**T.C.**

**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MOLEKÜLER BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MOLEKÜLER BİYOTEKNOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**KRONİK TİNNİTUSTA BDNF (BEYİN KAYNAKLI NÖROTROFİK FAKTÖR) VAL66MET POLİMORFİZMİ İLE BAĞLANTILI BDNF ANTİSENSE RNA POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**BUSE YÜKSEL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Seda ÖRENAY BOYACIOĞLU**

**Aydın-2022**

# **KABUL VE ONAY**

T.C Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Buse YÜKSEL tarafından hazırlanan “Kronik Tinnitusta BDNF (Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör) Val66Met Polimorfizmi ile Bağlantılı BDNF Antisense RNA Polimorfizmlerinin Araştırılması” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 06 / 01 / 2022

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Üye: | Doç. Dr. Seda ÖRENAY BOYACIOĞLU | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi |  |
| Üye: | Prof. Dr. Gamze BAŞBÜLBÜL | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi |  |
| Üye: | Dr. Öğr. Üyesi Hilal AKALIN | Ahi Evran Üniversitesi |  |

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün ……………………………… tarih ve ……………………. Sayılı oturumunda alınan ………………… nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

**TEŞEKKÜR**

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, her konuda yardım ve hoşgörüsü ile bana destek olan, bana olan güvenini ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim, kıymetli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Seda ÖRENAY BOYACIOĞLU’a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tüm yüksek lisans eğitimim boyunca ilgisini, yardımlarını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Olcay BOYACIOĞLU’a, yüksek lisans eğitimim boyunca aldığım dersler ile bilgi dağarcığımı arttıran değerli hocalarım Prof. Dr. Gamze BAŞBÜLBÜL, Prof. Dr. Celal ÜLGER, Prof. Dr. İlknur DABANOĞLU ve Prof. Dr. Sarhan SAKARYA’a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek öğrenimimde bana aile olan, güzel dostluğunu paylaşan değerli arkadaşım yüksek lisans öğrencisi Dilara USLU’a teşekkürlerimi sunarım.

Hayallerimi gerçekleştirmek adına attığım her adımda büyük destekçim olan, her koşulda sevgisiyle ve sabrıyla yanımda olan sevgili nişanlım Emre YILDIRIM’a teşekkürü borç bilirim.

Hayatımın her aşamasında her zaman yanımda olan en büyük desteğim, başarım için maddi ve manevi hiçbir şeyi esirgemeyen annem Ayten YÜKSEL’e, babam Mehmet Emin YÜKSEL’e ve sevgili kardeşim Yaren YÜKSEL’e teşekkürlerimi sunarım.

**İÇİNDEKİLER**

KABUL VE ONAY i

TEŞEKKÜR ii

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ vi

ŞEKİLLER DİZİNİ x

RESİMLER DİZİNİ xi

TABLOLAR DİZİNİ xii

ÖZET xiii

ABSTRACT xv

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 2

2.1. Tinnitus 2

2.2. Tinnitus Etiyolojisi 2

2.3. Tinnitus Epidemiyolojisi 3

2.4. Tinnitus Sınıflandırılması 4

2.5. Tinnitus Patofizyolojisi 5

2.5.1. Hücre Mekanizmaları 6

2.5.2. Tektorik Membranın Konumu 7

2.5.3. Dış Saç Hücreleri (OHC'ler) 7

2.5.4. İç Saç Hücreleri (IHC'ler) ve Koklear N-metil-D-aspartat (NMDA) Alıcıları 7

2.5.5. Endokoklear Potansiyelinin Artışı 8

2.5.6. Koklear Sinaptopati 10

2.6. Tinnitus Mekanizması 12

2.7. Tinnitus Teşhisi 13

2.8. Tinnitus Tedavi Yöntemleri 14

2.8.1. Farmakoterapi 14

2.8.2. Bilişsel ve Davranışsal Terapi 15

2.8.3. Ses Terapisi 15

2.8.4. İşitme Cihazları 16

2.8.5. Müzik terapisi 16

2.8.6. Tinnitus yeniden eğitim tedavisi (TRT) 16

2.8.7. Masaj ve germe 17

2.8.8. Elektriksel bastırma 17

2.9. Tinnitus Genetiği 18

2.9.1. Ailesel Toplama 20

2.9.2. Evlat Edinilenlere Dayalı Çalışmalar 20

2.9.3. İkizlere Dayalı Çalışmalar 21

2.10. Tinnitusa Genetik Katkı 22

2.10.1. BDNF ve GDNF 22

2.10.2. Serotonin Taşıyıları 23

2.10.3. Potasyum Kanalı 24

2.11. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) 25

2.11.1. BDNF Gen Yapısı 25

2.11.2. Fonksiyonel BDNF Peptidi Üretimi 26

2.11.3. BDNF İzoformlarının Hücre İçi Sinyal Yolları 28

2.11.4. BDNF Genetik Varyasyonunun Fonksiyonel Sonuçları 31

2.12. Uzun Kodlamayan RNA’lar (lncRNA’lar) ve Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktörün Antisens RNA (BDNF-AS) 32

3. GEREÇ VE YÖNTEM 36

3.1. Çalışma Grubu Hastalarının Toplaması 36

3.2. Etik Kurul Onayı 37

3.3. SNP Seçimi 37

3.4. Çalışmada araştırılan BDNF-AS gen polimorfizmleri 37

3.5. SNPType assay için Primer Tasarımı 37

3.6. DNA izolasyonu 38

3.7. SNP Type Assay 39

3.8. 10X SNPType Spesific Target Amplifikasyon (STA) Primerlerinin Hazırlanması 40

3.9. STA Adımı 41

3.10. STA Protokolü 41

3.11. SNPtype Primer Karışımının Hazırlanması 42

3.12. 10X Assay Karışımının Hazırlanması 43

3.13. Örneklerin Hazırlanması 43

3.14. Dynamic Array’e Pipetlemelerinin Yapılması 44

3.14.1. IFC Controller da Dynamic Array’in Load edilmesi 45

3.14.2. Dynamic Array’in BioMark da çalışılması 46

3.15. Data Analizi 47

3.16. Veri Analizi 47

4. BULGULAR 48

5. TARTIŞMA 52

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 57

EKLER 58

Ek.1. Klinik Araştırma Etik Kurulu. 58

KAYNAKÇA 59

BİLİMSELETİK BEYANI 70

ÖZ GEÇMİŞ 71

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| |  |  | | --- | --- | | **AD** | : Alzheimer Hastalığı | | **AMPAR** | : A-Amino-3-Hidroksi-5-Metil-4-İzoksazol-Propiyonik Asit Reseptörü | | **AS** | : Allelik Spesifik | | **ATA** | : American Tinnitus Association | | **ATP** | : Adenozin Trifosfatta | | **BA8** | : Brodmann Alanı | | **BDA** | : Beck Depresyon Anketi | | **BDI** | : Beck Depresyon Envanteri | | **BDNF** | : Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör | | **BDNF-AS** | : Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktörün Antisens RNA | | **BF** | : Bazal Ön Beyin | | **CA2+** | : Kalsiyum | | **CAM** | : Calmodulin | | **cAMP** | : İnsan katelisidin antimikrobiyal peptit. | | **CAP** | : Akustik Sinir Bileşiği Aksiyon Potansiyelinin | | **CAS** | : Merkezi İşitsel Sistem | | **CN** | : Koklear Çekirdekte | | **CNS** | : Merkezi Sinir Sistemi | | **CREB** | : cAMP'ye Yanıt Veren Element Bağlayıcı Protein | | **dACC** | : Dorsal Anterior Singulat Korteks | | **DAG** | : 1,2-Diasilgliserol | | **DCN** | : Dorsal Koklear Çekirdek | | **DCN** | : Koklear Çekirdeğin | | **DZ** | : Dizigotik | | **EP** | : Endokoklear Potansiyel | | **EZH2** | : Enhancer Of Zeste 2 Polycomb Repression Complex 2 Alt Birimi | | **GABA2** | : Gama aminobütirik asit B reseptörü 2 | | **GABAB1** | : Gama aminobütirik asit B reseptörü 1 | | **GDNF** | : Glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör | | **GPN** | : Küresel Algısal Ağlar | | **GTP-azlar** | : Guanozin Trifosfat Hidrolaz | | **GWAS** | : Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları | | **HG** | : Heschl Girusu | | **HHL** | : Gizli İşitme Kaybı | | **HWE** | : Hardy-Weinberg Eşitsizliği | | **HZ** | : Hertz | | **IC** | : Alt Kollikulus | | **IFC** | : Entegre Sıvı Devreleri | | **IHC** | : İç Tüy Hücreleri | | **IPC** | : Alt Parietal Korteks | | **iPSC** | : Pluripotent Kök Hücre | | **JNK** | : C-Jun Amino Terminal Kinazın | | **K+** | : Potasyum elementi | | **KBB** | : Kulak Burun Boğaz | | **KCNE1** | : Potasyum Voltaj Kapılı Kanal Alt Ailesi E Düzenleyici Alt Birim 1 | | **KCNE3** | : Potasyum Voltaj Kapılı Kanal Alt Ailesi E Düzenleyici Alt Birim 3 | | **KCNE12** | : Potasyum Voltaj Kapılı Kanal Alt Ailesi E Düzenleyici Alt Birim 12 | | **LD** | : Linkage Disequilibrium | | **lncRNA** | : Uzun Kodlamayan RNA | | **LS** | : Lokusa Özgü Primer | | **MA** | : Auralı Migren | | **MAPK** | : Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz | | **mBDNF** | : Olgun BDNF | | **MET** | : Mekanoelektrik Transdüksiyon | | **Met** | : Metionin | | **MMP2** | : Matris Metaloproteazlar 2 | | **MMP9** | : Matris Metaloproteazlar 9 | | **mTOR** | : Rapamisinin memeli hedef geni | | **MZ** | : Monozigotik | | **NF-kB** | : Aktive Edilmiş Nükleer Faktör Kappa B | | **NGF** | : Sinir Büyüme Faktörü | | **NMDA** | : N-Metil-D-Aspartat Reseptörünü | | **NRAGE** | : Reseptörü İle Etkileşime Giren MAGE Homologu | | **NRIF** | : Nörotrofin Reseptörü İle Etkileşime Giren Faktör | | **NSC** | : Nöral Kök Hücreden | | **NT-3** | : Nörotrofin-3 | | **NT-4** | : Nörotrofin-4 | | **OFM** | : Orofasiyal Hareketler | | **OHC** | : Koklear Dış Tüy Hücreleri | | **p75NTR** | : P75 Nörotrofin Reseptörü | | **PD** | : Parkinson Hastalığı | | **PHC** | : Parahipokampal Korteks | | **PI3K** | : Fosfatidilinositol 3-Kinaz | | **PKC** | : Protein Kinaz C'nin | | **PLC-y-** | : Fosfolipaz C Gama | | **RB** | : [Retinoblastomunda](https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/brain-derived-neurotrophic-factor) Tümör | | **RIP2** | : Serin / Treonin-Protein Kinaz 2 | | **ROCK** | : Rho ile İlişkili Protein Kinazın | | **rs** | : Referans Sekans | | **SG/G/IG** | : Supragranüler/Granüler/İnfragranüler Nöronal Katmanlar | | **SNP** | : Tek Nükleotid Polimorfizmi | | **STA** | : Spesifik Bir Hedef Amplifikasyon Primer | | **STG** | : Üst Temporal Girus | | **TEA** | : Tinnitus Engellilik Anketi | | **TERRA** | : Telomerik Tekrar İçeren RNA | | **THI** | : Tinnitus Handikap Envanteri | | **TNF** | : Tümör Nekroz Faktörü | | **TPEOLD** | : Uzun Mesafe Boyunca Telomer Konumunun | | **TRAF6** | : Tümör Nekroz Faktörü Reseptörü İle İlişkili Faktör 6 | | **TrkB** | : Tirozin Kinaz B Reseptörü | | **TRN** | : Talamik Retiküler Çekirdek | | **TRT** | : Tinnitus Yeniden Eğitim Tedavisi | | **Val** | : Valinin | | **vl/vmPFC** | : Ventrolateral/Ventromedial Prefrontal Korteks | | **Vps10p** | : Vakuolar Protein | |

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

**Şekil 1.** Tinnitus tipleri. (Benjamin F. Asher (2021)’den modifiye edilmiştir.) 5

**Şekil 2.** Salisilat kaynaklı tinnitus üzerinde glutamat antagonistlerinin olası terapötik mekanizması. 9

**Şekil 3.** Tinnitus patofizyolojisinde yer alan potansiyel mekanizmalar 11

**Şekil 4.** Tinnitus oluşumunda yer olan kulak kısımları 13

**Şekil 5.** Tinnitus ailesel kümelenme ve genetik kalıtımdaki cinsiyet farklılıkları. 19

**Şekil 6**. Hem insan BDNF hem de kemirgen BDNF genlerinin genomik yapısı. 26

**Şekil 7.**  Beyin kaynaklı nörotrofik faktörün (BDNF) alan yapısı ile bilinen ve tahmin edilen motifler. 27

**Şekil 8.** Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) protein yapısı. 28

**Şekil 9.** BDNF izoformlarının reseptörleri ile etkileşimi ile aktive olan hücre içi sinyal kaskadları. 30

**Şekil 10.** *BDNF* Val66Met polimorfizminin sinaptik eylemleri. 32

**Şekil 11.** lncRNA çeşitleri 33

**Şekil 12.** lncRNA’larin etkileşim mekanizmaları 34

**RESİMLER DİZİNİ**

**Resim 1.** Kandan DNA analizi için kullanılan tüpler 39

**Resim 2.** Tüm örneklerin hazırlanması için kullanılan biogüvenlik kabini. 40

**Resim 3.** STA protokolü için kullanılan cihaz ve plate. 42

**Resim 4.** Kullanılan cihazlar. 44

**Resim 5.** Kullanılan reaksiyon kitleri.. 44

**Resim 6.** Fluidigm PCR’ın yapıldığı Array. 45

**Resim 7.** Fluidigm PCR’ın Fluidigm basamağı. 46

**Resim 8.** Fluidigmin PCR’ın Real time basamağı.. 47

**TABLOLAR DİZİNİ**

**Tablo 1.** Kronik tinnitus üzerine genetik çalışmalar ve önerilen aday genler. 22

**Tablo 2.** STA primerlerinin hazırlanması için kullanılan reaksiyon koşulları. 40

**Tablo 3.** STA adımı için kullanılan reaksiyon koşulları. 41

**Tablo 4.** STA basamağı için hazırlanın amplifikasyon döngüsü. 41

**Tablo 5.** SNP primerlerinin hazırlanması için kullanılan reaksiyon koşulları. 42

**Tablo 6.** 10X Assay karışımının hazırlanması için kullanılan reaksiyon koşulları. 43

**Tablo 7.** Örneklerin hazırlanması için kullanılan reaksiyon koşulları 43

**Tablo 8.** Tinnitus ve kontrol grubunun BDNF-AS polimorfizmlerinin genotip ve alel frekans dağılım karşılaştırılması. 51

**ÖZET**

**KRONİK TİNNİTUSTA BDNF (BEYİN KAYNAKLI NÖROTROFİK FAKTÖR) VAL66MET POLİMORFİZMİ İLE BAĞLANTILI BDNF ANTİSENSE RNA POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Yüksel B. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoteknoloji Programı, Yüksel Lisans Tezi, Aydın, 2022.**

Tinnitus, dışarıdan herhangi bir uyarı olmaksızın kişinin kulağında veya başının herhangi bir bölgesinde ses algılamasıdır. Nöral plastitede önemli faktörlerden birisi olan beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) işitsel yolun gelişiminde anahtar rol oynayan nörotrofik faktörlerden biridir. *BDNF* geni, genin downstream yönünde konumlanan uzun kodlama yapmayan bir BDNF antisens RNA geni (BDNF-AS) ile düzenlenir. Bu nedenle, hem BDNF ve BDNF-AS işitmede etkili olabilecek aday gen lokusları olabilir. Literatürde tinnitus ile *BDNF* Val66Met polimorfizmi ile arasındaki ilişki gösterilirken, *BDNF* Val66Met polimorfizmi ile bağlantılı *BDNF-AS* polimorfizmleri ile ilişkisini sorgulayan bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle bu çalışmada *BDNF* Val66Met polimorfizmi ile linkage disequilibrium gösteren *BDNF-AS* polimorfizmlerinin tinnitus patofizyolojisindeki yerini incelemek amaçlanmıştır.

Bu çalışmaya, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB polikliniğine başvuran en az 3 aydır tinnitus yakınması olan 85 olgu ve tinnitus semptomu ile bir sistemik hastalığı bulunmayan 60 olgu dahil edilerek ve olgulardan 2cc periferik kan alındı. Alınan periferik kanlardan toplam 6 *BDNF-AS* polimorfizmlerine (rs925946, rs10501087, rs1488830, rs4074134, rs1519480, rs10767658) Fluidigm SNPType metodu ile bakıldı.

Tinnituslu hastalar ve kontrol grubu ile BDNF-AS rs925946, rs10767658, rs1519480 polimorfizmleri genotip dağılımı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmıştır (sırasıyla p=0,020, p=0,002, p=0,002). rs1519480 polimorfizmi için allel frekansları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,009). rs925946, rs10767658, rs1519480 ve rs1488830 polimorfizmleri tinnitus süresi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklar saptanmıştır (p=0,029, p=0,029, p=0,041 ve p=0,036).

Sonuç olarak, BDNF-AS rs925946, rs10767658, rs1519480 ve rs1488830 polimorfizmleri işitsel yolu etkileyebilir ve insanlarda işitsel performans üzerinde etkili olabilecek gen polimorfizmlerin için aday gen lokusları olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** *BDNF* geni, *BDNF-AS* gen polimorfizmleri, Kronik tinnitus, Val66Met polimorfizmi.

**ABSTRACT**

**KRONİK TİNNİTUSTA BDNF (BEYİN KAYNAKLI NÖROTROFİK FAKTÖR) VAL66MET POLİMORFİZMİ İLE BAĞLANTILI BDNF ANTİSENSE RNA POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Yüksel B. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoteknoloji Programı, Yüksel Lisans Tezi, Aydın, 2022.**

Tinnitus is the perception of sound in one's ear or in any part of the head without any external warning. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), one of the important factors in neural plasticity, is one of the neurotrophic factors that play a key role in the development of the auditory pathway. The *BDNF* gene is regulated by a long non-coding BDNF antisense RNA gene *(BDNF-AS)* located downstream of the gene. Therefore, both *BDNF* and *BDNF-AS* may be candidate gene loci that may be effective in hearing. While the relationship between tinnitus and *BDNF* Val66Met polymorphism has been shown in the literature, there is no study questioning the relationship between *BDNF* Val66Met polymorphism and *BDNF-AS* polymorphisms. Therefore, in this study, it was aimed to examine the role of *BDNF* Val66Met polymorphism and *BDNF-AS* polymorphisms showing linkage disequilibrium in the pathophysiology of tinnitus.

In this study, 85 patients with tinnitus complaints for at least 3 months and 60 patients with tinnitus symptom and no systemic disease who applied to the ENT polyclinic of Aydın Adnan Menderes University Faculty of Medicine were included, and 2cc of peripheral blood was obtained from the patients. A total of 6 *BDNF-AS* polymorphisms (rs925946, rs10501087, rs1488830, rs4074134, rs1519480, rs10767658) were analyzed from the peripheral blood taken by the Fluidigm SNPType method.

When the genotype distribution of *BDNF-AS* rs925946, rs10767658, rs1519480 polymorphisms was compared with tinnitus patients and control group, statistically significant differences were found (p=0.020, p=0.002, p=0.002, respectively). When the allele frequencies for the rs1519480 polymorphism were compared, a statistically significant difference was found (p=0.009). When rs925946, rs10767658, rs1519480 and rs1488830 polymorphisms were compared with tinnitus duration, a statistically significant difference was found (p=0.029, p=0.029, p=0.041 and p=0.036).

In conclusion, *BDNF-AS* rs925946, rs10767658, rs1519480 and rs1488830 polymorphisms may affect the auditory pathway and may be candidate gene loci for gene polymorphisms that may have an impact on auditory performance in humans.

**Keywords:** *BDNF* gene, *BDNF-AS* gene polymorphisms, Chronic tinnitus, Val66Met polymorphism.

**1. GİRİŞ**

Tinnitus yaygın olarak kulakta çınlama olarak bilinen, kişinin kulağının veya kafasının herhangi bir yerinde harici bir ses kaynağının yokluğunda tıslama, çınlama, uğultu veya kükreme olarak algılanabilen bir sesin algılanmasıdır. Bu nedenle genellikle işitsel bir hayalet ses olarak adlandırılmaktadır. Tinnitus, genel popülasyonun %10-15'ini kadınlardan daha fazla erkekleri etkilediği kanıtlanan bilimsel ve klinik bir muamma olarak tanımlanmaktadır (Chan Y, 2009).

Nöral plastite açısından önemli faktörlerden birisi olan beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) nöronların büyümesi, farklılaşması, yaşamlarını sürdürmesinde ve iç kulak duyu epitelyumu dahil gelişmekte olan işitsel yolda anahtar rol oynayan nörotrofik faktörlerden biridir. *BDNF* geni tek nükleotid polimorfizm taşıyıcılarının ve düşük serum BDNF düzeylerinin işitsel uyarılmış potansiyel sonuçlarındaki değişmeler ile ilişkili olduğunu ve bu polimorfizmlerin BDNF serum düzeyindeki değişikliklerle ilişkisini gösteren çalışmalar vardır (Colucci-D’amato, Speranza ve Volpicelli, 2020).

*BDNF* geni, genin downstream yönünde konumlanan uzun kodlama yapmayan (lncRNA) bir BDNF antisens RNA geni (BDNF-AS) ile düzenlenir. BDNF-AS transkripsiyonu BDNF’yi bastırabilir; BDNF-AS’nin bu inhibisyonu, protein seviyelerini arttıran ve nöronal gelişimin ve farklılaşmayı sitümüle eden BDNF mRNA’sını upregüle eder (Zhang et al. 2016). Bu nedenle, BDNF-AS geni BDNF geni gibi işitsel yolu etkileyebilir ve insanlarda işitsel performans üzerinde etkili olabilecek gen polimorfizmleri için aday gen lokusları olabilir.

Literatürde tinnitus ile *BDNF* Val66Met (rs6265) polimorfizmi ile arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar mevcutken, *BDNF* Val66Met polimorfizmi ile bağlantılı *BDNF-AS* polimorfizmleri ile ilişkisini sorgulayan bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle bu çalışmada *BDNF* Val66Met polimorfizmi ile linkage disequilibrium (LD) gösteren *BDNF-AS* polimorfizmlerinin (Avgan et al. 2017) tinnitus patofizyolojisindeki yerini incelemek amaçlanmıştır.

**2. GENEL BİLGİLER**

**2.1. Tinnitus**

Tinnitus, akustik bir uyarının yokluğunda algılanan hayalet bir ses olarak bilinir. Hastalar tarafından tek bir saf ton kadar basit ve farklı seslerin birleşimi kadar karmaşık olabilen çeşitli şekillerde tanımlanmaktadır (Milloy ve diğerleri, 2017). "Tinnitus" terimi, "çınlamak" anlamına gelen Latince "tinnire" kelimesinden türetilmiştir (Chan Y, 2009).

Tinnitus gelişimi, kişinin yaşam kalitesini ciddi şekilde etkileyen sosyal izolasyona, anksiyeteye, depresyona, uyku bozukluklarına ve konsantrasyon sorunlarına yol açabilmektedir. Ayrıca, nüfusun ∼%1-3'ü uyku bozuklukları, psikiyatrik sıkıntı ve yaşam kalitesi sonuçlarına bağlı zayıflatıcı tinnitus tanısı alabilmektedir. Tinnitus tanısı konulan hastaların yaklaşık %25'i zamanla şiddette bir artış olduğunu bildirmektedir (Chan Y, 2009).

Tinnitusu olan hastalar tarafından algılanan ses, sessiz bir arka plan gürültüsünden, yüksekdış seslerden duyulabilen bir gürültüye kadar değişebilmektedir. Çoğu tinnitus vakası ile ilişkili seslerin ağustos böceklerine, cırcır böceklerine, rüzgarlara, düşen musluk suyuna, kaçan buhara, floresan ışıkları sesine, çalışan motorlara vb. benzer olduğu tanımlanmıştır. Bu tür algılamaların işitsel yolun kortikal altı seviyesindeki anormal nöronal aktiviteden kaynaklandığına inanılmaktadır. Tinnitusu karakterize eden örüntü, işitsel bellekte saklanan örüntü kitaplığıyla ve ayrıca sinir yoluyla ilişkili olabilmektedir (Han ve diğerleri, 2009).

**2.2. Tinnitus Etiyolojisi**

Tinnitusun başlangıcıyla ilişkili olaylar genellikle tinnitusun “nedenleri” olarak kabul edilmektedir. İşitsel perifere yönelik önemli hareketler, işitsel beyne normal girdi kaybına, çok sayıda nörofizyolojik ve nörokimyasal değişikliklere yol açmaktadır. Bununla birlikte tinnitustan biyolojik ve/veya yapısal değişikliklerden hangisinin sorumlu olduğu hala tam olarak bilinmemektedir. Beynin herhangi bir bozukluğu, özellikle işitsel sistem, tinnitusa neden olabilmektedir. Özellikle işitme kaybı, kronik tinnitus yaşama olasılığını arttırmaktadır (Han ve diğerleri, 2009).

Genç yetişkinler arasında tinnitusun en yaygın nedeni gürültüye maruz kalmaktır. Yaşlılar arasında, yaşa bağlı işitme kaybı (presbiakuzi) tinnitusun en yaygın nedeni olmaktadır. Diğer tinnitus etiyolojileri arasında kafa travması, kamçı darbesi, multipl skleroz ve diğer serebellopontin açılı tümörler bulunmaktadır. Enfeksiyöz nedenler arasında orta kulak iltihabı ve Lyme hastalığının sekelleri, menenjit, frengi ve işitmeyi etkileyen diğer enfeksiyöz veya inflamatuar süreçler bulunmaktadır. Tinnitus ayrıca salisilatlar, nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar, aminoglikozid antibiyotikler, loop diüretikler ve kemoterapi ajanları (örneğin platinler ve vinkristin) gibi bazı oral ilaçların bir yan etki olabilmektedir (Han ve diğerleri, 2009).

Çoğu zaman, tinnitus etiyolojisi idiyopatik olarak kabul edilmektedir çünkü hastaların %40'ı tinnitus başlangıcı ile ilişkili “bilinen hiçbir olay” bildirmemektedir. Tinnitusun başlangıcı ile ilişkili spesifik olaylar değişebilse de tinnituslu hastaların büyük çoğunluğunda odyogram tarafından indekslenen bir dereceye kadar işitme kaybı yaşamaktadır (Henry ve diğerleri, 2014).

**2.3. Tinnitus Epidemiyolojisi**

Tinnitus epidemiyolojisini etkileyen faktörler arasında yaş, cinsiyet, ırk, sosyoekonomik durum, işitme kaybı ve gürültüye maruz kalma yer almaktadır. Tinnitus prevalansı 20-29 yaş grubunda %4,7 ve 60-69 yaş grubunda %12,1 oranındadır.

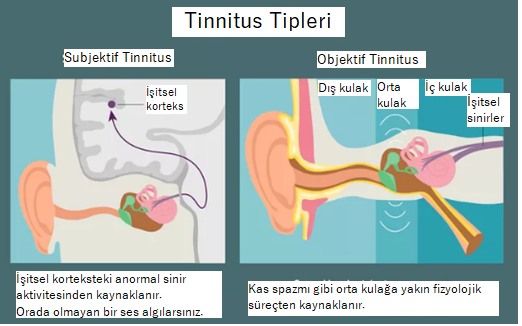
1978'de, Tıbbi Araştırma Konseyi'nin İşitme Araştırmaları Enstitüsü, İngiltere'nin belirli bölgelerinde Ulusal İşitme Çalışmasını gerçekleştirmiştir. Bu ankete 19.000’9den fazla katılımcıyla açık bir şekilde tinnitus prevalansına ilişkin ilk büyük ölçekli araştırma yapılmıştır. Bu çalışma da, 17 yaşın üzerindeki kişilerin %16 ila %19’unun 5 dakikadan fazla süren spontan tinnitus yaşadığını bulunmuştur. Bu bireylerin en az %8’i orta ila şiddetli rahatsızlık olarak veya uykuyu bozan olarak tinnitus yaşamıştır. Sadece %0,5’i tinnitusun normal bir yaşam sürme yeteneklerini ciddi şekilde engellediği bildirilmiştir. İngiltere’de uzamış spontan tinnitus prevalansının %9,7 olduğunu ve İsveç'te yetişkinlerin %14,2’sinin tinnitusu “sıklıkla” veya “her zaman” yaşadıklarını bildiren başka çalışmalar yapılmıştır. Beş İtalyan şehri yakın zamanda araştırılmış ve nüfusun %14,5’inde uzamış spontan tinnitus bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri’nde, tinnitusun yaygınlığı hakkında bilinenlerin çoğu devlet kurumlarından ve onların sağlık araştırmalarından gelmektedir. 1996’da Ulusal Sağlık İstatistikleri Merkezi, kronik hastalıklarla ilgili bir anket uygulamıştır. Tüm yaşlar göz önüne alındığında tinnitus prevalansı %3 olmuştur. Bu, 45 yaş altında %1 ve 65 yaş üzerinde %9 prevalansı göstermek için ayrıca değerlendirilmiştir. Bu rakamlar, tinnitus olan yaklaşık 36 milyon Amerikalıya karşılık gelmektedir (Henry ve diğerleri, 2014). Ülkemizde yaygınlık oranı hakkında resmi bir kayda rastlanılmamaktadır.

**2.4. Tinnitus Sınıflandırılması**

Tinnitus, subjektif ve objektif tinnitus olmak üzere iki geniş kategoriye ayrılabilir. Objektif tinnitus, vücutta mekanik olarak üretilen akustik titreşimli aktivitenin algılanması anlamına gelmektedir. Objektif tinnitus kaynağı vasküler, kas, iskelet veya solunum yapılarından kaynaklanıyor olabilir. Etkilenen bireye ek olarak herkes tarafından duyulabilmektedir. Bazen somatik tinnitus olarak da adlandırılan objektif tinnitus nadirdir ve vücuttaki mekanik bir sesten kaynaklanmaktadır. Bu sesler genellikle baş ve boyun bölgesindeki kas yapıları veya damar yapıları tarafından üretilmektedir. Objektif tinnitus, pulsatil, kas kaynaklı ve spontan olmak üzere 3 gruba ayrılabilir (Chan Y, 2009).

Pulsatil tinnitus genellikle kalp döngüsü ile senkronize olabilen türbülanslı kan akışının neden olduğu seslerden kaynaklanmaktadır. Kas kaynaklı tinnitus genellikle bir "tıklama" sesi olarak tanımlanmakta ve en yaygın olarak damak miyoklonusu, tensör timpani veya stapedius kaslarının kasılmalarından kaynaklanmaktadır. Spontan tinnitus, spontan otoakustik emisyonlar olarak bilinen kokleanın dış tüy hücrelerinin titreşimleriyle ilişkilendirilmiştir.

Subjektif tinnitus, fiziksel bir gürültü ile ilişkili olmayan sestir ve yalnızca etkilenen kişi tarafından duyulmaktadır. Bu tip tinnitusun işitsel sistemdeki hasardan kaynaklandığı veya bunlarla ilişkili olduğu varsayılmaktadır, yani “sensörinöral” tinnitus veya nörofizyolojik kökenli tinnitusdur. Muhtemelen subjektif tinnitusa yol açan histopatolojiler veya hücresel değişiklikler koklea ve işitsel korteks arasında herhangi bir yerde mevcut olabilir, ancak vakaların çoğu koklear hasar tarafından tetiklenerek bununla ilişkilendirilmektedir (Chan Y, 2009; Henry et al. 2014).



**Şekil 1.** Tinnitus tipleri. ([Benjamin F. Asher](https://www.verywellhealth.com/benjamin-f-asher-md-4776318) (2021)’den modifiye edilmiştir.)

**2.5. Tinnitus Patofizyolojisi**

Tinnitus patofizyolojisindeki mekanizma tinnitusu oluşturan nöral bileşenle ilgili olduğu yönündedir. Zenner (1998) başlangıçta tinnitusun kulaktan merkezi işitsel yollar boyunca herhangi bir ilgili anatomik yapıdan kaynaklanabileceğini öne sürmüştür. İlk spekülasyonlar, tinnitusun kulaklarda algılanabildiğinden ve ayrıca psikoakustik olarak tanımlanan tinnitus sıklığı ile işitme eşiklerinin odyometrik profili arasında güçlü bir ilişki olması sebebiyle, koklear bir kökenden kaynaklandığı düşünülmekteydi. Bu görüşler, işitsel sinirin cerrahi bölümünün her durumda tinnitusun ortadan kaldırmadığı gerçeğiyle çelişiyordu; bu da tinnitusun periferik değil, merkezi kökenli olduğu hipotezini desteklemekteydi. Günümüzde, pek çok tinnitus formunun, işitsel yoldaki periferik ve merkezi mekanizmalar arasındaki karmaşık bir etkileşimi yansıttığı iyi bilinmektedir (Zenner, 1998).

Tinnitus, moleküler ve sistemik bir bileşenle nöral plastisitenin bir patolojisi olarak görülebilmektedir. Moleküler bileşen, tinnitusun başlangıç ​​fazı ile ilgili bir koklear bileşene sahip olmaktadır; sistemik bileşenin ise tinnitusun uzun süreli sürdürülmesiyle ilişkili merkezi bir yönü vardır.

Periferik tinnitusun, koklear dış tüy hücrelerinin (OHC'ler) işlev bozukluğundan ve bunun sonucunda endokoklear potansiyeldeki değişikliklerden kaynaklanarak spontan koklear aktivitenin artmasına yol açabileceği öne sürülmüştür. Bu öneri, akut gürültü maruziyetinin neden olduğu tinnitus da dahil olmak üzere, koklear tinnitusun arkasındaki farklı nedenlerin olası bir açıklamasını sağlamaktadır. Tinnitusla ilişkili aktivitenin oluşumunu açıklamak için merkezi mekanizmalar önemli olsada, bu mekanizmaların çoğu koklear aktivitenin azalmasıyla tetikleniyor gibi görünmektedir.

Norena (2015) tinitus patofizyolojisinin oluşumu olarak üç farklı alt tipi olduğunu önermiştir; koklear tinitus, perifere bağımlı merkezi tinitus ve periferden bağımsız merkezi tinitus.

* Koklear tinitus, koklear sinir ve merkezi işitsel yol aracılığıyla yayılan, iç kulaktaki anormal aktivite tarafından üretilen bir tinitusu ifade etmektedir.
* Perifere bağımlı merkezi tinitus, koklear spontan aktivite ile ilişkili bir tinnitusu ifade etmektedir.
* Periferik bağımsız merkezi tinitus, koklear spontan aktiviteden bağımsız bir tinitusu ifade etmektedir.

Bu öneriye ek olarak tinnitusun patofizyolojisinin çeşitli oluşum mekanizmaları ileriye sürülmektedir (Ribeiro ve diğerleri, 2018).

**2.5.1. Hücre Mekanizmaları**

Koklear hasar, OHC elektromotilitesinin kaybını, İç Tüy Hücreleri (IHC'ler) ve spiral ganglion nöronları (sinaptopati) arasındaki sinaps kaybını, stereosiliyer demetin hasarını, OHC'lerin veya IHC'lerin ölümünü veya baziler membranın yırtılmasını içerebilir. Tüm bu süreçler histolojik olarak kemirgenlerde görülebilir, ancak dokuya erişimdeki zorluk nedeniyle insanlarda kolayca ölçülememektedir. Bu mekanizmalar, kokleadan beyne giden nöronal çıktıda bir azalmaya yol açmakta ve beyindeki potansiyel telafi mekanizmalarının oluşumunu açıklayabilmektedir (Ã ve Fechter, 2003).

**2.5.2. Tektorik Membranın Konumu**

Tektoryal membranın pozisyonundaki değişiklik, yoğun bir gürültüye maruz kalmanın ardından akut tinnitus için patofizyolojik bir tetikleyici olabilir. Gürültü travmasından sonra, stereocilia kökciklerinin sertliğe yol açarak ve koklear spontan aktivitede akut artışa katkıda bulunduğu iyi bilinmektedir. IHC’lerin uzun süreli depolarizasyonu, tektoryal membranın nispi konumunu değiştiren herhangi bir koşulda meydana gelebilmektedir. Bu, skala ortamında artan basınçtan, tektoryal membran ayrılmasından, OHC’lerin dejenerasyonundan veya stereocilia’dan kaynaklanabilir. Bazı durumlarda, hasarlı OHC’lerin olduğu ancak bozulmamış IHC’lerin bulunduğu alanlar olabilir ve bu nedenle tektoryal membran, IHC’lerin stereocilia’sına dokunabilir ve sonuç olarak depolarizasyonlarına neden olabilir (Baguley, 2002).

**2.5.3. Dış Saç Hücreleri (OHC'ler)**

Akut tinnitus için başka bir patofizyolojik tetikleyici, yine sıklıkla yoğun bir gürültüye maruz kalmanın ardından OHC’lerin stereosilyasındaki hasarla ilgili olmaktadır. Yüksek gürültü seviyeleri önce OHC’lere, ardından IHCs’ye zarar vermektedir (Nicolas-puel ve diğerleri, 2006). Patolojik sürecin başlangıcı, OHC’lerin stereocilia’sında gürültüden zarar gören hücre içi kalsiyum seviyeleri ve yapısal proteinlerinin biyokimyasal değişiklikleri içeren iki temel süreçle başlamaktadır. Eggermont, artan hücre içi kalsiyumun, hücrelerin nörotransmitter salınımını ve ardından afferent liflerin aktivitesini artırarak, periferik tinnitusun patolojik substratı olabileceğini öne sürmüştür. (Eggermont, 2000).

**2.5.4. İç Saç Hücreleri (IHC'ler) ve Koklear N-metil-D-aspartat (NMDA) Alıcıları**

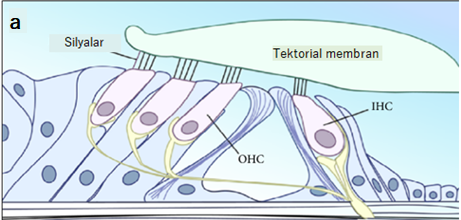
NMDA reseptörünün, gürültüye bağlı tinnitusta önemli bir rol oynadığı bulunmuştur. Bu NMDA reseptörleri, IHC’lerin modiolar tarafında baskın görünmektedir. IHC’lerden türetilen glutamat seviyelerindeki bir artışın, spiral ganglion nöronlarının dendritlerinde aşırı Ca2+ salan NMDA reseptörlerini aktive ettiği görülmektedir. Bu, NMDA reseptörlerinin aşırı uyarılmasına ve sonuç olarak hasar sırasında bir kalsiyum akışına neden olur. Bu süreç, işitsel sinirin anormal uyarılması yoluyla işitme kaybı, nöral presbiakuzi ve tinnitusa katkıda bulunabilir (Ganz ve diğerleri, 2002).

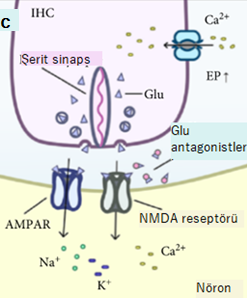
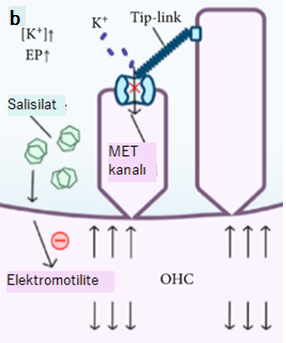
Aşırı uyarılmanın altında, IHC'ler ve spiral ganglion nöronları arasındaki sinapslardaki reaktif oksijen türlerini artıran adenozin trifosfatta (ATP) bir artış olmaktadır (Sahley ve diğerleri, 2013). NMDA reseptörlerindeki Ca2+ seviyelerindeki bir artış, reaktif oksijen veya hidrojen türlerinin üretimi veya hatta spiral ganglion nöronlarının ölümü gibi ardışık metabolik olayları tetikleyebilmektedir (Parsons ve Raymond, 2014). NMDA-reseptör aktivasyonunun bloke edilmesinin, gürültü hasarından sonra IHC şeritlerinin kaybını önlemesi mümkün olabilmektedir (Bing ve diğerleri, 2015).

**2.5.5. Endokoklear Potansiyelinin Artışı**

Endokoklear potansiyel, işitsel sinyal iletimi için bir ön koşuldur. Endolenfte yüksek konsantrasyonlarda K+ tutularak korunur ve koklear spontan aktivite ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (Moser, Neef ve Khimich, 2006). Endokoklear potansiyeldeki bir artış, voltaj kapılı Ca2+ kanallarının açılmasını, hücre içi Ca2+ akışını ve sinaptik şeridin plazmatik membrana füzyonunu içeren bir dizi olayı tetikleyen IHC'leri depolarize edebilir. Bu, glutamat salınımı ve koklear liflerin depolarizasyonu ile sonuçlanır. OHC'ler, mekanik-elektrik iletim kanalları aracılığıyla endokoklear potansiyeli düzenleyebilir (Moser ve diğerleri, 2006).

Başka bir deyişle, bu kanalların açılması stereosiliar demet sapmasına bağlı olmaktadır. Bu süreç, bu kanalların açılma olasılığını azaltan ve sonuç olarak endokoklear potansiyeli artıran akut gürültü travması tarafından indüklenmiş gibi görünmektedir (Patuzzi, 2002). Biyokimyasal değişiklikler, en çok tinnitusun akut fazıyla alakalı görünmektedir. Isı şoku protein grubu (stres proteinleri), saç hücrelerinin yapısal proteinleri ile etkileşir, onlara destek verir ve onları daha fazla hasardan korumaktadır. Eksik bir ısı şoku protein sistemi tepkisine neden olan herhangi bir rahatsızlık, yüksek gürültüye maruz kalan kişide tinnitusa neden olabilmektedir (Dechesne ve diğerleri, 1992).





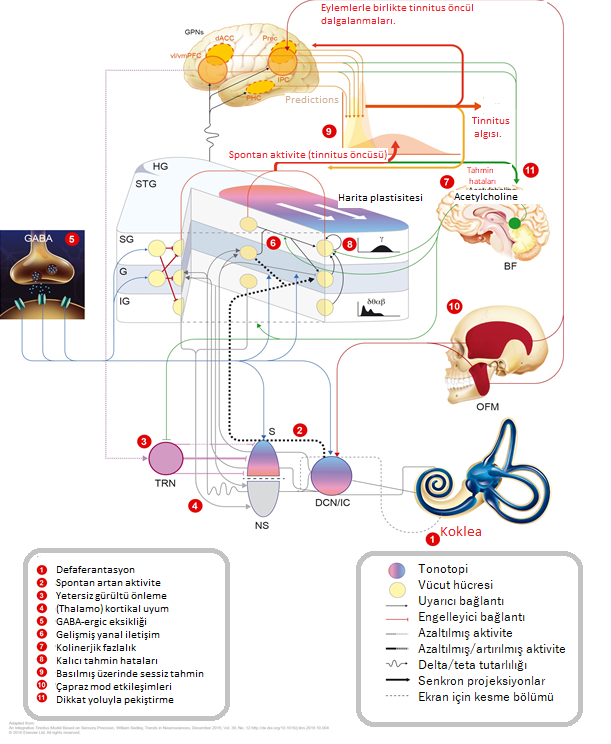
* 1. **Şekil 2.** Salisilat kaynaklı tinnitus üzerinde glutamat antagonistlerinin olası terapötik mekanizması. (a) Corti organının şematik diyagramı. (b) Salisilat, MET kanallarının açılma olasılığını azaltan, MET kanallarından K+ akışını azaltan ve EP`yi artıran OHC’lerin elektromotilitesini engelleyebilmektedir. Üç aşağı ve üç yukarı ok seti, OHC’lerde elektromotilitenin uzunlamasına uzantısını temsil etmektedir. (c) Artan EP’yi voltaj kapılı Ca2+ kanallarının açılması, sinaptik şeridin IHC’lerin sitomembranına füzyonu ve glutamat salınımı takip eder ve böylece koklear lifler anormal şekilde depolarize olur ve tinnitus oluşur. Glutamat antagonistleri, AMPAR’ları ve NMDA reseptörlerini bloke ederek süreci engelleyebilir. IHC: iç tüy hücresi; OHC: dış saç hücresi; EP: endokoklear potansiyel; MET: mekanoelektrik transdüksiyon; NMDA reseptörü: N-metil-D-aspartik asit reseptörü; AMPAR: a-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol-propiyonik asit reseptörü.

**2.5.6. Koklear Sinaptopati**

Tinnitus olan kişilerin çoğunda klinik olarak ölçülebilir bir işitme kaybı olsada, iyi bir sayı yoktur. Farklı serilere göre normal işitenlerin (tonal odyometriye göre) %60’ından fazlasında tinnitus görülmektedir (Tucker ve diğerleri, 2005). Hayvan verileri, IHC’ler ve koklear sinir lifleri arasındaki kalıcı sinaps kaybının, gürültüye maruz kalma veya yaşlanma gibi dış faktörler nedeniyle meydana geldiğini göstermektedir (Kujawa ve Liberman, 2015). Bu duruma halk arasında “gizli işitme kaybı” (HHL) adı verilir, çünkü sessiz sesleri kullanarak geleneksel tonal odyometri ile teşhis koymak mümkün olmamaktadır (Schaette ve McAlpine, 2011).

Kulakta gürültüye aşırı maruz kalma, IHC’deki elektron yoğun şerit sinapslarından nörotransmiter glutamatın hızlı bir şekilde aşırı salınımına neden olmaktadır. Bu eksitotoksik saldırı, IHC’ler ve afferent nöronlar arasındaki kısmi bağlantısızlık nedeniyle belirli bir frekansta önemli düzeyde işitme kaybına neden olan dendritlerin şişmesine yol açmaktadır (Pujol ve diğerleri, 1993). Kulak, gürültüye maruz kaldıktan sonra bu nöronal terminallerin duyu hücrelerine doğru yeniden büyümesi ile tinnitus bir süre sonra kaybolmaktadır. Bununla birlikte bazı durumlarda terminaller geri büyümüş olsa bile, yeniden bağlantı tamamlanmayabilir veya şerit sayısındaki azalma ya da çift sayısındaki azalma nedeniyle sinaptik eşleşme eksik kalmaktadır (Rüttiger ve diğerleri, 2013).

Hasar, yüksek eşiklerden ve orta ila yüksek ses yoğunluklarını kodlamaktan sorumlu olan koklear nöronların düşük spontan hızını seçici olarak etkiliyor gibi görünmektedir (Furman ve diğerleri, 2013). Son zamanlarda, HHL’nin altında yatan başka bir mekanizma bildirmiştir (Wan ve Corfas, 2017). Araştırmacılar, geçici Schwann hücrelerinin kaybının koklear heminodalın kalıcı olarak bozulmasına ve sonuç olarak HHL’nin özelliği olan kalıcı işitsel eksikliklere yol açtığını bulmuşlardır.



**Şekil 3.** Tinnitus patofizyolojisinde yer alan potansiyel mekanizmalar. GPN'ler, küresel algısal ağlar; vl/vmPFC, ventrolateral/ventromedial prefrontal korteks; dACC, dorsal anterior singulat korteks; Prec., precuneus; IPC, alt parietal korteks; PHC, parahipokampal korteks; HG, Heschl girusu; STG, üst temporal girus; SG/G/IG, supragranüler/granüler/infragranüler nöronal katmanlar; BF, bazal ön beyin; OFM, orofasiyal hareketler; S, spesifik (lemniskal) işitsel talamus; TRN, talamik retiküler çekirdek; NS, spesifik olmayan işitsel talamus; DCN, dorsal koklear çekirdek; IC, alt kollikulus (Ribeiro ve diğerleri, 2018).

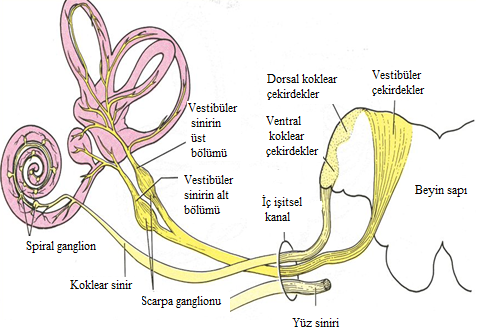
**2.6. Tinnitus Mekanizması**

Tinnitus mekanizmaları için ilk teoriler, tinnitus oluşumunun iç kulakta bulunduğunu varsaymaktaydır (Møller ve diğerleri, 2011). Periferik tinnitusun öne sürülmesinin sebebi; hastalar genellikle tinnitusu kulaklarında algılaması ve tinnitus ile koklear hasarın neden olduğu işitme kaybı arasında güçlü bir ilişki olmasıdır. Özellikle her ikisi de başın aynı tarafında smeydana gelmesi sebebiyle, tinnitusun bilinen patoloji bölgesinde bulunduğunu varsaymak mantıklı görünüyordu. Ancak, bilateral işitsel sinirin kesilmesinin her zaman tinnitusu ortadan kaldırmadığı bulgusu, tinnitusun santral olarak oluşturulabileceğini düşündürmüştür. Bu bulgu, merkezi tinnnitus oluşumunun erken teorilerini desteklemiştir. Örneğin, sesle "maskelenebilen" tinnitusun kokleadan kaynaklandığı, oysa maskelenemeyen tinnitus merkezi bir kökene sahip olduğu kuramlaştırılmıştır (Shulman ve diğerleri, 1985).

Tonndorf (1987), merkezi jeneratörleri içeren mekanizmalar da dahil olmak üzere, tinnitustan çok sayıda mekanizmanın sorumlu olabileceğini öne sürmüştür. Zamanla tinnitus, koklear hasar tarafından tetiklense bile, kaynağının merkezi işitsel sistemde (CAS) olduğu inancına kaymıştır (A.H. ve diğerleri, 1998). Neredeyse tüm koklear hasar türleri, CAS’a gönderilen kokleadan gelen nöral çıktıyı azaltmaktadır. Bu azalan çıktı, akustik sinir bileşiği aksiyon potansiyelinin (CAP) genliğinde bir azalma olarak kolaylıkla saptanmaktadır (Lobarinas ve diğerleri, 2006).

Koklear yıkımı ve gürültü hasarı, başlangıçta koklear çekirdekte (CN) spontan deşarj oranlarında bir azalmaya neden olmaktadır. Bununla birlikte, koklear hasarından yaklaşık yedi gün sonra başlayarak, koklear çekirdeğin (DCN) dorsal kısmındaki nöronlar, hem spontan hem de sesle uyarılmış nöral aktiviteyi arttırarak (yukarı regüle ederek) yanıt vermektedir. Aktivitedeki bu artış CN’nin çoğunda meydana gelir, ancak koklear hasara ayarlanmış bölgelerin yakınında ortalanma eğilimindedir. Ayrıca, DCN'deki spontan hızdaki artışlar, tinnitusun davranışsal kanıtı ile ilişkilendirilmiştir (Kaltenbach ve diğerleri, 2004). Spontan aktivitedeki bu yukarı regülasyonun, artan ateşleme hızına yol açan inhibisyon kaybının (disinhibisyon) neden olduğu uyarıcı ve inhibe edici sinir iletimi arasındaki normal dengedeki bir değişiklikten kaynaklandığı düşünülmektedir (Wang ve diğerleri, 2009). Bu değişiklikler, deneyime dayalı plastik merkezi sinir sistemi (CNS) değişiklikleri ve/veya hasar nedeniyle CAS girdisinin kaybı nedeniyle meydana gelmektedir (Møller ve diğerleri, 2011).

Sonuç olarak, kokleadaki patoloji ve işitsel sinir aktivitesinin azalması, merkezi işitsel yapılarda homeostazı onarmaya çalışan telafi edici değişikliklere yanıt olarak artan ve/veya patlayan nöral aktivite ile sonuçlanabilmektedir (Henry ve diğerleri, 2014).



**Şekil 4.** Tinnitus oluşumunda yer olan kulak kısımları.

**2.7. Tinnitus Teşhisi**

Tek bir sınıflandırma planının yaygın olarak kabul edilmemesine rağmen, bir hastanın tinnitus tanımlamaya yardımcı olmak için aşağıdaki soruların sorulması gerekmektedir: (1) Ses nerede duyulur? (2) Kulağa nasıl geliyor?, (3) Ses ne kadar yüksek?, (4) Yüksek perdeli mi yoksa düşük perdeli mi? ve (5) Ses kişinin hayatını nasıl etkiler? Bu sorulara işitme, denge ve görme testleri ve sistemlerin eksiksiz bir tıbbi incelemesi dahil olmak üzere herhangi bir nörotolojik öykünün bileşenlerinin eklenmesi gerekmektedir. Tam bir nörotolojik muayene de son derece önemlidir. Hastaların muayeneden önce doldurmaları için tinnitusa özel bir anketin geliştirilmesi, bu hastaları tedavi eden herhangi bir doktor için değerli klinik billgiyi oluşturmaktadır.

Tinnitus bildiren kişiler, sesin doğası (konumu, kalitesi ve başlangıcı [tedrici veya ani]), tinnitusun süresi, tinnitusun günlük yaşam üzerindeki etkisi (uyku, iş, konsantrasyon, ruh hali ve sosyal aktiviteler) ve işitme güçlükleri ile ilişkili semptomlar hakkında sorgulanmalıdır. Kulak akıntısı öyküsü, kulak ağrısı veya her ikisi de olası enfeksiyöz, enflamatuar veya alerjik kulak hastalığını olduğunu düşündürebilir; baş dönmesi ve dengesizlik öyküsü, Meniere hastalığı, akustik nöroma veya migrenle ilişkili baş dönmesi gibi olası koklear veya retrokoklear bozukluklar olduğunu düşündürürebilir. Tinnitusun hastalar tarafından tanımlandığı şekliyle niteliksel özellikleri de belirli nedenlere işaret edebilmektedir; örneğin, kükreyen bir ses Meniere hastalığını ve ritmik bir tıklama sesi stapedial veya tensör timpani kas spazmını gösterebilmektedir. Akut tinnitus, kronikliğin iyi kabul edilmiş bir tanımı olmamasına rağmen, kalıcı tinnitustan ayırt edilebilmelidir; klinik çalışmalarda, tanım minimum 3 aydan maximum 12 aya kadar değişmektedir. Rapor eden tinnituslu hastalarda işitme kaybının varlığı, tipi, ciddiyeti ve simetrisi için kapsamlı odyolojik değerlendirme yapılmalıdır (Practice, 2018).

**2.8. Tinnitus Tedavi Yöntemleri**

Tinnitus tedavileri iki kategoriye ayrılabilir:

1) Tinnitus yoğunluğunu doğrudan azaltmayı amaçlayan tedaviler. Bu tedavi yöntemleri farmakoterapi ve elektriksel bastırmayı içermektedir.

2) Tinnitus ile ilişkili rahatsızlığı gidermeyi amaçlayan tedaviler. Bu yöntem ise farmakoterapi, bilişsel ve davranışsal terapi, ses terapisi, alışkanlık terapisi, masaj ve germe ve işitme cihazlarını içermektedir (Sanchez ve diğerleri, 1999).

**2.8.1. Farmakoterapi**

Randomize klinik çalışmaların kapsamlı incelemeleri, yalnızca nortriptilin, amitriptilin, alprazolam, klonazepam ve oksazepamın plasebodan daha faydalı olduğunu ortaya koymuştur. Lechtenberg ve Shulman (1985), klonazepam ve oksazepamın tinnitus vakalarının %50’sinden fazlasında etkili olduğunu kaydetmiştir. Ancak, hastalar bu ilaçlardan herhangi birini almayı bıraktığında, tinnitus düzeyi daha kötü bir düzeyde önceki haline döndüğü görülmüştür. Tinnitusu güvenilir bir şekilde azaltan tek ilaç intravenöz lidokaindir ve lidokain ile oral karbamazepinin etkileri arasında yakın bir ilişki vardır. İntravenöz lidokain, sağ temporal lobda işitsel çağrışım korteksinde nöral aktivitede bir değişiklik oluşturmaktadır. Ne yazık ki lidokain enjekte edilmesi gerektiğinden klinik olarak kullanılamaz, etkileri kısa sürelidir ve sıklıkla olumsuz yan etkilere neden olmaktadır. Lidokain ile yakından ilişkili bir oral antiaritmik ilaç olan tokainid yarar sağlamamıştır. Diazepam ve flurazepam, tinnitus yoğunluğunu önemli ölçüde değiştirmektedir (Sanchez ve diğerleri, 1999).

**2.8.2. Bilişsel ve Davranışsal Terapi**

Bilişsel terapi, kişinin tinnitus hakkında nasıl düşündüğüne ve olumsuz düşüncelerden kaçınmaya odaklanırken, davranışçı terapi birçok fobiye uygulanan sistematik duyarsızlaştırma yaklaşımını kullanmaktadır. Bilişsel terapi, olumsuz düşünceyi daha olumlu düşüncelerle değiştirerek hastalara tinnitus ile başa çıkmayı öğretmeyi içermektedir. Bilişsel yeniden yapılandırma tinnitus ile ilişkili düşünceleri değiştirmeyi içermektedir. Bu bağlamda hastalar, tinnitusun gördüğü tüm ilgiyi hak etmediği fikrini kabul etmeye teşvik edilmektedir. Davranışsal terapi, olumlu imgeleme, dikkat kontrolü ve gevşeme eğitimine odaklanmaktadır. Olumlu imgeleme, düşünceleri tinnitustan daha hoş bir şeye odaklamayı, böylece düşünceleri başka yöne çevirmeyi içermektedir. Hastalar işe hoş görsel görüntülerle (örneğin, kumsalda yatarken) ve işitsel görüntülerle (örneğin, dalgaların sesi veya yaprakların arasından geçen rüzgarla) başlamaktadır. Dikkat kontrolü, rahatsız edici olduğunda kulağın tinnitustan dikkatini uzaklaştırılmasını içermektedir. Bu süreç, iki resmi yan yana yerleştirerek ve ardından bitişik bir odadan çıkan iki akustik uyaran (örneğin, bir fan sesi ve konuşma konuşması) sunarak başlanabilmektedir. Daha sonra, bir resim ve tinnitus ile eşleştirilir, ardından bir düşünce ile tinnitus eşleşmesi gelmektedir (Han ve diğerleri, 2009).

**2.8.3. Ses Terapisi**

Ses terapisi, işitsel sistem içindeki tinnitus ile ilgili nöronal aktivitenin gücünü azaltmak için akarsular, yağmur, şelaleler ve rüzgâr ile ilişkili olanlar da dahil olmak üzere doğal ortamlarda bulunan sesleri kullanmaktadır. Hastayı rahatsız etmeyen ve göz ardı edilmesi kolay, düşük seviyeli, sürekli, nötr bir sese maruz bırakılarak sistem artırılır. Böyle bir ses anlamlı, hoş veya dikkat çekecek, televizyon, radyo veya müzik dinlemeyi uygunsuz kılacak şekilde uyandırıcı olmamalıdır. Nötr sesler sabit olmalı ve bunaltıcı olmamalıdır; bu nedenle dalga sesleri tavsiye edilmemektedir. Bazı hastaların dikkati kuş sesleri, cırcır böcekleri veya gök gürültülü fırtınalar tarafından dağılır ve bu nedenle bu sesleri uygularken dikkatli olunması gerekmektedir. Tek taraflı tinnitusta sadece bir tarafı uyarmak sıklıkla sonuçlandığından, işitsel sistemin asimetrik uyarımını önlemek için ses iki taraflı uygulanmalıdır (Møller ve diğerleri, 2011).

**2.8.4. İşitme Cihazları**

İşitme cihazları, önemli işitme kaybı olan tinnitus hastalarına genellikle faydalı olan başka bir ses terapisi biçimini temsil etmektedir (Folmer ve diğerleri, 2017). İşitme cihazları, konuşmanın duyulabilirliğini iyileştirmek ve ortam seslerini yükseltmek için tasarlanmıştır. Konuşmanın yükseltilmesi dikkati tinnitustan uzaklaştırır ve diğer ortam seslerinin yükseltilmesi tinnitusu kısmen maskelemeye yaramaktadır. İşitme cihazları 6 kHz'in üzerinde sınırlı işitme kaybı olanlar için uygun değildir, çünkü çoğu işitme cihazlarının sınırlı yüksek frekanslı amplifikasyon yetenekleri vardır. İşitme cihazlarının kullanımı, tinnitus oluşumundan ve algısından sorumlu nöral aktiviteyi kalıcı olarak azaltabilir ve genellikle işitme bozukluğu olan hastalar için ilk müdahaleyi temsil etmektedir (Folmer ve diğerleri, 2017).

**2.8.5. Müzik terapisi**

Müzik terapisi, tinnitusu maskelemek ve rahat bir dinleme seviyesinde rahatlamayı kolaylaştırmak için her hastanın işitme özelliklerine göre spektral olarak değiştirilmiş müziği kullanan bir duyarsızlaştırma yöntemidir. Müzik, dilsel olarak daha yavaş olanı atlayarak limbik sistemi doğrudan etkilemektedir (Han ve diğerleri, 2009).

**2.8.6. Tinnitus yeniden eğitim tedavisi (TRT)**

Tinnitus yeniden eğitim tedavisi (TRT), tinnitus hastalarına yardımcı olmak için tasarlanmış bir alışkanlık tedavisi şeklindedir. TRT temel olarak işitsel olmayan sistemleri, özellikle limbik ve otonom sinir sistemlerini hedefler ve tinnitusu beyindeki normal telafi edici mekanizmaların bir yan etkisini temsil ettiği varsayımına dayanmaktadır. TRT tinnitusa verilen fizyolojik tepkilere alışma sağlamak ve ardından tinnitus algısına alışma sağlamak için beyinde doğal olarak oluşan plastisite mekanizmaları kullanılmaktadır. Alışma tipik olarak duyusal uyaranın tekrarlanmasıyla sağlanmaktadır. Ancak bu yöntem doğrudan tinnitusa uygulanamaz çünkü otonom sinir sisteminin olumsuz pekiştirme işlevi gören tepkilerini ortadan kaldırmak mümkün olmamaktadır. Bu nedenle TRT, uyarıcıyı ve pekiştirici mevcut kalsa bile azaltmayı içermektedir (Moller, 2007).

**2.8.7. Masaj ve germe**

Boyun ve çiğneme kaslarının masajı ve gerilmesi, tinnitusta önemli bir iyileşme ile ilişkilendirilmiştir. Somatik tinnitus olan hastalarda, baş, boyun ve omuz ağrısı gibi servikal omurga bozukluklarının semptomlarının yanı sıra yana eğilme ve rotasyonda kısıtlamalar olabilmektedir. Çene ve boyun rahatsızlıklarını tedavi etmenin tinnitus üzerinde faydalı etkileri gözlenmektedir (Dobie, 1999).

**2.8.8. Elektriksel bastırma**

Koklea'nın saniyede 5.000 darbede darbe dizileri ile elektriksel uyarımı, herhangi bir algı olmadan ya da uyaranın yalnızca geçici olarak algılanmasıyla tinnitusu büyük ölçüde veya tamamen bastırabilmektedir. Bu kadar yüksek bir hızda elektriksel darbelere sahip uyaran, işitsel sinirde spontane benzeri ani aktivite kalıplarını geri yükler ve bu da tinnitusu nasıl bastırdığını açıklayabilmektedir (Rubinstein ve diğerleri, 2003). Kulağa yakın cilt bölgelerinin transkutanöz elektriksel sinir stimülasyonu, somatosensoriyel yol yoluyla DCN’nin aktivasyonunu arttırır ve bu çekirdeğin CNS üzerinde oynadığı engelleyici rolü güçlendirebilir, böylece tinnitusu iyileştirebilmektedir (Han ve diğerleri, 2009).

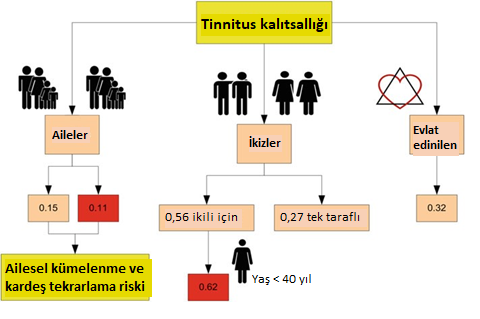
**2.9. Tinnitus Genetiği**

Tinnitus için büyük ölçüde bilinen çevresel risk faktörlerinin aksine, ilgili genler hakkında daha az şey bilinmektedir. Muhtemelen altta yatan tinnitus yatkınlığı için birçok gen öne sürülmüş ancak şimdiye kadar bir fikir birliğine varılamamıştır. Nörofibromatozis tip II, epizodik ataksi tip II, osteogenezis imperfekta tip I ve Fabry hastalığı gibi sekonder kronik tinnitus ile bağlantılı birkaç monojenik bozuklukta, nedensel genler tanımlanmıştır. İkincil tinnitusta (tinnitus kormobid durum ile ilgili ise ikincil tinnitus denilmektedir) ve bununla ilişkili mutasyona uğramış genlerle ilişkili monogenik hastalıklardan söz edilmektedir. Sağlıklı bir popülasyonda daha sık görülen, birincil kronik tinnitus kalıtımına ilişkin veriler çok sınırlı olduğundan, aile ve / veya ikiz çalışmaları çoğunlukla eksik olduğundan tartışma altındadır (Amanat ve diğerleri, 2021).

Kvestad ve ark. (2010)’larnın çalışması, genetik etkilerin tinnitusa yatkınlık üzerindeki göreceli katkısının bir tahminini sağlayan ilk büyük popülasyon temelli aile çalışmasıdır. Veriler, tinnitus özellikleri (süre, sıkıntı, sıklık) ve birinci derece aile ilişkileri ile ilgili soruları içeren bir öz bildirim anketi kullanılarak toplanmıştır. Yapısal eşitlik modellemesi için toplamda 12,294 eş, 27,607 ebeveyn-çocuk ve 11,498 kardeşten oluşan bir örneklem kullanılmıştır. Tinnitusta genetik faktörlerin katılımının oldukça düşük olduğunu düşündüren %11’lik bir kalıtsallık elde edilmiştir. Kalıtsal işitme kaybı bildirilen çok sayıda aile göz önüne alındığında, kalıtsal tinnitus olan ailelerin literatürde eksik bildirilmesi olası görünmemektedir. Bu nedenle, Mendel kalıtım kalıbı gösteren rapor edilen ailelerin yokluğu, muhtemelen birincil kronik tinnitusun tek genli bir bozukluk olmadığını, daha ziyade çoklu genler ve çevresel risk faktörleri arasındaki karmaşık etkileşimler tarafından kontrol edilen karmaşık bir özellik olduğunu göstermektedir. Son yıllarda, karmaşık özelliklerde yer alan genlerin genetik olarak aydınlatılması için çok çaba sarf edilmiştir. Bu, karmaşık özelliklerin ve hastalıkların çoğunun oldukça poligenik olduğunu ve her biri küçük etki boyutlarına sahip olan çok sayıda genetik varyantın birleşik eylem içerdiği gösterilmiştir. Oran oranları tipik olarak 1,1’den küçüktür, ancak daha büyük etki büyüklüğüne sahip varyantlar (1,25’in üzerindeki olasılık oranları) bildirilmiştir. Tinnitus için, önceden tahmin edilen %11’lik kalıtsallık, varyansın sadece küçük bir kısmının genetik varyantlardan kaynaklandığını göstermektedir. Bununla birlikte kalıtsallık birkaç genin birleşik etkisinin açıkladığı varyansı temsil ettiğinden, dahil olan genlerin sayısının sınırlı olduğu ve kalıtımın çoğunu bir veya daha fazla ana genin açıkladığı göz ardı edilemez bir gerçekliktir (Kvestad ve diğerleri, 2010).

Yakın zamanda yapılan bir çalışma, tinnitusun genetik katkısı hakkında yeni bilgiler sağlamaktadır. Bir erkek ikiz kohortunda yapılan bu uzunlamasına çalışmada, tinnitusa genetik katkıyı araştırılmış ve sırasıyla genetik ve çevresel etkiler için %40/60’lık bir oran ortaya konulmuştur (Gilles ve diğerleri, 2017).

Bir tinnitus bozukluğuna genetik katkıyı destekleyen kanıtlar sınırlıdır ve çalışmaların çoğu İsveç’te yapılmıştır, ancak düşük-orta düzeyde ailesel kümelenme ve iki taraflı tinnitus olan monozigotik ikizler arasında yüksek uyum içermektedir (Şekil 5). Bu bulgular, şiddetli ve iki taraflı tinnitusun genetik bir kalıtım olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle başlangıç ​​yaşı, tinnitus şiddeti, aile öyküsü veya tinnitus ile bağlantılı komorbiditeleri içeren uygun bir tinnitus fenotipinin seçilmesi önemlidir ancak bu değişkenler genetik ilişki çalışmalarında çok az dikkate alınmıştır (Amanat ve diğerlerleri, 2021).



**Şekil 5.** Tinnitus ailesel kümelenme ve genetik kalıtımdaki cinsiyet farklılıkları. Aynı aile ortamını paylaşan kardeşler arasındaki tinnitus tekrarlama risk oranı hesaplanarak ailesel kümelenme tahmin edilmiştir. Kalıtım ikizler ve evlat edinilenler çalışmalarında monozigotik ve dizigotik ikizler arasındaki ve biyolojik ebeveynleri olan evlat edinenler arasındaki uyum oranı karşılaştırılarak tahmin edilmiştir. Ailelerin altındaki kırmızı kutu, düşük kalıtsallığı gösterir ve ikizlerin altındaki kırmızı kutu, genç kadınlarda bilateral tinnitus riskinin arttığını göstermektedir.

**2.9.1. Ailesel Toplama**

Tinnitusun ailesel kümelenmesini araştırmak için, altı Avrupa ülkesinde en az üç kardeşi olan 198 aileyi bir araya getiren ve analiz için toplam 981 bireyle sonuçlanan geniş bir çalışma yürütülmüştür. Bu kişilerde tinnitusu tespit etmek için günümüzde kafanızda veya kulağınızda genellikle 5 dakikadan uzun süren sesler (tinnitus) oluyor mu şeklinde bir soru sorulmuştur. Bu çalışma, ortak çevre ve genetik risk faktörlerinin rolü hakkında sınırlı bilgi ile birlikte tinnitus yaygınlığının %21,2’sini ve ailesel korelasyonun 0,15’ini bildirmiştir (Amanat ve diğerleri, 2021).

Tinnitus kalıtsallığı üzerine bir başka çalışmada Nord-Trøndelag İlçesinden 11,498 kardeş, 27,607 ebeveyn-yavru ve 12,940 eş alınmıştır. Bu çalışma tinnitusun kalıtsallığını kardeşler için h2 = 0,06-0,14, ebeveyn-yavru için h2 = 0,01-0,07 ve eş için 0,04 olarak bildirilmiştir. Herhangi bir cinsiyet farkı olmaksızın 0,11 gibi düşük bir kalıtım derecesi bildirilmiştir ancak çalışmada tinnitus profili ve şiddeti ile ilgili klinik bilgiler eksik kalmıştır (Kvestad ve diğerleri, 2010).

Ailesel kümelenme üzerine bir başka büyük çalışma İsveç’te yapılmış ve cinsiyete göre önemli farklılıklar bulunmuştur. Bu nedenle, kadınlarda erkeklere kıyasla şiddetli tinnitus için daha yüksek tekrar etme risk oranı bildirilmiş, bu da kadın vakalarda daha yüksek duyarlılığa sahip bir cinsel dimorfizmi düşündürmüştür (Kvestad ve diğerleri, 2010).

**2.9.2. Evlat Edinilenlere Dayalı Çalışmalar**

Evlat edinenlere dayalı çalışmalar davranışsal genetikte, bir özellikteki varyasyonun çevresel veya genetik faktörlerden kaynaklanma derecesini tahmin etmek için kullanılmaktadır. İki benimseme çalışması tasarımı vardır. Bu çalışmalar, evlat edinilen ile biyolojik ve evlat edinen ebeveynleri arasındaki fenotip uyumu karşılaştırılmaktadır. Biyolojik ebeveynlerle benzerlik, kalıtsal bir genetik etki ile ilişkilendirilirken, evlat edinen ebeveyn ile benzerlik, paylaşılan ailesel, çevresel etki ile ilişkilendirilmiştir.

Ulusal kayıt verilerini kullanan bir İsveç çalışması, biyolojik ebeveynleri ile ilgili olarak tinnitus ve evlat edinenler arasında bir ilişki ile h2 = 0,32 kalıtım derecesi bildirmiştir ancak evlat edinen ebeveynleri ile ilgili değildir. Bu nedenle, evlat edinen ebeveynlerdeki tinnitus, evlat edinilenler arasında tinnitus olasılığını artırmaz, bu da aile ortamının tinnitus kalıtsallığı ile sınırlı bir ilişkisi olduğunu düşündürmektedir (Cederroth ve diğerleri, 2019).

**2.9.3. İkizlere Dayalı Çalışmalar**

İkiz tabanlı epidemiyolojik çalışmalar, monozigotik (MZ) ve dizigotik (DZ) ikizlerde hastalık uyumunu karşılaştırarak kalıtsallığı tahmin etmek için kullanılmıştır. Dolayısıyla, alellerinin ortalama yarısını paylaşan genetik olarak MZ ikizlerinde yüksek bir uyum, genetik bir kalıtımın olduğunu düşündürmüştür.

Hem MZ hem de DZ ikizlerinin aynı aile ortamını paylaştığı varsayılır, böylece hastalık etiyolojisine genetik katkı hakkında ilgili bilgiler sağlanmaktadır. İki ikiz çalışması yayınlanmış ve her ikisi de bağımsız olarak genetik faktörlerin tinnitusa katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır.

Bogo et al. (2017), yaşla ilişkili işitme kaybı olan 52-96 yaş arası erkek ikizlerde kendi bildirdiği tinnitusun genetik katkısını değerlendirdi. İkiz değerlendirmeleri başlangıçta (n=1,084 kişi) ve 18 yıllık takipten sonra (n = 576 kişi) yapıldı. Bu çalışma odyometri ve kendi bildirdiği tinnitusu algısını içermektedir. Hipotez, daha hızlı işitme bozukluğu olan bireylerin en büyük tinnitus riskine sahip olduğu ve genetik faktörlerin tinnitus üzerinde etkili olduğu üzerineydi. (Bogo ve diğerleri, 2017).

Orta derecede bir genetik etkiyi destekleyen tinnitus için genel kalıtım derecesi h2 = 0,4 olarak tahmin edilmiştir. 10,464 ikiz çiftten oluşan büyük bir İsveç kohortu, “Kulaklarınızda uğultu var mı?” sorusuna dayalı olarak tinnitus uyumunu değerlendirmek için seçilmiştir. Araştırmada, MZ ikizlerinde DZ ikiz çiftlerine kıyasla daha yüksek bir bilateral tinnitus uyumu olduğu gösterilmiştir. Daha ileri araştırmalarda, kalıtsal tinnitusta önemli cinsiyet farklılıkları ortaya çıkarılmıştır. Tek taraflı tinnitus için, gözlenen kalıtsallık erkek için h2=0,29 ve kadın için h2=0,25 olmuştur ancak bilateral tinnitus için erkekte h2 1/4 0,68, kadında h2 1/4 0,41 olarak rapor edilmiştir. Ayrıca, farklı yaş gruplarında bilateral tinnitusun kalıtsallığında bazı cinsiyet farklılıkları da gözlenmiştir. Analiz için yaşı <40 olan genç kadın çiftlerin seçimi sebebiyle kalıtsallıkta bir artış bulmuştur (h2=0,62). Bu da tinnitus kalıtsallığı üzerinde cinsiyete dayalı etkinin ek kanıtlarını sağlamıştır (Maas ve diğerleri, 2017).

**2.10. Tinnitusa Genetik Katkı**

Tablo 1’de kronik tinnitus üzerinde yapılan genetik çalışmalar ve önerilen aday genler listelenmiştir.

**Tablo 1.** Kronik tinnitus üzerine genetik çalışmalar ve önerilen aday genler.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Referans | Popülasyon | Örneklem | Cinsiyet | | Sekanslama Modeli | Aday Genler |
| F | M |
| Deniz et al. (2010) | Türk | 54 | 33 | 21 | Genotipleme | *SLC6A4* |
| Sand et al. (2010) | Kafkas | 201 | 49 | 152 | Genotipleme | *KCNE1* |
| Sand et al. (2011) | Kafkas | 288 | 86 | 202 | Genotipleme | *KCNE3* |
| Sand et al. (2012b)a | Kafkas | 240 | 69 | 171 | Genotipleme | *GDNF,*  *BDNF* |
| Sand et al. (2012a)b | Kafkas | 95 | 28 | 67 | Genotipleme | *KCTD12* |
| Orenay- Boyacioglu et al. (2016) | Türk | 52 | 19 | 33 | Genotipleme | *GDNF* |
| Gilles et al. (2017) | Belçika | 167 | 67 | 100 | GWAS (Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları) | Metabolik yolak |
| Coşkunoğlu et al. (2017) | Türk | 52 | 19 | 33 | Genotipleme | *BDNF* |
| Orenay-Boyacioglu et al. (2019) | Türk | 60 | 21 | 39 | Promotörde 12 CpG bölgesinin metilasyonu | *GDNF,*  *BDNF* |

**2.10.1. BDNF ve GDNF**

Farklı etnik köken ve yaş gruplarında kronik tinnitus olan hastalarda birkaç genetik ilişki çalışması yürütülmüştür, ancak bunların çoğu bağımsız bir grupta tekrarlanmamıştır (Tablo 1). Örneğin, bazı aday genlerdeki ortak varyantlar, tinnitus mekanizmalarına dahil olabilecekleri varsayımı altında genotiplendirilmiştir. Şiddet düzeyini değerlendirmek için Tinnitus Anketi (TQ) kullanılarak 240 Kafkas hastası üzerinde genetik bir çalışma yapılmıştır (Goebel ve Hiller 1994). *BDNF* (rs2049046, rs6265) ve *GDNF* (rs1110149, rs884344, rs3812047) için genotiplendirme yapılmıştır. Çoklu testlerle düzeltme yapıldıktan sonra, kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Ancak kadın grubunda *BDNF* ve *GDNF* varyantlarının tinnitus şiddeti ile ilişkili olduğu saptanmıştır (P. G. Sand ve diğerleri, 2012).

*GDNF* geninin (rs884344, rs3812047, rs1110149) katkısı ile ilgili ileri araştırmalar, kronik tinnitus tanısı konan 52 Türk bireyden oluşan bir grupta gerçekleştirilmiştir. Tinnitus ile allelik frekansın bu üç varyantı arasında bir ilişki bulunamamasına rağmen, kontrollere kıyasla tinnitus hastalarında *GDNF* rs1110149 için heterozigotluk (C:G) daha düşüktü (p=0,02). Ancak kesin bir sonuca varılamamış ve yazarlar, büyük bir örneklem büyüklüğüne ve *GDNF* geninin farklı ekspresyon paternlerinin detaylı araştırılmasına ihtiyaç olduğunu öne sürmüşlerdir (Orenay-Boyacioglu ve diğerleri 2016). Son zamanlarda, 60 Türk vakasından oluşan bir grupta *GDNF*/*BDNF* CpG promotörünün metilasyon durumu incelenmiştir. *GDNF* CpG3-5-6 (CpG3 (p=0,0005), CpG5 (p=0,00003), CpG6 (p=,0029)) ve CpG6 BDNF (p=0,002) için hastalar ve kontroller arasında metilasyon oranında anlamlı bir fark gözlenmiştir ancak bu bulguları tekrarlamak için daha büyük bir örneklem büyüklüğüne ihtiyaç olduğu kanısına varılmıştır (Orenay-Boyacioglu ve diğerleri, 2019).

**2.10.2. Serotonin Taşıyıları**

Şiddetli tinnitus olan hastalar, diğer ek hastalıklarla örtüşür ve genel popülasyonun %5-10’unu etkileyen depresif bozuklukları olan hastalar arasında özellikle güçlü bir ilişki göstermektedir. Komorbid depresif bozukluk ve tinnitus arasında tahminen %30’luk bir uyumlu örtüşme vardır ve muhtemelen pleiotropik etkileri olan yaygın varyantlar her iki fenotipin moleküler oluşumuna katkıda bulunmaktadır (Tyler ve diğerleri, 2006). Bu nedenle, depresif bozukluklarla ilişkili kritik bir süreç olan serotonin regülasyonunda yer alan genler, tinnitus aday genleri olarak önerilmiştir.

*SLC6A4* geni serotonin nörotransmisyonunu düzenler ve *SLC6A4* genindeki 44 bp Indel ve 17 bp tandem tekrarının tinnitus gelişimindeki rolünü belirlemek için 54 Türk hasta üzerinde yapılan bir genotipleme çalışmasında tinnitus ilişkisi açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca tinnitus şiddetini ve depresyonu değerlendirmek için sırasıyla Tinnitus Handikap Envanteri (THI) ve Beck Depresyon Envanteri (BDI) kullanılmıştır. Ancak bu çalışmada, *SLC6A4’t*e bu varyantların tinnitus gelişimi ile anlamlı ilişkisi bulunamamıştır (Deniz ve diğerleri, 2010).

**2.10.3. Potasyum Kanalı**

Başka bir çalışmada, kronik tinnitus olan 288 Kafkas bireyi alınmıştır ​​ve tinnitus düzeyini değerlendirmek için TQ kullanılmıştır. Bu çalışma herhangi bir yeni varyant bildirmemiştir, ancak *KCNE3* (potasyum voltaj kapılı kanal alt ailesi E düzenleyici alt birim 3) rs17215437 G>A: R83H yalnızca üç taşıyıcıda gözlenmiştir ve bu varyantın tinnitus şiddeti üzerindeki etkisi, çalışmanın sınırlı gücü nedeniyle tam olarak değerlendirilememektedir.

Potasyum kanalının tinnitus şiddeti üzerindeki etkileri göz ardı edilemediği için *KCNE1*’teki yaygın varyantların ayrıntılı olarak araştırılması önerilmiştir (Philipp G. Sand ve diğerleri, 2011). *KCNE1*’in (potasyum voltaj kapılı kanal alt ailesi E düzenleyici alt birim 1) kronik tinnitus ile ilişkisini incelemek için kronik tinnitusu olan 201 Kafkas hasta üzerinde bir çalışma yapılmıştır. Tinnitus vakalarında 0,002 MAF ile yeni bir yanlış anlamlı mutasyon ch12:35821794 G>A: V47I bulunmuştur ve *KCNE1* alt birimlerinin ayrıntılı incelenmesi önerilmiştir (Philipp G. Sand ve diğerleri, 2010). *KCTD12*’nin (potasyum voltaj kapılı kanal alt ailesi E düzenleyici alt birim 12) *GABAB* (Gama aminobütirik asit B reseptörü) reseptör alt biriminin tinnitus gelişimi için aday bir gen olduğu düşünülmüş ve kronik tinnitus olan 95 Kafkas bireyi üzerinde bir çalışma yapılmıştır. Avrupalı ​​kontrollerle karşılaştırıldığında rs34544607 tinnitus ile ilişkili olmasına rağmen (p=0,04), 50 ek hasta tarandığında ilişki tekrarlanmamıştır (p=0,07). Yazarlar, *GABAB1* ve *GABAB2* reseptörlerinin düzenleyici bölgelerindeki varyantların etkileşiminin tinnitus ile ilişkili olabileceğini varsaymışlardır (P. G. Sand ve diğerleri, 2012).

Tinnitus atakları 5 dakikadan uzun süren 167 kişiye pilot GWAS (genom çapında ilişkilendirme çalışmaları) uygulanmıştır. Gen zenginleştirme analizi yapıldıktan sonra, p<5,0-8 eşiğine ulaşabilecek hiçbir önemli SNP tanımlanmamıştır. Bununla birlikte, tinnitus gelişiminde, oksidatif stres veya serotonin reseptör aracılı sinyalleşmeyi içeren birkaç metabolik yolun yer aldığı öne sürülmüştür. Bu çalışma için veriler yetersiz kaldığı için herhangi bir GWAS için büyük bir örneklem büyüklüğünün gerekliliği ve gelecekteki çalışmalar için daha spesifik tinnitus alt tiplerinin araştırılması önerilmiştir (Gilles ve diğerleri, 2017).

**2.11. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF)**

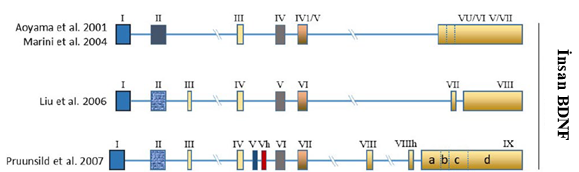
Nörotrofinler, merkezi sinir sistemi içinde ifade edilen bir temel büyüme faktörü sınıfıdır. Nörotrofinler normal beyin gelişimi, homeostaz ve plastisitenin temel düzenleyicileri olarak tanımlanarak psikiyatrik bozukluklar da dahil olmak üzere birçok patolojik durum ve hastalıkla ilişkilendirilmiştir (M. Notaras ve diğerleri, 2015). Nörotrofin grubu, sinir büyüme faktörü (NGF), BDNF, nörotrofin-3 (NT-3) ve nörotrofin-4’ten (NT-4) oluşmaktadır (M. Notaras ve diğerleri, 2015). Bu nörotrofinlerden BDNF, hastalıkla bağlantısı ve sinaptik plastisitede temel rolü de dahil olmak üzere çeşitli nedenlerle en çok çalışılan nörotrofin haline gelmiştir (Michael Notaras ve van den Buuse, 2019).

**2.11.1. *BDNF* Gen Yapısı**

*BDNF* geni ilk olarak 1991’de kromozom 11 bant p13’te tanımlanmıştır. Ancak 1 yıl sonra bu konum daha sonra 11p13-14 olarak revize edilmiştir. *BDNF* geni, birden fazla kodlamayan ekzondan oluşurken ancak yalnızca bir kodlayıcı ekzondan oluşmaktadır. *BDNF* geninin yapısını haritalamak için yapılan girişimler de, *BDNF* geni kromozom 11 p13 bandı (Maisonpierre ve diğerleri, 1991) üzerinde lokalize olduğu ve 11 ekzon ve 9 fonksiyonel promotörden oluştuğu bulunmuştur (Pruunsild ve diğerleri, 2007). Çeşitli uyaranlara yanıt veren en az 34 mRNA transkripti üretebilmektedir. *BDNF* geninin ortak bir kökene sahip dokular araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu insan *BDNF* geninin yapısı yetersiz olarak tanımlanmış ve sınırlı sayıda doku tipinin incelenmesi, BDNF transkriptlerinin dokuya özel bir şekilde ifade edilme olasılığı ihmal edilmiştir. Bu nedenle, insan *BDNF* geninin kapsamlı bir analizi sadece 2007’de yapılabilmiştir (Shen ve diğerleri, 2018).

Spesifik olarak ekson VIII ve VIIIh her zaman ekson V ile birleştirilir, ekson II, III, IV, V, Vh, VI ve VIIIh çevrilmemiş eksonlardır ve ekson I, VII ve VIII *proBDNF*’nin n-terminalinin uzunluğunu değiştirebilen ATG başlangıç ​​bölgeleri içermektedir. Buna ek olarak, II, V ve VI ekzonları, BDNF transkriptlerinin 5' çevrilmemiş bölgesinin (UTR) uzunluğunu değiştirebilen alternatif ekleme donör bölgeleri içermektedir (Michael Notaras ve diğerleri, 2019).

Dokuz alternatif promotör ile karmaşık bir gen yapısına sahip olmasına rağmen, kodlama dizisi ekson IX’da bulunmaktadır. proBDNF proteinini kodlayan ortak diziyi içermektedir. Diğer tüm ekzonlar, insan *BDNF* geninin I, VII, VIII ve IX ekzonlarında bulunan bir başlangıç ​​kodonu ile çevrilmemiş bölgelerden oluşmaktadır. Ekzon IX, tüm BDNF mRNA izoformlarında bulunmaktadır (Colucci-D’amato ve diğerleri, 2020).



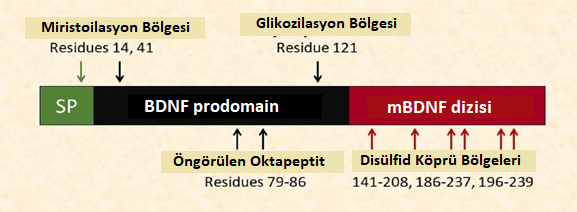
**Şekil 6.** Hem insan *BDNF* hem de kemirgen *BDNF* genlerinin genomik yapısı. Eksonlar, çalışmalar arası ve türler arası analojiye göre renklendirilmiştir. Eksonlar kutular, intronlar çizgiler olarak gösterilmektedir. Şekil yeniden çizilmiş ve Pruunsild ve diğerlerinden (2007) uyarlanmıştır.

*BDNF* geni tanımlanmasında son olarak bir dizi BDNF antisens transkriptini kodlayan *antiBDNF* geninin varlığı tanımlanmıştır. Bu antisens sarmalı, in vivo olarak *BDNF* gen transkriptleri ile bir RNA dupleksi oluşturur, bu da onların translasyonunu zayıflatmakta ve BDNF peptid kullanılabilirliğini sınırlandırmaktadır (Pruunsild ve diğerleri, 2007). *AntiBDNF* geninin daha yüksek organizmalara özgü evrimsel bir adaptasyon olduğu görülmektedir (Michael Notara ve diğerleri, 2019).

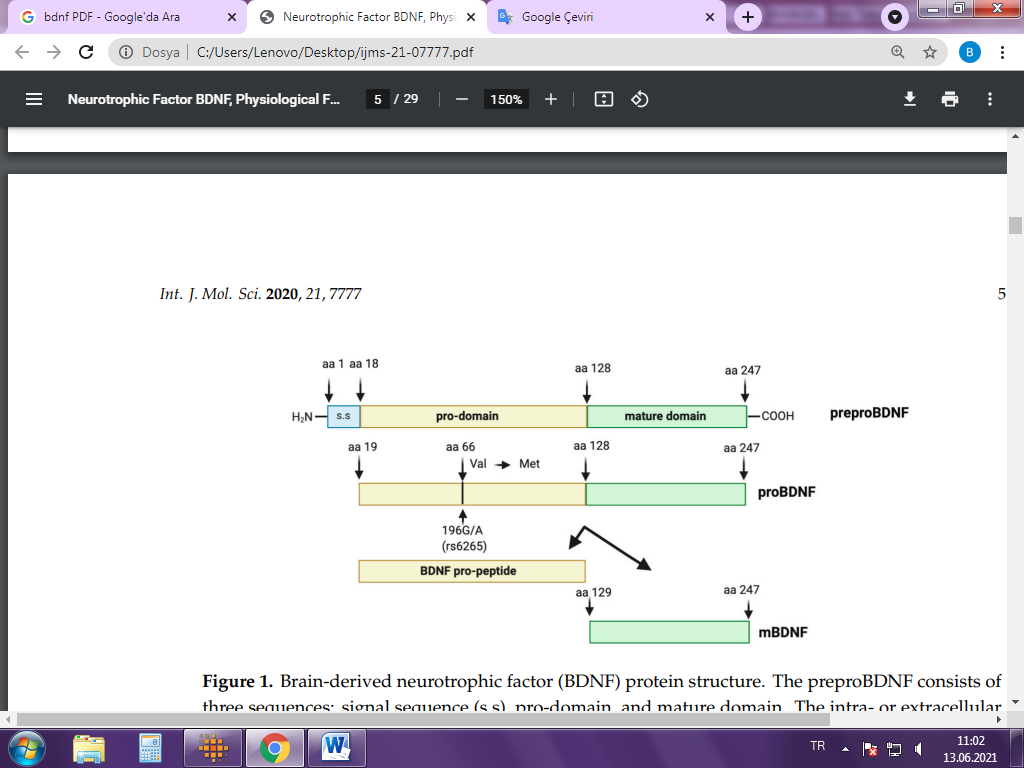
**2.11.2. Fonksiyonel BDNF Peptidi Üretimi**

BDNF peptidi üretilirken ilk olarak, proBDNF olarak bilinen 28 ila 32 kDa’lık bir izoforma ayrılmak üzere bölünen bir preproBDNF olarak endoplazmik retikulumda sentezlenen ve katlanan 247 amino asitten oluşan yüksek oranda korunmuş bir protein olan izoforma çevrilmektedir. Golgi aygıtına translokasyon üzerine, ön bölgenin sinyal dizisi hızla bölünür ve izoform proBDNF (28-32 kDa) üretilir (Foltran ve Diaz, 2016). proBDNF, olgun izoforma (mBDNF, 13 kDa) ulaşmak için bir daha bölünmektedir (Mizui ve diğerleri, 2016). proBDNF’nin hücre içi proteolitik bölünmesi, furin gibi endoproteazların subtilisin-kexin ailesi tarafından veya hücre içi veziküllerde dönüştürücüler tarafından meydana gelmektedir (Şekil 8). Endoplazmik retikulum veya veziküller içinde bölünmezse öncü proBDNF izoformu, bir p75 NTRsortilin reseptör kompleksini bağlayan fonksiyonel bir protein olarak salgılanmaktadır. Alternatif olarak proBDNF, TrkB reseptörünü bağladığı bilinen 14-kDa mBDNF proteinini verecek şekilde bölünebilmektedir. *BDNF* Val66Met noktasının varlığına bağlı olarak değişen fonksiyonlarla son zamanlarda kendi başına bir ligand olarak kurulmuş olan bölünmüş prodomain peptit dizisini terk etmektedir (Colucci-D’amato ve diğerleri, 2020).

Bağımsız biyolojik etkiler ortaya çıkaran en az üç fonksiyonel BDNF peptidinin (proBDNF, mBDNF ve prodomain) ifadesi (Şekil 7), BDNF amino asit dizisinin fonksiyonel bölümlendirmeyi sürdürmesi gerektiğini gösterir. Protein Ailesi Veritabanına göre (Finn ve diğerleri, 2016), BDNF amino asit dizisinin üç alan özelliği vardır. 1-18 kDa arasında bir sinyal peptidi, 100-111 kDa arasında düşük karmaşıklık bölgesi ve 133-246 kDa amino asitlerinden bir NGF ailesi alanı bulunmaktadır. BDNF kodlama dizisinin yüksek düzeyde korunmuş bölgeleridir (Michael Notaras ve diğerleri, 2019).



**Şekil 7**. Beyin kaynaklı nörotrofik faktörün (BDNF) alan yapısı ile bilinen ve tahmin edilen motifler. BDNF peptidi, tahmin edilen bir sinyal peptidi (amino asitler 1-18; Şekilde SP), düşük karmaşıklıklı bir bölgeden (amino asitler 100-111) ve amino asit kalıntısı 129’da sona eren bir pro-matür klevaj bölgesini takiben, bir sinir büyüme faktörü (NGF) alanında oluşmaktadır (amino asitler 133-246) (Michael Notaras ve van den Buuse, 2019).



**Şekil 8.** Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) protein yapısı. preproBDNF üç diziden oluşur: sinyal dizisi (s.s), ön alan ve olgun alan. preproBDNF’nin hücre içi veya hücre dışı bölünmesi, fonksiyonel olarak aktif izoformlar üretlirr: BDNF pro-peptid ve olgun BDNF (mBDNF), bunların her biri belirli bir reseptör tipine karakteristik bir afinite sergilemektedir. BDNF (mBDNF), her biri belirli bir reseptör tipine karakteristik bir afinite sergilemektedir. Ok uçları, olgun BDNF’nin işlenmesinde yer alan bilinen proteaz bölünme bölgelerini göstermektedir. Tek nükleotid polimorfizminin (rs6265, Val66Met) konumu ve insan *BDNF* geninde kodon (aa) 66'da metionin (met) içindeki valin (val) ikamesi bir okla gösterilmiştir (Colucci-D’amato ve diğerleri, 2020).

**2.11.3. BDNF İzoformlarının Hücre İçi Sinyal Yolları**

proBDNF’nin hücre dışı bölünmesi, plazmin ve matris metaloproteazlar 2 ve 9 (MMP2 ve MMP9) ile belirlenir. Hücre tipine bağlı olarak BDNF, yapısal veya aktiviteye bağlı bir şekilde salgılanabilir. Nöronal hücrelerde, hücre zarı depolarizasyonunu takiben hem proBDNF hem de mBDNF salınmaktadır. proBDNF ve mBDNF dengesi, beyin gelişiminin belirli aşamalarına ve bölgelerine bağlı olarak değişmektedir.

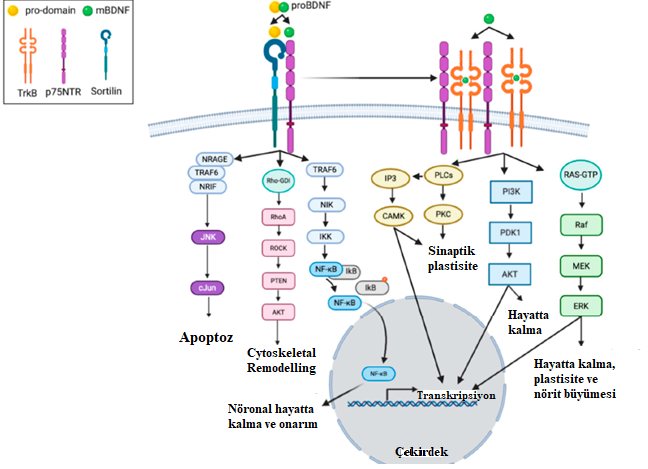
Hem proBDNF hem de mBDNF aktiftir ve sırasıyla tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör ailesinin bir üyesi olan p75 nörotrofin reseptörü (p75NTR) ve TrkB reseptörü aracılığıyla zıt etkiler ortaya çıkarmaktadır. Dinlenme formunda her iki tip reseptör, hücre içi veziküllerin zarında bulunmaktadır. cAMP, Ca2+ veya elektriksel impulslarla stimülasyon, hücresel membranla transferini ve füzyonunu başlatmaktadır. proBDNF’nin olgun alanı tercihen p75NTR ile etkileşime girerek doğum öncesi beyinde sinaptik plastisiteye aracılık etmektedir. proBDNF, ön alanı aracılığıyla ayrıca sortilin reseptörü veya 10 proteini sınıflayan diğer vakuolar protein (Vps10p) ile etkileşime girebilmektedir (Şekil 9). Bu nedenle, spesifik reseptöre proBDNF bağlanması, ölümlerini veya hayatta kalmalarını teşvik ederek nöronal kaderi belirleyebilen sinyal yollarını tetiklemektedir.

proBDNF / p75NTR / sortilin bağlanma kompleksi, c-Jun amino terminal kinazın (JNK) aktivasyonuna yol açan sinyalleşme basamaklarını başlatmaktadır. Bu yol nöronal apoptozda rol oynamaktadır. Yüksek düzeyde p75NTR ekspresyonu, beyin gelişimi ve travma sonrası iyileşme sırasında tespit edilmektedir. BDNF’nin olgun alanı p75NTR’ye bağlandığında, RIP2 (serin / treonin-protein kinaz 2) / TRAF6 (tümör nekroz faktörü reseptörü ile ilişkili faktör 6) aracılı yol başlatılır, bu da NF-KB aktivasyonuna yol açmaktadır. NF-KB’nin aktivasyonu, beyin gelişimi sırasında nöronal hayatta kalma ve bakımı desteklemektedir.

Fosforillenmiş-TrkB birkaç enzimi aktive eder: *Rho* gen ailesinin PI3K, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK), PLC-y ve guanozin trifosfat hidrolaz (GTP-azlar)’dır. mBDNF-TrkB sinyal yolakları, apoptoz ve nöronların hayatta kalma süreçlerine bağlı sinaptik plastisite (Wu ve diğerleri, 2019), dendritik büyüme, omurga olgunlaşması ve stabilizasyonu, sinaps gelişimi (Zagrebelsky ve diğerleri, 2020), öğrenme ve hafıza gibi birçok olayı düzenlemektedir (Leal ve diğerleri, 2017).

PI3K / Akt ile ilgili yol, antiapoptotik ve hayatta kalma yanlısı aktivite uygulamakta ve NMDA reseptörüne bağlı sinaptik plastisiteyi modüle etmektedir (Baydyuk ve Xu, 2014). PI3K / Akt / mTOR kaskadı, protein sentezi ve hücre iskeleti gelişiminin düzenlenmesi yoluyla dendritik büyümeyi ve dallanmayı geliştirmektedir (Kumar ve diğerleri 2005). MAPK / Ras sinyalleme kaskadı, nöronal farklılaşma (Reichardt, 2006) sırasında protein sentezini düzenlemektedir ve ayrıca ERK 1/2 ve CREB’nin aktivasyonu için gereklidir. Bu yol, yalnızca erken yanıt gen ekspresyonu (örn., c-Fos) için değil, aynı zamanda hücre iskeleti protein sentezi (örn., Arc ve cypin) (Gonzalez ve diğerleri, 2016) ve ayrıca hipokampal nöronlarda dendritik büyüme ve dallanma (Kwon ve diğerleri, 2011) için çok önemlidir. PLC-y-bağımlı yol, CAM kinaz ve protein kinaz C’nin (PKC) aktivasyonunu uyandırmaktadır (Minichiello, 2009). PKC’ye bağlı yolun sinaptik plastisiteyi arttırdığı bildirilmektedir (Şekil 9).

Özetle, BDNF’nin sayısız beyin fizyolojik sürecinin düzenlenmesindeki spesifik rolü, izoformlarının farklı tipte reseptörlerle etkileşimine bağlıdır. Bu da beyin gelişimi, sinaptik plastisite ve hasar sonrası koruma veya rejenerasyon süreçleri için kritik olan sinyal yollarının aktivasyonunu ortaya çıkarmaktadır. BDNF sentezinin bozulması, bunun sinyalleşme basamaklarının işlev bozukluklarına yol açması, birkaç patolojik sürecin tetiklenmesinden sorumlu olabilir.



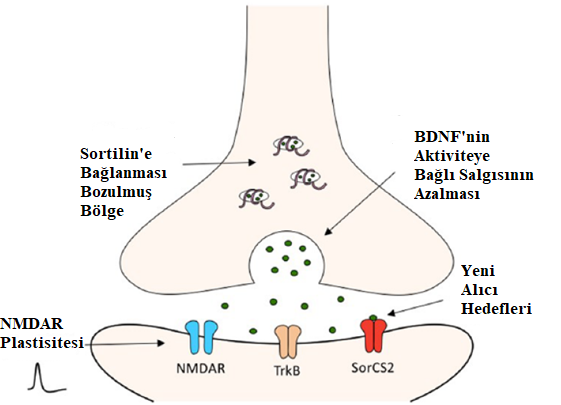
**Şekil 9.** BDNF izoformlarının reseptörleri ile etkileşimi ile aktive olan hücre içi sinyal kaskadları. proBDNF ve mBDNF, sırasıyla farklı reseptörlere bağlanmaktadır. mBDNF izoformu, uyarıldığında homodimerizasyon ve otofosforilasyona uğrayan, fakat aynı zamanda düşük afiniteli nörotrofin reseptörü p75NTR’ye bağlanan tirozin kinaz B reseptörü (TrkB) reseptörü için en yüksek afiniteyi sergilemaktedir. Bir komplekste TrkB reseptörü ile p75NTR reseptörü arasındaki etkileşim, BDNF’ye ligand bağlanma afinitesini arttırmaktadır. Sortilin, p75NTR için bir ortak reseptör olarak kabul edilmektedir. İki diziden (ön-alan ve olgun alan) oluşan proBDNF izoformu, sırasıyla spesifik reseptörler, sortilin ve p75NTR ile etkileşime girer. proBDNF’nin bir p75NTR / sortilin kompleksine bağlanması, proBDNF’ye özgü sinyal yollarını indüklemektedir. proBDNF’nin sortilin ile kombinasyon halinde bağlanması, nörotrofin reseptörü ile etkileşime giren faktör (NRIF), tümör nekroz faktörü reseptörü ile ilişkili faktör 6 (TRAF6) ve nörotrofin reseptörü ile etkileşime giren MAGE homologu (NRAGE) proteinlerinin katılımına neden olmaktadır. Bu yol, programlanmış hücre ölümünü destekleyen JNK ile ilişkili yolu aktive eder veya reseptörle etkileşime giren serin / treonin-protein kinaz 2 (RIP2) / TRAF6 aracılı yol başlatılır. Çok alt birimli IKB kinaz (IKK), kB (IkB) proteininin inhibitörünü fosforile edilir (turuncu nokta), bu da IkB’nin NF-KB’den ayrılmasına neden olmaktadır. Aktive edilmiş nükleer faktör kappa B (NF-kB) daha sonra, spesifik DNA dizilerine bağlandığı çekirdekte yer değiştirerek, nöronların hayatta kalmasını ve korunmasını desteklemektedir. p75NTR, aktivasyonu Rho ile ilişkili protein kinazın (ROCK) aktivitesine aracılık eden Rho protein ailesi ile etkileşime girer, bu da daha sonra hücre iskeletinin yeniden şekillenmesinde yer alan AKT yolunun aktivasyonuna yol açmaktadır. mBDNF / TrkB reseptör kompleksi, hayatta kalma, plastisite ve nörit büyümesi ile ilgili Rho ailesinin fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K), fosfolipaz C gama (PLC-y) ve GTP-azların aktivasyonu ile ilişkili sinyal yollarını tetiklemektedir (Colucci-D’amato ve diğerleri, 2020).

**2.11.4. BDNF Genetik Varyasyonunun Fonksiyonel Sonuçları**

*BDNF* geninde rs6265’in yaygın bir tek nükleotid polimorfizmi, prodomain (Val66Met) içinde kodon 66’da valinin (Val) ile metionin (Met) ile yer değiştirmesine neden olmaktadır (Park ve diğerleri, 2017). *BDNF* Val66Met polimorfizminin kendi başına *BDNF* ekspresyonunu değiştirmediğini, ancak *BDNF*’nin perisomatik lokalizasyonunu değiştirdiğini göstermiştir. 2005 yılında BDNF Val66Met polimorfizminin ayrıca sortilin bağlama bölgesini ve BDNF’nin aktivite aracılı salgılanmasını bozduğu keşfedildi (Chen ve diğerleri, 2004). Benzer şekilde, *BDNF* Val66Met polimorfizmi, BDNF mRNA’nın dendritik hedeflemesini bozan translin bağlama bölgesini de bozmaktadır. Sonuç olarak *BDNF*-TrkB sinyallemesinin verimliliğini etkileyen BDNF’nin eksik aktiviteye bağlı salınımıdır (Colucci-D’amato ve diğerleri, 2020).

*BDNF* Val66Met polimorfizmi, serebral korteks plastisitesi, gri madde yapıları veya beyaz madde bütünlükleri ve yapısal ağlar ile ilişkilendirilmiştir. Daha spesifik olarak, *BDNF* Val66Met polimorfizmi arkinson hastalığı (PD), Alzheimer hastalığı(AD) gibi nörodejeneratif hastalıklarda, bipolar bozukluk, epilepsi, şizofren, yaşlanma, bunama ve inme dahil olmak üzere çeşitli beyin bozukluklarıyla ilişkilidir (Colucci-D’amato ve diğerleri, 2020).

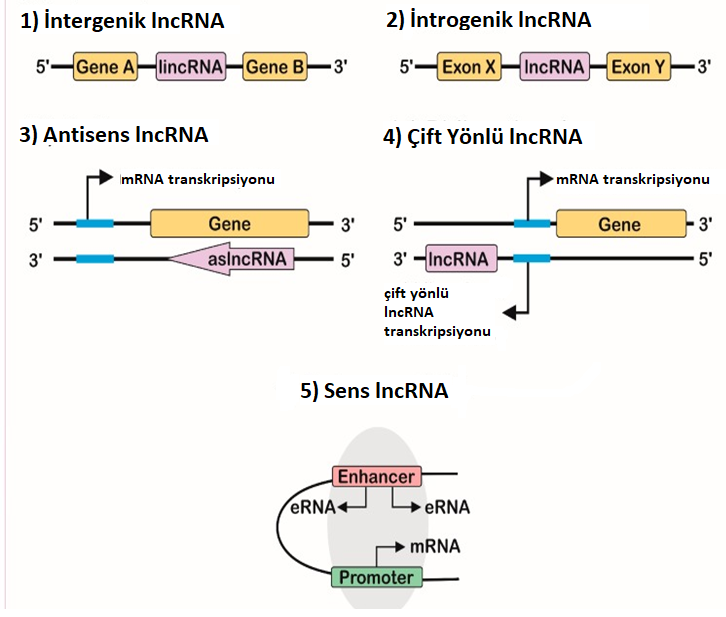
*BDNF* Val66Met’in migrene, özellikle auralı migren (MA) alt tipine yatkınlıkta rolleri olabileceği bildirilmiştir (Chen ve diğerleri, 2004). Val66Met polimorfizminin şimdiye kadar insan dışındaki diğer omurgalı türlerinde doğal olarak meydana geldiği bilinmemektedir (Colucci-D’amato ve diğerleri, 2020).



**Şekil 10.** *BDNF* Val66Met polimorfizminin sinaptik eylemleri. *BDNF* 66Met ikamesi, hücre içi kaçakçılık molekülü sortilin'e bağlanmayı bozar ve bu da sinapsta yetersiz aktiviteye bağlı BDNF salgılanmasıyla sonuçlanmaktadır. Bu, NMDA reseptör fizyolojisini değiştirerek TrkB yoluyla sinyallemenin genel etkinliğini değiştirmektedir. *BDNF*66Met ikamesini içerebilen bölünmüş BDNF ön alanı, SorCS2 reseptörü aracılığıyla kendi biyolojik etkilerini de gösterebilir. Notaras ve diğerlerinden (2015a) uyarlanan şekil.

**2.12. Uzun Kodlamayan RNA’lar (lncRNA’lar) ve Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktörün Antisens RNA (*BDNF-AS*)**

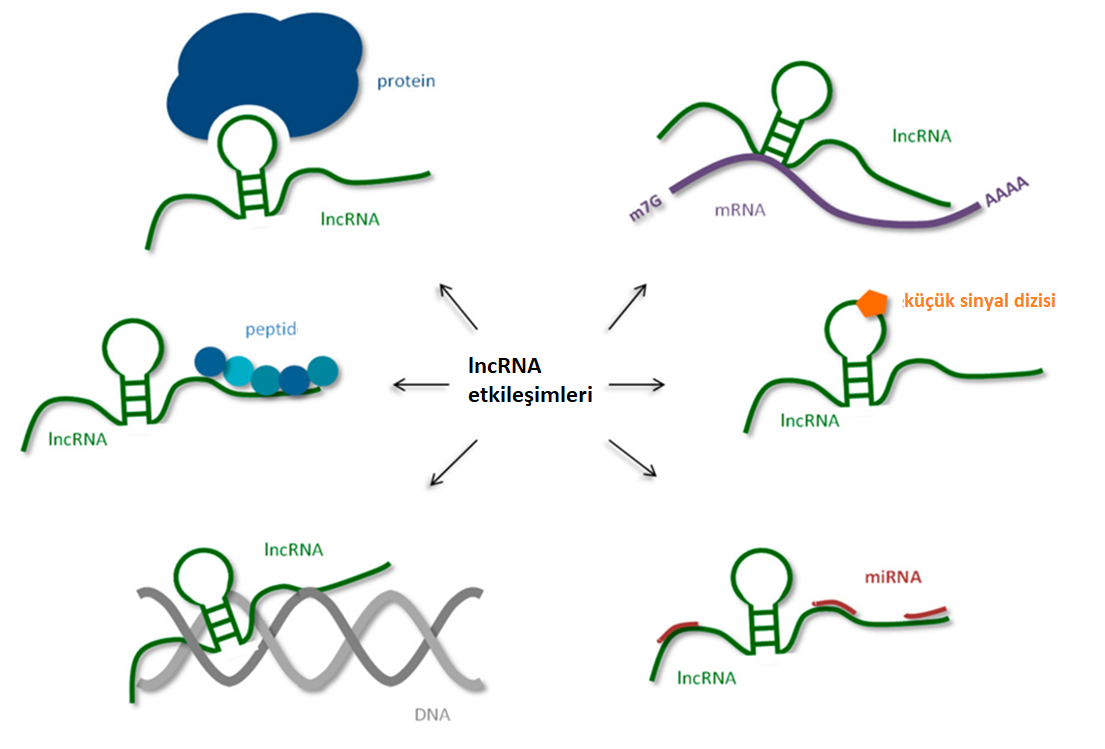
Uzun kodlamayan RNA’lar (lncRNA’lar), mikroRNA’lar, intronik RNA’lar, dairesel RNA’lar ve hücre dışı RNA’lar, kodlamayan RNA’lar olarak bilinirler (Corey ve diğerleri, 2013). LncRNA’ların ∼ 200 nükleotidden daha uzun olduğu kabul edilmektedirler (Kapranov ve diğerleri, 2007). lncRNA’lar beş alt tipe ayrılabilir: sens lncRNA, antisens lncRNA, çift yönlü lncRNA, intronik lncRNA ve intergenik lncRNA (Şekil 11). Bunlar arasında, doğal antisens transkriptleri olarak antisens lncRNA’lar, hedef RNA ile tamamlayıcı çift sarmallı RNA’lar oluşturarak bir protein kodlayan genin epigenetik susturulmasını, transkripsiyonunu ve stabilitesini düzenmektedirler (Zhong ve diğerleri, 2017).

****

**Şekil 11.** lncRNA çeşitleri (Fernandes ve diğerleri, 2019).

Çalışmalar, Gencode v7 kataloğundaki lncRNA’ların, lncRNA’ları değerlendirirken protein kodlayan genlerle aynı şekilde üretildiğini ancak iki ekson transkriptine karşı belirgin bir önyargı sergilemelerine, ağırlıklı olarak kromatin ve çekirdekte nispeten düşük seviyelerde yer almalarını göstermiştir (Quinn ve Chang, 2016). lncRNA’lar ikincil bir yapı tarafından korunur ve farklı evrimsel yollardan evrimleştikleri düşünülmektedir. Ortak paylaşılan elementler dışındaki konumlarda olabilirler ve sadece birkaç (~%15) lncRNA, diğer lncRNA’lara veya protein kodlayan genlere önemli ölçüde dizi benzerliği göstermektedir. Yeni lncRNA’lar, çoğaltma yerine eksonik olmayan de novo dizilerden veya yer değiştirebilir elemanlardan türetilmektedirler (Kapusta ve diğerleri, 2013). Belirli benzer ve ortak özelliklere sahip olan (Fernandes ve diğerleri, 2019), RNA polimeraz II ile kopyalanan lncRNA’lar (Ziegler ve Kretz, 2017); dizi seviyesinde gevşek bir şekilde muhafaza edilirler ve nispeten düşük bir ekspresyon seviyesine ve hücre dokusuna çok daha özgün olan bir modele sahiptirler (Zhao ve diğerleri, 2014). lncRNA’lar, transkripsiyonel düzenleyiciler tarafından kontrol edilmektedirler (X. D. Xiong ve diğerleri, 2016).

lncRNA’lar, genlerin düzenlenmesine ve transkripsiyonel, transkripsiyon sonrası ve translasyon dahil olmak üzere farklı seviyelerde genomik aktiviteye katılımlarıyla iyi bilinirler. LncRNA’lar, yakındaki genlerin aktivitesini kontrol eden cis mekanizması ve genom boyunca uzak genlerin aktivitesini kontrol eden ƒ mekanizması aracılığıyla genlerin aktivitesini düzenlemektedirler (Elling ve diğerleri, 2016). İkinci durumda, kromozom uçlarından kaynaklanan telomerik tekrar içeren RNA (TERRA) molekülleri, ISG15 gibi doğuştan gelen bağışıklık genlerini, uzun mesafe boyunca telomer konumunun (TPEOLD) etkisiyle in vivo olarak düzenleyebilmektedir (Hirashima ve Seimiya, 2015). Çekirdeğin içinde çoklu lncRNA’lar, kritik fonksiyonlarını yapı iskeleleri ve sinyalizasyon gibi farklı mekanizmalar aracılığıyla yerine getirebilecekleri yerde bulunmaktadırlar (Abdolmaleki ve diğerleri, 2021).



**Şekil 12**. lncRNA’larin etkileşim mekanizmaları (Kazimierczyk ve diğerleri, 2020).

Beyinden türetilen nörotrofik faktör antisens (*BDNF-AS*), 11p14 sitogenetik banttan kopyalanan onlarca alternatif olarak eklenmiş varyantı olan uzun kodlamayan bir RNA’dır (Ghafouri-Fard ve diğerleri, 2021). Doğal olarak oluşan bir antisens olarak *BDNF-AS*, nörogelişimsel hastalıkların patoetiyolojisinde temel rol oynayan bir faktör olan BDNF’nin ekspresyonunu düzenlemektedir (Ghafouri-Fard ve diğerleri, 2021).

BDNF ekspresyonu, BDNF-AS tarafından bastırılmaktadır (Zhang ve diğerleri, 2016). BDNF-AS’nin inhibisyonu, artan protein seviyelerine yol açmakta ve nöronal büyümeyi ve farklılaşmayı indüklemektedir. Kromatin immünopresipitasyon sonuçları, *BDNF-AS*’nin aşağı regülasyonunun, BDNF promotör bölgesinde EZH2 ve H3K27me3’ün lokalizasyonunu azalttığını ve BDNF ekspresyonunu inhibe ettiğini, böylece nöral hücrelerin büyümesini ve farklılaşmasını etkilediği gösterilmiştir (Zhong ve diğerleri, 2017).

BDNF-AS transkripsiyonu BDNF’yi bastırabilir; BDNF**-**AS’nin bu inhibisyonu, protein seviyelerini arttıran ve nöronal gelişimin ve farklılaşmayı sitümüle eden BDNF mRNA’sını upregüle etmektedir. Bu nedenle, hem BDNF ve BDNF-AS işitsel yolu etkileyebilir ve insanlarda işitsel performans üzerinde etkili olabilecek gen polimorfizmlerin için aday gen lokusları olabilir. Literatürde tinnitus ile *BDNF* Val66Met (rs6265) polimorfizmi ile arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar mevcutken, *BDNF* Val66Met polimorfizmi ile bağlantılı *BDNF-AS* polimorfizmleri ile ilişkisini sorgulayan bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle bu çalışmada *BDNF* Val66Met polimorfizmi ile LD gösteren *BDNF-AS* polimorfizmlerinin (Avgan ve diğerleri, 2017) tinnitus patofizyolojisindeki yerini incelemek amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu Hastalarının Toplaması

Çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kulak-Burun-Boğaz (KBB) Hastalıkları polikliniğine başvuran en az 3 aydır tinnitus yakınması olan ve tinnitus tanısı almış 18-55 yaş aralığında 85 olgu (34 kadın + 51 erkek) ile yine KBB polikliniğine başvuran ve tinnitus semptomu ile bir sistemik hastalığı bulunmayan aynı yaş grubunda 60 kontrol (25 kadın + 35 erkek) grubu oluşturmaktadır.

Çalışmaya en az 3 aydır devam eden tinnitus yakınmasına sahip tinnitus tanısı alan, olgu ve kontrol grubu yaş aralığı 18-55 olan, çalışmaya katılmayı kabul eden olgular çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmadan dışlanan adaylar; 3 aydan daha az süredir tinnitus şikayeti olması, tinnitusa sebep olacak organik bir neden olması, olgu ve kontrol grubunun 18 yaş altı ve 55 yaş üstü olması, geçirilmiş kulak ameliyatı hikayesi, endokrin hastalığı olan olgular, nörootolojik müdahale yapılan olgular, nöropskiatrik hastalığı olan olgular, dış kulak, orta kulak ile ilgili anatomik problemi olan olgular, otoskleroz hikayesi olan olgular, kronik otitis media hikayesi olan olgular, saf ses ortalaması normal sınırlarda olan olgular, akustik tümör hikayesi olan olgular ve yazılı izin alınmamış olgular şeklinde belirlenmiştir.

Bu özelliklere uygun seçilen olgular değerlendirmeye alınmış, klinik muayeneleri ve laboratuvar çalışmaları ardından timpanometrik ve odyolojik değerlendirme ve tinnitus frekansının ölçümü, tinnitus siddetinin ölçümü, minimal maskeleme seviyesinin tespiti ve rezidüel inhibisyon olmak üzere dört aşamadan oluşan tinnitus parametreleri ile psikoakustik değerlendirmeleri yapılmıştır. Sonrasında tinnitusun psikosomatik etkilerini değerlendirmeye yönelik TEA (Tinnitus engellilik Anketi), BDA (Beck Depresyon Anketi) uygulanmıştır.Rutin incelemeler için alınan venöz kanlar kullanılarak *BDNF-AS* gen polimorfizmlerine bakılmıştır.

**3.2. Etik Kurul Onayı**

Bu çalışma için etik onay (#2021\94) 10 Haziran 2021’de Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Kurumsal Etik Kurulu’ndan alınmıştır. Çalışmadan önce tüm katılımcılardan ve ailelerinden bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

## **3.3. SNP Seçimi**

Çalışmada,kronik tinnitusta BDNF Val66Met polimorfizmi ile LD gösteren *BDNF-AS* polimorfizmleri GWAS, ExAC veri tabanlarından ve Avgan vd. 2017 yaptıkları çalışma referans alınarak seçilmiştir.

## **3.4.** **Çalışmada araştırılan *BDNF-AS* gen polimorfizmleri**

Altı adet *BDNF-AS* gen polimorfizmleri (rs925946, rs10501087, rs1488830, rs4074134, rs1519480, rs10767658) üzerine bir çalışma dizayn edilmiştir.

**3.5. SNPType assay için Primer Tasarımı**

SNP type metodu için primerler tasarlamak üzere aşağıdaki hedef dizi kriterleri kullanılarak ve çalışılan SNPlerin primer uygunluğu kontrol edilmiştir.

1. Hedef sekansların uzunluğu: minimum 60 bp (hedef SNP sahasının hem yukarı hem de aşağı akışı dahil) ve maksimum 250 bp uzunluğunda,
2. SNP’ler için, hedef sekansta sadece bir SNP olması,
3. İnsersiyon/ delesyon işlemleri için (In / Dels), In / Del uzunluğu 10 bp’den kısa olması,
4. Hedef dizinin G / C içeriği <%65 olması,
5. Primerler D3 Testi kullanılarak tasarlanmıştır.
6. Tasarım (https://d3.fluidigm.com/; Fluidigm, South San Francisco, CA, ABD).

Her test üç tip primerden oluşmaktadır; spesifik bir hedef amplifikasyon (STA) primeri, lokusa özgü (LS) primer ve allelik spesifik (AS) primerdir.

**3.6. DNA izolasyonu**

Kan örneklerinden ticari olarak sağlanacak izolasyon kiti kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı.

200 µl kan örneği 1,5 ml tüpe konulup, üzerine 200 µl Binding Buffer ve 40 µl proteinaz K eklenip ve mix edildi. 10 dakika 70 C’de bekletildi. Üzerine 100 µl isopropanol eklenip ve iyice mix edildi. Yine üzerine 200 µl Elution Buffer (1x için) 70 C’ye konuldu. Tüm bu hazırlananların tamamı Filter tüpe aktarılıp ve 8.000 g’de 1 dakika santrifüjlendi. Collection tüp atılıp, yeni collection tüp eklendi. Daha sonra filter tüpe 500 µl inhibitör removal buffer eklendi. 8.000 g’de 1 dakika santrifüj yapıldı. Collection tüpe atılıp, yeni collection tube eklendi. 500 µl Wash Buffer eklenip ve 8.000 g’de 1 dakika santrifüjlendi. Collection tube atılıp, yeni collection tüp eklendi. Tekrardan 500 µl Wash Buffer eklenerek 2. kez yıkama yapılıp ve 8.000 g’de 1 dakika santrifüjlendi. Collection tüplerin içindeki boşaltılıp ve 13.000 g’de 1 dakika santrifüjlendi. Filter tüpün altına eppendorf tüp konularak ve filter tüpe 70 C’de bekletilen elution buffer eklendi. 8.000 g’de 1 dakika santrifüjlenip, saf DNA elde edildi. İzolasyonun ardından DNA konsantrasyonları spektrofotometrik (nanodrop Thermo) yöntemlerle ölçüldü. Elde edilen DNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflıkları 260 ve 280 nm dalga boylarında absorbanslarının ölçülmesiyle belirlendi. Genel olarak reaksiyon başına 5-50 ng DNA’nın SNP tespitinde yeterli olacağı düşünüldü.

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| b | c |
|  | |

**Resim 1.** Kandan DNA analizi için kullanılan tüpler. (a) kandan DNA izolasyonu için kullanılan kit kutusu, (b) DNA izolayonu için kullanılan solüsyonlar ve (c) izolasyon için kullanılan tüpler

**3.7. SNP Type Assay**

SNPler, üretici firmanın bir SNiP paneli kullanılarak Real-Time PCR (Biomark HD System, Fluidigm) ile çalışıldı. Üretici firma tarafından sağlanan problar tekli baz uyumsuzluklarını tespit ederek, polimorfizmlerin analizini mümkün kılmaktadır. SNP’ler amplifikasyonun sonunda bir erime eğrisi analizi ile analiz edildi.



**Resim 2.** Tüm örneklerin hazırlanması için kullanılan biogüvenlik kabini. “Nüve LN 12O”.

# **3.8. 10X SNPType Spesific Target Amplifikasyon (STA) Primerlerinin Hazırlanması**

# Çalışmada örnek DNA’lar pikomikrolitre olarak kullanılmaktadır. Bu basamak DNA amplifikasyonunu daha fazla arttırmak için yapılmaktadır. Tüm SNPtype primerler ile aşağıdaki gibi bir karışım hazırlandı. 1 primer için;

**Tablo 2.** STA primerlerinin hazırlanması için kullanılan reaksiyon koşulları.

|  |  |
| --- | --- |
| Lokus spesifik primer (LSP) | 2 µl |
| STA primer | 2 µl |
| DNA suspension buffer (Teknova,T0221) | 396 µl |
| **TOPLAM** | **400μl** |

**3.9. STA Adımı**

Bu adımda aşağıdaki karışım hazırlandı.

**Tablo 3.** STA adımı için kullanılan reaksiyon koşulları.

|  |  |
| --- | --- |
| 2X Multiplex PCR Master Mix | 300 µl |
| 10X SNPtype STAPrimerPool | 60 µl |
| RNase-DNasefree water | 90 µl |
| **TOPLAM** | **450 μl** |

Bu karışım bir 8’li strip tüpün tüm kuyularına 56 şar μl olarak transfer edildi. Buradan 8 kanallı pipet yardımı ile 3.75 er μl alınarak temiz bir 96’lık Plate’in tüm kuyularına pipetlendi. Karışım üzerine DNA örneklerinden her kuyuya 1.25 er μl olmak üzere pipetlendi. Plate film ile kaplanıp, plate karıştırıcıda 2000 rpm’de 3 dakika karıştırıldı. Vortex ile 2 saniye karıştırıldı. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edilip ve Plate Thermal Cycler da aşağıdaki termal protokole alındı.

**3.10. STA Protokolü**

Thermal programın sonunda plate’in oda sıcaklığına gelmesi beklendi (deney bitiminde yüzeyi sıcak olabilir). Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edilip, tüm STA DNA örnekleri 1:100 oranında DNA suspension buffer ile sulandırıldı.

**Tablo 4.** STA basamağı için hazırlanın amplifikasyon döngüsü.

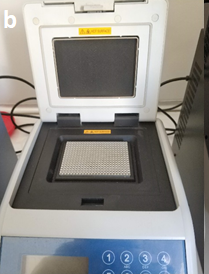
|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Sıcaklık** | **Zaman** | **Döngü sayısı** |
| 95°C | 15 dakika |  |
| 95°C | 15 saniye |  |
| 60°C | 4 dakika | 14 döngü |
| 4°C | ∞ |  |

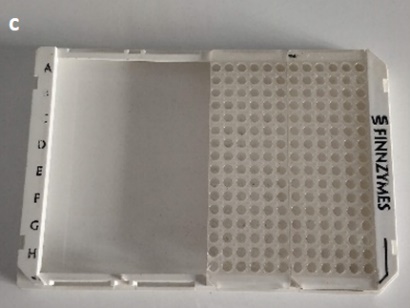
**3.11. SNPtype Primer Karışımının Hazırlanması**

Her primer için aşağıdaki karışım hazırlandı.

**Tablo 5.** SNP primerlerinin hazırlanması için kullanılan reaksiyon koşulları.

|  |  |
| --- | --- |
| ASP 1/ASP 2primerkarışımı | 3,0 µl |
| LSPPrimer | 8,0 µl |
| DNAsuspension buffer | 29,0 µl |
| **TOPLAM** | 1. **μl** |





**Resim 3.** STA protokolü için kullanılan cihaz ve plate. (a) “Bioer Genepro TC-E-4L Thermal Cycler” kapalı hali, (b) “Bioer Genepro TC-E-4L Thermal Cycler” açık hali ve (c) thermal cycler için kullanılan 96’lık pikoplate.

**3.12. 10X Assay Karışımının Hazırlanması**

Her primer için aşağıdaki karışım hazırlandı. 1 primer için;

**Tablo 6.** 10X Assay karışımının hazırlanması için kullanılan reaksiyon koşulları.

|  |  |
| --- | --- |
| 2x Assay Loading Reagent | 2,5 μl |
| RNase-free water | 1,5 μl |
| **TOPLAM** | **4,0 μl** |

Bu karışım üzerine, her primerin SNPtype primer karışımından 1,0 μl pipetlendi. Bu şekilde tüm primerler için hazırlanan Assay Plate film ile kaplandı. Plate karıştırıcı üzerine plate konulup ve el ile bastırılarak 10 saniye vortekslendi. Bu işlem 3 kez her defasında 4-5 saniye ara verilerek tekrarlandı. Plate santrifüjde 2 dakika santrifüjlendi.

**3.13. Örneklerin Hazırlanması**

Aşağıdaki karışım hazırlandı.

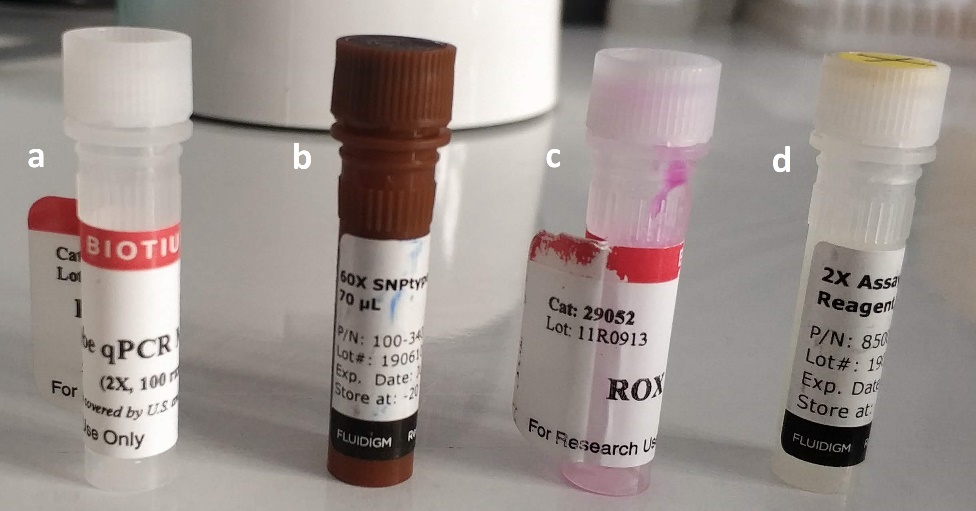
**Tablo 7.** Örneklerin hazırlanması için kullanılan reaksiyon koşulları.

|  |  |
| --- | --- |
| 2X Fast Probe Master Mix (Biotium, PN31005) | 360 μl |
| 20X SNPtype Sample Loading Reagent | 36 μl |
| 60XSNPtype Reagent | 12 μl |
| (Fluidigm, PN 100-3402)  ROX (Biotium, PN29052) | 4,3 μl |
| RNase-freewater | 7,7 μl |
| **TOPLAM** | **420 μl** |

Bu karışım 8’li strip tüplere 52,5 μl olarak transfer edildi. Bu karışımdan 3,5 μl temiz bir 96’lık plağın tüm kuyularına pipetlendi. Her bir sulandırılmış STA DNA örneğinden 2,5 şer μl bu plate’e transfer edildi. Plate yeni bir film ile kaplandı. Plate, plate karıştırıcıda 2000 rpm’de 3 dakika karıştırılarak, vortex ile karıştırıldı. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edildi.



**Resim 4.** Kullanılan cihazlar.(a) plate karıştırıcı olarak kullanılan “Phile Korea multi shaker” ve (b) plate santifüj olarak kullanılan “EcoMate plate santrifüj”.

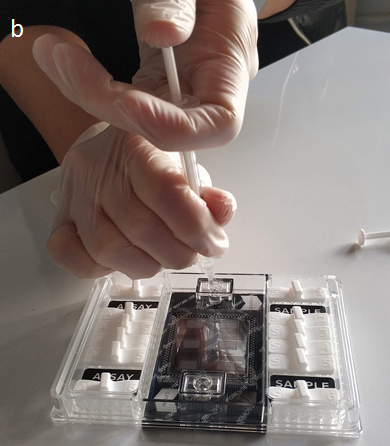


**Resim 5.** Kullanılan reaksiyon kitleri. (a) 2x Assay Loading Reagent. (b) 2X Fast Probe Master Mix, (c) 60X SNPtype Reagent ve (d) ROX.

**3.14. Dynamic Array’e Pipetlemelerinin Yapılması**

Örneklerin ve Assay’lerin gittiği kuyucukların arasında kanallar bulunmaktadır. Bu kanallar kontrol kanallarıdır. IFC (entegre sıvı devreleri) sıvısı kontrol kanallarında ağırlık oluşturarak kanalların kapanmasını sağlamaktadır. Bu kapatma işlemi örnekler ve Assay’lerin direk karışmaması için yapılmaktadır.

Assay’ler, 4,00 μl olarak Dynamic Array Assay kuyularına transfer edildi. Örnekler, 5,00 μl olarak Dynamic Array Sample kuyularına transfer edildi. Tüm kuyularda ki örnekler bu şekilde Dynamic Array’ e transfer edildi.



**Resim 6.** Fluidigm PCR’ın yapıldığı Array.(a) BiomarkDynamic Array ve (b) Dynamic Array’e IFC ilavesi.

**3.14.1. IFC Controller da Dynamic Array’in Load edilmesi**

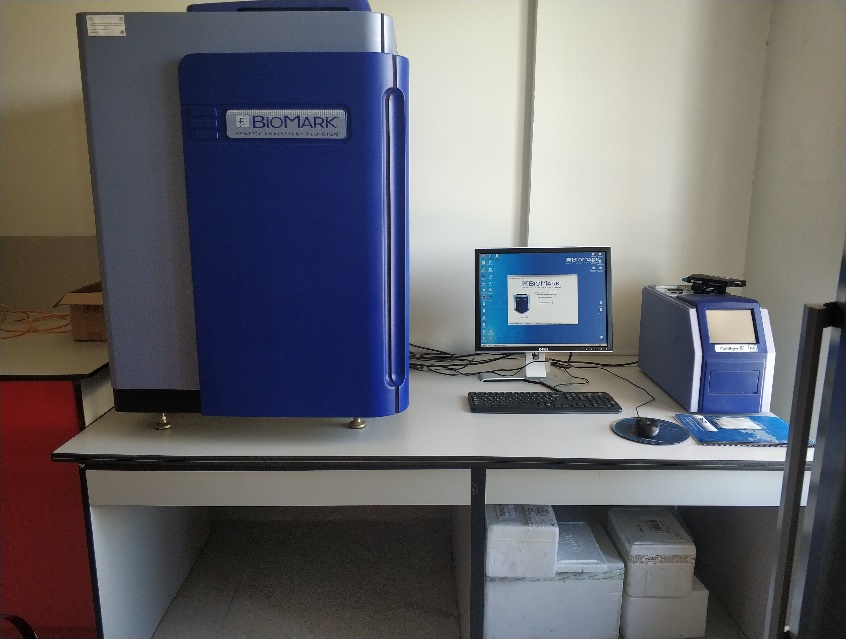
Örnekler ve Assay’ler plate’teki kendi yerlerine tam olarak dağıldıktan sonra IFC sıvısı basınç ile kaldırılır ve kanallar açılarak Assay’ler örnekleri olduğu kuyucuklara gitmesi amacıyla bu basamak yapılmaktadır. Dynamic Array IFC Controller’a yerleştiridi ve LOAD seçeneği seçilerek LOAD işlemi başlatıldı. Bu işlemi başlattıktan sonra BioMark Data Collection yazılımı başlatılıp ve “Double Click to Turn Lamp On” kısmına çift tıklanarak BioMark’ın lambası çalıştırıldı.



**Resim 7**. Fluidigm PCR’ın Fluidigm basamağı.(a) Fluidigm işleminin uygulanması için kullanılan “Biomark Fluidigm IFC Kontroller” cihazının kapalı hali ve (b) Dynamic Array’in Fluidigm IFC kontroller cihazına yerleştirilerek çalışmaya hazır hale getirilmiş açık hali.

**3.14.2. Dynamic Array’in BioMark da çalışılması**

Dynamic Array IFC Controller’dan alındı. Dynamic Array BioMark’a barcode kısmı dışarı bakacak şekilde yerleştirildi. BioMark Data Collection yazılımı yardımı ile Dynamic Array çalıştırıldı. Verilerin kaydedileceği yer ve dosya adı seçildikten sonra diğer sayfa da “Genotyping” seçildi. Passive Reference Dye olarak “ROX” seçildi. “Probe Type” kısmında “SNPtype-FAM” ve "SNPtype-HEX" seçildi. Sonraki ekranda Prokoller arasından “SNPtype 96.96 v1.” seçilerek ve program başlatıldı. Bu iş paketi Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi.



**Resim 8.** Fluidigmin PCR’ın Real time basamağı. Dynamic Array IFC’yi Biomark HD Reader’a yerleştirilir ve örnekler Real-Time PCR ile amplifiye edilerek görüntülenir.

**3.15. Data Analizi**

Her SNPtype assayda 2 tip floresanas FAM (red, Y axis) ve HEX (green, X axis) kullanıldı ve her bir floresan her bir SNP ye bağlandı. Fluidigm SNP genotyping analysis version 4.1.3 (Fluidigm, South San Francisco, CA, USA) kullanılarak 3 farklı genotip (A, H, and B) saptandı. A and B spesifik homozigotları, H spesifik heterozigotları göstermektedir.

**3.16. Veri Analizi**

İstatistiksel analiz olarak sıklık analizleri, ki-kare analizi, sayısal değişkenler için student’s t-test ve korelasyon analizleri uygulaması yapılmıştır.

**4. BULGULAR**

Bu araştırma 85 tinnituslu hasta ve 60 kontrol grubundan oluşmaktadır. Tinnituslu hasta grubun % 40 (34)’ı kadın, % 60 (51)’ı ise erkek hastadan oluşmaktadır. Kontrol grubu % 41,7 (25)’si kadın, % 58,3 (35)’ü ise erkek olgulardan oluşmaktadır. Tinnutus hasta grubu ile kontrol grubu cinsiyet dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel bir fark saptanmamıştır (p=0,84).

Tinnituslu hastaların yaş ortalaması 52,7±14,74; kontrol grubu yaş ortalaması 51,5±14,26 olarak saptanmıştır. Tinnutus hasta grubu ile kontrol grubu arasında yaş ortamaları açısından istatistiksel bir fark saptanmamıştır (p=0,62).

Tinnitus hastalarında tinnitus lokalizasyonuna bakıldığında hastaların %45,9’unda sağ tarafta, %41,2’sinde sol tarafta, %12,9’unda bilateral olarak tinnitus lokalizasyonu saptanmıştır.

Tinnitus hastalarında tinnitus süre dağılımı yüzdesi 1 yıldan az %30,6; 1-2 yıl %35,3; 2-3 yıl %23,5; 3yıl ve üzeri %10,6 olarak saptanmıştır. Tinnituslu hastaların tinnitus şiddetleri incelendiğinde %75,5’unda normal işitme olduğu, %14,5’unda çok hafif işitme kaybı olduğu, %10’unda hafif derecede işitme kaybı olduğu saptanmıştır. Tinnitus hastalarının 8000 Hz’de 35, 6000 Hz’de 15, 4000 Hz’de 10, 3000 Hz’de 5, 2000 Hz’de 6, 1000 Hz’de 5, 750 Hz’de 3, 250 Hz’de 4, 125 Hz’de 2 hasta frekanslarında olduğu saptanmıştır. Ortalama tinnitus freakansı 543671±642,51 olarak saptanmıştır. Tinnituslu grubun, tinnitus engellilik anketi (TEA) sonuçları; % 7.51 zayıf, % 29.40 orta, % 27.92 ılımlı % 7.66 şiddetli ve % 6.48’ı felaket olarak belirlenmiştir.

*BDNF-AS* rs10501087 C**-**T polimorfizmi genotip dağılımı tinnitus hastalarında %4,71 CC; %35,29 CT; %60 TT olarak, kontrol grubunda %8,33 CC; %40 CT ve %51,67 TT olarak saptanmıştır. İlgili polimorfizm için alel frekans dağılımı tinnituslu hastalarda %22,35 C alleli ve % 77,65 T alleli olarak, kontrol grubunda %28,83 C alleli ve %71,67 T alleli olarak saptanmıştır. Tinnituslu hastalar ve kontrol grubu ile rs10501087 C-T polimorfizmi genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,500). Bu polimorfizm için allel frekansları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,331) (Tablo 2).

*BDNF-AS* rs10767658 C**-**G polimorfizmi genotip dağılımı tinnitus hastalarında %10,59 CC; %21,18 CG; %68,26 GG olarak, kontrol %11,7 CC; %41,62 CG ve %46,67 GG olarak saptanmıştır. İlgili polimorfizm için allel frekans dağılımı tinnituslu hastalarda %21,18 C alleli ve % 78,82 G alleli olarak, kontrol grubunda %32,50 C alleli ve %67,50 T alleli olarak saptanmıştır. Tinnituslu hastalar ve kontrol grubu ile rs10767658 C-G polimorfizmi genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,020). Bu polimorfizm için allel frekansları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,071) (Tablo 2).

*BDNF-AS* rs1488830 C**-**T polimorfizmi genotip dağılımı tinnitus hastalarında %38,82 CT; %61,18 TT olarak, kontrol grubunda %36,67 CT ve %63,33 TT olarak saptanmıştır. İlgili polimorfizm için alel frekans dağılımı tinnituslu hastalarda %19,41 C alleli ve % 80,59 T alleli olarak, kontrol grubunda %18,33 C alleli ve %81,67 T alleli olarak saptanmıştır. Tinnituslu hastalar ve kontrol grubu ile rs1488830 C-T polimorfizmi genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,792). Bu polimorfizm için allel frekansları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,845) (Tablo 2).

*BDNF-AS* rs1519480 C**-**T polimorfizmi genotip dağılımı tinnitus hastalarında % 10,59 CC; %24,71 CT; %64,70 TT olarak, kontrol grubunda %11,67 CC, %56,67 CT ve %31,67 TT olarak saptanmıştır. İlgili polimorfizm için alel frekans dağılımı tinnituslu hastalarda %22,94 C alleli ve % 77,06 T alleli olarak, kontrol grubunda %40 C alleli ve %60 T alleli olarak saptanmıştır. Tinnituslu hastalar ve kontrol grubu ile rs1519480 C-T polimorfizmi genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,0002). Bu polimorfizm için allel frekansları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,009) (Tablo 2).

*BDNF-AS* rs925946 G**-**T polimorfizmi genotip dağılımı tinnitus hastalarında %68,24 GG; %21,18 GT; %10,59 TT olarak, kontrol grubunda %46,67 GG; %41,62 GT ve %11,67 TT olarak saptanmıştır. İlgili polimorfizm için alel frekans dağılımı tinnituslu hastalarda %78,82 G alleli ve % 21,18 T alleli olarak, kontrol grubunda %67,50 G alleli ve %32,50 T alleli olarak saptanmıştır. Tinnituslu hastalar ve kontrol grubu ile rs925946 G-T polimorfizmi genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,020). Bu polimorfizm için allel frekansları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,071) (Tablo 2).

*BDNF-AS* rs4074134 A**-**G polimorfizmi genotip dağılımı tinnitus hastalarında %4,71 AA; %63,33 AG; %50,59 GG olarak, kontrol grubunda %8,33 AA; %38,33 AG ve %53,33 GG olarak saptanmıştır. İlgili polimorfizm için allel frekans dağılımı tinnituslu hastalarda %27,06 A alleli ve % 72,94 G alleli olarak, kontrol grubunda %27,50 A alleli ve %72,50 G alleli olarak saptanmıştır. Tinnituslu hastalar ve kontrol grubu ile rs4074134 A-G polimorfizmi genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,567). Bu polimorfizm için allel frekansları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,944) (Tablo 2).

*BDNF-AS* rs10501087 C**-**T polimorfizmi genotip dağılımı tüm gruplarda cinsiyete göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (erkeklerde p=0,520 ve kadınlarda p=0,899). Tinnitus süresi ile ilgili polimorfizm genotip dağılımı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,084).

*BDNF-AS* rs10767658 C**-**G polimorfizmi genotip dağılımı tüm gruplarda cinsiyete göre karşılaştırıldığında erkeklerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış, kadın cinsiyette anlamlı bir fark saptanmamıştır (erkeklerde p=0,010 ve kadınlarda p=0,271). Tinnitus süresi ile ilgili polimorfizm genotip dağılımı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,029).

*BDNF-AS* rs1488830 C**-**T polimorfizmi genotip dağılımı tüm gruplarda cinsiyete göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (erkeklerde p=0,519 ve kadınlarda p=0,712). Tinnitus süresi ile ilgili polimorfizm genotip dağılımı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,036).

*BDNF-AS* rs1519480 C**-**T polimorfizmi genotip dağılımı tüm gruplarda cinsiyete göre karşılaştırıldığında erkeklerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış, kadın cinsiyette anlamlı bir fark saptanmamıştır (erkeklerde p=0,001 ve kadınlarda p=0,230). Tinnitus süresi ile ilgili polimorfizm genotip dağılımı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,041).

*BDNF-AS* rs925946 G**-**T polimorfizmi genotip dağılımı tüm gruplarda cinsiyete göre karşılaştırıldığında erkeklerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış, kadın cinsiyette anlamlı bir fark saptanmamıştır (erkeklerde p=0,010 ve kadınlarda p=0,271). Tinnitus süresi ile ilgili polimorfizm genotip dağılımı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,029).

*BDNF-AS* rs4074134 A**-**G polimorfizmi genotip dağılımı tüm gruplarda cinsiyete göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (erkeklerde p=0,598 ve kadınlarda p=0,910). Tinnitus süresi ile ilgili polimorfizm genotip dağılımı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,377).

Tinnitus frekansları, tinnitus lokalizasyonu, tinnitus şiddeti, TEA verileri ile *BDNF-AS* polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak bir fark saptanmamıştır (p>0,05).

**Tablo 8.** Tinnitus ve kontrol grubunun BDNF-AS polimorfizmlerinin genotip ve alel frekans dağılım karşılaştırılması.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **SNP ve genotipler** | **Tinnitus Grubu** | **Kontrol Grubu** | **P değeri** |
| **rs10501087 C-T** | | | |
| CC | 4 (%4,71) | 5(%8,33) | 0,500 |
| CT | 30(%35,29) | 24(%40) |
| TT | 51 (%60 | 31(%51,67) |
| **rs10767658 C-G** |  |  |  |
| CC | 9(10,59) | 7(%11,67) | 0,020\* |
| CG | 18(%21,18) | 25(%41,62) |
| GG | 58(%68,24) | 28(%46,67) |
| **rs1488830 C-T** | | | |
| CC | 0 (%0) | 0(%0) | 0,792 |
| CT | 33(%38,82) | 22(%36,67) |
| TT | 52(%61,18) | 38(%63,33) |
| **rs1519480 C-T** | | | |
| CC | 9 (%10,59) | 7(%11,67) | 0,0002\* |
| CT | 21(%24,71) | 34(%56,67) |
| TT | 55 (%64,71) | 19(%31,67) |
| **rs925946 G-T** | | | |
| GG | 58(%68,24) | 28(%46,67) | 0,020\* |
| GT | 18(%21,18) | 25(%41,62) |
| TT | 9(10,59) | 7(%11,67) |
| **rs4074134 A-G** |  |  |  |
| AA | 4(%4,71) | 5(%8,33) | 0,567 |
| AG | 38(%63,33) | 23 (%38,33) |
| GG | 43 (%50,59) | 32(%53,33) |
| **Allel Frekansları** |  |  |  |
| **rs10501087 C-T** | | | |
| C | %22,35 | %28,33 | 0,331 |
| T | %77,65 | %71,67 |
| **rs10767658 C-G** |  |  |  |
| C | %21,18 | %32,50 | 0,071 |
| G | %78,82 | %67,50 |
| **rs1488830 C-T** |  |  |  |
| C | %19,41 | %18,33 | 0,845 |
| T | %80,59 | %81,67 |
| **rs1519480 C-T** |  |  |  |
| C | %22,94 | %40,00 | 0,009\* |
| T | %77,06 | %60,00 |
| **rs925946 G-T** |  |  |  |
| G | %78,82 | %67,50 | 0,071 |
| T | %21,18 | %32,50 |
| **rs4074134 A-G** |  |  |  |
| A | %27,06 | %27,50 | 0,944 |
| G | %72,94 | %72,50 |

**5. TARTIŞMA**

Yaptığımız çalışmada tinnitus tanısı konulmuş 85 hastanın ve 60 kontrol bireyinde *BDNF* Val66Met polimorfizmleri ile bağlantılı *BDNF-AS* (rs925946, rs10501087, rs1488830, rs4074134, rs1519480, rs10767658) polimorfizmlerine bakılarak *BDNF-AS* polimorfizmlerinin tinnitus patofizyolojisindeki yerini incelemek amaçlanmıştır. “Kronik tinnutus patogenezinde *BDNF* Val66Met polimorfizmi rol oynuyorsa, *BDNF* genini düzenleyen ve *BDNF* Val66Met polimorfizmi ile bağlantılı *BDNF-AS* gen polimorfizmleride rol oynuyor olabilir” hipotezinden yola çıkılarak çalışmaya başlanmıştır. Dahil edilen tinnutus hastaları çeşitli sosyodemografik özellikler, klinik değişkenler açısından karşılaştıralarak ve sağlıklı kontrol grubuna göre *BDNF-AS* polimorfizmleri açısından fark olup olmadığı araştırılmıştır.

Tinnitus ile depresyon gibi duygudurum bozuklukları arasında %30’a varan bir birliktelik oranı ile yakın bir ilişki vardır (Folmer ve Shi, 2004). Bu nedenle mevcut çalışmada etiyolojisi bir duygudurum bozukluğuna bağlı olmayan hastalar seçilmiş ve BDA anketi yapılarak depresyon tanısı konulan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

Tinnitus sıklığında cinsiyetin etkisine bakıldığında, kadın ve erkek arasında fark olmadığını gösteren araştırmalara rağmen spontan oto akustik emisyonlar nedeniyle kadınlarda tinnitus sıklığının erkeklere göre biraz daha yüksek olduğu bilinmektedir fakat kadınlarda daha sık karşılaşılan bir durum olmaktadır. Bu durum 50 yaş altında cinsiyet hormonları ve nörotransmitterlerin işitsel kanal üzerindeki etkisinden olabilmektedir.  Çeşitli çevresel faktörlerinin (gürültülü iş yerlerinde çalışma vb.) etkisi ile özellikle 65 yaş üstü kişilerdeki tinnitus kadınlarda %7 iken, erkeklerde %12’ye çıkmaktadır (Coskunoglu ve diğerleri, 2017). Çalışmamızda hasta grubu 18-55 yaş arası bireylerden oluşmakta olup, hastaların %40’ı kadın, %60'ı erkektir.

Tinnitusun lokalizasyonu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır ve çalışmalar sağ ve sol kulak arasında fark göstermemesine rağmen bazı çalışmalarda sol kulakta daha yüksek lokalizasyon bildirilmektedir (Koester M ve diğerleri, 2004). Bu çalışmada, tinnitus hastalarının %45,9’unda sağ tarafta, %41,2’sinde sol tarafta, %12,9’unda bilateral olarak tinnitus lokalizasyonu saptanmıştır.

Tinnitus frekansının 2000 Hz üzerinde, çoğunlukla 4000 Hz’de meydana geldiği bilinmektedir. Ancak, 1998 yılında tinnitus değerlendirmesi için yüksek frekanslı odyometrinin dahil edilmesiyle, tinnitus perdesi hakkındaki bu sonuç değişmiştir. Bazı araştırmacılar tinnitus perde eşleşme verilerini tanımlamak için bir dizi perde kullanmayı tercih etsede, tinnitus perdesi genellikle odyometrik olarak en yüksek kaybın meydana geldiği frekansla ilişkilendirilmektedir. Pan ve diğerlerine göre ortalama perde4968 Hz,  iken çalışmamızdaki hastaların çoğunluğu 8000**-**4000 Hz arasında tinnitus perdesi tanımlanmıştır (Pan ve diğerleri, 2009). Başlangıçta ki ortalama tinnitus frekansını 5796.67 ± 3017.89 Hz olarak bildirilmiştir (Yilmaz ve diğerleri, 2002). Çalışmamızda en yüksek frekans dağılımı 4000 ve 8000 Hz’deydi ve ortalama tinnitus freakansı 543671±642,51 olarak saptanmıştır.

Çalışmamızdaki hasta beyanları, hastaların %30,6’sının 1 yıldan az, %35,3’nun 1-2 yıl, %23,5’nin 2-3 yıl, %10,6 ‘sının 3yıl ve üzeri tinnitus yaşadığını göstermiştir. American Tinnitus Association'ın (ATA) 13.000 hasta üzerinde yaptığı daha geniş bir çalışmada, hastaların %4’i bir yıldan az, %11,7’si 1 ila 2 yıl, %23,1’i 2 ila 5 yıl, %23,3’ü 5**-**10 yıla kadar %20,7’si 10-20 yıl arası ve %17,2’si 20 yıldan fazla süreyle tinnitustan yakınmıştır.  Çalışmamızdaki hastaların tinnitustan muzdarip olduğu süre, ATA’nın 1986’daki raporuna kıyasla önemli ölçüde daha kısadır. Mevcut çalışmadaki hastaların tinnitustan muzdarip olduğu bu daha kısa süre, kısmen 1986’dan bu yana teknolojinin genel gelişimine bağlı olabilir. Bu durum tinnitus tedavisi için kullanılabilecek ilaçların sayısının artması, elektrofizyolojik araştırmalardaki gelişmeler, günümüz hastalarının tedavi arayışına yönelik farkındalıklarının nispeten daha yüksek olması ve ayrıca bu çalışmadaki deneklerin 55 yaşın altında olmasıyla açıklanabilir.

Literatürde *BDNF* geninin çelişkili ekspresyon, serum ve polimorfizm çalışmaları bu genin tinnitus patogenezinde rolünü tam olarak aydınlatamamıştır. Yi ve diğerleri salisilatın işitsel alanda BDNF, proBDNF, tirozin kinaz reseptörü B (TrkB), cAMP’ye yanıt veren element bağlayıcı (CREB) protein ve fosforile edilmiş CREB (p-CREB) gen ekspresyon seviyelerini kortekste değiştirerek tinnitus indükleme etkisini göstermişlerdir (Yi ve diğerleri, 2018). Uzun süreli salisilat tedavisinin kortekste BDNF ekspresyonunu, CREB aktivasyonunu, sinaptik etkinliği ve modifiye sinaptik üstyapıyı arttırdığı ve bu faktörler ile tinnitus arasında bir ilişki önerdiği belirlenmiştir. Düşük yoğunluklu tekrarlayan transkraniyal manyetik stimülasyonun (LI-rTMS) tinnitus belirtilerini azaltma potansiyeli kobayda incelenmiştir. Çalışma ayrıca BDNF ekspresyonunun ve alt kollikulustaki hiperaktivitenin izlenmesine odaklanılmış ve tinnitusun davranışsal semptomlarının LI-rTMS tarafından hafifletildiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, alt kollikulus hiperaktivitesi veya BDNF seviyeleri ile bağlantılı olmaması dışında mekanizma tanımlanmamıştır. Yang ve diğerleri rTMS ve sham ile tedavi edilen sıçanlarda işitsel beyin sapı tepkilerini ölçmüşler ve önemli bir varyasyon olmadığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte, rTMS tedavisi, sıçanlarda kontrollere kıyasla işitsel kortekste daha az nöron kaybıyla sonuçlanmıştır. Ayrıca koklea ve işitsel kortekste BDNF ekspresyonu akustik travma ile yükselmiştir ve rTMS tedavisi bu artışı azaltmak için yeterli olmamıştır (Yang ve diğerleri, 2016).

Sand ve diğerleri 240 Kafkas kadınları üzerinde yapılan bir çalışmada BDNF ve GDNF gen polimorfizmlerinin tinnitus şiddeti ile ilişkili olduğunu gösterilmişlerdir (P. G. Sand, ve diğerleri, 2012). Goto ve diğerleri (2012) BDNF’nin patofizyolojik bir rolü olduğu tinnitus ve depresyon arasında yakın bir ilişki olabileceğini öne sürmüşlerdir. Tinnitus şiddetini değerlendirmek için BDNF düzeylerinin kullanılıp kullanılamayacağını belirlemek için tinnituslu hastalarda plazma BDNF düzeyleri değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda ilk kez plazma BDNF düzeylerinin tinnitusun şiddetine göre değiştiği gösterilmiştir (Goto ve diğerleri, 2012).

Xiong ve diğerleri BDNF düzeylerinin tinnitus indüksiyonu ve şiddeti ile ilişkili olup olmadığını saptamak için tinnitus hastalarında ve kontrollerde plazma BDNF düzeylerini izlemişlerdir. Tinnitus hastalarında BDNF plazma seviyeleri sağlıklı kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur. Etkili tinnitus yeniden eğitim tedavisinin (TRT), şiddetli tinnitus hastalarında plazma BDNF düzeylerini önemli ölçüde azalttığı ancak tinnitus şiddeti ve ses yüksekliğinin ilişkisiz olduğu bildirilmiştir (H. Xiong ve diğerleri, 2016).

[Coşkunoğlu](https://www.noiseandhealth.org/searchresult.asp?search=&author=Aysun+Coskunoglu&journal=Y&but_search=Search&entries=10&pg=1&s=0) ve diğerleri (2017) tinnitusun patofizyolojisinde *BDNF* polimorfizm ve serum değişikliklerinin rolünün olup olmadığını araştırılmışlardır. BDNF venöz kandan ekstrakte edilen DNA örneklerinde BDNF polimorfizmleri analiz edilmiş ve BDNF’nin serum seviyeleri ölçülmüştür. Tinnituslu hastalarda serum BDNF düzeyi kontrollere göre daha düşük bulunmuş ve *BDNF* gen polimorfizmleri (rs6265, rs1491850 ve rs203032) ile tinnitus arasında korelasyon olmadığı ortaya çıkmıştır (Coskunoglu ve diğerleri, 2017).

Örenay Boyacıoğlu ve diğerleri (2019) tinnituslu kişilerden alınan periferik kandan elde edilen *BDNF / GDNF* promoter metilasyonları arasındaki ilişki ile tinnitus patofizyolojisindeki rolünü belirlemek için araştırılmıştır. *BDNF* ve *GDNF* promoter bölgelerindeki toplam 12 CpG sahasının metilasyonu bisülfit sekanslama yöntemi ile belirlenmiştir. Kontrol grubu ile kronik tinnitus hastalarının karşılaştırılmasında *BDNF* CpG6 ve *GDNF* CpG3**-**5**-**6 metilasyon oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (Orenay-Boyacioglu ve diğerleri, 2019).

Sand ve diğerleri (2012) *BDNF* CpG6 metilasyonu kadınlarda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulmuşlardır. Ek olarak, kadınlarda *GDNF* CpG5 ve erkeklerde CPG3**-**5**-**6 metilasyonlarında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Literartürdeki *BDNF* ekspresyonları, polimorfizmleri ve BDNF serum düzeyi arasındaki belirsiz sonuçlar ve tinnitus hastalarında *BDNF* metilasyonuyla ilgili anlamlı sonuçlar tinnitus patofizyolojisinde epigenetik mekanizmaların etkili olabileceğini bizlere düşündürmüştür. Bu yüzden bu çalışmada *BDNF* genini düzenleyen *BDNF-AS* polimorfizmleri araştırılmıştır (P. G. Sand ve diğerleri, 2012).

*BDNF-AS*, *BDNF*’nin transkripsiyonunu baskılayan, doğal olarak korunmuş kodlamayan antisens RNA olarak tanımlanmıştır. Doğal olarak oluşan bir antisens olarak, nörogelişimsel hastalıkların patoetiyolojisinde temel rol oynayan bir faktör olan BDNF’nin ekspresyonunu düzenlemektedir. Ancak *BDNF-AS* geninin işitsel yoldaki görevi bilinmemektedir (P. G. Sand ve diğerleri, 2012). Shang ve diğerleri (2018) insan retinoblastomunda (RB) tümörlerinde *BDNF-AS* ekspresyonu hastaların klinikopatolojik parametrelerine göre karakterize etmişlerdir. *BDNF-AS* mRNA düzeyi, RB tümörleri ve normal retinaların yanı sıra RB hücre çizgileri ve normal retinal epitel hücreleri arasında ki ilişki karşılaştırılmıştır. RB tümörlerinde düşük *BDNF-AS* ekspresyonu, hastaların ileri klinik evresi ve tümör farklılaşma durumu ile korele olduğu bulunmuştur (Shang ve diğerleri, 2018).

İshima ve diğerleri (2021) bipolar bozukluğu olan hastalarından ve sağlıklı kontrol deneklerinden pluripotent kök hücre (iPSC) ve nöral kök hücreden (NSC) BDNF mRNA ve BDNF-AS mRNA ekspresyonunu ve korpus kallozum, Brodmann alanı (BA8) ve BA46 gibi postmortem beyin örneklerinin ölçümlerini yapmışlardır. Bipolar hastalarından alınan iPSC’de BDNF mRNA’nın ifadesi deneklerininkinden önemli ölçüde düşük, ancak bipolar hastalarından alınan NSC’de BDNF mRNA’nın ifadesi kontrol deneklerinden önemli ölçüde daha yüksek olduğu bulunmuştur (Ishima ve diğerleri, 2021).

Cathomas ve diğerleri (2010), ince bir haritalama yaklaşımı kullanarak *BDNF* ve *BDNF-AS* lokuslarındaki belirteçler arasındaki ilişkiyi epizodik bellekle test etmişlerdir. Sonuçları, epizodik bellek fenotipi ile nominal olarak ilişkili olan *BDNF* ve *BDNF-AS* genine ait beş belirteç (rs7125904, rs10835190, rs7127239, rs6265 ve rs10835218) sunulmuştur (Cathomas ve diğerleri, 2010).

Honea ve diğerleri (2013) rs925946, rs11030104 ve rs11030108 *BDNF-AS* SNP’lerini incelemişler ve bir Alzheimer kohortunda rs11030108 ile bilişsel gerileme ölçümleri arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir (Honea ve diğerleri, 2013). rs7124442 ve rs1519480’in beyin hasarı sonrası genel bilişsel zeka ile önemli ölçüde ilişkili olduğu bildirilmiştir. rs7124442 ve rs1519480’in beyin hasarı sonrası genel bilişsel zeka ile önemli ölçüde ilişkili olduğu bildirilmiştir (Rostami ve diğerleri, 2011). Beyin tümörlü hastalarda bilişsel performansların araştırılmasında, rs11030104, daha yüksek uzun süreli sözel hafıza ile anlamlı bir ilişki göstermiştir (Correa ve diğerleri, 2016) ve işleyen bir hafıza çalışması, rs7103411’in yaşlı popülasyonda daha zayıf bilişsel performansla bağlantılı olduğunu ortaya konulmuştur (Brooks ve diğerleri, 2014). Son olarak *BDNF-AS* rs988748, sağlıklı bir Polonya kohortunda bilişsel performansı araştırmak için bir çalışmaya dahil edilmiş, ancak daha sonra HWE (Hardy-Weinberg Eşitsizliği) dışında olduğu için hariç tutulmuştur (Wiłkość ve diğerleri, 2016). Bu nedenle, birkaç çalışma *BDNF* ve *BDNF-AS* SNP’lerin bir dizi bilişsel işlevi etkileyebileceğini, bellek ve öğrenme performansında önemini göstermektedir. Literatürdeki *BDNF-AS* ile ilgili bu çalışmalar *BDNF-AS* geninin nöronal gelişimdeki rolünün güçlü kanıtlarıdır.

Çalışmamızda da *BDNF-AS* rs925946, rs10767658, rs1519480 polimorfizmleri tinnitusla ilişkili bulunmuştur. rs925946, rs10767658, rs1519480 ve rs1488830 polimorfizmleri tinnitus süresi ile ilişkili bulunmuştur. Bu bağlamda, BDNF-AS rs925946, rs10767658, rs1519480 ve rs1488830 polimorfizmleri işitsel yolu etkileyebilir ve insanlarda işitsel performans üzerinde etkili olabilecek gen polimorfizmleri için aday gen lokusları olabilir.

**6. SONUÇ VE ÖNERİLER**

Bulgularımızdan bazıları, *BDNF-AS* polimorfizmleri ile tinnitus arasındaki ilişkilerin ilk kanıtını sağlamaktadır. Çalışmamız, *BDNF-AS* polimorfizmleri ile tinnnitus arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildiren ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. Bunun yanı sıra literatürde *BDNF* Val66Met ile bağlantılı *BDNF-AS* polimorfizmleri ile ilişkisini sorgulayan bir çalışma mevcut değildir. *BDNF* Val66Met polimorfizmlerinin yanı sıra BDNF’deki diğerlerinin ve onun antisens geni *BDNF-AS*’nin tinnitus hastalığı rolünü netleştirmek için daha büyük gruplar üzerinde daha kapsamlı çalışmalar gereklidir.

**EKLER**

**Ek.1.** Klinik Araştırma Etik Kurulu.



**KAYNAKÇA**

Ã, G. C. ve Fechter, L. D. (2003). The relationship between noise-induced hearing loss and hair cell loss in rats, *177*, 81–90. doi:10.1016/S0378-5955(02)00802-X

A.H., L., R.J., S., M.L., C., M.L., T., D.S., W. ve B.W., M. (1998). The functional neuroanatomy of tinnitus: Evidence for limbic system links and neural plasticity. *Neurology*, *50*(1), 114–120. http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L28106029 adresinden erişildi.

Abdolmaleki, A., Ferdowsi, S., Asadi, A. ve Panahi, Y. (2021). Long Non-coding RNAs Associated with Brain Disorders: A Literature Review. *Gene, Cell and Tissue*, *8*(3). doi:10.5812/gct.111802

Amanat, S., Gallego-Martinez, A. ve Lopez-Escamez, J. A. (2021). Genetic Inheritance and Its Contribution to Tinnitus. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, *51*, 29–47. doi:10.1007/7854\_2020\_155

Avgan, N., Sutherland, H. G., Spriggens, L. K., Yu, C., Ibrahim, O., Bellis, C., … Griffiths, L. R. (2017). BDNF variants may modulate long-term visual memory performance in a healthy cohort. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(3). doi:10.3390/ijms18030655

Baguley, D. M. (2002). Mechanisms of tinnitus, 195–212.

Baydyuk, M. ve Xu, B. (2014). BDNF signaling and survival of striatal neurons. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *8*(AUG), 1–10. doi:10.3389/fncel.2014.00254

Bing, D., Lee, S. C., Campanelli, D., Xiong, H., Matsumoto, M., Panford-Walsh, R., … Singer, W. (2015). Cochlear NMDA receptors as a therapeutic target of noise-induced tinnitus. *Cellular Physiology and Biochemistry*, *35*(5), 1905–1923. doi:10.1159/000374000

Bogo, R., Farah, A., Karlsson, K. K., Pedersen, N. L., Svartengren, M. ve Skjönsberg, A. (2017). Prevalence, incidence proportion, and heritability for tinnitus: A longitudinal twin study. *Ear and Hearing*, *38*(3), 292–300. doi:10.1097/AUD.0000000000000397

Brooks, S. J., Nilsson, E. K., Jacobsson, J. A., Stein, D. J., Fredriksson, R., Lind, L. ve Schiöth, H. B. (2014). BDNF polymorphisms are linked to poorer working memory performance, reduced cerebellar and hippocampal volumes and differences in prefrontal cortex in a Swedish elderly population. *PLoS ONE*, *9*(1). doi:10.1371/journal.pone.0082707

Cathomas, F., Vogler, C., Euler-Sigmund, J. C., De Quervain, D. J. F. ve Papassotiropoulos, A. (2010). Fine-mapping of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene supports an association of the Val66Met polymorphism with episodic memory. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *13*(8), 975–980. doi:10.1017/S1461145710000519

Cederroth, C. R., Pirouzifard, M., Trpchevska, N., Idrizbegovic, E., Canlon, B., Sundquist, J., … Zöller, B. (2019). Association of Genetic vs Environmental Factors in Swedish Adoptees with Clinically Significant Tinnitus. *JAMA Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, *145*(3), 222–229. doi:10.1001/jamaoto.2018.3852

Chen, Z. Y., Patel, P. D., Sant, G., Meng, C. X., Teng, K. K., Hempstead, B. L. ve Lee, F. S. (2004). Variant Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) (Met66) Alters the Intracellular Trafficking and Activity-Dependent Secretion of Wild-Type BDNF in Neurosecretory Cells and Cortical Neurons. *Journal of Neuroscience*, *24*(18), 4401–4411. doi:10.1523/JNEUROSCI.0348-04.2004

Colucci-D’amato, L., Speranza, L. ve Volpicelli, F. (2020). Neurotrophic factor bdnf, physiological functions and therapeutic potential in depression, neurodegeneration and brain cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(20), 1–29. doi:10.3390/ijms21207777

Corey, D. R., Dimmeler, S. ve Kornfeld, J.-W. (2013). Targeting Noncoding RNAs in Disease: Challenges and Opportunities. *Science*, *341*(6149), 1021–1021. doi:10.1126/science.341.6149.1021-c

Correa, D. D., Satagopan, J., Cheung, K., Arora, A. K., Kryza-Lacombe, M., Xu, Y., … Orlow, I. (2016). COMT, BDNF, and DTNBP1 polymorphisms and cognitive functions in patients with brain tumors. *Neuro-Oncology*, *18*(10), 1425–1433. doi:10.1093/neuonc/now057

Coskunoglu, A., Orenay-Boyacioglu, S., Deveci, A., Bayam, M., Onur, E., Onan, A. ve Cam, F. S. (2017). Evidence of associations between brain-derived neurotrophic factor (BDNF) serum levels and gene polymorphisms with tinnitus. *Noise and Health*, *19*(88), 140–148. doi:10.4103/nah.NAH\_74\_16

Dechesne, C. J., Kim, H. N., Nowak, T. S. ve Wenthold, R. J. (1992). Expression of heat shock protein, HSP72, in the guinea pig and rat cochlea after hyperthermia: Immunochemical and in situ hybridization analysis. *Hearing Research*, *59*(2), 195–204. doi:10.1016/0378-5955(92)90116-5

Deniz, M., Bayazit, Y. A., Celenk, F., Karabulut, H., Yilmaz, A., Gunduz, B., … Menevse, A. (2010). Significance of serotonin transporter gene polymorphism in tinnitus. *Otology and Neurotology*, *31*(1), 19–24. doi:10.1097/MAO.0b013e3181c2dcbc

Dobie, R. A. (1999). A review of randomized clinical trials in tinnitus. *Laryngoscope*, *109*(8), 1202–1211. doi:10.1097/00005537-199908000-00004

Elling, R., Chan, J. ve Fitzgerald, K. A. (2016). Emerging role of long noncoding RNAs as regulators of innate immune cell development and inflammatory gene expression. *European Journal of Immunology*, *46*(3), 504–512. doi:10.1002/eji.201444558

Fernandes, J. C. R., Acuña, S. M., Aoki, J. I., Floeter-Winter, L. M. ve Muxel, S. M. (2019). Long non-coding RNAs in the regulation of gene expression: Physiology and disease. *Non-coding RNA*, *5*(1). doi:10.3390/ncrna5010017

Finn, R. D., Coggill, P., Eberhardt, R. Y., Eddy, S. R., Mistry, J., Mitchell, A. L., … Bateman, A. (2016). The Pfam protein families database: Towards a more sustainable future. *Nucleic Acids Research*, *44*(D1), D279–D285. doi:10.1093/nar/gkv1344

Folmer, R. L. ve Shi, Y. B. (2004). SSRI use by tinnitus patients: Interactions between depression and tinnitus severity. *Ear, Nose and Throat Journal*, *83*(2), 107–117. doi:10.1177/014556130408300211

Folmer, R. L., Health, O. ve Martin, W. H. (2017). Tinnitus Sound Therapies, (January 2005).

Foltran, R. B. ve Diaz, S. L. (2016). BDNF isoforms: a round trip ticket between neurogenesis and serotonin? *Journal of Neurochemistry*, 204–221. doi:10.1111/jnc.13658

Furman, A. C., Kujawa, S. G. ve Charles Liberman, M. (2013). Noise-induced cochlear neuropathy is selective for fibers with low spontaneous rates. *Journal of Neurophysiology*, *110*(3), 577–586. doi:10.1152/jn.00164.2013

Ganz, T., Gaby, S., Yupanque, C., Maria, G., Lorenzi, C. ve Bento, F. (2002). The Influence of Voluntary Muscle Contractions upon the Onset and Modulation of Tinnitus, *900*, 370–375. doi:10.1159/000066155

Ghafouri-Fard, S., Khoshbakht, T., Taheri, M. ve Ghanbari, M. (2021). A concise review on the role of BDNF-AS in human disorders. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *142*, 112051. doi:10.1016/j.biopha.2021.112051

Gilles, A., Camp, G., Van de Heyning, P. ve Fransen, E. (2017). A pilot genome-wide association study identifies potential metabolic pathways involved in tinnitus. *Frontiers in Neuroscience*, *11*(MAR), 1–10. doi:10.3389/fnins.2017.00071

Gonzalez, A., Moya-Alvarado, G., Gonzalez-Billaut, C. ve Bronfman, F. C. (2016). Cellular and molecular mechanisms regulating neuronal growth by brain-derived neurotrophic factor. *Cytoskeleton*, *73*(10), 612–628. doi:10.1002/cm.21312

Goto, F., Saruta, J., Kanzaki, S., To, M., Tsutsumi, T., Tsukinoki, K. ve Ogawa, K. (2012). Various levels of plasma brain-derived neurotrophic factor in patients with tinnitus. *Neuroscience Letters*, *510*(2), 73–77. doi:10.1016/j.neulet.2012.01.001

Han, B. I., Lee, H. W., Kim, T. Y., Lim, J. S. ve Shin, K. S. (2009). Tinnitus: Characteristics, causes, mechanisms, and treatments. *Journal of Clinical Neurology (Korea)*, *5*(1), 11–19. doi:10.3988/jcn.2009.5.1.11

Henry, J. A., Roberts, L. E., Caspary, D. M., Theodoroff, S. M. ve Salvi, R. J. (2014). Underlying mechanisms of tinnitus: Review and clinical implications. *Journal of the American Academy of Audiology*, *25*(1), 5–22. doi:10.3766/jaaa.25.1.2

Hirashima, K. ve Seimiya, H. (2015). Telomeric repeat-containing RNA/G-quadruplex-forming sequences cause genome-wide alteration of gene expression in human cancer cells in vivo. *Nucleic Acids Research*, *43*(4), 2022–2032. doi:10.1093/nar/gkv063

Honea, R. A., Cruchaga, C., Perea, R. D., Saykin, A. J., Burns, J. M., Weinberger, D. R. ve Goate, A. M. (2013). Characterizing the Role of Brain Derived Neurotrophic Factor Genetic Variation in Alzheimer’s Disease Neurodegeneration. *PLoS ONE*, *8*(9), 1–9. doi:10.1371/journal.pone.0076001

Ishima, T., Illes, S., Iwayama, Y., Dean, B., Yoshikawa, T., Ågren, H., … Hashimoto, K. (2021). Abnormal gene expression of BDNF, but not BDNF-AS, in iPSC, neural stem cells and postmortem brain samples from bipolar disorder. *Journal of Affective Disorders*, *290*(April), 61–64. doi:10.1016/j.jad.2021.04.042

Kaltenbach, J. A., Zacharek, M. A., Zhang, J. ve Frederick, S. (2004). Activity in the dorsal cochlear nucleus of hamsters previously tested for tinnitus following intense tone exposure. *Neuroscience Letters*, *355*(1–2), 121–125. doi:10.1016/j.neulet.2003.10.038

Kapranov, P., Cheng, J., Dike, S., Nix, D. A., Duttagupta, R., Willingham, A. T., … Gingeras, T. R. (2007). RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. *Science*, *316*(5830), 1484–1488. doi:10.1126/science.1138341

Kapusta, A., Kronenberg, Z., Lynch, V. J., Zhuo, X., Ramsay, L. A., Bourque, G., … Feschotte, C. (2013). Transposable Elements Are Major Contributors to the Origin, Diversification, and Regulation of Vertebrate Long Noncoding RNAs. *PLoS Genetics*, *9*(4). doi:10.1371/journal.pgen.1003470

Kazimierczyk, M., Kasprowicz, M. K., Kasprzyk, M. E. ve Wrzesinski, J. (2020). Human long noncoding RNA interactome: Detection, characterization and function. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(3). doi:10.3390/ijms21031027

Kujawa, S. G. ve Liberman, M. C. (2015). Synaptopathy in the noise-exposed and aging cochlea: Primary neural degeneration in acquired sensorineural hearing loss. *Hearing Research*, *330*, 191–199. doi:10.1016/j.heares.2015.02.009

Kumar, V., Zhang, M. X., Swank, M. W., Kunz, J. ve Wu, G. Y. (2005). Regulation of dendritic morphogenesis by Ras-PI3K-Akt-mTOR and Ras-MAPK signaling pathways. *Journal of Neuroscience*, *25*(49), 11288–11299. doi:10.1523/JNEUROSCI.2284-05.2005

Kvestad, E., Czajkowski, N., Engdahl, B., Hoffman, H. J. ve Tambs, K. (2010). Low Heritability of Tinnitus. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, *136*(2), 178. doi:10.1001/archoto.2009.220

Kwon, M., Fernández, J. R., Zegarek, G. F., Lo, S. B. ve Firestein, B. L. (2011). BDNF-promoted increases in proximal dendrites occur via CREB-dependent transcriptional regulation of cypin. *Journal of Neuroscience*, *31*(26), 9735–9745. doi:10.1523/JNEUROSCI.6785-10.2011

Leal, G., Bramham, C. R. ve Duarte, C. B. (2017). *BDNF and Hippocampal Synaptic Plasticity*. *Vitamins and Hormones* (1. bs., C. 104). Elsevier Inc. doi:10.1016/bs.vh.2016.10.004

Lobarinas, E., Yang, G., Sun, W., Ding, D., Mirza, N., Dalby-Brown, W., … Salvi, R. (2006). Salicylate- and quinine-induced tinnitus and effects of memantine. *Acta Oto-Laryngologica*, *126*(SUPPL. 556), 13–19. doi:10.1080/03655230600895408

Maas, I. L., Brüggemann, P., Requena, T., Bulla, J., Edvall, N. K., Hjelmborg, J. V. B., … Cederroth, C. R. (2017). Genetic susceptibility to bilateral tinnitus in a Swedish twin cohort. *Genetics in Medicine*, *19*(9), 1007–1012. doi:10.1038/gim.2017.4

Maisonpierre, P. C., Le Beau, M. M., Espinosa, R., Ip, N. Y., Belluscio, L., de la Monte, S. M., … Yancopoulos, G. D. (1991). Human and rat brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3: Gene structures, distributions, and chromosomal localizations. *Genomics*, *10*(3), 558–568. doi:10.1016/0888-7543(91)90436-I

Milloy, V., Fournier, P., Benoit, D., Noreña, A. ve Koravand, A. (2017). Auditory brainstem responses in tinnitus: A review of who, how, and what? *Frontiers in Aging Neuroscience*, *9*(JUL). doi:10.3389/fnagi.2017.00237

Minichiello, L. (2009). TrkB signalling pathways in LTP and learning. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(12), 850–860. doi:10.1038/nrn2738

Mizui, T., Ishikawa, Y., Kumanogoh, H. ve Kojima, M. (2016). Neurobiological actions by three distinct subtypes of brain-derived neurotrophic factor: Multi-ligand model of growth factor signaling. *Pharmacological Research*, *105*, 93–98. doi:10.1016/j.phrs.2015.12.019

Moller, A. R. (2007). *Tinnitus, Textbook*.

Møller, A. R., Langguth, B., De Ridder, D. ve Kleinjung, T. (2011). Textbook of tinnitus. *Textbook of Tinnitus*, 1–785. doi:10.1007/978-1-60761-145-5

Moser, T., Neef, A. ve Khimich, D. (2006). Mechanisms underlying the temporal precision of sound coding at the inner hair cell ribbon synapse. *Journal of Physiology*, *576*(1), 55–62. doi:10.1113/jphysiol.2006.114835

Nicolas-puel, C., Akbaraly, T., Lloyd, R., Berr, C., Uziel, A., Rebillard, G. ve Puel, J. (2006). Characteristics of Tinnitus in a Population of 555 Patients : Specificities of Tinnitus Induced by Noise Trauma, *12*(1), 64–70.

Notaras, M., Hill, R. ve Van Den Buuse, M. (2015). The BDNF gene Val66Met polymorphism as a modifier of psychiatric disorder susceptibility: Progress and controversy. *Molecular Psychiatry*, *20*(8), 916–930. doi:10.1038/mp.2015.27

Notaras, Michael ve van den Buuse, M. (2019). Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF): Novel Insights into Regulation and Genetic Variation. *Neuroscientist*, *25*(5), 434–454. doi:10.1177/1073858418810142

Orenay-Boyacioglu, S., Caliskan, M., Boyacioglu, O., Coskunoglu, A., Bozkurt, G. ve Cam, F. S. (2019). Chronic tinnitus and BDNF/GDNF CpG promoter methylations: a case–control study. *Molecular Biology Reports*, *46*(4), 3929–3936. doi:10.1007/s11033-019-04837-0

Orenay-Boyacioglu, S., Coskunoglu, A., Caki, Z. ve Cam, F. S. (2016). Relationship Between Chronic Tinnitus and Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Gene rs3812047, rs1110149, and rs884344 Polymorphisms in a Turkish Population. *Biochemical Genetics*, *54*(4), 552–563. doi:10.1007/s10528-016-9741-1

Pan, T., Tyler, R. S., Ji, H., Coelho, C., Gehringer, A. K. ve Gogel, S. A. (2009). The relationship between tinnitus pitch and the audiogram. *International Journal of Audiology*, *48*(5), 277–294. doi:10.1080/14992020802581974

Park, C. H., Kim, J., Namgung, E., Lee, D. W., Kim, G. H., Kim, M., … Yoon, S. (2017). The BDNF val66met polymorphism affects the vulnerability of the brain structural network. *Frontiers in Human Neuroscience*, *11*(August), 1–10. doi:10.3389/fnhum.2017.00400

Patuzzi, R. (2002). Non-linear aspects of outer hair cell transduction and the temporary threshold shifts after acoustic trauma. *Audiology and Neuro-Otology*, *7*(1), 17–20. doi:10.1159/000046857

Practice, C. (2018). Bauer2018.Pdf, 1224–1231. doi:10.1056/NEJMcp1506631

Pruunsild, P., Kazantseval, A., Aid, T., Palm, K. ve Timmusk, T. (2007). Dissecting the human BDNF locus: Bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. *Genomics*, *90*(3), 397–406. doi:10.1016/j.ygeno.2007.05.004

Pujol, R., Puel, J. L., D’aldin, C. G. ve Eybalin, M. (1993). Pathophysiology of the glutamatergic synapses in the cochlea. *Acta Oto-Laryngologica*, *113*(3), 330–334. doi:10.3109/00016489309135819

Quinn, J. J. ve Chang, H. Y. (2016). Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function. *Nature Reviews Genetics*, *17*(1), 47–62. doi:10.1038/nrg.2015.10

Reichardt, L. F. (2006). Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *361*(1473), 1545–1564. doi:10.1098/rstb.2006.1894

Ribeiro, S. F., Paço, J., Hall, D. A., Haider, H. F. ve Boji, T. (2018). Pathophysiology of Subjective Tinnitus : Triggers and Maintenance, *12*(November), 1–16. doi:10.3389/fnins.2018.00866

Rostami, E., Krueger, F., Zoubak, S., Monte, O. D., Raymont, V., Pardini, M., … Grafman, J. (2011). Bdnf polymorphism predicts general intelligence after penetrating traumatic brain injury. *PLoS ONE*, *6*(11), 1–13. doi:10.1371/journal.pone.0027389

Rubinstein, J. T., Tyler, R. S., Johnson, A. ve Brown, C. J. (2003). Electrical suppression of tinnitus with high-rate pulse trains. *Otology and Neurotology*, *24*(3), 478–485. doi:10.1097/00129492-200305000-00021

Rüttiger, L., Singer, W., Panford-Walsh, R., Matsumoto, M., Lee, S. C., Zuccotti, A., … Knipper, M. (2013). The Reduced Cochlear Output and the Failure to Adapt the Central Auditory Response Causes Tinnitus in Noise Exposed Rats. *PLoS ONE*, *8*(3), 1–11. doi:10.1371/journal.pone.0057247

Sanchez, T. G., Balbani, A. P. S., Bittar, R. S. M., Bento, R. F. ve Câmara, J. (1999). Lidocaine test in patients with tinnitus: Rationale of accomplishment and relation to the treatment with carbamazepine. *Auris Nasus Larynx*, *26*(4), 411–417. doi:10.1016/S0385-8146(99)00020-6

Sand, P. G., Langguth, B., Itzhacki, J., Bauer, A., Geis, S., Cárdenas-Conejo, Z. E., … Kleinjung, T. (2012). Resequencing of the auxiliary GABA B receptor subunit gene KCTD12 in chronic tinnitus. *Frontiers in Systems Neuroscience*, *6*(MAY 2012), 1–5. doi:10.3389/fnsys.2012.00041

Sand, P. G., Langguth, B., Schecklmann, M. ve Kleinjung, T. (2012). GDNF and BDNF gene interplay in chronic tinnitus. *International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics*, *3*(3), 245–251.

Sand, Philipp G., Langguth, B. ve Kleinjung, T. (2011). Deep resequencing of the voltage-gated potassium channel subunit KCNE3 gene in chronic tinnitus. *Behavioral and Brain Functions*, *7*, 3–7. doi:10.1186/1744-9081-7-39

Sand, Philipp G., Luettich, A., Kleinjung, T., Hajak, G. ve Langguth, B. (2010). An examination of KCNE1 mutations and common variants in chronic tinnitus. *Genes*, *1*(1), 23–37. doi:10.3390/genes1010023

Schaette, R. ve McAlpine, D. (2011). Tinnitus with a normal audiogram: Physiological evidence for hidden hearing loss and computational model. *Journal of Neuroscience*, *31*(38), 13452–13457. doi:10.1523/JNEUROSCI.2156-11.2011

Shang, W., Yang, Y., Zhang, J. ve Wu, Q. (2018). Long noncoding RNA BDNF-AS is a potential biomarker and regulates cancer development in human retinoblastoma. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *497*(4), 1142–1148. doi:10.1016/j.bbrc.2017.01.134

Shen, T., You, Y., Joseph, C., Mirzaei, M., Klistorner, A., Graham, S. L. ve Gupta, V. (2018). BDNF polymorphism: A review of its diagnostic and clinical relevance in neurodegenerative disorders. *Aging and Disease*, *9*(3), 523–536. doi:10.14336/AD.2017.0717

Shulman, A., Tonndorf, J. ve Goldstein, B. (1985). Electrical tinnitus control. *Acta Oto-Laryngologica*, *99*(3–4), 318–325. doi:10.3109/00016488509108916

Tucker, D. A., Phillips, S. L., Ruth, R. A., Clayton, W. A., Royster, E. ve Todd, A. D. (2005). The effect of silence on tinnitus perception. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, *132*(1), 20–24. doi:10.1016/j.otohns.2005.08.016

Tyler, R. S., Coelho, C. ve Noble, W. (2006). Tinnitus: Standard of care, personality differences, genetic factors. *Orl*, *68*(1), 14–19. doi:10.1159/000090486

Wan, G. ve Corfas, G. (2017). Transient auditory nerve demyelination as a new mechanism for hidden hearing loss. *Nature Communications*, *8*, 1–13. doi:10.1038/ncomms14487

Wang, H., Brozoski, T. J., Turner, J. G., Ling, L., Parrish, J. L., Hughes, L. F. ve Caspary, D. M. (2009). Plasticity at glycinergic synapses in dorsal cochlear nucleus of rats with behavioral evidence of tinnitus. *Neuroscience*, *164*(2), 747–759. doi:10.1016/j.neuroscience.2009.08.026

Wiłkość, M., Szałkowska, A., Skibińska, M., Zając-Lamparska, L., Maciukiewicz, M. ve Araszkiewicz, A. (2016). BDNF gene polymorphisms and haplotypes in relation to cognitive performance in Polish healthy subjects. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, *76*(1), 43–52. doi:10.21307/ane-2017-004

Wu, Y., Wang, R., Wang, Y., Gao, J., Feng, L. ve Yang, Z. (2019). Distinct Impacts of Fullerene on Cognitive Functions of Dementia vs. Non-dementia Mice. *Neurotoxicity Research*, *36*(4), 736–745. doi:10.1007/s12640-019-00075-1

Xiong, H., Yang, H., Liang, M., Ou, Y., Huang, X., Cai, Y., … Zheng, Y. (2016). Plasma brain-derived neurotrophic factor levels are increased in patients with tinnitus and correlated with therapeutic effects. *Neuroscience Letters*, *622*, 15–18. doi:10.1016/j.neulet.2016.04.032

Xiong, X. D., Ren, X., Cai, M. Y., Yang, J. W., Liu, X. ve Yang, J. M. (2016). Long non-coding RNAs: An emerging powerhouse in the battle between life and death of tumor cells. *Drug Resistance Updates*, *26*, 28–42. doi:10.1016/j.drup.2016.04.001

Yang, H., Xiong, H., Ou, Y., Xu, Y., Pang, J., Lai, L. ve Zheng, Y. (2016). Effect of repetitive transcranial magnetic stimulation on auditory function following acoustic trauma. *Neurological Sciences*, *37*(9), 1511–1516. doi:10.1007/s10072-016-2603-0

Yi, B., Wu, C., Shi, R., Han, K., Sheng, H., Li, B., … Wu, H. (2018). Long-term Administration of Salicylate-induced Changes in BDNF Expression and CREB Phosphorylation in the Auditory Cortex of Rats. *Otology and Neurotology*, *39*(3), e173–e180. doi:10.1097/MAO.0000000000001717

Yilmaz, Ý., Doç, Y., Akkuzu, B., Doç, Y. ve Çakmak, Ö. (2002). Misoprostol ’ ün Tinnitusta Kullanýmý, 49–56.

Zagrebelsky, M., Tacke, C. ve Korte, M. (2020). BDNF signaling during the lifetime of dendritic spines. *Cell and Tissue Research*, *382*(1), 185–199. doi:10.1007/s00441-020-03226-5

Zhang, Y., Yan, L., Cao, Y., Kong, G. ve Lin, C. (2016). Long noncoding RNA BDNF-AS protects local anesthetic induced neurotoxicity in dorsal root ganglion neurons. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *80*, 207–212. doi:10.1016/j.biopha.2016.03.003

Zhao, W., Luo, J. ve Jiao, S. (2014). Comprehensive characterization of cancer subtype associated long non-coding RNAs and their clinical implications. *Scientific Reports*, *4*, 1–7. doi:10.1038/srep06591

Zhong, J. Bin, Li, X., Zhong, S. M., Liu, J. Di, Chen, C. B. ve Wu, X. Y. (2017). Knockdown of long noncoding antisense RNA brain-derived neurotrophic factor attenuates hypoxia/reoxygenation-induced nerve cell apoptosis through the BDNF-TrkB-PI3K/Akt signaling pathway. *NeuroReport*, *28*(14), 910–916. doi:10.1097/WNR.0000000000000860

Ziegler, C. ve Kretz, M. (2017). The more the Merrier-Complexity in long non-coding RNA loci. *Frontiers in Endocrinology*, *8*(APR), 1–6. doi:10.3389/fendo.2017.00090

**T.C.**

**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİLİMSEL ETİK BEYANI**

“Kronik Tinnitusta BDNF (Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör) Val66Met Polimorfizmi ile Bağlantılı BDNF Antisense RNA Polimorfizmlerinin Araştırılması” başlıklı Yüksek Lisans tezimdeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Buse YÜKSEL

…../…../2022

**ÖZ GEÇMİŞ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Soyadı, Adı** | : YÜKSEL, Buse |
| **Uyruk** | : T.C. |
| **Doğum yeri ve tarihi** | : Tekirdağ / 17.07.1995 |
| **Telefon** | : 544 292 42 07 |
| **E-mail** | : buseyukselonyedi@gmail.com |
| **Yabancı Dil** | : İngilizce |

## **EĞİTİM**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Derece** | **Kurum** | **Mezuniyet tarihi** |
| Lisans | Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi (Moleküler Biyoloji ve Genetik) | 2018 |

## **İŞ DENEYİMİ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Yıl** | **Yer/Kurum** | **Unvan** |
| 2019-2019  2020-2022 | Osmaneli Anadolu Lisesi  Özel Optimed Hastanesi | Biyoloji Öğretmeni  Moleküler Biyolog |

**AKADEMİK YAYINLAR**

1. **PROJELER**

Kronik Tinnitusta BDNF (Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör) Val66met Polimorfizmi İle Bağlantılı BDNF Antisense RNA Polimorfizmlerinin Araştırılması**,** BAP yüksek lisans tezi projesi, TPF-21044, 2021 (Araştırmacı).

1. **BİLDİRİLER**

**A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler**

**Sözlü Bildiri** Histon Deasetilaz Enzim İNhibitörlerinin Kanser Tedavisindeki Yeri (**Yüksel B**. Boyacıoğlu O. Boyacıoğlu Örenay S.) (2020)

**Sözlü Bildiri** Antisens Oligonükleotidlerin (ASO) Terapötik Kullanımları (**Yüksel B**. Boyacıoğlu O. Boyacıoğlu Örenay S.) (2020)