim Dalı, A.B.D.

(****) Rockefeller Üniv. İstatistik Genetik Laboratuvarı, A.B.D.

(+) 23-27 Eylül 1997 Antalya'da yapılan 24. Ulusal Kulak-Burun-Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi'nde sunulmuştur.

sekansları gen adı verilen fonksiyenol subünitlerden oluşmaktadır. Bir genin kromozomdaki yeri sabittir ve buna genin lokusu adı verilmektedir. Aynı lokusta yer alan bir genin alternatif şekillerine allel adı verilmektedir¹². Bağlantı (linkage) analizi, iki locusun gelişigüzel olmayan bir şekilde dağılıp dağıtmadığını saptamak için bir veya daha fazla birleşmeden elde edilen miyoz verilerinin değerlendirilmesi ve eğer böyleyse aralarındaki genetik uzaklığı ölçmektir⁵. Altta yatan neden bilinmediği zaman hastalıklı genleri bulmak için birçok yöntem vardır. Bunların çoğu, hastalıkla birlikte olan kromozomal anormallikleri bulunan hastalardan elde edilen tesadüfi ipuçlarına dayanmaktadır. Bu tür hastalar çok nadirdir. Lokasyonu hakkında önceden bilginin var olmadığı durumlarda hastalık genlerinin haritasının çıkarılması için en uygun yöntemlerden birisi bağlantı analizidir.

İşitme kaybından sorumlu genleri ortaya çıkarmak şu nedenlerle güçtür¹¹.

1. Herediter işitme kayıplarında genetik heterojenitenin fazla olması,

2. Çeşitli genlerin neden olduğu iç kulak defektlerinin ayırımına izin veren klinik ve paraklinik kriterlerin yokluğu (ör; odyolojik tanı kriterlerinin azlığı),

3. İşitme engelliler arasında evlenme oranının yüksek olması

Otozomal resesif işitme kaybından sorumlu genleri lokalize etmek için 3 yaklaşım kullanılmıştır¹¹.

1. Birçok kuşaktan beri izole coğrafi bölgelerde yaşayan ve akraba evliliği oranı yüksek olan ailelerin incelenmesi,

2. Göç yoluyla bir yere gelerek izole yaşayan bir popülasyonda homozigot bölgelerin allel frekans dengesizliği yöntemiyle direkt araştırılması,

3. Küçük kan akrabalığı olan ailelerde DFNB genlerinin homozigot haritalama yöntemi ile saptanması (Bu yaklaşımın etkin olabilmesi için genom taraması yüksek dansteli polimorfik markerlarla yapılmalı veya aday bölgeler üzerinde arama yoğunlaştırılmaktadır).

Son yıllarda yukarıdaki sorunlar büyük ölçüde aşılmış ve bu güne değin 12 otozomal resesif işitme kaybı geni (DFNB) lokalize edilmiş¹⁵ ve bunlardan sadece iki tanesi izole edilebilmiştir. DFNB2 için Myozin VIIa geni^{10, 16} ve DFNB1 loku-

sunda konneksin 26 geni⁷.

Yukarıda sayılan noktalara dikkat ederek biz de çalışmalarımızı içinde çeşitli jenarasyonlarda birden fazla işitme kayıplı birey olan, genetik geçiş şeklinin soyağacından anlaşılabilceği informatif aileler üzerinde yoğunlaştırdık. Bu çalışmada nonsendromik otozomal resesif işitme kaybı saptanan bir aile üzerinde yapılan çalışmaların sonucunu sunmayı uygun bulduk.

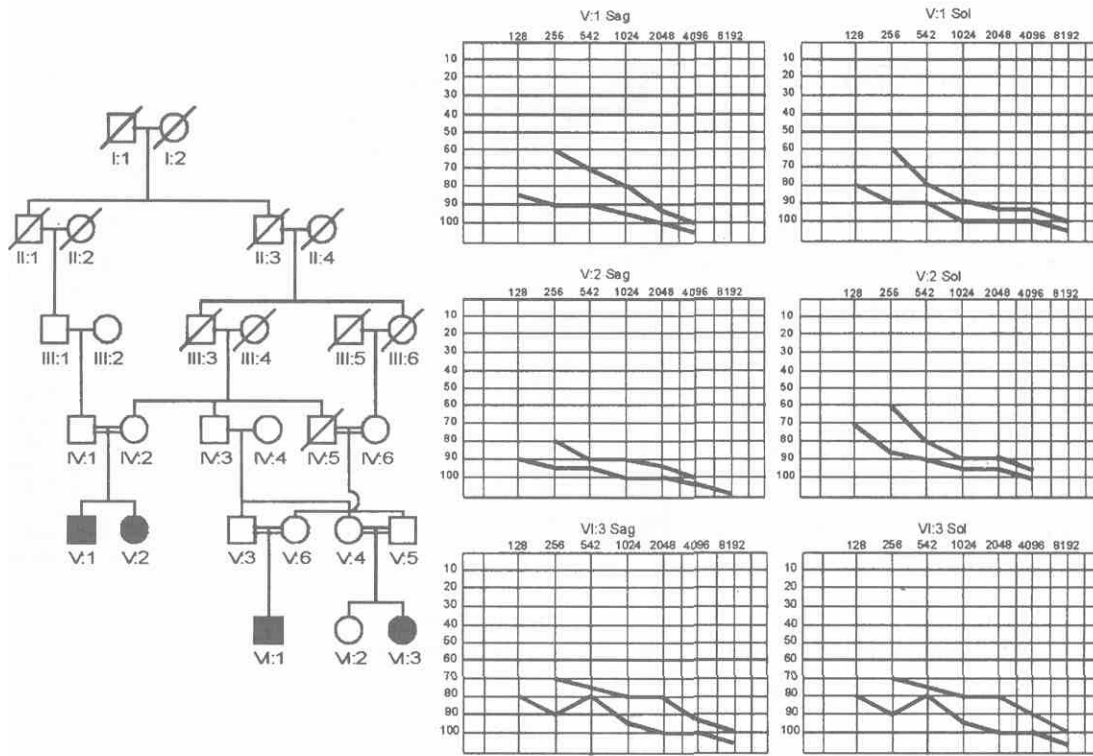
GEREÇ ve YÖNTEM

1994 yılından beri sendromik ve nonsendromik işitme kayıplı toplam 80 aile yakın takibe alınmıştır. Bu ailelerin soyağaçları çizildikten sonra bir genetik konsültasyondan geçirilmiş, uygun ailelerde genetik defekti saptayabilmek amacıyla moleküler biyolojik ve genetik araştırmalar başlatılmıştır. Genetik geçiş tipine göre informatif ailelerin bireylerinin onayları alınarak KBB bakısı, genel fizik muayene, odyometrik inceleme (pür ton odyometrik inceleme ve 4 yaşından küçük çocuklarda uyarılmış işitsel potansiyellerle ve/veya elektrokoleografi ile duyma eşiği saptaması), bağlantı analizi için kan alınması işlemi gerçekleştirilmiştir. Bugüne değin her biri ayrı ayrı bağlantı gösteren 9 aile saptadık. Daha sonra bu kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu yapılarak mikrosatellit işaretleyiciler yardımıyla öncelikle daha önce saptanan lokuslar tarandı.

BULGULAR

Bu ailede etkilenen bireylerin hepsinde ileri derecede nörosensoryel işitme kaybı saptanmıştır. İşitme kaybı tüm bireylerde 2 yaşından önce tanınmış. Şekil 1'deki soyağacında IV: 3 kodlu birey, küçük yaşta iki taraflı kulak arkası cihaz kullanmaya başlamış ve kısa süreli bir eğitim almıştır. Şu anda bazı sözcükleri söyleyebilecek ve dudaktan okuma ve cihaz yardımıyla da biraz olsun anlayabilecek hale gelmiştir. Bunun dışındaki işitme engelli aile bireyleri "sağır-dilsiz" olarak kabul edilmiştir. Nonsendromik otozomal resesif kalıtım bulunan aile bireylerinde sıklıkla olduğu gibi, bu ailede de ortaya çıkan işitme kaybı prelingual, ileri derecede nörosensoryel işitme kaybı şeklindedir.

İncelenen ailede prelingual ileri derecede nonsensoryel işitme kaybı 4 bireyde karşımıza çıkmıştır. Dikkati çeken nokta, etkilenen tüm bireylerin ebeveynlerinin akraba evliliği yapmış ol-



Şekil 1 : Nonsendromik otozomal resesif geçiş gösteren ve DPNB9 lokusu saptanan ailenin soyağacı ve pür ton odyogram çizelgeleri.

malarıdır. Otozomal resesif kalıtım için bu durum çok tipiktir.

Otozomal resesif geçişli bu ailede 2 p22-23 (DFNB9) kromozomunda defekt olduğu tablo l'de listelenen mikrosatellit markerlar kullanıldığında ortaya konmuştur.

TARTIŞMA

Doğumda konjenital bir anormallik ortaya çıkması riski % 3 civarındadır⁶. Birinci kuzen evliliği sözkonusu olduğu zaman bu oran %4,5-5'e çıkmaktadır. Diğer önemli bir konu ise, akraba evliliği olsun veya olmasın otozomal resesif bir rahatsızlığı olan bir çocuk dünyaya getirmiş bir çiftin diğer gebeliklerinde etkilenmiş bir çocuk dünyaya getirme riskinin % 25 olmasıdır¹³. Türkiye'de akraba evliliği oranı normal populasyon için % 21 olarak saptanmıştır¹⁴. Daha önce tarafımızdan İzmir İşitme Engelliler Okulu'nda 265 öğrenci ve ebeveynleri üzerinde yapılan çalışmada akraba evliliği oranının % 22 olduğunu saptandı¹. Bu çalışmada sunulan ailenin soyağacına bakıldığında 4 akraba evliliği dikkati çekmektedir. Ayrıca bu akraba evliliklerinin üç tanesinde işitme engelli çocuklar doğmuştur.

Bu çalışmada sunulan aile, Ege bölgesine 12 yıl önce yerleşmiştir ve kökeni Erzurum'dur. Halen akrabalarının büyük bir kısmı Erzurum'da oturmaktadır. Ailede nesiller boyunca akraba evlilikleri yapılması konusunda bir eğilim olduğu öğrenilmiştir. Çalışmadaki ailede saptanan gen lokusu başka bir çalışmada Lübnanlı müslüman bir ailede de saptanmıştır³. Lübnan'ın asırlar boyunca Osmanlı yönetiminde olduğu, Erzurum'dan çok uzak olmadığı ve Osmanlı İmparatorluğu döneminde sürekli bir göç yaşandığı için bu iki aile arasında geçmişten gelen bir akrabalık olabileceği gözardı edilemeyecek bir varsayımdır. Lübnanlı bu ailede kullanılan mikrosatellit işaretleyiciler, bu çalışmadaki ailede de aynı şekilde DFNB9 lokusundaki defekti saptamada yardımcı olmuştur.

İşitme kaybı olan aile bireylerinin hepsinde, işitme kaybı prelingual dönemde ortaya çıkmış ileri derecede nörosensoryel işitme kaybı şeklindedir. Bu nedenle bu kişiler "sağır-dilsiz" olarak kabullenmiş, ancak aile Ege Bölgesi'ne göç ettikten sonra burada işitme engelli olarak doğan çocuklarından bir tanesi işitme cihazı ile eğitim sonrası çevre ile iletişim kuracak hale gelmiştir.

Henüz işitme kaybının genetik danışmanlığında klinik bir araç olarak moleküler genetiğin

	IV:1	IV:2	IV:3	IV:4	V:1	V:2	V:3	V:4	V:5	V:6	VI:1	VI:2	VI:3
D2S305	1-1	2-1	2-1	4-2	1-1	1-1	4-1	4-1	4-1	1-1	4-1	1-1	1-1
D2S310	4-2	1-2	1-2	2-4	2-2	2-2	2-2	1-2	2-2	1-2	1-2	2-2	2-2
D2S171	2-2	1-2	1-2	1-2	2-2	2-2	1-2	4-2	1-2	1-2	4-2	2-2	2-2
D2S2303	3-3	2-3	2-3	2-2	3-3	3-3	2-3	2-3	2-3	2-3	2-3	3-3	3-3
D2S2144	5-5	5-5	5-5	5-5	5-5	5-5	5-5	5-5	5-5	2-5	5-5	5-5	5-5
D2S174	2-2	5-2	5-2	2-5	2-2	2-2	2-2	5-2	2-2	5-2	5-2	2-2	2-2
D2S170	2-4	2-4	2-4	1-4	4-4	4-4	1-4	2-4	1-4	1-4	2-4	4-4	4-4
D2S355	5-2	5-2	5-2	5-5	2-2	2-2	5-2	5-2	5-2	5-2	5-2	2-2	2-2
D2S375	3-3	3-3	3-3	3-3	3-3	3-3	3-3	1-3	3-3	1-3	1-3	3-3	3-3
D2S1325	2-2	3-2	3-2	1-2	2-2	2-2	1-2	2-1	1-2	3-1	2-2	1-2	2-3

Tablo 1 : DFNB9 lokusunun ortaya konmasında kullanılan mikrosatellit işaretleyicilerin listesi ve aile bireylerinde elde edilen yanıt. Kullanılan işaretleyici değerleri ile aile bireylerinden elde edilen DNA'nın 2. kromozomunun uzun kolunun (p) 22-23 bölgesindeki DFNB9 lokusu için spesifik olan işaretleyiciler, V:1, V:2, VI:2 ve VI:3 bireylerinde aynı değerleri taşımaktadır.

avantajlarından sınırlı bir yararlanma olmaktadır. Bu konuda ilerleme sağlamak için genetik işleme kayıplı ailelerde geniş çaplı klinik ve genetik araştırmalar gereklidir. Bu çalışmada sunulan ailede DFNB9 lokusu ortaya konmuş olmasına karşın, henüz sorumlu gen izolasyonu yapılamamıştır. Tanı koyma aşamasında, konneksin 26 genin işleme kaybına yol açan mutasyonların yarısından sorumlu olduğu ve işleme kayıplarının genetik nedene bağlı olup olmadığını araştırmada kullanılabileceği bildirilmektedir⁴. Moleküler biyolojinin diğer bir katkısı ise, henüz işleme kaybının genetiği aşamasındaki çalışmalar konusunda eksperimental düzeyde süren eksperimental somatik gen tedavisi şeklinde olabilir⁸. Bizim çalışma ekibimizin de ilerideki hedefleri, elde edilen birikimler ışığında bu alanlardaki çalışmalara yönelmektir.

Sonuç olarak, pratik yaşamda en sık karşılaşılan nonsendromik otozomal resesif işleme kayıplı kişiler yakın incelemeye alınarak elde edilen klinik bilgiler iyi değerlendirilmeli ve iyi saklanmalıdır. Ancak bu şekilde hızlı gelişen moleküler genetiğin olanaklarından yararlanarak bu ailelere daha iyi hizmet sunma olanağı olabilir.

Yazışma Adresi : Dr. Fazıl APAYDIN

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB

Anabilim Dalı Bornova (35100) İZMİR

Tel: 232-3880984 Fax: 232-342 2142

KAYNAKLAR

1. APAYDIN F, LEAL SM, İBER M, KANDOĞAN T, BRÄNDLE U, CURA O, ZENNER HP: Nonsendromik genetik işleme kaybı. Türk Otolaryngoloji Arşivi 33: 151-154,1995
2. ARNOS KS- ISRAËL J, CUNNINGHAM M: Genetic counseling of the deaf. Medical and cultural considerations, Ann NY Acad Sci 630: 212-222, 1991
3. CHAÏB H, PLACE C, SALEM N, CHARDENOK S, VINCENT C, VVEISSENBACH J, EL-ZIR E, LOISELET J, PETIT C: A gene responsible for a sensorineural nonsyndromic recessive deafness maps to chromosome 2p22-23. Human Molecular Genetics 5; 155-158,1996
4. DENOYELLE F, WEIL D, MAW MA, WILCOX SA, LENCH NJ, ALLEN-POWELL DR, OSBORN AH- DAHI HH, MIDDLETON A, HOUSEMAN MJ, DODE C, MARLIN S, BOULILAEIGAIED A, GRATI M, AYADI H, BENARAB S, BITOUN P, LINA-GRANADE G, GODET J, MUSTAPHA M, LOISELET J, EL-ZIR E, AUBOSIS A, JOANNARD A, PETIT C, ET AL: Prelingual deafness: high prevalence of a 30 delGmutation in the cormexin 26 gene. Hum Mol Genet 6: 2173-2177, 1997
5. FARRER LA: Gene localization by linkage analysis. Otolaryngol Clin Nor Am 25; 907-922, 1992

6. HARPER PS, Practical genetic counseling, 3rded. Butterworth's, London, 1988

7. KELSELL DP, DUNLOP J, STEVENS HP- LENCH NJ, LIANG JN, PARRY G, MUELLER RF, LEIGH İM: Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. Nature 387; 80-83, 1997

8. LALWANI AK, WALSH BJ, REILLY PG, MUZYCZKA N, MHATRE AN: Development of in vivo gene therapy for hearing disorders: introduction of adeno-associated virus into the cochlea of the guinea pig. Gene Ther 3: 588-592,1996

9. LEAL SM, VITALE E, APAYDIN F, YAPING H, BARNWELL C, İBER M, KANDOĞAN T, BRÄNDLE U, ZENNER HP, SCHWALB M, CURA O: A Turkish kindred with autosomal recessive non-syndromic hearing loss (NSHL) segregates DFNB9. European Communities: Concerted Action - İkinci Workshop tutanakları, (11-13 Ekim 1996, Milano, İtalya)

10. LIU XZ, WALSH J, MBURU P, KENDRICK - JONES J, COPE MJTV, STELL KP, BROWN SDM: Mutations in the myosin VIIA gene cause non-syndromic deafness. Nature Genet 16: 188-190,1997

11. PETIT C: Genes responsible for human hereditary deafness: symphony of a thousand. Nature genetics 14; 385-391, 1996

12. STEINBERG B: An overview of molecular biology in otolaryngology. Otolaryngol Clin Nor Am 25; 893-905,1992

13. THOMPSON MW, MCINNES RR, WILLARD HF: Thompson & Thompson: Genetics in Medicine, 5th ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1991

14. TUNÇBILEK E, KOÇ İ: Consanguineous marriage in Turkey and its impact on fertility and mortality. Ann Hum Genet 58: 321-329, 1994



15. VAN CAMP G, SMITH R: Hereditary Hearing Loss Homepage, <http://alt-www.uia.ac.be/u/dnalab/hhh/html>

16. WEIL D, KUSSEL P, BLANCHARD S, LEVY G, LEVI-ACOBAS F, DRIRA M, AYADI H, PETIT C: The autosomal recessive isolated deafness, DFNB2 and the Usher 1B syndrome are allelic defects of the myosin-VIIA gene. Nature Genet 16:191-193,1997

MEPRO

HULAK-BURUN-BOĞAZ

HASTA TAKİP PROGRAMI

www.meprosoft.com

MEPRO

MEPRO

"Kimlik" formunda hastalarınızın kimlik , adres , telefon , varsa kurum bilgilerini kaydedebilir, değiştirebilir, silebilir, yeniden düzenleyebilirsiniz.

Özel olarak KBB için dizayn edilmiş "Muayene" formuna yakınma, öykü, fizik muayene, tedavi ve önerilerinizi girebilir, ve tarihe göre tasnif edebilirsiniz.

Tedavi ya da opere ettiğiniz hastanıza epikriz verebilir, epikriz ya da dosya dökümünü görüntüleyebilir, derseniz yazıcınızdan yazdırabilirsiniz.

Hazırladığınız reçeteleri yazıcınızdan bastırıp hastanıza verebilirsiniz.

"Adresler" formundan yararlanarak hastalarınıza istediğiniz font, renk ve boyutta sevimli kutlama kartları gönderebilir, seçtiğiniz hastalara tek tek zarf ya da etiket bastırabilirsiniz.

"Hastalıklar" formunda kendi hastalık veri tabanınızı, "Reçete" formunda kendi ilaç rehberinizi hazırlayabilirsiniz.

"Randevu" formu ile randevularınızı düzenleyebilirsiniz.

"Bilanço" formundan yararlanarak dilediğiniz tarihler arası için filtre edilmiş ücret dökümü alabilirsiniz.

Tüm formlardan ilgili "Yardım" menülerine ulaşabilirsiniz.

Windows 3.1 - Windows 95 ve 98 altında çalışan kullanıcı dostu arabirimi ile yalnızca hekimlerin yazdığı ve yalnızca hekimlerin kullandığı bir program sahibi olmanın ayrıcalığını hissedersiniz.

Programın ileride çıkacak üst versiyonlarını internet sitemizden download edebilirsiniz.

Ayrıntılı bilgi için : info@meprosoft.com