



Tıp Fakültesi

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**SENDROMİK OLMAYAN İŞİTME KAYBI
HASTALARINDA MOLEKÜLER GENETİK
ANALİZ SONUÇLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. ZEYNEP MÜNTEHA BAŞER
UZMANLIK TEZİ
İSTANBUL 2025



Tıp Fakültesi

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**SENDROMİK OLMAYAN İŞİTME KAYBI
HASTALARINDA MOLEKÜLER GENETİK
ANALİZ SONUÇLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. ZEYNEP MÜNTEHA BAŞER
UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. BİLGİN BİLGE GEÇKİNLİ
İSTANBUL 2025

ÖNSÖZ:

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı uzmanlık eğitimi sürecimde danışman hocam Doç. Dr. Bilgen Bilge Geçkinli'ye,

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Ahmet Arman, Prof. Dr. Ahmet İlter Güney, Prof. Dr. Pınar Ata ve Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim görevlisi Uzman Dr. Mehmet Ali Söylemez'e,

Bilgisini ve tecrübesini cömertçe paylaşarak yol gösteren Doç. Dr. Esra Arslan Ateş'e,

Tezimi yazarken vaktini ayırıp geri bildirimini esirgemeyen Doç. Dr. Ayberk Türkyılmaz'a,

Akran eğitimini kendilerinden öğrendiğim kıdemlilerim Uzman Dr. Ceren Alavanda, Uzman Dr. Hamza Polat ve Uzman Dr. Şenol Demir başta olmak üzere problem çözmeyi birlikte öğrendiğimiz asistan arkadaşlarıma,

Yoğun iş tempolarına rağmen yardım taleplerimi geri çevirmeyen laboratuvar ekibimize ve sekreterlerimize,

Tez sürecimde hastaların seçilmesi ve değerlendirilmesi konusunda bana destek olan Prof. Dr. Ayşe Ayça Çiprut'a

Son olarak, eğitim hayatım boyunca desteğini bir an olsun esirgemeyen aileme

Teşekkür ederim.

TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Nonsendromik sensörinöral işitme kayıplarının (NSİK) %70'inde genetik etyoloji saptanmaktadır. Bugüne kadar NSİK ile ilişkili 100'den fazla gen tanımlanmıştır ve işitme kaybı ile ilişkilendirilmiş birçok gen açısından gen terapisi çalışmaları hızla ilerlemektedir. Öte yandan, Türk popülasyonunda NSİK'in moleküler etyolojisi hakkında, hasta sayısına oranla oldukça az sayıda literatür çalışması bulunmaktadır. Bu çalışmanın temel amacı, kliniğimizde NSİK etyolojisine yönelik çok genli panel analizi yapılmış olan hastaların genetik sonuçlarının klinik bulgular eşliğinde değerlendirilmesi ve saptanan verilerin literatüre kazandırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: NSİK tanısı almış 48 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların klinik bulguları ve aile öyküleri hastaların poliklinik dosyalarından; odyolojik verileri hastane sisteminden araştırılarak kaydedildi. Dahil edilme ve dışlanma kriterlerini karşılayan hastaların periferik kanlarından DNA izolasyonu yapıldı. Yeni nesil dizileme (YND) yöntemi ile işitme kaybı ile ilişkili 65 gen dizilendi ve saptanan varyantlar güncel kılavuzlar ve veri tabanları kullanılarak analiz edildi.

Bulgular: 17 (%32,08) patojenik, 28 (%52,83) olası patojenik, 8 (%15,09) VUS olarak değerlendirilen toplam 53 varyasyon saptandı. Bunlardan 21'i (%39,62) daha önce literatürde bildirilmemiş olup çalışmamızla literatüre kazandırıldı. Hastaların 19'u (%70,37) otozomal resesif işitme kaybı, 3'ü (%11,11) otozomal resesif işitsel nöropati, 2'si (%7,4) otozomal dominant işitme kaybı, 1'i (%3,7) Mohr-Tranebjaerg sendromu, 1'i (%3,7) Brankiootik sendrom tip 1, 1'i (%3,7) Brankiootik sendrom tip 3 genetik tanısı aldı.

Sonuç: Çalışmamızda hastaların %56,25'ine genetik tanı konulması yeni nesil dizileme analizinin etkinliğini göstermektedir. Saptadığımız 21 varyant çalışmamız ile güncel literatüre kazandırılmıştır.

Anahtar kelimeler: nonsendromik işitme kaybı, genetik işitme kaybı, yeni nesil dizileme

İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)

Objective: Genetic etiology is detected in 70% of non-syndromic sensorineural hearing losses (NSHLs). To date, over 100 genes associated with NSHL have been identified, and gene therapy studies related to many of these hearing loss-associated genes are progressing rapidly. However, in the Turkish population, there is a relatively limited number of studies in the literature regarding the molecular etiology of NSHL in proportion to the number of patients. The primary aim of this study is to evaluate the genetic results of patients who underwent multigene panel analysis for NSHL etiology in our clinic, in conjunction with their clinical findings, and to contribute the identified data to the scientific literature.

Materials and Methods: A total of 48 patients diagnosed with NSHL were included in the study. Clinical findings and family histories were obtained from the patients' outpatient clinic records, and audiological data were retrieved from the hospital system. DNA was isolated from the peripheral blood of patients who met the inclusion and exclusion criteria. 65 genes associated with hearing loss were sequenced using the next-generation sequencing (NGS) method and the detected variants were analyzed using current guidelines and databases.

Results: A total of 53 variations were identified: 17 (32.08%) pathogenic, 28 (52.83%) likely pathogenic, and 8 (15.09%) variants of uncertain significance (VUS). Of these, 21 variants (39.62%) had not been previously reported in the literature and were newly introduced through our study. Among the patients, 19 (70.37%) were diagnosed with autosomal recessive hearing loss, 3 (11.11%) with autosomal recessive auditory neuropathy, 2 (7.4%) with autosomal dominant hearing loss, 1 (3.7%) with Mohr-Tranebjaerg syndrome, 1 (3.7%) with branchio-otic syndrome type 1, and 1 (3.7%) with branchio-otic syndrome type 3.

Conclusion: The fact that a genetic diagnosis was established in 56.25% of the patients demonstrates the effectiveness of next-generation sequencing analysis. The 21 variants identified in our study have been newly introduced to the current scientific literature.

Keywords: nonsyndromic hearing loss, genetic hearing loss, next-generation sequencing

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ:.....	I
TÜRKÇE ÖZET.....	II
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	III
İÇİNDEKİLER	IV
Tablolar Dizini.....	VI
Şekiller Dizini	VII
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	XI
1) GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2) GENEL BİLGİLER.....	6
2.1) KOKLEAR İŞİTME FİZYOLOJİSİ:	13
2.1.1) KOKLEAR İŞİTME KAYBI:	20
3) GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1) Hasta Seçimi.....	28
3.2) Verilerin Toplanması	28
3.3) Periferik Kandan DNA İzolasyonu.....	29
3.4) Yeni Nesil Dizileme (YND).....	29
3.4.1) Klinik Ekzom Dizileme (CES) Kiti	30
3.5) Varyantların Filtrelenmesi ve Analizi.....	31
3.5.1) Varyant Değerlendirmesinde Amerikan Tıbbi Genetik Koleji (ACMG) Kriterleri ..	32
3.6) Segregasyon Analizi.....	34
3.7) Multipleks Ligasyon Esaslı Prob Amplifikasyonu Analizi	34
3.8) Agaroz Jel Elektroforezi	35
3.9) İstatistiksel Analiz.....	35
4) BULGULAR.....	36
4.1) Demografik ve Klinik Veriler	36
4.2) Genetik Bulgular	39
4.2.1) Genetik Tanılar	39
4.2.2) Saptanan Varyantlar.....	44
4.2.3) Sık Varyant Saptanan Genler.....	46
4.3) Seçili Olguların Klinik ve Genetik Bulguları	58
5) TARTIŞMA	86
5.1) Otozomal Resesif İşitme Kaybı Tanısı Alan Olgular	86

5.2) Otozomal Dominant İşitme Kaybı Tanısı Alan Olgular.....	98
5.3) Otozomal Resesif İşitsel Nöropati Tanısı Alan Olgular	99
5.4) Sendrom Tanısı Alan Olgular.....	101
5.6) Kesin Tanı Almayan Olgular.....	105
6) SONUÇ VE ÖNERİLER.....	113
7) KAYNAKLAR	115



Tablolar Dizini

Tablo 1: Nonsendromik işitme kaybı ile ilişkilendirilmiş genler.

Tablo 2: Seçili genetik tanılarda ilerleme türüne göre işitme kaybının odyolojik takip önerileri.

Tablo 3: İşitme kaybı panelinin gen içeriği

Tablo 4: Hastaların demografik ve klinik bilgileri

Tablo 5: *GJB2* geninde varyant saptanan hastalar ve özellikleri

Tablo 6: *MYO15A* geninde varyant saptanan hastalar ve özellikleri

Tablo 7: *SLC26A4* geninde varyant saptanan hastalar ve özellikleri

Tablo 8: *OTOF* geninde varyant saptanan hastalar ve özellikleri

Şekiller Dizini

Şekil 1: Prelingual işitme kaybı etyolojik nedenleri

Şekil 2: Dış, orta ve iç kulak ana yapıları

Şekil 3: İç kulak kemiksi ve membranöz labirent yapıları

Şekil 4: İnsan kokleasının 4.-10. Embriyonik haftalar arasındaki gelişiminin şematik gösterimi

Şekil 5: İç kulağın işitsel parçası

Şekil 6: Corti organı mikroskopik görüntüsü

Şekil 7: Corti organının yüzeyinin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü

Şekil 8: Corti organı destek hücreleri

Şekil 9: Orta kulakta ses amplifikasyonu

Şekil 10: Baziller zar üzerinde ses dalgalarının iletimi

Şekil 11: Ses dalgasının iletimi

Şekil 12: Sterosilya hareketi

Şekil 13: Dış tüylü hücre depolarizasyon cevabı

Şekil 14: İşitme kaybında koklear tüylü hücre sterosilya proteinlerinin disfonksiyonu

Şekil 15: İşitme kaybında potasyum döngüsü defektleri

Şekil 16: İşitme kaybında koklear sinaps proteinlerinin disfonksiyonu

Şekil 17: a) Hastaların işitme kaybı tanı yaşları, b) Hastaların işitme kaybı tanı yaşı ve genetik başvuru yaşları

Şekil 18: Hastaların yenidoğan işitme taramasını geçme durumları

Şekil 19: a) Hastaların anne babası arasında akraba evliliği oranları b) Hastaların ailesinde benzer klinik şikayet varlığı oranları

Şekil 20: a) Kesin genetik tanı alma durumuna göre hastaların dağılımı. b) Kesin genetik tanı almayan hastalar arasında olası genetik tanıları olan ve olmayan hasta dağılımı

Şekil 21: Kesin ve olası tanılarının dağılımı

Şekil 22: Kesin genetik tanı alan hastaların tanı gruplarına göre dağılımı

Şekil 23: a) aile öyküsü varlığına göre tanı alma oranları b) aile öyküsü varlığına göre saptanan tanılarının dağılımı

Şekil 24: a) Hastaların anne babası arasında akraba evliliği olma durumuna göre tanı alma oranları b) akraba evliliği varlığına göre saptanan tanılarının dağılımı

Şekil 25: Tanı alma durumuna göre işitme kaybı dereceleri

Şekil 26: a) Saptanan varyantların patojenite dağılımı. b) varyantların zigositeye göre dağılımı

Şekil 27: a) Varyantların mutasyon tipine göre dağılımı b) Genlere göre mutasyon tiplerinin dağılımı

Şekil 28: a) *GJB2*, *MYO15A*, *OTOF* ve *SLC26A4* genlerinde varyant saptanan hastaların işitme kaybı tanı yaşları b) yenidoğan tarama testini geçme durumuna göre dağılımları

Şekil 29: a) *GJB2*, *MYO15A*, *OTOF* ve *SLC26A4* genlerinde varyant saptanan hastaların işitme kaybı derecesi dağılımı b) ailede benzer klinik öykü dağılımı c) anne babaları arasında akraba evliliği dağılımı

Şekil 30: a) *GJB2*, *MYO15A*, *OTOF* ve *SLC26A4* genlerinde saptanan varyantların patojenite dağılımı b) mutasyon tipi dağılımı

Şekil 31: Hastalarda saptanan *GJB2* varyantlarının domainlere dağılımı

Şekil 32: Hastalarda saptanan *MYO15A* varyantlarının domainlere göre dağılımı

Şekil 33: Hastalarda saptanan *OTOF* varyantlarının otoferlin proteini domainleri üzerinde şematik gösterimi

Şekil 34: Hasta 1'in aile ağacı çizimi

Şekil 35: *OTOF*(NM_194248.3) homozigot c.4467dup varyantının IGV görüntüsü

Şekil 36: Hasta 3'ün aile ağacı çizimi

Şekil 37: a) Hasta 3' e ait *GJB2*(NM_004004.6) homozigot c.35del varyantı IGV görüntüsü b-c) Hasta 4'e ait, sırasıyla, *GJB2*(NM_004004.6) heterozigot c.35del ve heterozigot c.-23+1G>A varyantlarının IGV görüntüleri

Şekil 38: Hasta 5'in aile ağacı çizimi

Şekil 39: *P2RX2* (NM_170682.4) heterozigot c.103_104delinsA varyantının IGV görüntüsü

Şekil 40: Hasta 7'nin aile ağacı çizimi

Şekil 41: a) *OTOF*(NM_194248.3) heterozigot c.1544T>C varyantının IGV görüntüsü. b) *OTOF*(NM_194248.3) heterozigot c.4499G>C varyantının IGV görüntüsü

Şekil 42: Hasta 10 (III-1) ve 11'in (III-3) aile ağacı çizimi

Şekil 43: a ve b) sırasıyla hasta 10 ve hasta 11’de saptanan *PDZD7*(NM_001195263.2) homozigot c.224A>T varyantının IGV görüntüleri

Şekil 44: Hasta 12’nin aile ağacı çizimi

Şekil 45: a ve b) Sırasıyla, hasta 12 ve hasta 13’ün *ESPN*(NM_031475) geni ekzon 7,8 homozigot delesyonu destekleyen IGV görüntüsü c ve d) Sırasıyla anne ve babanın *ESPN*(NM_031475) geni ekzon 7,8 heterozigot delesyonu destekleyen IGV görüntüsü

Şekil 46: Hasta 16’nın soy ağacı çizimi

Şekil 47: a) *SLC26A4*(NM_000441.2) heterozigot c.1614+1G>C varyantının IGV görüntüsü. b) *SLC26A4*(NM_000441.2) heterozigot c.1804-81G>A varyantının IGV görüntüsü

Şekil 48: Hasta 16’nın ailesine ait Sanger dizileme görüntüleri

Şekil 49: Hasta 22’nin aile ağacı çizimi

Şekil 50: *TMC1*(NM_138691.3) homozigot c.1564C>T varyantının IGV görüntüsü

Şekil 51: a) Hasta 22’nin annesine ait *TMC1*(NM_138691.3) heterozigot c.1564C>T varyantının Sanger dizileme görüntüsü b) hasta 22’nin etkilenmiş erkek kardeşine ait (III-4) *TMC1*(NM_138691.3) homozigot c.1564C>T varyantının Sanger dizileme görüntüsü

Şekil 52: Hasta 24’ün aile ağacı çizimi.

Şekil 53: *PDZD7* (NM_001195263.2) heterozigot c.307G>C ve heterozigot c.316G>C varyantlarının IGV görüntüsü

Şekil 54: Hasta 28’in aile ağacı çizimi

Şekil 55: *OTOF* (NM_194248.3) homozigot c.5431A>T varyantının IGV görüntüsü.

Şekil 56: Hasta 29’un aile ağacı çizimi

Şekil 57: *PCDH15* (NM_001384140.1) homozigot c.3717+5G>A varyantının IGV görüntüsü

Şekil 58: Hasta 30’un aile ağacı çizimi

Şekil 59: *SLC26A4* ekzon 1 ve ekzon 2 bölgelerini kapsayan IGV görüntüsü

Şekil 60: Hasta 38’in aile ağacı görüntüsü

Şekil 61: a-b) Sırasıyla, *MYO15A* (NM_016239.4) heterozigot c.9995_10002dup ve heterozigot c.5808_5814del varyantlarının IGV görüntüsü

Şekil 62: Hasta 38’in anne ve babasına ait Sanger dizileme görüntüleri.

Şekil 63: Hasta 40’in aile ağacı çizimi

Şekil 64: *OTOA*(NM_144672.4) homozigot c.2302-2A>C varyantının IGV görüntüsü.

Şekil 65: Hasta 41. Sağ kulak önünde *skin tag*

Şekil 66: Hasta 41'in aile ağacı çizimi

Şekil 67: *EYA1*(NM_000503.6) heterozigot c.1081C>T varyantının IGV görüntüsü

Şekil 68: Hasta 45. Sağ kulak önünde *skin tag*

Şekil 69: Hasta 45'in aile ağacı çizimi

Şekil 70: *SIX1*(NM_005982.4) heterozigot c.328_330delinsTGT varyantının IGV görüntüsü

Şekil 71: Hasta 47'nin aile ağacı çizimi

Şekil 72: *TIMM8A*(NM_004085.4) hemizigot c.65_66delinsAA varyantının IGV görüntüsü

Şekil 73: Hasta 47'nin annesine ait Sanger dizilemede *TIMM8A*(NM_004085.4) heterozigot c.65_66delinsAA varyantının görüntüsü

Şekil 74: Hasta 48'in aile ağacı çizimi

Şekil 75: *GIPC3*(NM_133261.3) homozigot c.592G>A varyantının IGV görüntüsü

Şekil 76: *SLC26A4*(NM_000441.2) c.1804-81G>A varyantının HSF analiz görüntüsü

Şekil 77: *OTOA*(NM_144672.4) c.2302-2A>C varyantının HSF analiz görüntüsü

Şekil 78: *OTOA*(NM_144672.4) c.2302-2A>C varyantının *SpliceAI* analiz görüntüsü

Şekil 79: *PCDH15*(NM_001384140.1) c.3717+5G>A varyantının HSF analiz görüntüsü

Şekil 80: Hasta 45'te saptanan p.Arg110Cys varyantının *AlphaMissense Pathogenicity Heatmap* skoru

Şekil 81: *PDZD7*(NM_001195263.2) p.Glu75Val varyantının *AlphaMissense Pathogenicity Heatmap* skoru

Şekil 82: *PDZD7*(NM_001195263.2) p.Glu106Gln varyantının *AlphaMissense Pathogenicity Heatmap* skoru

Şekil 83: *MARVELD2* p.Gln541Asnfs*5 varyantının protein üzerindeki gösterimi

Şekil 84: *ILDR1*(NM_001199799.2) p.Arg327Gly varyantının *AlphaMissense Pathogenicity Heatmap* skoru

Şekil 85: *GIPC3*(NM_133261.3) c.592G>A varyantının HSF analiz görüntüsü. a) Bozulmuş verici bölge öngörüsü b) Değişmiş ESE/ESS oranı

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

ACMG: Amerikan Tıbbi Genetik Koleji

CES: Klinik ekzom dizileme

CNV: Kopya sayısı değişikliği

DH: Destek hücre

DTH: Dış tüylü hücre

EDTA: Etilen Diamin Tetra Asetikası

HSF: Human Splicing Finder

İTH: İç tüylü hücre

MET: Mekanoelektriksel transdüksiyon

MLPA: Multipleks Ligasyon Esaslı Prob Amplifikasyonu

MTS: Mohr

NSİK: Nonsendromik sensörinöral işitme kaybı

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

SNİK: Sensörinöral işitme kaybı

SNV: Tek nükleotid değişikliği

VUS: Klinik önemi belirsiz varyant

WES: Tüm ekzom dizileme

WGS: Tüm genom dizileme

YND: Yeni nesil dizileme

1) GİRİŞ VE AMAÇ

İşitme kaybı en yaygın duyuşsal bozukluktur. T.C. Sağlık Bakanlığı 2023 verilerine göre Türkiye’de her yıl yaklaşık 1.100.000’ e yakın bebek doğmakta ve her bin bebekten 2-3’ü işitme kaybı ile dünyaya gelmektedir. 2023 itibariyle, Aile ve Sosyal Hizmetler Bakanlığınca oluşturulan Ulusal Engelli Veri Sistemi’nde kayıtlı ve hayatta 179.867 işitme engelli vatandaş bildirilmiştir [1].

İşitme kaybı; kaybın tipine, başlangıç yaşına, ağırlığına, eşlik eden sistemik bulguların olup olmamasına göre sınıflandırılabilir.

Dış ve orta kulak anomalilerine bağlı kayıplar iletim tipi işitme kaybı olarak nitelendirilirken, iç kulak yapılarındaki anomalilere bağlı kayıplar sensörinöral işitme kaybı olarak değerlendirilir. İletim tipi ve sensörinöral kaybın birlikte gözleendiği mikst tipin yanı sıra VIII. Kranial sinirin, işitsel beyin sapının veya serebral korteksin fonksiyon kaybına bağlı işitme kaybına santral işitsel disfonksiyon denilir.

İç tüylü hücreden VIII. Kranial sinire sinyal iletiminde veya VIII. Kranial sinir boyunca sinyal iletiminde fonksiyon kusurları işitsel nöropati spektrum bozukluğu başlığı altında değerlendirilir [2].

Orta ve iç kulaktaki kemik yapının içinde spongiyöz kemik dokusu odaklarının gelişip anormal sertleşmeyle sonuçlanması stapesin hareketini kısıtlayan ve iletim tipi işitme kaybına neden olan bir skleroz tablosuna yol açar. Buna otoskleroz denilir [3].

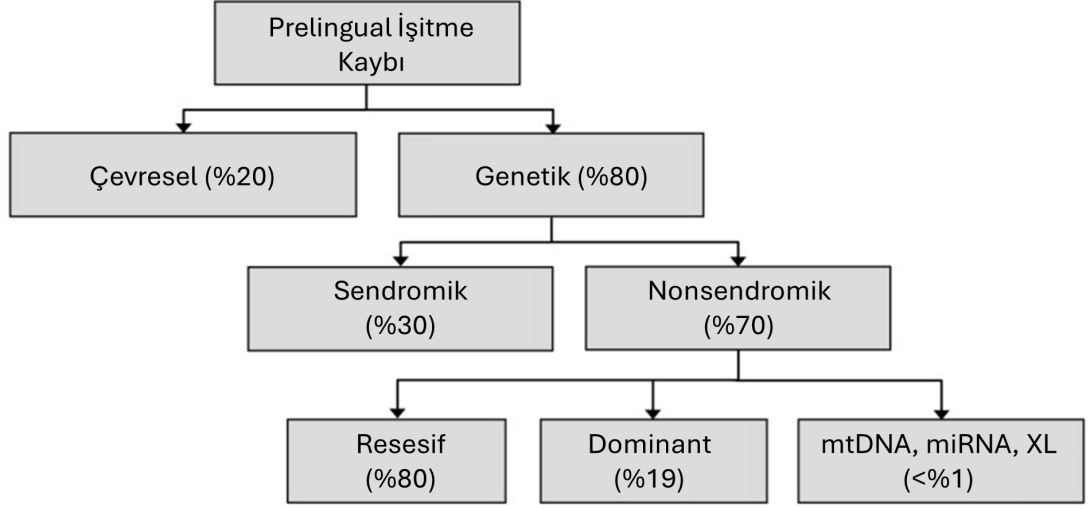
Başlangıç yaşına göre işitme kaybı konjenital, prelingual, postlingual veya yetişkinlik döneminde gözlenebilir. Tipik olarak orta yaş sonrasında başlayan yaşa bağlı işitme kaybına presbikuzi denilir.

Kaybın şiddetine göre; işitme eşliğinin 12-25 dB arasında olması çok hafif, 26-40 dB arasında olması hafif, 41-60 db arasında olması orta, 61-70 dB arasında olması orta-ileri, 71-90 dB arasında olması ileri, >90 dB olması çok ileri işitme kaybı olarak değerlendirilir.

İşitme kaybının yanı sıra diğer organları etkileyen bulguların varlığı durumunda fenotip, sendromik işitme kaybı olarak değerlendirilirken ek sistem bulgusunun eşlik etmediği durumlar sendromik olmayan (nonsendromik) işitme kaybı olarak adlandırılır.

Konuşmanın edinilmesinden önce saptanan (konjenital ve prelingual) işitme kayıplarının yaklaşık %80’i genetik nedenlerle, genetik nedenlerin de %70’i nonsendromik işitme kaybı ile ilişkilendirilmiştir. Genetik nonsendromik işitme kaybının en sık nedeni otozomal resesif kalıtılan fenotiplerdir [4]. Bugüne dek 100’den fazla gen nonsendromik işitme kaybı ile ilişkilendirilmiştir [5].

Nonsendromik işitme kaybı ile ilişkilendirilmiş genler ve kalıtım paternleri Tablo 1’de özetlenmiştir.



Şekil 1: Prelingual işitme kaybı etyolojik nedenleri. [4]’ten uyarlanmıştır.

Otozomal Resesif
<i>ADCY1, AFG2B, BDP1, BSND, CABP2, CDC14A, CDH23, CEACAM16, CEMIP, CIB2, CLDN14, CLDN9, CLIC5, LRN2, COCH, COL11A2, DCDC2, ELMOD3, EPS8, EPS8L2, ESPN, ESRP1, ESRRB, GAB1, GAS2, GDF6, GIPC3, GJB2, GJB6, GOSR2, GPR156, GPSM2, GRAP, GRXCR1, GRXCR2, HGF, ILDR1, KARS1, LHFPL5, LOXHD1, LRP5, LRTOMT/COMT2, MARVELD2, MET, MINAR2, MPZL2, MSRB3, MYO15A, MYO3A, MYO6, MYO7A, NARS2, OTOA, OTOF, OTOG, OTOGL, PCDH15, PDZD7, PJKV, PNPT1, PPIP5K2, PTPRQ, RDX, RIPOR2/FAM65B, ROR1, S1PR2, SERPINB6, SLC22A4, SLC26A4, SLC26A5, SPNS2, STRC, SYNE4, TBC1D24, TECTA, TMC1, TMEM132E, TMIE, TMPRSS3, TMTC4, TPRN, TRIOBP, TSPEAR, USH1C, USH1G, WBP2, WHRN</i>
Otozomal Dominant
<i>RIPOR2/FAM65B, SCD5, SIX1, SLC12A2, SLC17A8, SLC44A4, TBC1D24, TECTA, THOC1, TJP2, TMC1, TMTC2, TNC, TRRAP, USP48, WFS1</i>
X'e Bağlı
<i>AIFM1, COL4A6, GPRASP2, POU3F4, PRPS1, SMPX</i>
Mitokondriyal
<i>MT-RNR1, MT-CO1, MT-TS1, MT-ND1, MT-TS2, MT-TH, MT-TI, MT-TL1, MT-TK</i>
Y'ye Bağlı
<i>TBL1Y</i>
İşitsel Nöropati
<i>DIAPH3, ATP11A, TMEM43, OTOF, AIFM1</i>
Otoskleroz
<i>FOXL1, SERPINF1, MEPE, SMARCA4</i>

Tablo 1: Nonsendromik işitme kaybı ile ilişkilendirilmiş genler.

Gen dizisindeki mutasyonları saptamak için Sanger dizileme veya yeni nesil dizileme (YND) yöntemleri kullanılmaktadır. Bir genin nükleotid dizisini ortaya koymak için altın standart Sanger dizilemedir. Ancak aynı anda çok sayıda hastanın çok sayıda geninin maliyet etkin dizilenebilmesi gibi avantajları nedeniyle, işitme kaybının genetik tanısında öncelikli olarak YND kullanılmaktadır. YND ile tasarlanmış paneller, klinik ekzom dizileme (CES), tüm ekzom dizileme (WES) ve tüm genom dizileme (WGS) yapılabilmektedir. Farklı ülkelerde, işitme kaybı hastalarında seçilmiş çok genli

paneller ile yapılan YND analizlerinde %25-50 genetik tanı oranı bildirilmiştir [6], [7], [8], [9]. Türkiye’de Trakya Üniversitesi’nde 2024 yılında 100 işitme kaybı hastası ile yapılan çok genli panel YND çalışmasında tanı oranı %35 olarak bildirilmiştir [10]. Atık ve arkadaşları ise, 2015 yılında 29 Türk nonsendromik işitme kaybı ailesinden yaptıkları 102 genlik panel çalışmasında tanı oranını %72,4 olarak bildirmişlerdir [11].

İşitme kaybının genetik tanısı, hastalığın doğasını ve klinik seyrini öngörmeye, aile bireylerinin taranmasında ve ailelere uygun genetik danışmanın verilmesinde, aile planlanmasında önem arz etmektedir. Biriken genetik verilerin retrospektif değerlendirmeleri hastalığın doğal seyrini anlamada, koklear implantasyondan görülecek faydayı öngörmeye ve yeni tedavi modaliteleri geliştirmede yol gösterici olacaktır. Ayrıca, günümüzde *OTOF* başta olmak üzere çeşitli etyolojilere yönelik gen tedavisi çalışmaları hızla devam etmektedir. *OTOF* gen tedavisine yönelik klinik çalışmalarda başarılı sonuçlar bildirilmiştir [12]. Hastaların genetik etyolojisinin aydınlatılması, gelecekteki olası gen tedavilerinden faydalanmaları için ilk adım olacaktır.

İlerleme Türü	Gen	Önerilen Test Aralığı
Stabil veya çok yavaş ilerleyici	OTOG STRC	Yılda/iki yılda bir
İlerleyici	COCH GSDME KCNQ4 MYO7A MYO15A SLC26A4 USH2A WFS1	En az yılda bir
Dalgalandan	OTOF SLC26A4	En az yılda bir

Tablo 2: Seçili genetik tanılarda ilerleme türüne göre işitme kaybının odyolojik takip önerileri. [4]’ten uyarlanmıştır.

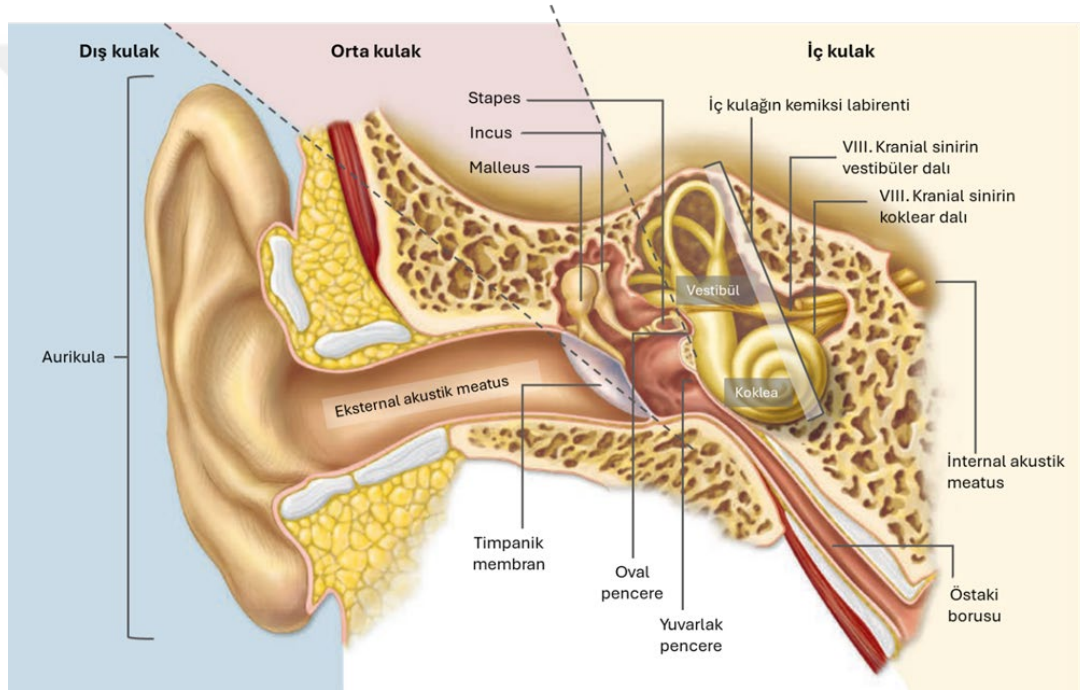
Nonsendromik sensörinöral işitme kaybının en sık genetik nedeni *GJB2* mutasyonlarıdır [13]. Bu nedenle, son yıllara kadar hastalardan öncelikli olarak *GJB2* gen dizi analizi çalışılmıştır. Ancak nonsendromik işitme kaybı ile ilişkili 100’den fazla gen tanımlanmıştır ve tek gen dizilenmesi birçok hastanın genetik tanısının atlanmasına neden olmaktadır [5]. Öte yandan, *OTOF* başta olmak üzere, işitme kaybı ile ilişkilendirilmiş birçok gen açısından gen tedavisi çalışmaları hızla ilerlemektedir [14]. Bu durum, daha geniş kapsamlı genetik incelemeyi ve hastaların genetik tanısının kesinleştirilmesini gerekli kılmaktadır. Değerlendirilen gen kapsamının genişletilmesi ile hastaların genetik tanısının tespiti hasta takibi, tedavisi

ve uygun genetik danışmanın verilmesi açısından önem arz etmektedir. Türkiye’de her yıl yaklaşık 3000 bebeğin işitme kaybı ile doğduğu göz önüne alındığında [1], Türk popülasyonunda nonsendromik işitme kaybının moleküler etyolojisi hakkında hasta sayısına oranla oldukça az sayıda literatür çalışması bulunmaktadır. Bu çalışmanın temel amacı, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı’nda nonsendromik işitme kaybı etyolojisine yönelik çok genli panel (işitme kaybı paneli) analizi yapılmış olan hastaların genetik sonuçlarının retrospektif olarak klinik bulgular eşliğinde değerlendirilmesi, hastalara uygun genetik danışmanın verilerek yakın gelecekteki olası tedavilerin takibinin planlanması ve saptanan verilerin literatüre kazandırılmasıdır.



2) GENEL BİLGİLER

İnsan işitme organı; dış, orta ve iç kulak olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. Kulak kepçesi (aurikula) ve dış kulak yolunun oluşturduğu dış kulak, kulak zarı (timpanik membran) ile orta kulaktan ayrılır. Timpanik membranın orta noktası, orta kulak kemikçiklerinden malleusun kolu ile ilişki halindedir. Membran, aynı zamanda bu noktadan tensör timpani kası ile gerili tutulur. Malleus inkusa küçük ligamentler ile bağlıdır. Bu yüzden malleusun her hareketinde inkus onunla birlikte hareket eder. İnkusun diğer ucu stapes ile eklenir ve stapesin ön yüzü oval pencerenin açıklığından iç kulaktaki kokleanın membranöz labirentine yaslanır. Temporal kemiğe gömülü halde bulunan iç kulak, denge organı olan vestibül ve işitme organı olan kokleayı içermektedir.



Şekil 2: Dış, orta ve iç kulak ana yapıları. [16]'dan uyarlanmıştır.

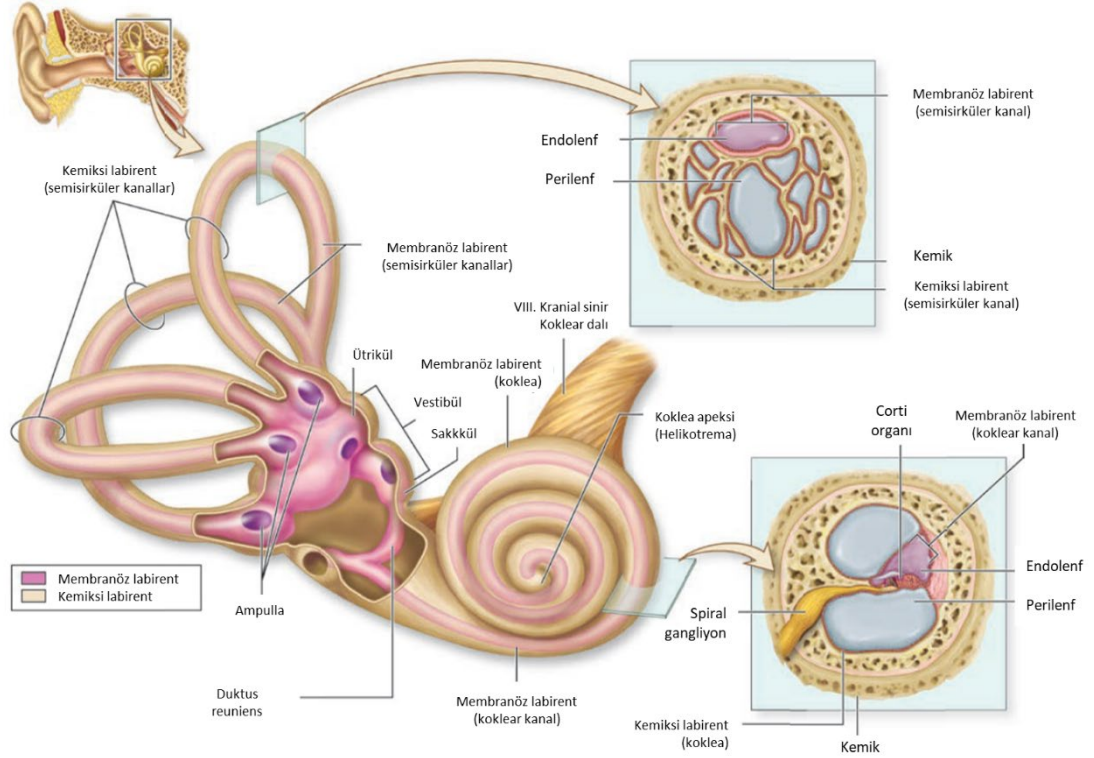
İç kulak, kemiksi labirent adı verilen boşluklar kümesi ve onun içinde, membranöz labirent adındaki sıvı dolu tüplerden meydana gelir.

Kemiksi labirentin tüm alanları, iyon içeriği hücreler arası sıvı ile benzerlik gösteren, perilynf adındaki sıvı ile doludur. Perilynf, kapalı bir yapı olan membranöz labirenti askıya alır, destekler ve onu kemiksi labirentin sert duvarlarından korur.

Embriyoda, yaklaşık 22. Günde, rombensefalonun iki tarafındaki yüzey ektodermi kalınlaşarak otik plakayı oluşturur. Bu, gelişmekte olan kulağın ilk bulgusudur. Otik plaka hızlıca invajine olarak otik vezikülleri (otokist) oluşturur. Otokist, sakkül ve koklear kanalı oluşturacak olan ventral komponent ve dorsal vestibüler sistemi

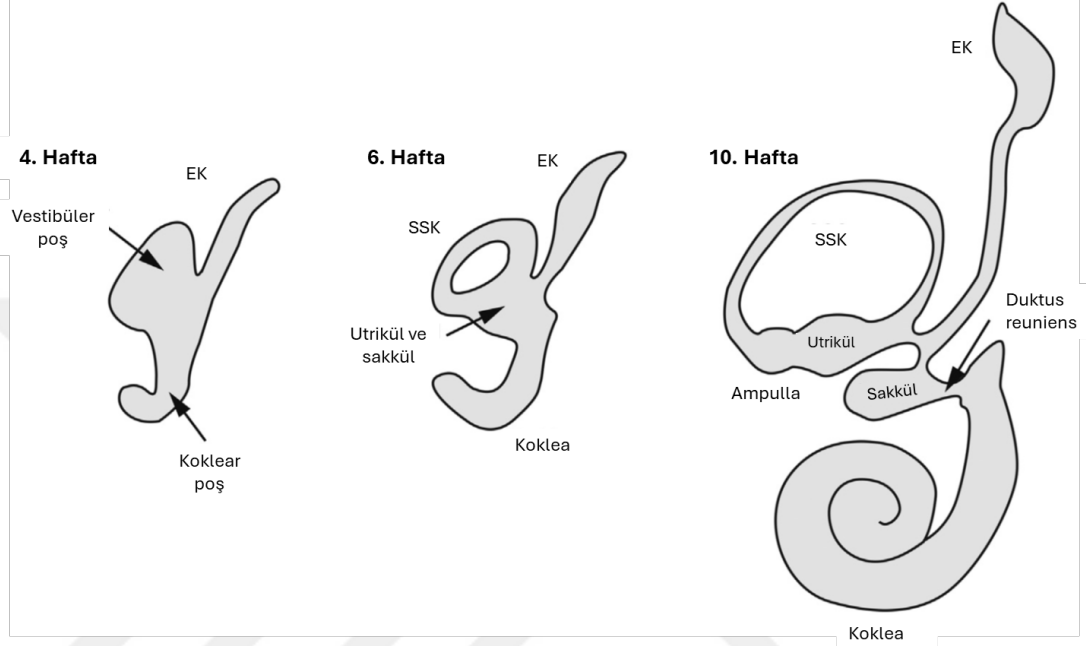
oluşturacak olan dorsal komponent olmak üzere ikiye ayrılır. Bu epitelyal yapılar bir arada membranöz labirenti oluşturur.

Membranöz labirent boşlukları, endolenf adındaki sıvı ile doludur. Endolenf, hücre içi sıvıya benzer şekilde yüksek potasyum (yaklaşık 150 mM), düşük sodyum (yaklaşık 16 mM) içeriği ile karakterizedir.



Şekil 3: İç kulak kemiksi ve membranöz labirent yapıları. [15]'ten uyarlanmıştır.

Embriyonik gelişimin 6. Haftasında sakkül, en alçak kutbundan tübüler bir çıkıntı yapar. Bu çıkıntı, 8. Haftanın sonuna kadar etrafındaki mezenkimi spiral biçimde penetre eder ve 2.5 dönüşü tamamlayarak koklea apeksinde sonlanan kör bir yapı olan koklear kanal oluşturur. 7. Haftada koklear kanal hücreleri *Corti* organına farklılaşır. Koklear kanal ve sakkülün geri kalan kısmı arasındaki bağlantı, dar bir kanal olan duktus reuniens ile sınırlanır.



Şekil 4: İnsan kokleasının 4.-10. Embriyonik haftalar arasındaki gelişiminin şematik gösterimi. EK: Endolenfatik kese SSK: Semisirküler kanal. [16]'dan uyarlanmıştır.

Kokleayı çevreleyen mezenkim, kısa süre sonra kıkırdak dokuya farklılaşır. 10. Haftada bu kıkırdak kabuk vakuolize olur, skala vestibüli ve skala timpani adında iki perilenfatik boşluk meydana gelir. Skala vestibüli ve skala timpani kokleanın ucundaki helikotrema adı verilen açıklık ile birbirlerine bağlıdır. Skala vestibüli ve skala timpani arasında kalan koklear kanal ise skala media'yı oluşturur.

Skala media, 3 özelleşmiş duvara sahip üçgen şeklinde bir yapıdır. Skala vestibüli ile arasında kalan üst sınırı vestibüler membran (*Reissner* membranı) ile örtülüdür. *Reissner* membranı; yoğun miktarda sıkı bağlantı (*tight junction*) içeren basit skuamoz epitelden oluşmaktadır, böylece, skala vestibüli ve skala media'yı dolduran sıvılar arasında iyon difüzyonu engellenir. Lateral sınırı oluşturan stria vaskularis, endolenf içeriğinin ve endokoklear potansiyelin sağlanmasında ve korunmasında görevlidir. Koklear kanal, lateral kıkırdak dokuya spiral ligaman ile bağlı kalır; orta açısı ise, kemiksi kokleanın uzun bir çıkıntısı olan modiolusa bağlıdır ve onun tarafından desteklenir. Modiolus, kan damarlarını içerir ve spiral gangliondaki sekizinci kranial sinirin akustik dalının hücre gövdelerini ve uzantılarını çevreler.

Skala media ile skala timpani arasındaki tabanı döşeyen baziller membran, işitme reseptörlerini içeren *Corti* organını taşıyan fibröz bir zardır. Modiolustan koklea dış duvarına uzanan 20,000 ila 30,000 baziller lif içerir. Bu lifler, modilusta bazal uçlarında sabitlenmiş sert, elastik, kamış benzeri yapılardır ancak distal uçlarında sabitlenmezler, distal uçlar gevşek baziller membrana gömülüdür. Lifler bir uçta sert ve serbest olduğundan, bir mızıkanın kamışları gibi titreşebilirler.

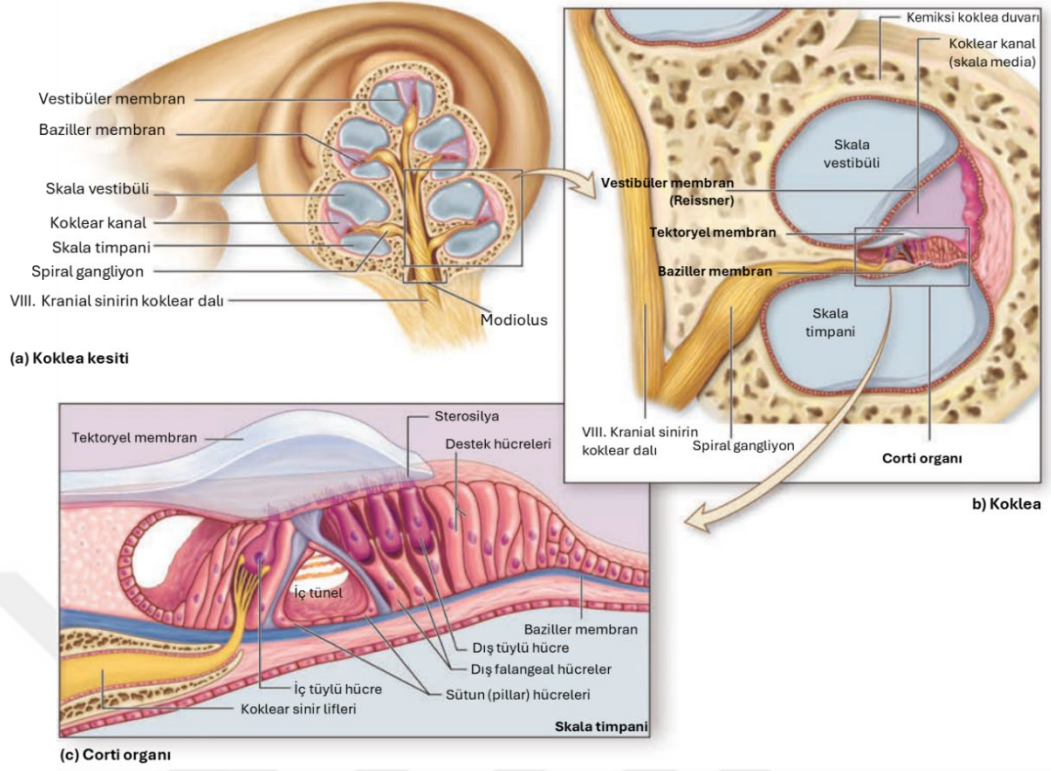
Baziller liflerin uzunlukları oval pencereden başlayıp kokleanın tabanından (bazal) tepesine (apeks) doğru giderek artar, bazal bölgede 0,04 milimetre uzunluğunda olan liflerin boyu apekte (helikotrema) 0,5 milimetreye kadar çıkar, yani uzunlukta 12 kat artış olur.

Öte yandan, liflerin çapları oval pencereden (bazal) helikotremaya (apeks) doğru azalır. Bu, sertliklerinin 100 kattan fazla azalmasına neden olur. Sonuç olarak, kokleanın bazalindeki oval pencereye yakın sert, kısa lifler çok yüksek bir frekansta en iyi şekilde titreşirken kokleanın apeksine yakın uzun, esnek lifler ise düşük bir frekansta en iyi şekilde titreşir.

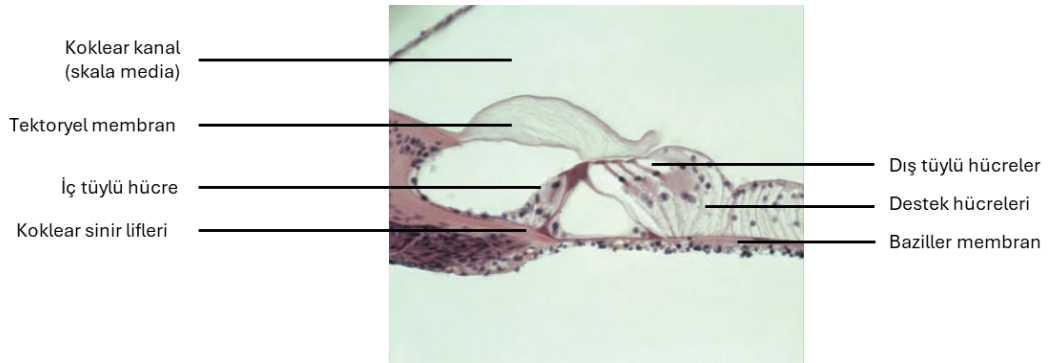
Corti organı baziller liflerin ve baziller membranın yüzeyinde yer alan, membranın titreşimine yanıt olarak sinir uyarıları üreten reseptör organıdır. *Corti* organındaki reseptörler (sensör), tüylü hücre adı verilen iki özel hücre türüdür. Kokleada yaklaşık 3500 adet, tek sıra iç tüylü hücre (İTH) ve yaklaşık 12.000 adet, üç veya dört sıra dış tüylü hücre (DTH) bulunur.

Corti organı; sensör hücreler dışında, asimetrik, mozaik sıralar halinde dizili en az altı tip destek hücrelerini (DH) ve bu hücreleri örten, spiral limbusa bağlı, fibriller, jelatinöz bir yapı olan tektoryal membranı içerir.

Corti organı epiteli, lüminal yarıda yerleşik tüylü hücreler ve bazal membrandan lümene doğru uzanan destek hücreleri ile yalancı tabakalı bir düzene sahiptir.



Şekil 5: (a) İç kulağın işitsel parçası. Kemiksi ve membranöz labirent yapılarını içeren sarmal şekilli koklea kesiti. (b) Kokleanın bir dönüşünün kesiti. Corti organını içeren, endolenf ile dolu koklear kanal. Perilenf ile dolu skala vestibüli ve skala timpani. (c) Corti organı kesiti. Tektoryel membran, sensör hücreler ve destek hücreler. [15]'ten uyarlanmıştır.



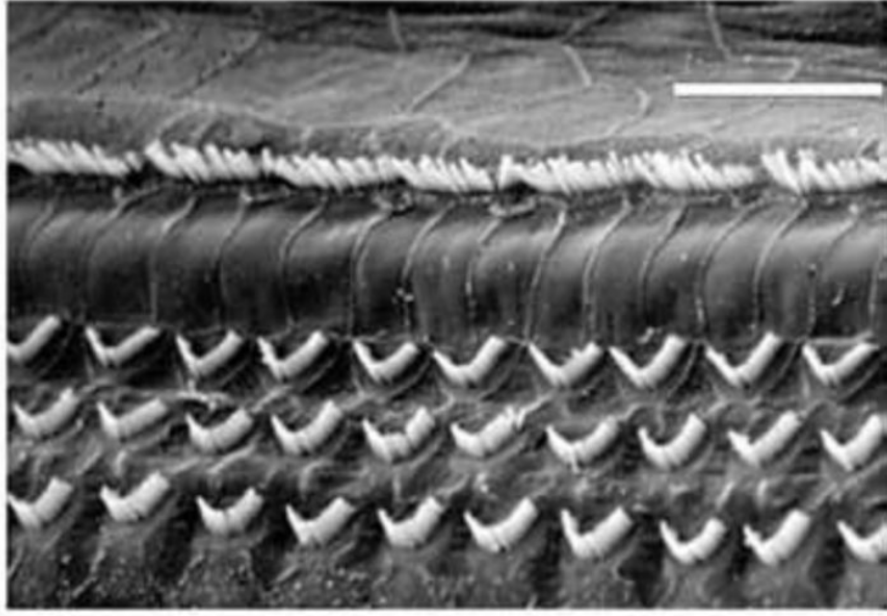
Şekil 6: Corti organı mikroskopik görüntüsü (X75; H&E). [15]'ten uyarlanmıştır.

Kokleadaki tüylü hücreler işitsel uyarının asıl sensörleridir. Her tüylü hücrenin lümene bakan apikal yüzeyinde, yaklaşık 100 adet, ters V şeklinde dizilmiş, endolenfe gömülü, harekete duyarlı (mekanosensitif) stereosilya demeti bulunur. Başlangıçta, apikal yüzeyin ortasında tek bir gerçek silya (kinosilyum) gelişir. Embriyolojik gelişim süreci boyunca, kinosilyum apikal yüzeyin lateraline doğru yer değiştirirken medialinde, aktin temelli, mikrovillus benzeri yapılar gelişir. Tüylü hücre stereosilya demetini oluşturan bu yapılar; kinosilyuma doğru (modiolustan dışarı doğru), kısdan uzuna, merdiven basamağı düzeninde dizili şekilde bulunur. Kinosilyum, insanlarda embriyonik gelişim döneminde izlenirken olgun koklea yapısında bulunmaz.

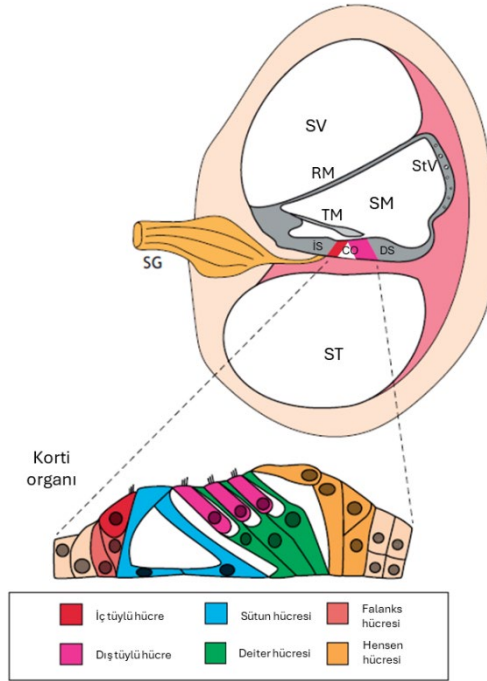
Koni biçimli dış tüylü hücrelerde en uzun stereosilyaların uçları, tektoryal membrana gömülü halde bulunur. Diğer stereosilyaların ucu serbest haldedir. Matara biçimli iç tüylü hücrelerin stereosilyası tektoryal membrana temas etmez. Hem iç hem de dış tüylü hücrelerde stereosilyaların ucunda, her birini yanındakine bağlayan filamentler (*tip link*, uç bağlantı) bulunur.

Tüylü hücreler, gövdelerinin bazalinde VIII. Kranial sinir lifleri ile sinaps yapar. Koklear sinirden gelen götürücü (afferent) nöronların %95'i iç tüylü hücreler ile sinaps yaparken, getirici (efferent) nöronlar çoğunlukla dış tüylü hücreler ile sinaps yapar.

Corti baziller membranındaki başlıca destek hücreleri, falanks hücreleri ve sütun (*pillar*) hücreleridir. İç ve dış falanks (*Deiter*) hücreleri apikal çıkıntılar uzatır, bunlar hem iç hem de dış tüylü hücrelerin bazolateral kısımlarını ve sinaptik sinir uçlarını sıkı bir şekilde çevreleyip destekler. Falanks hücrelerinin apikal uçları, sıkı bağlantılar (*tight junction*) aracılığıyla tüylü hücrelerin apikal uçlarına bağlanır ve spiral organ boyunca uzanan apikal bir plaka oluşturur; stereosilya demetleri bu plakadan endolenfe doğru uzanır, böylece sensör hücrelerin gövdesi perilenf içinde kalırken stereosilyer demetler potasyumdan zengin endolenf içinde kalmış olur. Sütun (*pillar*) hücreleri ise, ağır keratin demetleri tarafından sertleştirilmiştir. Tüylü hücrelerin ve falanks hücrelerinin dış ve iç kompleksleri arasında üçgen bir boşluk olan iç tüneli oluşturur. Oluşan sert iç tünel aynı zamanda ses iletiminde de rol oynar [15], [17], [18], [19] .



Şekil 7: Corti organının yüzeyinin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü. Üstte, İTH stereosilya sırası. Alttaki üç sıra DTH'ye ait. Ölçek: 15 µm. (Marc Lenoir, INSERM Montpellier'in "Journey into the World of Hearing" adlı eserinden alınan görüntü, [20]'den alınmıştır.)



Şekil 8: Corti organı destek hücreleri. SV: skala vestibularis, SM: skala media, ST: skala timpani, SG: spiral gangliyon, StV: stria vaskularis, RM: Reissner membranı, TM: tektoryal membran, İS: iç sulkus, DS: dış sulkus, CO: Corti organı. [18]'den uyarlanmıştır.

2.1) KOKLEAR İŞİTME FİZYOLOJİSİ:

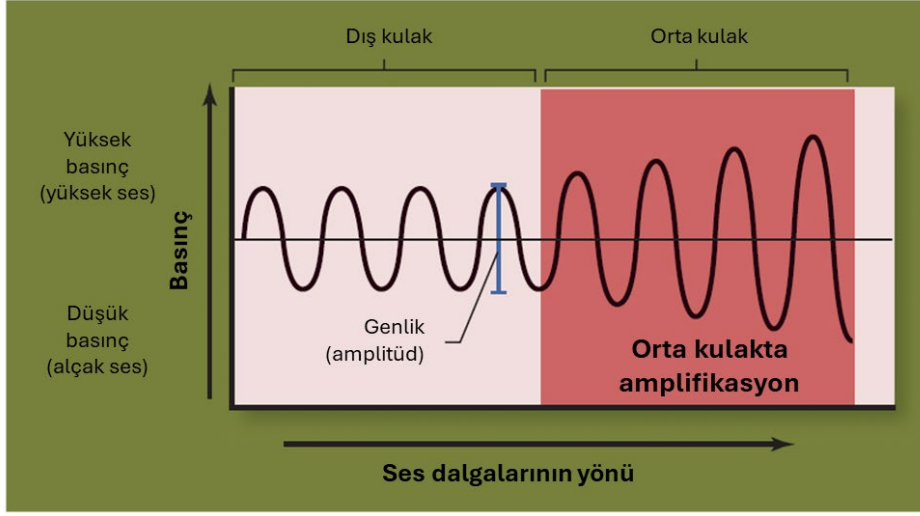
İşitsel sinyal, ses basıncında zamana bağlı bir değişimdir.

Aurikula tarafından toplanan ses dalgaları eksternal akustik meatustan geçerek timpanik membrana ulaşır ve malleusa iletilir. Malleus ve inkus bir kaldıraç gibi hareket eder. Bu durum stapesin, timpanik membran her içeri doğru hareket ettiğinde oval pencereyi ve pencerenin diğer tarafındaki koklear sıvıyı öne doğru itmesine ve malleus her dışarı doğru hareket ettiğinde sıvıyı geriye doğru çekmesine neden olur.

Empedans:

Bir maddenin içinden geçen ses dalgalarının ilerlemesine gösterdiği dirence akustik empedans denilir. Kokleanın giriş empedansı (oval pencerenin birim yer değiştirmesini üretmek için gereken basınç) serbest havadan yaklaşık 200 kat daha büyüktür [21]. Optimal işitme için hava ve iç kulak sıvısının empedansının eşleştirilmesi gereklidir. Bu, insan kulağında esas olarak iki mekanizma ile sağlanır.

Stapes ön yüzünün her ses titreşimindeki hareket genliği, malleus sapının genliğinin dörtte üçü kadardır. Bu nedenle, orta kulaktaki ossiküler kaldıraç sistemi, stapesin hareket mesafesini azaltırken hareket kuvvetini yaklaşık 1,3 kat arttırır. Ayrıca timpanik membran yüzey alanı yaklaşık 55 milimetre kare iken, stapesin yüzey alanı ortalama 3,2 milimetre karedir. Bu 17 katlık fark, kaldıraç sisteminin 1,3 katlık oranıyla çarpıldığında, koklear sıvıya, ses dalgalarının timpanik membrana uyguladığı toplam kuvvetin yaklaşık 22 katı kadar kuvvet uygulanır. Bu şekilde, timpanik membran ve ossiküler sistem havadaki ses dalgaları ile koklea sıvısındaki ses titreşimleri arasında empedans uyumu sağlar. Empedans uyumu, 300 ila 3000 döngü/sn arasındaki frekanslarda ses dalgalarındaki enerjinin çoğunun kullanılmasına olanak tanır. Ossiküler sistem ve timpanik membranın yokluğunda, ses dalgaları hala doğrudan orta kulağın havasından geçebilir ve oval pencereden kokleaya girebilir. Ancak, böyle bir durumda, işitme duyarlılığı 15 ila 20 desibel daha az olacaktır.

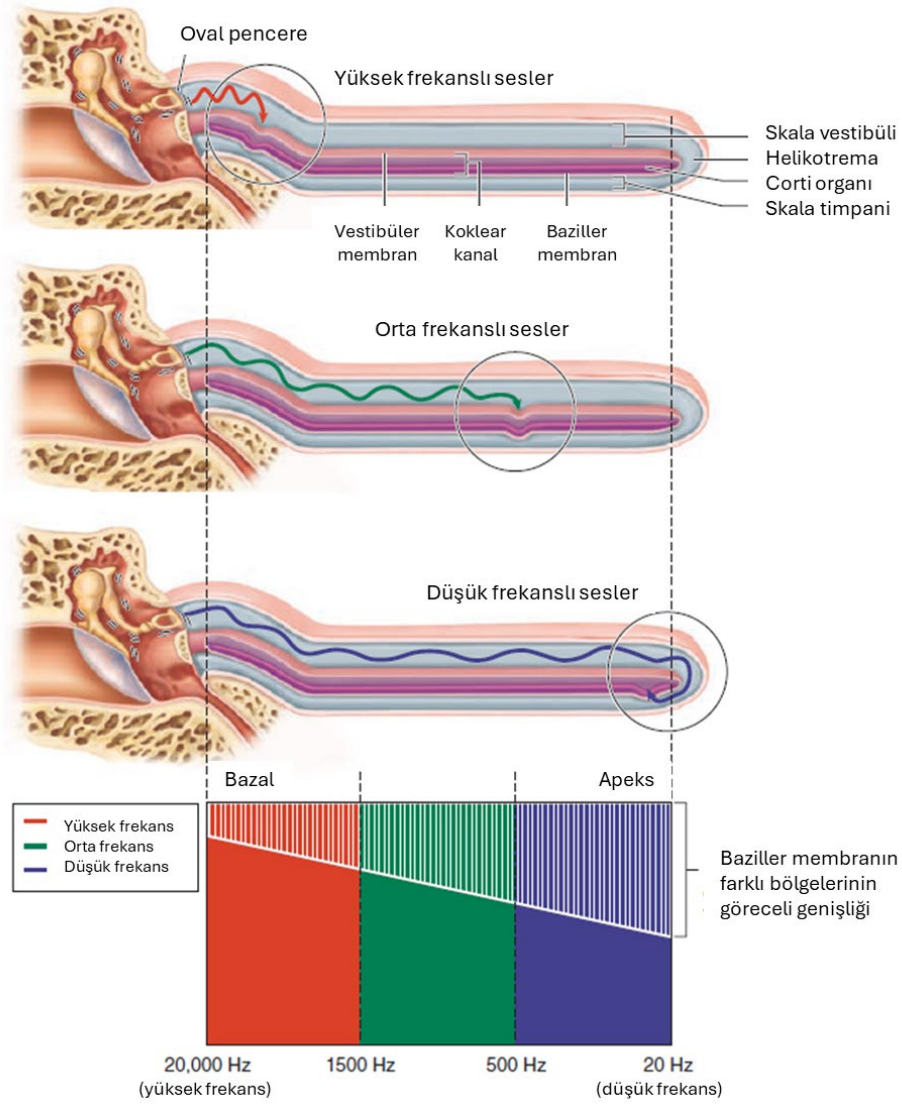


Şekil 9: Empedansı sağlamak için orta kulakta ses amplifiye edilir. [15]'ten uyarlanmıştır.

Koklear işitme:

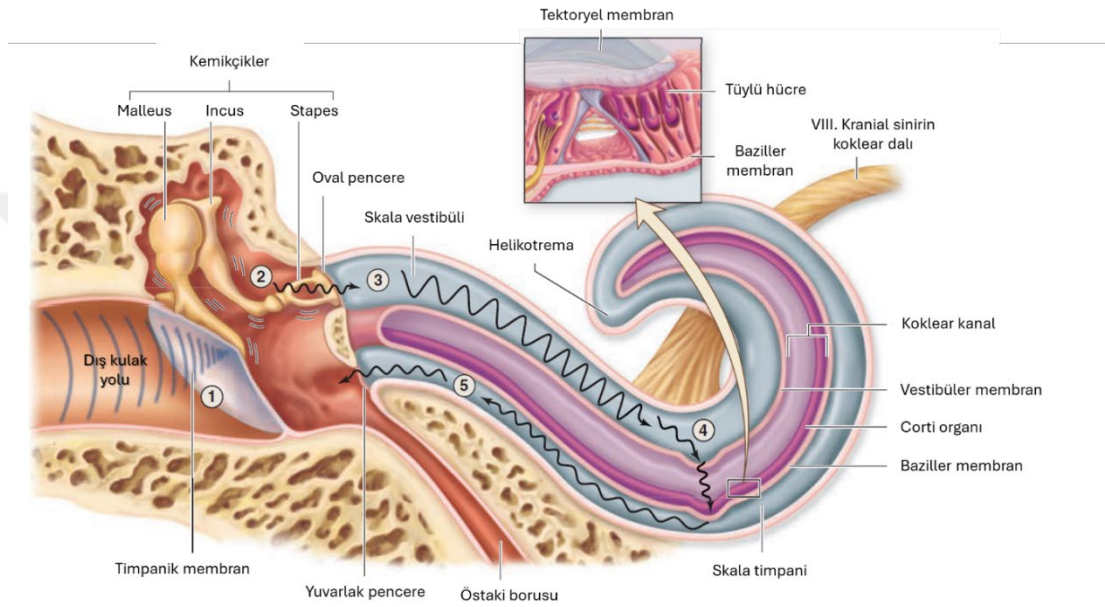
Ses titreşimleri oval penceredeki stapesin ön yüzünden skala vestibüliye girer. Oval pencere, ses titreşimleriyle birlikte içeri ve dışarı doğru hareket eder. İçeri doğru hareket, sıvının skala vestibuli ve skala mediada öne doğru; dışarı doğru hareket, sıvının geriye doğru hareket etmesine neden olur. Perilene ve endolene arasındaki iyon difüzyonunu engelleyen *Reissner* membranı, çok ince ve çok kolay hareket eden bir yapıda olduğundan, söz konusu ses dalgalarının iletimi olduğunda, skala vestibüli ve skala medianın tek bir boşluk gibi hareket ettiği söylenebilir. Gelen ses uyarını ile oval pencerenin öne doğru itişini baziller membranı yuvarlak pencere yönünde bükür. Baziller lifleri yuvarlak pencereye doğru büküldükçe oluşan elastik gerginlik, baziller zarı boyunca helikotrema doğru ilerleyen bir sıvı dalgasını başlatır. Bu, ilerleyen dalga teorisi olarak açıklanmıştır.

Georg von Békésy tarafından 1928 yılında öne sürülen ve *Békésy*'nin 1961 yılında Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü'nü almasına sebep olan ilerleyen dalga teorisine göre, her dalga başlangıçta nispeten zayıftır ancak baziller zarı, ilgili ses frekansına eşit doğal rezonans frekansına sahip kısmına ulaştığında güçlenir. Bu noktada, baziller membran ileri geri o kadar kolay titreşebilir ki dalgadaki enerji dağılır. Sonuç olarak, dalga ulaştığı bu noktada sönümlenir ve baziller zarı boyunca kalan mesafeyi kat edemez. Böylece, yüksek frekanslı bir ses dalgası, rezonans noktasına ulaşmış sönmeden önce baziller membranda yalnızca kısa bir mesafe kat ederken çok düşük frekanslı bir ses dalgası membran boyunca tüm mesafeyi kat eder ve helikotrema yakın bir noktada sönümlenir. Bu şekilde, duyarlı frekansların tüm spektrumu baziller zarı boyunca haritalanır ve her frekans, baziller zarının belli bir noktası ile ilişkilendirilir. Bu durum, tonotopi olarak isimlendirilir.



Şekil 10: Yüksek frekanslı ses dalgaları (kırmızı), kokleanın tabanına yakın oval pencereye yakın baziller zarı hareket ettiren basınç dalgaları üretir. Orta frekanslı ses dalgaları (yeşil), kokleanın merkezi bölgesi boyunca farklı noktalarda zarı hareket ettiren basınç dalgaları üretir. Düşük frekanslı ses dalgaları (mavi), kokleanın apikal ucundaki helicotrema yakınında zarı hareket ettiren dalgalar üretir. [15]'ten uyarlanmıştır.

ilerleyen dalganın bir diğer özelliği, baziller membranın başlangıç kısmı boyunca hızlı hareket etmesi ancak ilerledikçe giderek yavaşlamasıdır. Bunun nedeni, oval pencere yakınındaki baziller lifler yüksek elastikiyet katsayısına sahipken membran boyunca katsayısının kademeli olarak azalmasıdır. Dalganın ilk baştaki bu hızlı iletimi, çok mesafe kat edemeden sönmümlenen yüksek frekanslı seslerin birbirinden ayırt edilebilmesi için membran üzerinde yeteri kadar yayılıp ayrışabilmesini sağlar.

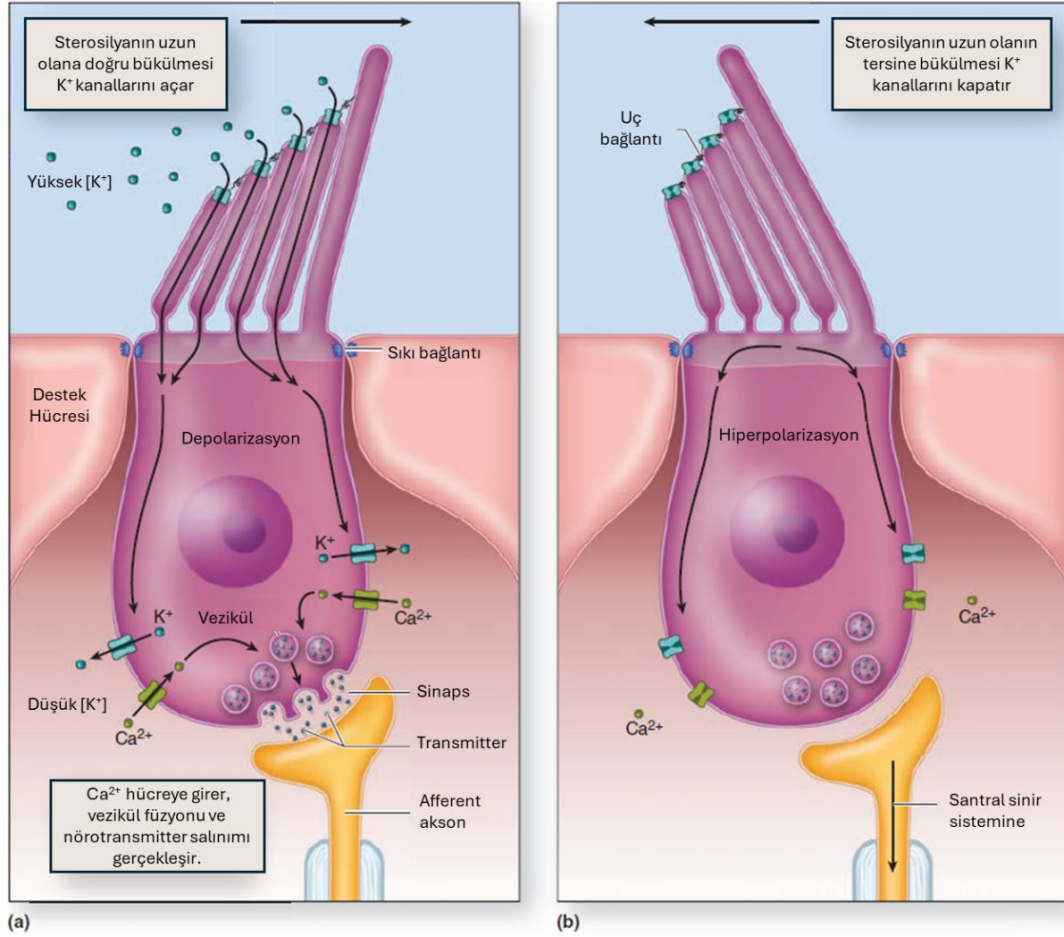


Şekil 11: Ses dalgasının iletimi. ① Ses dalgası kulağa girer ve timpanik membranı titreştirir. ② Timpanik membran titreşimleri ossikülleri hareket ettirir. Ses amplifiye olur. ③ Oval pencerede stapes perilenfin dalgalanmasına neden olur. ④ Endolenfteki dalgalanma baziller membranın belirli bölgesinde rezonansa uğrar. ⑤ Dalga, skala timpaniye iletilir ve yuvarlak pencereden çıkar. [15]'ten uyarlanmıştır.

Endolenfte ilerleyen dalga baziller membranda titreşime yol açar. Baziller membranın hareketi ile tüylü hücreler üzerindeki stereosilya demeti uzun olan stereosilyuma doğru laterale bükülür. Bu bükülme esnasında, komşu stereosilyumlar arasındaki uç bağlantılar gerilir ve membrandaki mekanoelektriksel transdüksiyon (MET) kanalları açılır. Endolenfte yüksek konsantrasyonda bulunan potasyum iyonları açılan kanallardan hızla pasif olarak stereosilyaya girer. Bu, tüylü hücre depolarizasyonuna yol açar. Depolarizasyon, voltaj duyarlı kalsiyum kanallarını açar ve depolarizasyonu arttıran kalsiyum iyonlarının içeri akmasına neden olur [19].

İç ve dış tüylü hücrelerin depolarizasyona cevabı farklılık göstermektedir.

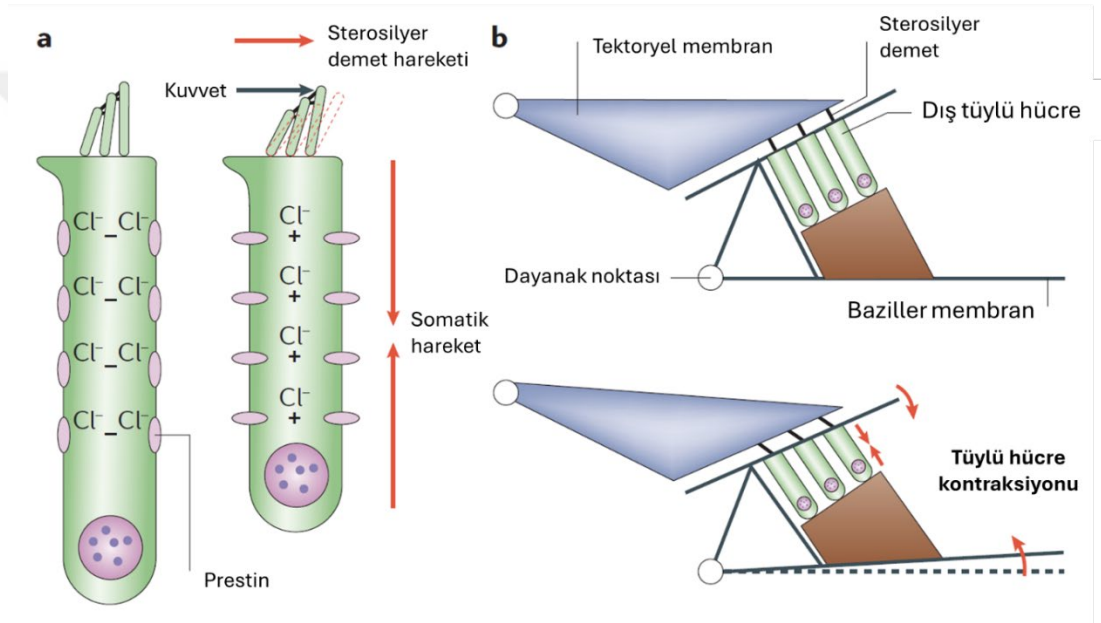
İTHlerde hücre içine kalsiyum akışı bazolateralinden nörotransmitter aralığa glutamat salınımı ile sonuçlanır. Glutamat, postsinaptik membranda AMPA reseptörlerine bağlanır ve uyarıcı bir postsinaptik akım ortaya çıkar. Uyarılan koklear sinir, iletiyi santral sinir sistemine taşır ve ses algısı gerçekleşir.



Şekil 12: (a) Stereosilya demetinin laterale doğru sapmasına neden olan hareketi uç bağlantılarda gerginlik oluşturur ve bu gerginlik bitişik katyon kanallarının açılmasıyla elektriksel aktiviteye dönüşür. K⁺ girişi hücreyi depolarize ederek voltaj kapılı bazolateral Ca²⁺ kanallarını açar ve bu da nörotransmitter salınımını uyarır. Bu hareket durduğunda hücreler hızla yeniden polarize olur. (b) Zıt yöndeki hareket, uç bağlantılarda gevşeklik oluşturarak mekanik olarak apikal K⁺ kanallarının tamamen kapanmasına, hiperpolarizasyona ve nörotransmitter salınımının engellenmesine neden olur. [15]'ten uyarlanmıştır.

Dış tüylü hücre uyarıldığında, elektrik potansiyelindeki değişimler mekanik bir tepkiye neden olur ve hücre uzunluğu değişir. Bu durum, Corti organının kalınlığını değiştirerek kokleadaki sıvı akışını yönlendirir ve ilerleyen dalganın mekanik olarak

güçlenmesini sağlar. Bu sayede ilerleyen dalga'nın genliği yaklaşık 40-60 dB (100-1000 kat) oranında büyütülmüş olur. Ayrıca, ilerleyen dalga, koklea boyunca mesafe kat ettikçe mekanik geri besleme ile daha fazla büyütüldüğünden genlik mesafeye bağlı olarak, dalga sönümleneceği rezonans noktasına ulaşana kadar, logaritmik artar. DTHlerin yalnızca ses dalgalarını algılamakla kalmayıp, mekanik bir tepki ile kokleada aktif amplifikasyon sağladığı bu sürece ters (*reverse*) transdüksiyon adı verilir. Ters transdüksiyon, DTHlerin lateral duvarında yerleşik prestin adındaki protein aracılığı ile gerçekleşir. Prestin, hücre zarında ATP veya Ca^{2+} bağımlı olmayan bir motor protein gibi çalışarak depolarizasyonda hücrenin boyunun kışalmasına, hiperpolarizasyonda ise uzamasına yol açar. [22], [23], [24]



Şekil 13: Dış tüylü hücre depolarizasyon cevabı. a) Dinlenme durumunda (-), Cl^- iyonları tüylü hücrenin lateral zarındaki prestin moleküllerine bağlıdır. Sterosilya demetine kuvvet uygulandığında, hücre depolarize olur (+), Cl^- iyonları ayrışır ve prestin konformasyon değiştirir, zar düzlemindeki alanını azaltır ve tüylü hücre gövdesini kısaltır (somatik motor). Stereosilyaların konik tabanlarından bükülmesiyle aktive edilen mekanoelektrik transdüksiyon (MET) kanallarının adaptasyonu, stereosilya demetinin uyarın yönünde ekstra kuvvet üretmesine de neden olur (stereosilya demet hareketi). b) Somatik hareketin (kırmızı oklar) Corti organı mekaniği üzerindeki etkilerini gösteren şematik diyagram, retiküler laminanın (Corti organının üst yüzeyi) aşağı doğru hareketine ve stereosilya demetinin zıt yönde sapsmasına yol açar. Bu negatif bir geri bildirim yoludur, çünkü stereosilyanın laterale sapsması dış tüylü hücre depolarizasyonuna, hücre kışılmasına ve demetin zıt hareketine neden olur. [25]'ten uyarlanmıştır.

MET kanal kompleksi:

İç ve dış tüylü hücre stereosilyalarının yüzeyinde benzer özellikler gösteren mekanoelektrik transdüksiyon (MET) kanalları bulunur ve bu kanallar uç

bağlantılar (*tip link*) ile ilişki halindedir. Sterosilyer demet büküldüğünde gerilen uç bağlantılar aracılığı ile MET kanalı açılır, K⁺ ve Ca²⁺ hızla sterosilyanın içine girer, reseptör potansiyelini değiştirir.

Uç bağlantı (*tip link*), tek transmembran domain içeren iki kadherinden oluşur: Kadherin 23 (CDH23) ve Protokadherin 15 (PCDH15). CDH23 bağlantının üst kısmını, PCDH15 ise alt kısmını oluşturur. Bu proteinler amino terminal ekstraselüler domainleri aracılığı ile birbirleriyle “el sıkışma” tarzında bağlantı kuran *cis*-dimerler oluştururlar.

MET kanal kompleksinin kesin içeriği ve hücre membranındaki lokalizasyonu hakkında tartışmalar olsa da PCDH15’in membrana bağlandığı, alt uç bağlantı yoğunluğu (LTLD) bölgesinde lokalize olduğu öne sürülmüştür.

Transmembran kanal benzeri 1 ve 2 proteinlerinin (TMC1 ve TMC2) MET kanalının esas por proteinleri olduğu varsayılmaktadır. MET kanalının diğer varsayımsal proteinleri; PCDH15’e bağlanarak çalışan LHFP benzeri protein 5 (LHFPL5), transmembran iç kulak ekspresif protein (TMIE), kalsiyum ve integrin bağlayıcı protein (CIBP) ve transmembran O-metiltransferazdır (TOMT) [26].

Endokoklear potansiyel:

Endolenf ve perilenf içeriği arasındaki iyon farkı nedeniyle skala media içinde her zaman yaklaşık +80 mV elektriksel potansiyel vardır. Buna endokoklear potansiyel denilir ve stria vaskülaris tarafından skala mediaya sürekli potasyum iyonu salgılanması ile üretilir. Endokoklear potansiyelin önemi, tüylü hücre apekslerinin retiküler laminadan dışarı çıkıp endolenf tarafından yıkanması, alt gövdelerinin ise perilenf tarafından yıkanmasıdır. Böylece tüylü hücre gövdesi perilenfe göre -70 mV, apeksi ise endolenfe göre -150 mV negatif hücre içi potansiyele sahip olur. Hücre apeksinde ve bazalindeki bu potansiyel farkı sayesinde hücreye giren potasyum hızla bazolateral kısma ilerler ve buradaki kanallar aracılığı ile hücreden çıkar. Hücreler arasında ilerleyerek stria vaskülarise geri gelir ve buradan endolenfe salınır. Buna potasyum geri dönüşümü (*recycling*, döngüsü) denilir. Ayrıca apikal bölgedeki -150 mV potansiyel, hücrenin uyarılabilirliğini artırır ve en ufak seslere dahi tepki verebilme yeteneği sağlar [19], [27].

2.1.1) KOKLEAR İŞİTME KAYBI:

Sensörinöral işitme kaybı, *Corti* organında üç ana mekanizmadan birindeki bozukluklarla meydana gelebilir.

2.1.1.1) Tüylü hücre yapısını ve stereosilyayı etkileyen bozukluklar

Koklear tüylü hücre yapısındaki bozukluklar genellikle; stereosilya oluşumu, devamlılığı ve mekanotransdüksiyonda yer alan temel proteinlerin defektlerini içerir. Stereosilyadaki proteinleri kodlayan genlerde meydana gelen fonksiyon kaybettirici mutasyonlar stereosilyer hareket bozukluğuna, bu da MET kanallarının açılmasında ve hücre içine potasyum ve kalsiyum girişinde kusura yol açar. Nihayetinde ses uyarılarının elektriksel iletiye dönüştürülmesindeki fonksiyon bozuklukları işitme kaybı ile sonuçlanır.

Stereosilya hareketi aktin-miyozin bağımlı bir süreçtir. Miyozinler stereosilyada; MET mekanizmasının oluşumu, F-aktin çekirdeğinin uzaması ve plazma membranının F-aktin çekirdeğine bağlanmasında kritik öneme sahiptir.[28] MYO3A, MYO6, MYO7A, MYO15A, MYO1A, MYO1C, MYO1F, MYH9, MYH14 gibi miyozinlerin fonksiyon kaybı, otozomal resesif veya dominant kalıtım gösterebilen işitme kayıpları ile ilişkilendirilmiştir [29]. MYH9 ve MYH14'ün iç kulaktaki işlevleri hala tartışılmakta olsa da, MYO3A, MYO6, MYO7A, MYO15A MYO1A, MYO1C ve MYO1F'nin tüylü hücredeki ekspresyonu ve stereosilyer yapıdaki işlevi hakkında ciddi miktarda kanıt bulunmaktadır. Otozomal dominant ve resesif kalıtılabilen işitme kaybı fenotipleri (sırasıyla, MIM: #606346 ve #607821) ile ilişkilendirilmiş olan MYO6 proteini; tüylü hücrede plazma membranını F-aktin çekirdeğine bağlar, stereosilyayı yerinde tutar ve -endositoz dahil olmak üzere- vezikül taşınmasını düzenler. Kodladığı protein stereosilyer gelişim sırasında bilek bağlantılarının (*ankle link*) birbirine bağlanmasına, uç bağlantıların ve MET kompleksinin oluşumuna yardımcı olan MYO7A mutasyonlarında, dominant veya resesif nonsendromik işitme kaybı (sırasıyla, MIM: #601317 ve #600060) görülebildiği gibi, Usher sendromu tip 1B (MIM: #276900) fenotipi de ortaya çıkabilmektedir. MYO15A, programlı stereosilya uzamasında kilit moleküllerden birisidir. Stereosilya ucunda eksprese olan MYO15A, stereosilyaların basamak deseninde uzaması için whirlin başta olmak üzere çeşitli molekülleri apikal bölgeye taşır ve disfonksiyonunda stereosilyanın anormal kısalığı gözlenir. MYO15A mutasyonları otozomal resesif işitme kaybı tip 3 (MIM: #600316) ile ilişkilendirilmiştir [28], [30].

Hücre iskeletindeki aktin filamentlerini kontrol eden proteinlerin disfonksiyonu bazı nonsendromik işitme kaybı altı tipleri ile ilişkilendirilmiştir. Homer katlanma proteini 2 (HOMER2) stereosilyadaki aktin dinamiklerini, hücre bölünme döngüsü 42 (CDC42) proteini ile etkileşerek, kontrol eder [31]. Diafonus ilişkili protein 1 (DIAPH1) aktin polimerizasyonunu kontrol eder [32]. Klorid intraselüler kanal 5 (CLIC5); radiksin (RDX), taperin (TPRN) ve miyozin VI (MYO6) ile oluşturduğu kompleks aracılığı ile tüylü hücre stereosilyasının bazalinde membran-aktin filament bağlantılarını stabilize

eder [33]. Protein tirozin fosfataz reseptör tip Q (PTPRQ), aktin yeniden düzenlenmesinde anahtar bir molekül olan 4,5-fosfatidilinozitol bifosfat (PIP2)'yi hidrolize eder [34]. TRIO ve F-aktin bağlayıcı protein (TRIOBP) F-aktin yapılarını stabilize eder [35]. Son olarak, aktin gama 1 (ACTG1) olarak bilinen aktin filament yapı taşındaki mutasyonlar otozomal dominant kalıtmıli işitme kaybına yol açar.

Hücre hücre adezyon proteinlerindeki disfonksiyonlar da işitme kaybına yol açabilir. Otogelin (OTOG) ve otoankorin (OTOA) aselüler jellerin iç kulakta reseptör dışı hücrelere tutunması için önemlidir. *OTOG* geni 11p14.3 bölgesinde lokalizedir. Otogelin adında N-glikozile proteini kodlar. Bu, kokleada Corti organını örten tektoryal membranı kaplar ve membranın fibriller ağının organizasyonunda görevlidir. Membranın ses uyarısına direncinden ve mekanik stabiliteden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Tektoryal membranın biyofiziksel özellikleri, tüylü hücrelerin ses uyarısına yanıtını etkilediği için işitme fonksiyonu açısından önem arz etmektedir. *OTOG* mutasyonları otozomal resesif işitme kaybı 18B (MIM: #614945) ile ilişkilendirilmiştir [36]. 16p12.2 bölgesinde lokalize, 25 ekzonlu *OTOA* geni tarafından kodlanan 1153 aminoasitlik otoankorin, iç kulağın aselüler jellerinin nonkollajenöz glikoproteinlerindedir. Tüylü hücrelerin apikal yüzeyi ile aselüler jel arasında, tektoryal membran spiral limbus bağlantısında eksprese olan bir adezyon molekülüdür. Ayrıca, otogelin ve tektorinler gibi diğer glikoproteinler ile de temas halinde olduğu düşünülmektedir. Bialelik *OTOA* mutasyonlarında otozomal resesif işitme kaybı 22 (MIM: #607039) gözlenmektedir [37]. Uzun sterosilyanın ucuna ve tektoryal membrana yerleşik, karsinoembriyonik antijen ilişkili hücre adezyon molekülü 16 (CEACAM16) ve tektoryel membran protein alfa tektorin (TECTA) tektoryal membran bütünlüğünün ve sterosilya tektoryal membran ilişkisinin sürdürülmesi için gereklidir [38]. Her iki proteini kodlayan genlerdeki mutasyonlar hem otozomal resesif hem de otozomal dominant kalıtım paternine sahip işitme kaybı fenotiplerine yol açabilmektedir. Normal işitme fonksiyonu için, *Corti* organının endolenfatik ve perilenfatik boşluklarının aralarındaki iyon geçişinin sıkı şekilde kısıtlanması gerekmektedir. Bu, destek hücreleri ve sensör tüylü hücrelerin mozaikinden oluşan retiküler laminadaki sıkı bağlantılar ile sağlanır. Lamina boyunca tüylü hücrelerin ve destek hücrelerinin apikal membranları karmaşık sıkı bağlantılar ile birbirine bağlanmıştır. MARVEL domaini içeren 2 (MARVELD2), sıkı bağlantı proteini 2 (TJP2) ve klaudin 14 (CLDN14) birlikte regüler sıkı bağlantı birliklerini oluştururlar. *MARVELD2* ve *CLDN14* mutasyonlarında tüm frekansları etkileyen otozomal resesif kalıtmıli işitme kaybı görülür [39], [40].

7q22.1 bölgesinde lokalize olan *SLC26A5*, SLC26A/SulP taşıyıcı ailesinin Prestin adındaki üyesini kodlar. Transmembran bir protein olan Prestin, eksik bir anyon taşıyıcısıdır ve anyonların hücre zarını geçmesine izin vermez. Bunun yerine hücre içi Cl⁻ seviyelerindeki değişikliklere yanıt olarak hücre uzunluğunda değişikliğe neden olan konformasyonel bir değişikliğe uğrar. Bu değişiklikler, dış tüylü hücrelerin elektromotilitesini sağlayarak ses amplifikasyonuna yol açar. Prestin, geleneksel

moleküler motor proteinlerinden birkaç kat daha hızlı olacak şekilde mikro saniye hızlarında işlev görür [24], [41]. Bu gendeki mutasyonların sensörinöral işitme kaybı ile ilişkilendirildiği olgular bildirilmiştir [42].

7q22.3 bölgesinde yer alan *SLC26A4*, epitel hücrelerinin apikal plazma membranları boyunca ve bazların nonspesifik bir taşıyıcısı olarak işlev gören pendrin proteinini kodlar. Pendrin, iç kulak ve tiroid dahil olmak üzere sınırlı sayıda dokuda eksprese edilir. İç kulakta, pendrinin yokluğu veya fonksiyon kaybı endolenfatik sıvının asitleşmesine, genişlemiş vestibüler akuadukt oluşumuna ve kokleadaki tüylü hücrelerin dejenerasyonuna yol açar. Tüylü hücre dejenerasyonunun mekanizması henüz tespit edilememiştir [43], [44].

Kadherin ilişkili 23 (CDH23) ve protokadherin ilişkili 15 (PCDH15) proteinleri komşu sterosiyumlar arasındaki uç bağlantıların oluşumunda majör rol oynar. CDH23 uç bağlantının üst ucunda, PCDH15 alt ucunda yerleşiktir ve amino terminal uçları uç bağlantı filamentlerinde kolokelize olur [45]. Hem *CDH23* hem de *PCDH15* mutasyonları otozomal resesif nonsendromik işitme kaybına yol açabildiği gibi (sırasıyla, MIM: #601386 ve MIM: #609533), göz bulgularının eşlik ettiği Usher sendromuna da yol açabilirler (sırasıyla, MIM: #601067 ve MIM: #602083). Aynı zamanda, *CDH23* ve *PCDH15* digenik resesif mutasyonlarının da Usher sendromuna yol açtığı bildirilmiştir (MIM: #601067). Ses uyarısını takiben bükülen uzun sterosilyum, uç bağlantı ile komşuluğundaki kısa sterosilyumu kendisine doğru çeker ve kısa sterosilyum ucunda oluşan tansiyon, MET kanalı aracılığı ile potasyumun tüylü hücreye girişine izin verir. Her ne kadar MET kanalın moleküler kompozisyonu tam olarak bilinmiyor olsa da; transmembran kanal benzeri 1 ve 2 (TMC1 ve TMC2), tetraspan transmembran protein tüylü hücre sterosilya (LHFPL5), PCDH15 ve transmembran iç kulak (TMIE) proteinlerinin MET kanal organizasyonunda rol oynadıkları düşünülmektedir [46], [47], [48]. *TMC1* mutasyonları otozomal resesif veya dominant kalıtım paternini izleyen işitme kaybı fenotipine yol açabilir, öte yandan *LHFPL5* ve *TMIE* mutasyonları otozomal resesif kalıtmı işitme kayıpları ile ilişkilendirilmiştir [49].

dominant nonsendromik işitme kaybı tip 2 (MIM: #600101) ile ilişkilendirilmiştir [52].

Destek hücreleri olan Deiters hücreleri potasyum voltaj kapılı kanal alt ailesi J üyesi 10 (KCNJ10) aracılığı ile potasyumu hücreler arası boşluktan geri alır. Ve solüt taşıyıcı aile 12 (potasyum/klorür taşıyıcılar) üye VI ve VII (SLC12A6 ve SLC12A7) aracılığı ile hücre dışına atar. *KCNJ10* mutasyonları işitme kaybının eşlik ettiği kliniklerle ilişkilendirilmiştir (MIM: #600791, MIM: #612780). Yine, *SLC12A6* ve *SLC12A7* defekti olan farelerde işitme kaybı gözlenmiştir [53].

Potasyum, lateral duvardaki fibrositlerde geçit bağlantıları (*gap junction*, boşluk kavşağı) aracılığı ile ilerler. Bu yapılar, hücreler arasında iyonların ve küçük moleküllerin geçişinin yanı sıra *Corti* organındaki mekanik stabiliteyi, hücrelerin düzenli hizalanmasını, tüylü hücre bazalinin ve destek hücrelerinin etrafındaki sıvı iyon içeriğini sağlayan *Corti* tünelinin oluşumunda etkilidir.[54], [55]. *Gap junctionlar*, konneksin proteinleri tarafından oluşturulur [56]. Tüm konneksinler dört alfa heliks transmembran domaini, iki ekstraselüler halka, bir sitoplazmik halka, N-terminus ve C-terminus içerir. Altı konneksin molekülünün bir araya gelmesiyle plazma membranının lipit çift katmanında konneksin adındaki gözenek oluşur [57], [58]. Bir hücrenin konneksonu komşu hücrenin konneksonu ile temas ederek hücreler arası kanal oluşturur. *Gap junction* yapısı ile ilişkili en az üç konneksin geni (*gap junction protein beta GJB2*, *GJB3* ve *GJB6*) işitme kaybı ile ilişkilendirilmiştir.

13q12.11 bölgesinde lokalize 2 ekzonlu *GJB2* geni 226 aminoasitlik konneksin 26 (Cx26) proteinini kodlar. Cx26 beta konneksin alt grubuna aittir. *GJB2*'nin komşuluğundaki *GJB6* tarafından kodlanan konneksin 30 (Cx30) proteini ile heteroheksamer yapıdaki *gap junctionları* oluştururlar [59]. Yüz ila binlerce *gap junction* kanal kümeleri plazma membranında *gap junction* plağı adı verilen yapıyı oluşturur. *Gap junction* plağı, Cx26'nın yaklaşık 1,5-5 saatlik yarı ömrü nedeniyle dinamik bir yapıdır [60]. Cx26 insan kokleasında, tüylü hücreler dışındaki hücrelerde (epiteldeki destek hücreleri, lateral duvardaki fibrositler ve mezenkimal hücreler, stria vaskülarisin bazal ve intermediate hücreleri, spiral ganglionun tip 1 nöronları) eksprese edilir [61].

Son yıllara kadar, *GJB2* ilişkili işitme kaybının patogenezinde büyük oranda K⁺ geri dönüşümünün bozulması olduğu düşünüyordu. *Gap junction* fonksiyon bozukluğunun iç tüylü hücrelerde potasyum birikimine ve sitotoksositeye yol açtığı, aynı zamanda K⁺ döngüsünün bozulması nedeniyle endokoklear potansiyelin devam ettirilemediği ve aktif ses amplifikasyonunun bozulduğu öngörülmekteydi. Son yıllarda, Cx26 disfonksiyonunun hücreler arası ATP aracılı Ca²⁺ sinyal iletiminde bozulma nedeniyle postnatal işitsel sistem gelişimini aksattığı öne sürülmüştür. Ayrıca *GJB2* mutasyonlarında, iç kulak destek hücrelerinin beslenmesi için gerekli olan hücreler arası besin taşınmasının bozulduğu, bunun sonucunda ATP üretiminin azaldığı ve reaktif oksijen türevlerinin birikimi ile hücrelerin apoptoza gittiğini öne

2.1.1.3) Tüylü hücre sinaps proteinlerinin ve postsinaptik mekanizmanın disfonksiyonu

Sinaptogenezde etkili proteinleri kodlayan bazı genlerdeki mutasyonlar konjenital işitme kaybına yol açar.

Glutamat, sinaptik aralığa salınmadan önce, tüylü hücrelerdeki şerit (*ribbon*) sinapslarda veziküler glutamat taşıyıcısı SLC17A8 (CGLUT3) aracılığı ile sinaptik veziküllere yüklenir [63]. *SLC17A8* genindeki mutasyonlar otozomal dominant işitme kaybı 25 (MIM: #605583) ile ilişkilendirilmiştir.

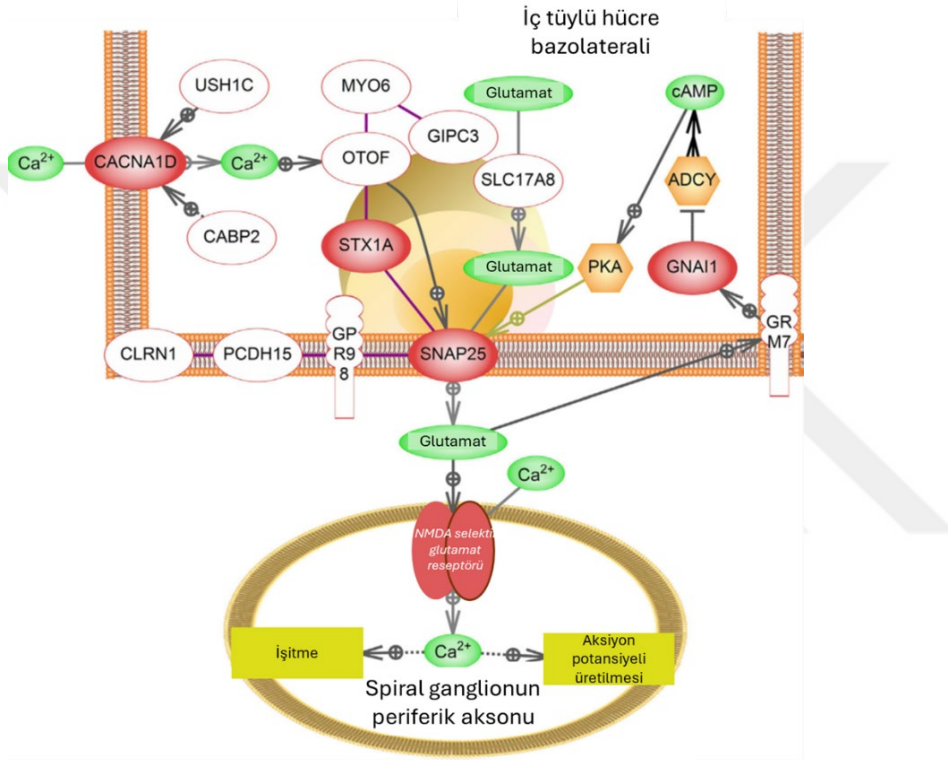
Diğer sinapsların aksine, tüylü hücre şerit sinapsları, *CACNA1D* (CaV1.3 L tipi voltaj kapılı kalsiyum kanalları) kullanarak glutamati sekrete eder. *CACNA1D* yoğunlukla sinaptik vezikülleri bağlayan sinaptik şeritlerde kümelenmiştir. CaV1.3 kalsiyum akışı, sinaptik vezikül salınımına sıkı şekilde bağlıdır ve kanal, tüylü hücre membran potansiyelindeki kademeli değişikliklerle aktive olur. Diğer L-tipi kanallara göre daha negatif membran potansiyellerinde aktive olurlar ve daha yavaş inaktive olurlar. Bu şekilde, hızlı ve devamlı nörotransmitter salınımı sağlanır [64]. *CACNA1D* genindeki monoalelik mutasyonlar, işitme fonksiyonunun etkilenmediği sendromik fenotiple ilişkilendirilmişken (MIM: #615474) bialelik mutasyonlar otozomal resesif kalıtmalı sinoatrial nod disfonksiyonu ve sağlıklık (MIM: #614896) ile ilişkilendirilmiştir. Kalsiyum bağlayıcı protein 2 (CABP2), Cav1.3 kanallarının kalmodulin aracılı kalsiyum bağımlı inaktivasyonunu (CDI) antagonize ederek, presinaptik Ca²⁺ girişini düzenler [65]. CABP2 genindeki bialelik mutasyonlar otozomal resesif işitme kaybı 93 (MIM: #614899) ile ilişkilendirilmiştir.

OTOF geni 2p23.3'te lokalize 48 ekzonlu bir gendir ve otoferlin (*OTOF*) adındaki 1997 aminoasitlik proteini kodlar. Otoferlin, işitsel sinir liflerine sinyalizasyon için kritik süreçler olan iç tüylü hücre vezikül taşınması ve ekzositozunda rol oynayan kalsiyum algılayan bir proteindir [66]. Tüylü hücre glutamat ekzositozu esnasında kalsiyuma bağlanır ve klasik sinaptik vezikül füzyonunda rol oynar. Sintaksin 1A (STX1A) ve sinaptozom ilişkili protein 25 kDa (SNAP25) ile kalsiyum bağımlı etkileşimi destekler. Aynı zamanda MTO6 ile etkileştiği gösterilmiştir. *OTOF* genindeki varyantlar otoferlin proteininin eksik veya işlevsiz olmasına yol açarak sinaptik iletimin bozulmasına ve otoferlinle ilişkili işitme kaybına neden olabilir. *OTOF* mutasyonları, konjenital, nonsendromik işitme kaybı vakalarının %1-8'inden sorumludur ve işitsel nöropati spektrum bozukluklarının (MIM: #601071) en sık nedenidir [67].

Koklear tüylü hücrelerde vezikül ekzositozu ile ilişkili diğer genlerdeki mutasyonlar da işitme kaybı ile ilişkilendirilmiştir. *GIPC3*, vezikül taşımacılığının düzenlenmesini oluşturan G proteinine bağlı sinyal kompleksinde yer alır ve kalsiyuma bağımlı ekzositozda rol oynar [68]. Bialelik *GIPC3* mutasyonları otozomal resesif işitme kaybı tip 15 (MIM: #601869) ile ilişkilendirilmiştir. *PCDH15* ve adhezyon G proteini bağlantılı reseptör V1 (ADGRV1) kompleksinin SNAP25 ile etkileşerek vezikül

yerleşimini ve sinaptozom füzyonunu kontrol ettiği düşünülmektedir. Bu kompleksin komponentlerindeki kusurlar sinaptik matürasyonda gecikmeyle sonuçlanır.

Son olarak, Glutamat metabotropik reseptör 7 (GRM7) polimorfizmleri yaşa bağlı işitme kaybı gelişimi için ciddi risk faktörüdür. GRM7 aktivasyonu siklik adenozin monofosfat (cAMP) kaskadını ve sinaptik glutamat ekzositozunu, glutamat salınımını takiben negatif geri bildirim ile inhibe eder. GRM7 eksikliği glutamat eksitotoksitesine bağlı nöronal hasara yol açar [49].



Şekil 16: İşitme kaybında koklear sinaps proteinlerinin disfonksiyonu. [49]'dan uyarlanmıştır.

3) GEREÇ VE YÖNTEM

3.1) Hasta Seçimi

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Odyoloji Bilim Dalı'nda, Ocak 2021 ile Nisan 2025 tarihleri arasında değerlendirilerek işitme kaybı tanısı alan, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Polikliniği'nde sendromik olmayan (nonsendromik) işitme kaybı olarak değerlendirilen ve Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi Moleküler Genetik Laboratuvarı'nda ıslak laboratuvar çalışması yapıldıktan sonra analiz edilen hastaların dosyaları geriye dönük olarak incelendi. Dahil edilme kriterlerini sağlayan 48 hasta çalışmaya dahil edildi.

Çalışma retrospektif tanımlayıcı bir araştırmadır. Tez araştırması için Marmara Üniversitesi Etik Kurulu'nun 09.2024.1162 numaralı kararıyla etik kurul onayı alındı (Ek-1).

Ocak 2021 ile Nisan 2025 tarihleri arasında nonsendromik işitme kaybı tanısıyla polikliniğimize yönlendirilen hastaların dosyaları geriye dönük olarak tarandı.

Çalışma için belirlediğimiz dahil olma kriterleri:

1. 0-80 yaş arasında olmak
2. İzole sensörinöral işitme kaybı tanısı olan olgular
3. Aile ağacı analizinde risk altında olduğu görülen veya kalıtım paterninin gösterilebilmesi için moleküler analiz yapılan, indeks olgunun ailesine ait bireyler
4. Gönüllü onam ve onay formu alınan hastalar

Çalışma için belirlediğimiz dışlama kriterleri:

1. Çalışmaya katılmak istemeyen veya sonrasında ayrılmak isteyen olgular
2. Klinik bulguları izole işitme kaybı ile uyumlu olmayan olgular

3.2) Verilerin Toplanması

Dahil edilen hastaların cinsiyet, yaş, işitme kaybı tanı yaşı, yenidoğan işitme taraması verileri, hastanın yaşına uygun olarak oyun odyometri veya ABR (İşitsel Beyin Sapı Cevabı), akustik immitansmetri, otoakustik emisyon testi (TEOAE ve DPOAE) sonuçları, dismorfolojik muayene bulguları, semptom ve bulguların seyri, özgeçmiş ve soygeçmiş bilgileri ile genetik tetkik sonuçları Tıbbi Genetik arşiv dosyalarından ve Hastane Origo HBYS sisteminden toplandı.

Elde edilen verilerden genotip fenotip bilgilerini içeren tablo ve grafikler oluşturuldu.

3.3) Periferik Kandan DNA İzolasyonu

İşitme kaybı paneli çalışılan hastalardan mor kapaklı etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)'lı kan tüplerine 5 mL tam kan örneği alındı. "Lab-Aid 824 DNA İzolasyon Kiti" (Xiamen Zeesan Biotech Co., Ltd., P.R. Çin) ve "Lab-Aid 824s Nükleik Asit İzolasyon Cihazı" (Xiamen Zeesan Biotech Co., Ltd., P.R. Çin) kullanılarak genomik DNA izole edildi.

Kullanılan izolasyon kiti manyetik partikül teknolojisi ile insan DNA'sının otomatik izolasyonunu ve saflaştırılmasını sağlamaktadır. Bir kit ile 48 numuneden DNA izolasyonu yapılabilir. İzolasyonu dört basamakta gerçekleşmektedir:

1- Yıkım: Hastalardan alınan periferik kandaki hücreler lizis tamponu ile parçalanarak çekirdekli hücrelerdeki DNA serbest hale getirilir.

2- Bağlama: Parçalanmış örnekler (lizat) bağlama tamponu eklenir. Lizat manyetik boncuklarla karıştırılır ve DNA'nın manyetik boncuklara optimal bağlanması sağlanır. Polimeraz zincir reaksiyonunu (PZR) engelleyebilecek proteinler manyetik boncuklara bağlanamaz.

3- Yıkama: DNA manyetik boncuklara bağlı kalır ve tekrarlayan yıkama işlemleri ile kirlenmeler ortamdaki uzaklaştırılır.

4- Elüsyon: Elde edilen yüksek saflıktaki DNA, elüsyon tamponunda ayrıştırılır ve saklanmaya hazır hale gelir.

İzolasyon aşamasından sonra DNA örneklerinin konsantrasyonları ve saflık değerlerini gösteren A260/A280 ve A260/A230 oranları Qubit 3.0 Florometre (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) ile ölçüldü. A260/A280 ve A260/A230 oranlarının 1,8-2,2 arasında olması DNA'nın uygun saflık değerinde olduğunu gösterir.

Bu kriterleri sağlayan ve başlangıç konsantrasyonu 15 µl'de en az 100 ng olan genomik DNA örnekleri çalışmaya alındı.

3.4) Yeni Nesil Dizileme (YND)

Çalışmamızda yeni nesil dizileme Illumina platformu kullanılarak yapılmıştır. Illumina platformunda iş akışı; kütüphane hazırlığı, dizileme ve veri analizi olmak üzere 3 basamaktan oluşmaktadır.

1- Kütüphane hazırlığı: Bu aşamada DNA parçalanır ve DNA fragmanlarının her iki ucuna özel adaptörlerin eklenmesiyle kütüphane oluşturulur. Bu adaptörler, DNA

fragmanlarının akış hücrelerine bağlanmasını sağlayan komplementer diziler içerir. Çoklama (*multiplexing*) denen işlemlerle birden çok kütüphane tek havuzda toplanıp aynı çalışmada dizilir. Veri analizinde kütüphaneleri ayırt edebilmek için adaptör ligasyonu esnasında, her kütüphaneye spesifik barkodlar eklenir.

2- Dizileme: Kütüphaneler bir akış hücrelerine yüklenerek dizileme cihazına yerleştirilir. DNA fragmanları "küme oluşturma" adı verilen bir süreçte çoğaltılır. Bu işlemin sonunda tek iplikli milyonlarca DNA kopyası elde edilir. "Sentez yoluyla dizileme" adı verilen süreçte, kimyasal olarak modifiye edilmiş nükleotitler, tamamlayıcısı olduğu DNA şablon zincirine bağlanır. Her nükleotid, bir floresan etiket ve bir sonraki bazın dahil edilmesini engelleyen tersinir bir sonlandırıcı içerir. Floresan sinyali, hangi nükleotidin eklendiğini gösterir ve sonlandırıcı, sonraki bazın bağlanmasına izin verecek şekilde ayrışır. İleri yönlü (*forward*) DNA zinciri okunduktan sonra, okumalar yıkanır ve işlem ters yönlü (*reverse*) iplik için tekrarlanır. Bu yöntem "eşleştirilmiş uç dizileme" denilir.

3) Veri analizi: Dizileme ile elde edilen kısa DNA fragmanlarının dizi okumaları genom boyunca referans dizisine göre çeşitli algoritmalar kullanılarak doğru şekilde hizalandırılır. Sonrasında haritalama oranı, hedef bölgenin okuma derinliği gibi kalite parametrelerini geçen çalışmalar analize uygun olarak değerlendirilir.

3.4.1) Klinik Ekzom Dizileme (CES) Kiti

Klinik ekzom dizileme ile 6380 genin ekzonlarındaki ve ekzon-intron birleşim bölgelerindeki varyantların tespiti için, *Clinical Exome Solution*® v3 kit (*SOPHiA Genetics, SA, İsviçre*) yeni nesil dizileme kiti ve *NextSeq550DX*® NGS (*Illumina*) yeni nesil dizileme cihazı kullanıldı. Dizileme sonucunda elde edilen veriler *Sophia DDM*® (*Sophia Genetics SA, İsviçre*) platformunda analiz edildi. Bu yazılım, ham verilerin analizinin yanı sıra nokta varyantlarının analizine ve kopya sayısı değişikliklerinin (CNV) tespitine imkan sağlayan bir ara yüzdür. CNV analizinde kullanılan platform 200 baz çifti çözünürlüğe kadar olan değişimleri saptayabilmektedir. CNV analizinde hedef bölgelerin kapsama oranı aynı çalışma içinde kullanılan numuneler arasında analiz edilerek gerçekleştirilir. Her numune için algoritma, kapsama modellerinin benzerliğine bağlı olarak aynı çalışmadan bir dizi referans numunesini otomatik olarak seçer. Hidden-Markov- model algoritması kullanılarak kopya sayısı değişikliği analizi yapılmaktadır. Analiz sırasında tek nükleotit değişikliği (SNV) listesi ve kopya sayısı değişikliği (CNV) tespit edilen genler, düşük alel frekanslı varyantları ve in-siliko araçlarda patojenik skorlara sahip varyantları içerecek şekilde filtrelenir. Hedeflenen bölgede %90 prob dizisine ve 20X kapsamın %97'sine sahiptir.

3.5) Varyantların Filtrelenmesi ve Analizi

Varyantların analizi için *Sophia DDM®-v4* platformu kullanıldı (*Sophia Genetics SA*, İsviçre). Nonsendromik işitme kaybı ile ilişkili 65 gen analiz edildi. (Tablo 3).

Elde edilen varyantların patojenite değerlendirilmesi için aşağıda belirtilen filtreleme yöntemleri uygulandı:

1. Varyant fraksiyonu %15-100 arasında olan varyantlar seçildi.
2. *GJB2* geni dışındaki genler için minör allel frekansı genom toplama veri tabanı (gnomAD), 1000 genom (1000G) (1000Genom Proje Konsorsiyumu, 2012) ve ekzom dizileme projesi (ESP5400) (NHLBI GO EkzomDizileme Projesi) veri tabanlarında %0,1'in altında kalan varyantlar seçildi.
3. *GJB2* geni dışındaki genler için, *in-house* veri tabanında saptanma sıklığı %0,2'nin altında kalan varyantlar seçildi.
- 3- Clinvar veri tabanında "iyi huylu" ve/veya "olası iyi huylu" olarak tanımlanmış varyantlar elendi.
- 4- "*Human Splicing Finder (HSF)*" ve/veya "*SpliceAI*" programlarına göre kırılmayı etkilemediği öngörülen amino asit değişimine sebep olmayan sinonim varyantlar ve kesim bölgesinden 20 nükleotidden daha uzakta olan intronik varyantlar filtreleme ile elendi.
- 5- Yanlış anlamlı, anlamsız, çerçeve kaymasına sebep olan, çerçeve içi delesyon/duplikasyona sebep olan, ekzon intron bileşke bölgesinin 20 bç içerisinde kalan intronik varyantlar seçildi.
- 6- Filtrelemeden sonra kalan varyantların patojenitesi ACMG kriterleri kullanılarak değerlendirildi. ACMG kriterlerine göre "iyi huylu" ve/veya "olası iyi huylu" olarak değerlendirilen varyantlar elendi.
- 7- Geriye kalan varyantlar hastanın kliniği ve segregasyon çalışmaları ile değerlendirilerek klinik ile ilişkili olabilecek varyantlar raporlandı.

İşitme Kaybı Panelinde İncelenen Genler

AIFM1, ATP2B2, BDP1, CABP2, CDH23, CEACAM16, CIB2, CLDN14, COCH, COL11A1, COL11A2, COL4A6, ESPN, ESRRB, EYA1, FOXI1, GIPC3, GJB2, GJB3, GJB6, GRXCR1, HGF, ILDR1, KCNJ10, LHFPL5, LOXHD1, LRTOMT, MARVELD2, MET, MSRB3, MYO15A, MYO3A, MYO6, MYO7A, NARS2, OTOA, OTOF, OTOG, OTOGL, P2RX2, PCDH15, PDZD7, PJVK, PNPT1, POU3F4, PRPS1, PTPRQ, RDX, SERPINB6, SLC26A4, SIX1, SLC26A5, SMPX, STRC, TBC1D24, TECTA, TIMM8A, TMC1, TMIE, TMPRSS3, TPRN, TRIOBP, TSPEAR, USH1C, WHRN

Tablo 3: İşitme kaybı panelinin gen içeriği

3.5.1) Varyant Değerlendirmesinde Amerikan Tıbbi Genetik Koleji (ACMG) Kriterleri

Tanısal amaçlarla YND teknolojilerinin kullanımının yaygınlaşması ile birlikte, saptanan dizi varyantlarının hastalık yapıcı etkisinin değerlendirilmesi amacıyla çeşitli standartlar geliştirilmiştir. Bu standartlar arasında, Amerikan Tıbbi Genetik Koleji (ACMG) ve Moleküler Patoloji Derneği (AMP) ortak rehberi *germline* DNA dizi varyantlarının değerlendirilmesinde uluslararası kabul görmüş ve yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır.

2015 yılından yayınlanan ACMG ve AMP kılavuzları, varyant sınıflandırma ve yorumlaması için kullanılacak özel kuralları tanımlamıştır [69]. Bu kılavuzlar, dizi analizi sonucu ortaya çıkan varyantlarının patojenitesini tutarlı bir şekilde değerlendirmek için ortak dili kullanan bir çerçeve sağlamayı amaçlamaktadır. Bu kılavuzlara göre varyantlar beş kategoride sınıflandırılır. Bu kategoriler;

- Patojenik (P)
- Olası patojenik (LP)
- Klinik önemi belirsiz varyant (VUS)
- Olası benign (LB)
- Benign (B) şeklindedir.

ACMG kriterleri aşağıda belirtilmiştir;

Patojenik kriterler;

1) Çok Güçlü Patojenite Kanıtı

PVS1: Bir gende fonksiyon kaybettiren varyantların bir hastalığa neden olduğu bilinen durumlarda protein yapısını bozduğu öngörülen; anlamsız, çerçeve kayması, başlama kodonu değişikliği ya da ekzon delesyonu türündeki değişiklikler.

2) Güçlü Patojenite Kanıtı

PS1: Daha önce patojenik olduğu belirtilmiş olan bir varyanttaki aminoasit değişimi ile, nükleotid değişiminden bağımsız olarak, aynı amino asit değişimi.

PS2: Annelik ve babalığın doğrulandığı durumlarda hastada saptanan varyantın aile öyküsü olmadan *de-novo* olduğunun görülmesi.

PS3: *In-vivo* ve *in-vitro* çalışmalarla zararlı etkisi desteklenen varyantlar.

PS4: Etkilenen bireylerdeki prevalansı anlamlı derecede artmış varyantlar

3) Orta Dereceli Patojenite Kanıtı

PM1: İyi huylu varyasyonların görülmediği *hot-spot* noktalar ve kritik fonksiyonel alanlarda bulunan varyantlar.

PM2: Ekzon Sekans Projesi, 1000 Genom veya ExAC gibi veri tabalarında düşük alel frekansı olan varyantlar.

PM3: Resesif hastalıklar için, hastada başka bir patojenik varyantla *trans* halde tespit edilen varyant.

PM4: Çerçeve içi delesyon ya da insersiyonla protein boyunu kısaltan varyant.

PM5: Daha önce patojenik olduğu belirlenen bir yanlış anlamlı varyasyonun olduğu amino asitte gözlenen novel yanlış anlamlı varyant.

PM6: Annelik ve babalığın doğrulamadığı durumlarda aile hakkında bilgi olmadığına saptanan *de-novo* varyasyonlar.

4) Patojeniteyi Destekleyen Kanıtlar

PP1: Hastalığa neden olduğu kesin olarak bilinen bir gende birden fazla etkilenen aile üyesinde hastalıkla birlikte kümelenen varyant.

PP2: İyi huylu yanlış anlamlı varyantların görülme sıklığının düşük olduğu bir gende saptanan yanlış anlamlı varyant.

PP3: Birden fazla biyoinformatik algoritma tarafından patojenitesi desteklenen varyant.

PP4: Hastanın fenotipi veya aile öyküsü tek bir genetik etiyolojiye sahip bir hastalık için spesifik gende saptanan varyant.

İyi huylu (benign) kriterleri;

1) Bağımsız Benign Etki Kanıtı

BA1: Ekzom Dizileme Projesi, 1000 Genom projesi veya ExAC projelerinde minör alel frekansı %5'in üzerinde olan varyant.

2) Güçlü Benign Etki Kanıtı

BS1: Hastalık için öngörülenden yüksek alel frekansına sahip varyant.

BS2: Erken yaşta tam penetrans ile bulgu vermesi beklenen fenotipe neden olan gende; sağlıklı bir erişkin bireyde resesif (homozigot), dominant (heterozigot) veya X'e bağlı (hemizigot) olarak gözlenebilen varyant.

BS3: *In-vivo* ve *in-vitro* çalışmalarla protein fonksiyonuna ve kırılmaya zararlı etkisi gözlemlenmemiş varyant.

BS4: Bir ailenin etkilenen üyelerinde segregasyon olmayan varyant.

3) Benign Etkiyi Destekleyen Kanıtlar

BP1: Protein kısaltıcı (*truncating*) varyasyonların sebep olduğu bilinen bir hastalıkta saptanan yanlış anlamlı varyant

BP2: Tam penetranslı, dominant bir gen/hastalık için patojenik başka bir varyantla *trans* halinde ya da herhangi bir kalıtım modelinde patojenik başka bir varyantla *cis* halinde gözlemlenen varyant

BP3: Bilinen bir işlevi olmayan, genomda bulunan tekrar bölgelerinde saptanan çerçeve içi delesyon/insersiyonlar.

BP4: Çok sayıda biyoinformatik algoritma tarafından, gen veya gen ürünü üzerinde bir etkisi olmadığı öngörülen varyant.

BP5: İlişkili olduğu hastalık için alternatif bir genetik temele sahip vakada saptanan varyant.

BP7: Kırılmayı etkilemeyen ve korunmuş nükleotid bölgesinde bulunmayan eş anlamlı (sessiz) varyant.

Not: 2015 ACMG-AMP kılavuzunda önerilen PP5 ve BP6 kriterlerinin, yalnızca dış kaynaklı varyant sınıflamalarına dayanması ve bu sınıflamalara ilişkin şeffaf veri sunulmaması nedeniyle, ClinGen ve ACMG tarafından kullanımının artık önerilmediği bildirilmiştir [70]. Bu nedenle listede PP5 ve BP6 kriterlerine yer verilmemiştir. Bununla birlikte ClinGen Varyant Kürasyon Uzman Paneli, işitme kaybına neden olan genler için PP2 ve BP1 kriterlerinin kullanımının uygun olmadığını belirtmiştir [71].

3.6) Segregasyon Analizi

YND analizi sonrası indeks olguda saptanan varyantların doğrulanması; anne, baba, kardeşler ve benzer öyküye sahip olan akrabalarda varyant varlığını saptamak ve aile içindeki dağılımı göstermek amacıyla segregasyon analizleri yapıldı. Saptanan varyantların bulunduğu ekzonlara uygun primerler kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) sonrasında *ABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Amerika Birleşik Devletleri)* cihazı ile dizileme yapıldı. Veri, *Chromas (Technelysium Pty Ltd, Avustralya)* analiz programı ile analiz edildi.

3.7) Multipleks Ligasyon Esaslı Prob Amplifikasyonu Analizi

YND analizi sonrası, SLC26A4 geninin 1. ekzonunda homozigot delesyon şüphesi saptanan hasta 30'da delesyon varlığını doğrulamak; anne, baba ve kardeşinde delesyon taşıyıcılığını tespit etmek amacıyla Multipleks Ligasyon Esaslı Prob Amplifikasyonu (MLPA) analizi yapıldı. *Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer*

(*Thermo Fisher Scientific*, MA, ABD) cihazında SALSA MLPA P280-SLC26A4-B2 probemix (*MRC Holland*, Hollanda) probu kullanılarak elde edilen veri *Coffalyser.Net* (Amsterdam, Hollanda) analiz programı kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuç oranı 0.80 - 1.20 arası normal, 0.40 - 0.65 arası heterozigot delesyon, 0 homozigot delesyon olarak değerlendirilmiştir.

3.8) Agaroz Jel Elektroforezi

40 numaralı hastada saptanan homozigot *OTOA* c.2302-2A>C varyantının kırılma üzerindeki etkisini görebilmek için agaroz jel elektroforezi çalışılmıştır. Periferik kandan c.DNA izolasyonu sonrası *OTOA*(NM_144672.4) geninin 21. ekzonundan tasarlanan ileri yönlü (*forward*) 5'-TCAGCACTGGACAGCCGAG-3' ve 23. ekzonundan tasarlanan ters yönlü (*reverse*) 5'-AGCAGTTCCACGGTCCTGATG-3' primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmıştır. Reaksiyon ürünü agaroz jelde 45 dakika elektroforeze tabi tutulmuştur. *Bio-Rad-Gel-Doc* (Kaliforniya, ABD) XR jel görüntüleme sisteminde analiz edilmiştir.

3.9) İstatistiksel Analiz

Tüm analizler ve grafikler GraphPad Prism, Version 9.5.0 kullanılarak yapıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, oran, minimum, maksimum) yanı sıra nitel verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson Ki-Kare testi ve Fisher'in kesin olasılık testi kullanıldı. Anlamlılık en az $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4) BULGULAR

4.1) Demografik ve Klinik Veriler

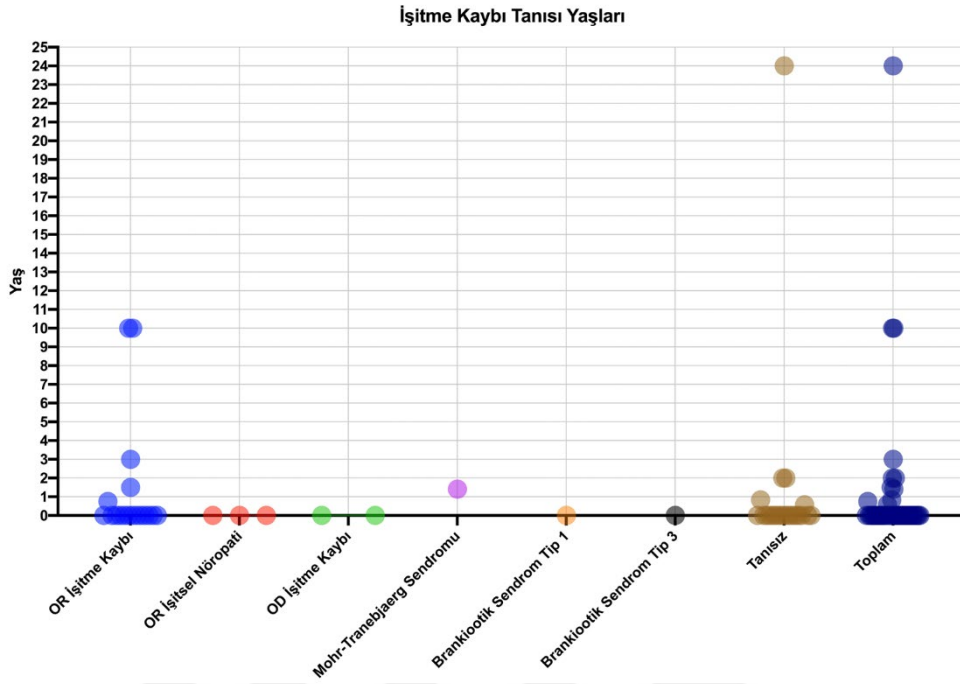
İşitme kaybı tanı yaş ortalaması 1.20 ± 5.1 (Konjenital-24 yaş), genetik başvuru yaş ortalaması 8.4 ± 10.07 (4 ay-56 yaş) olan hastaların 26'sı (%54,16) kadın, 22'si (%45,84) erkekti (Şekil 17). Hastaların 5'i (%10,42) yenidoğan işitme taramasını geçmiş, 34'ü (%70,83) kalmıştı. 9 hastanın (%18,75) işitme taraması verilerine ulaşılamadı (Şekil 18). Hastaların 21'inin (%43,75) anne ve babası arasında akraba evliliği vardı. 2'sinin (%4,17) anne ve babası aynı köyden idi. 34 hastanın ailesinde benzer klinik öykü vardı (%70,83) (Şekil 19). (Tablo 4)

Tablo 4: Hastaların demografik ve klinik bilgileri

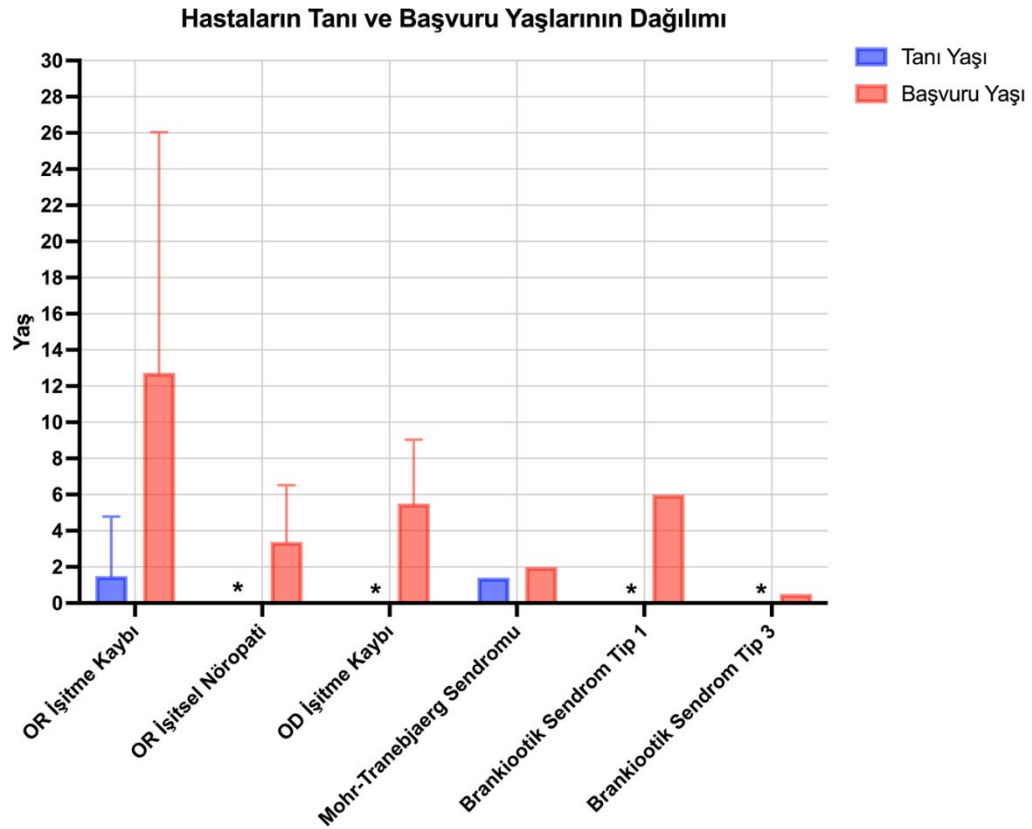
	OR İşitme Kaybı n=19	OR İşitsel Nöropati n=3	OD İşitme Kaybı n=2	Diğer* n=3	Tanısız n=21	Toplam n=48
Yaş (Ortalama\pmSS)	12.73 \pm 13.31	3.39 \pm 3.13	5.5 \pm 3.54	2.83 \pm 2.84	5.69 \pm 6.14	8.4 \pm 10.07
İşitme Kaybı Tanı Yaşı (Ortalama\pmSS)	1.40 \pm 3.22	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.47 \pm 0.81	1.40 \pm 5.22	1.20 \pm 5.1
Cinsiyet(%)						
Kadın	52.63	33.33	50.00	66.67	57.14	54.16
Erkek	47.37	66.67	50.00	33.33	42.86	45.84
Akraba Evliliği (%)						
Evet	47.37	66.67	0	33.33	42.86	43.75
Hayır	42.11	33.33	100	66.67	57.14	52.08
Aynı Köy	10.53					4.17
Aile Öyküsü (%)						
Evet	78.95	66.67	50.00	66.67	66.67	70.83
Hayır	21.05	33.33	50.00	33.33	33.33	29.17
İşitme Testi (%)						
Geçti	10.52	0.00	0.00	33.33	9.52	10.42
Kaldı	63.16	100	100	66.67	71.42	70.83
N/A	26.32	0.00	0.00	0.00	19.05	18.75

Grupların örneklem sayısı n ile belirtilmiştir. Toplam örneklem sayısı 48'dir. Tanısız: Varyant saptanan ancak tanısı kesinleşmeyen veya varyant saptanmayan hastaları içermektedir. Konjenital işitme kaybı tanı yaşı 0.00 olarak hesaplanmıştır. *Mohr-Tranebjaerg Sendromu, Brankiootik Sendrom Tip 1, Brankiootik Sendrom Tip 3

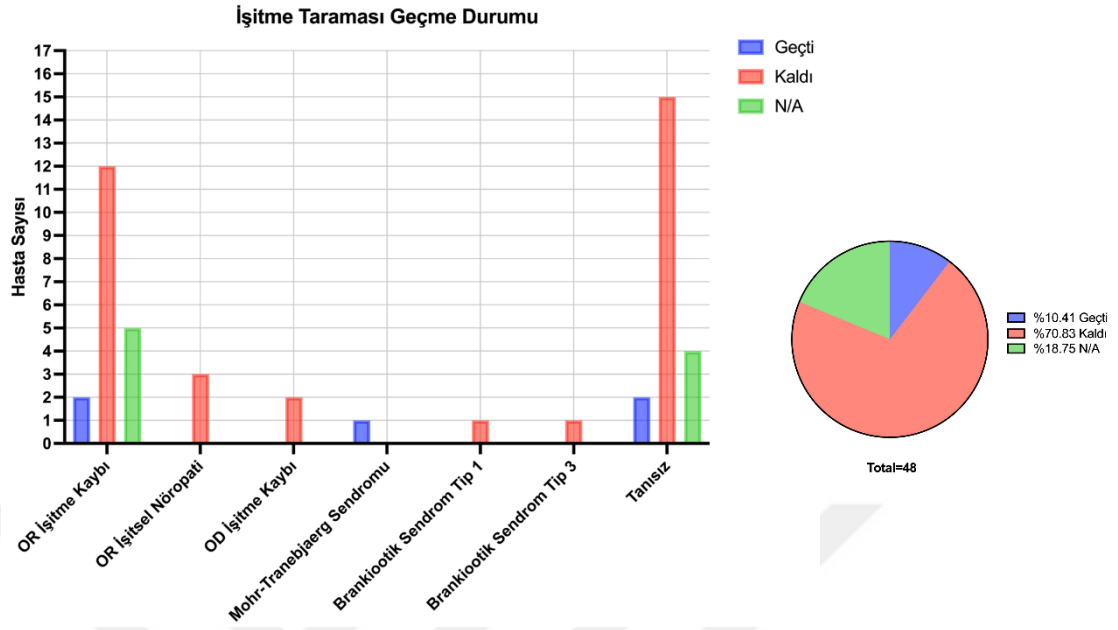
a)



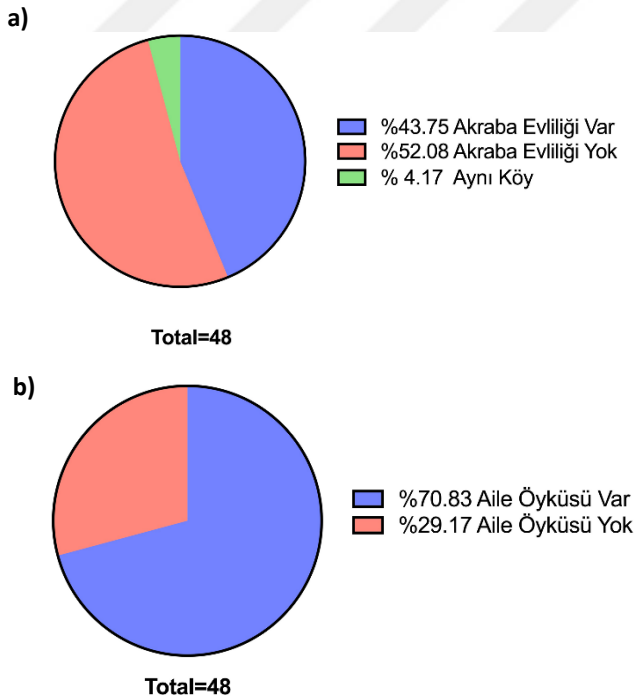
b)



Şekil 17: a) Hastaların işitme kaybı tanı yaşları, b) Hastaların işitme kaybı tanı yaşı ve genetik başvuru yaşları. Konjenital olgular * ile belirtmiştir.



Şekil 18: Hastaların yenidoğan işitme taramasını geçme durumları

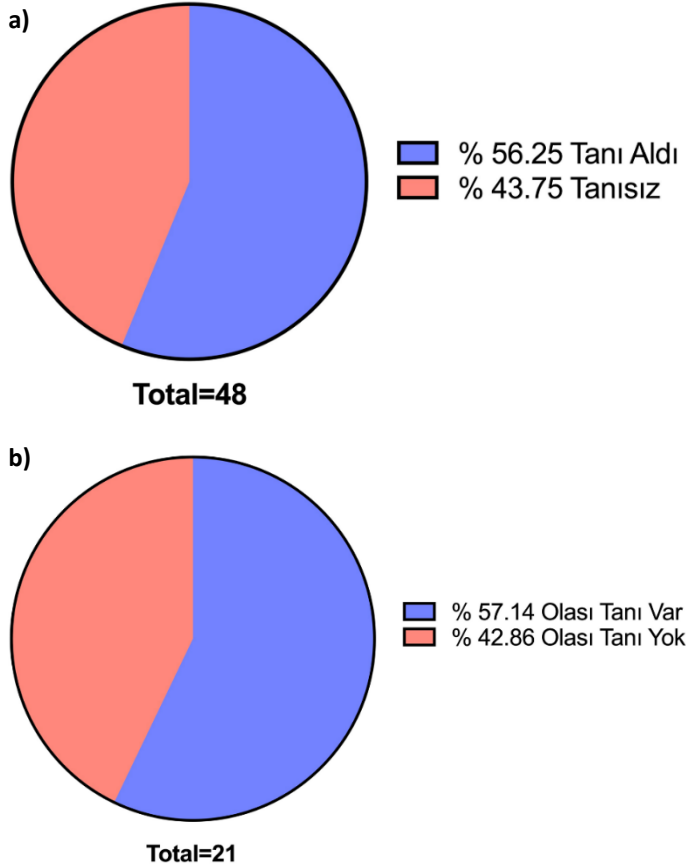


Şekil 19: a) Hastaların anne babası arasında akraba evliliği oranları b) Hastaların ailesinde benzer klinik şikayet varlığı oranları.

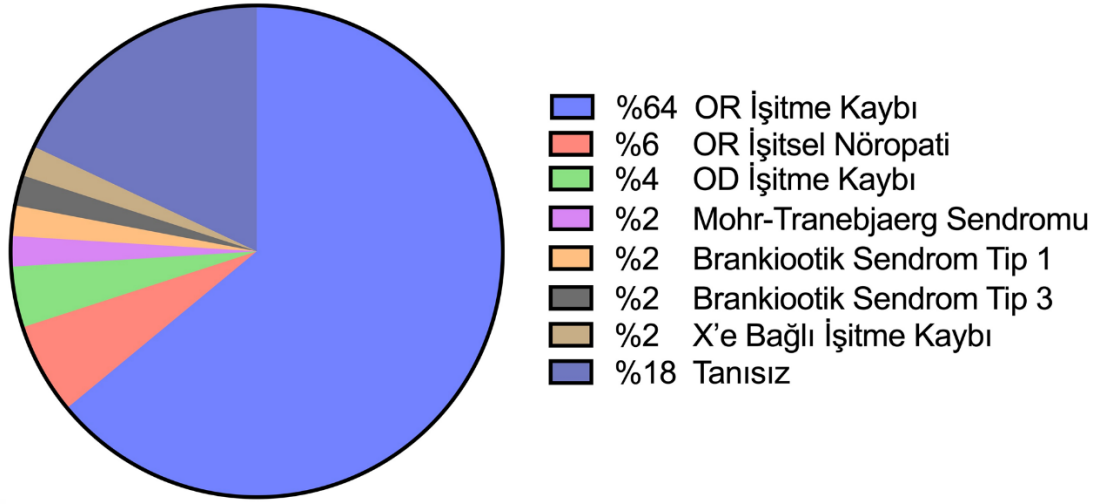
4.2) Genetik Bulgular

4.2.1) Genetik Tanılar

48 hastanın 27'si (%56,25) kesin genetik tanı aldı (Şekil 20-a). 5 hastada (%10,41) otozomal resesif işitme kaybı fenotipleri ile uyumlu patojenik/olası patojenik ikişer varyant saptandı ancak varyantların *cis/trans* ayrımı yapılamadığından hastalar olası tanı aldı. 5 hastada (%10,41) klinik bulguları açıklayabilecek VUS saptandı. 2 hastada (%4,16), varyant çağırma aşamasında klinik bulguları açıklayabilecek varyant tespit edildi. Ancak IGV incelemesinde varyantların teknik olarak güvenilir olmadığı değerlendirildi. Bu nedenle varyantın patojenik etkisi şüpheli olup, teknik doğrulama gereksinimi nedeniyle çalışma kapsamında olası tanı olarak değerlendirildi. 9 hastada (%18,75) klinik bulgularla ilişkilendirilebilecek varyant saptanmamıştır (Şekil 20-b). Gözlenen kesin ve olası tanıların fenotiplere göre dağılımı Şekil 21'de gösterilmiştir.



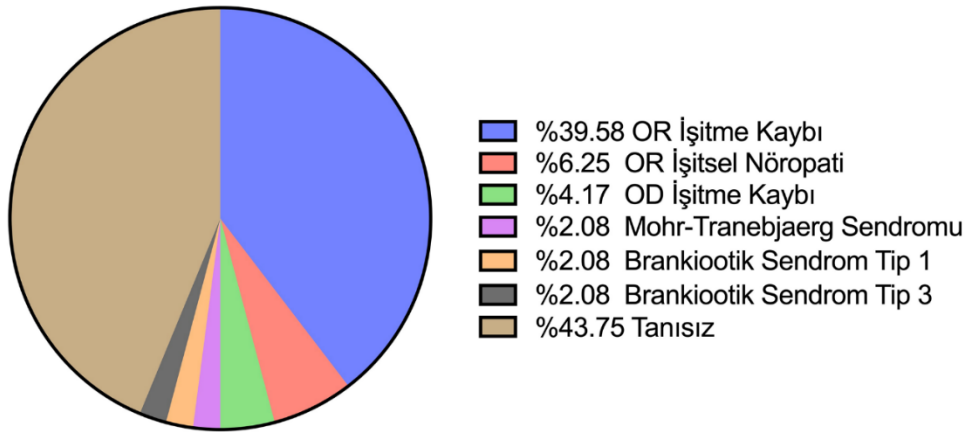
Şekil 20: a) Kesin genetik tanı alma durumuna göre hastaların dağılımı. b) Kesin genetik tanı almayan hastalar arasında olası genetik tanıları olan ve olmayan hasta dağılımı



Total=50

Şekil 21: Kesin ve olası tanılarının dağılımı. *Hasta 17 ve hasta 33'te ikişer farklı olası tanı saptanmıştır.

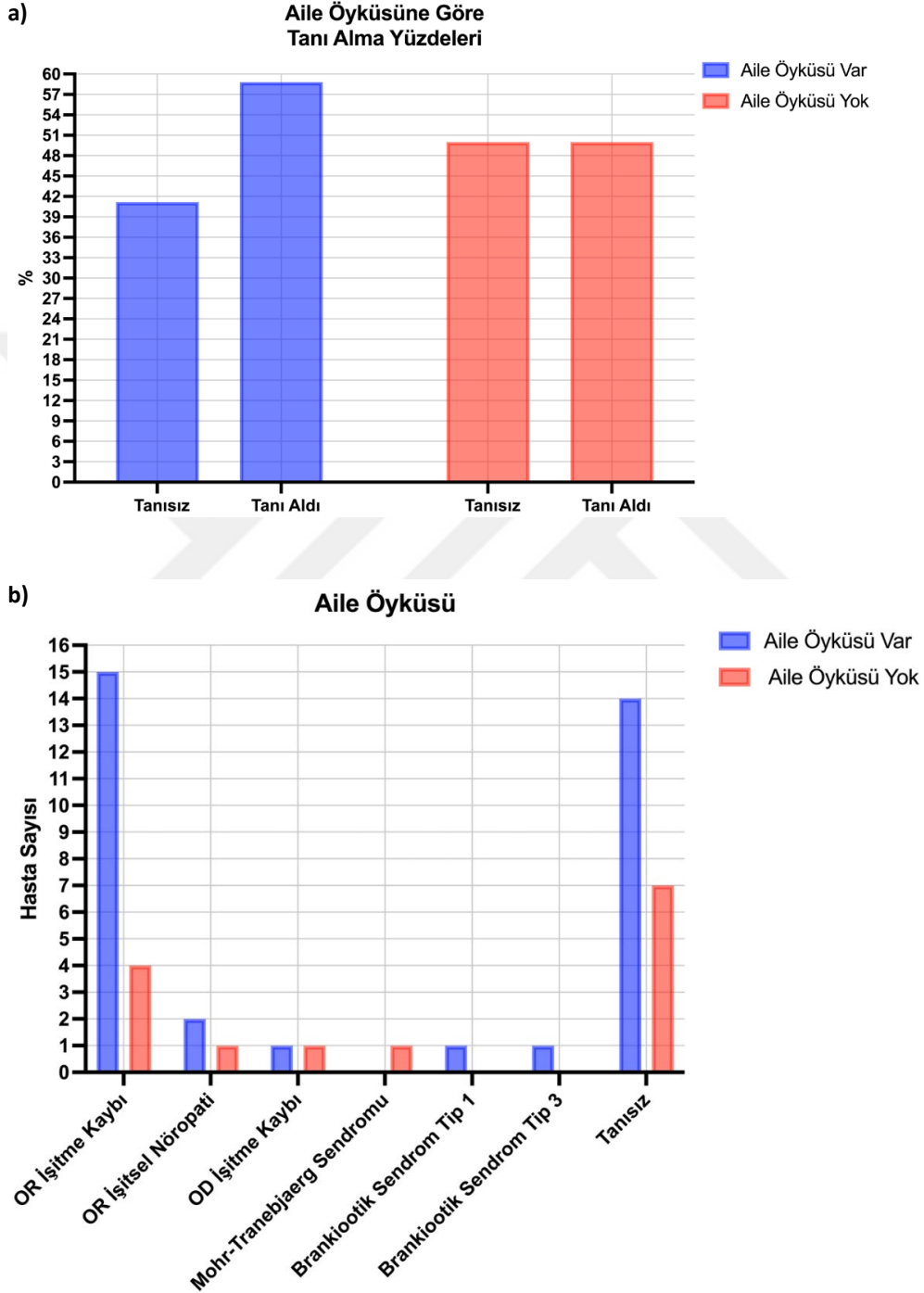
48 hastanın 19'unda (%39,58) otozomal resesif işitme kaybı, 3'ünde (%6,25) otozomal resesif işitsel nöropati, 2'sinde (%4,17) otozomal dominant işitme kaybı, 1'inde (%2,08) Mohr-Tranebjaerg sendromu, 1'inde (%2,08) Brankiootik sendrom tip 1, 1'inde (%2,08) Brankiootik sendrom tip 3 genetik tanıları kesinleştirilmiştir (Şekil 22).



Total=48

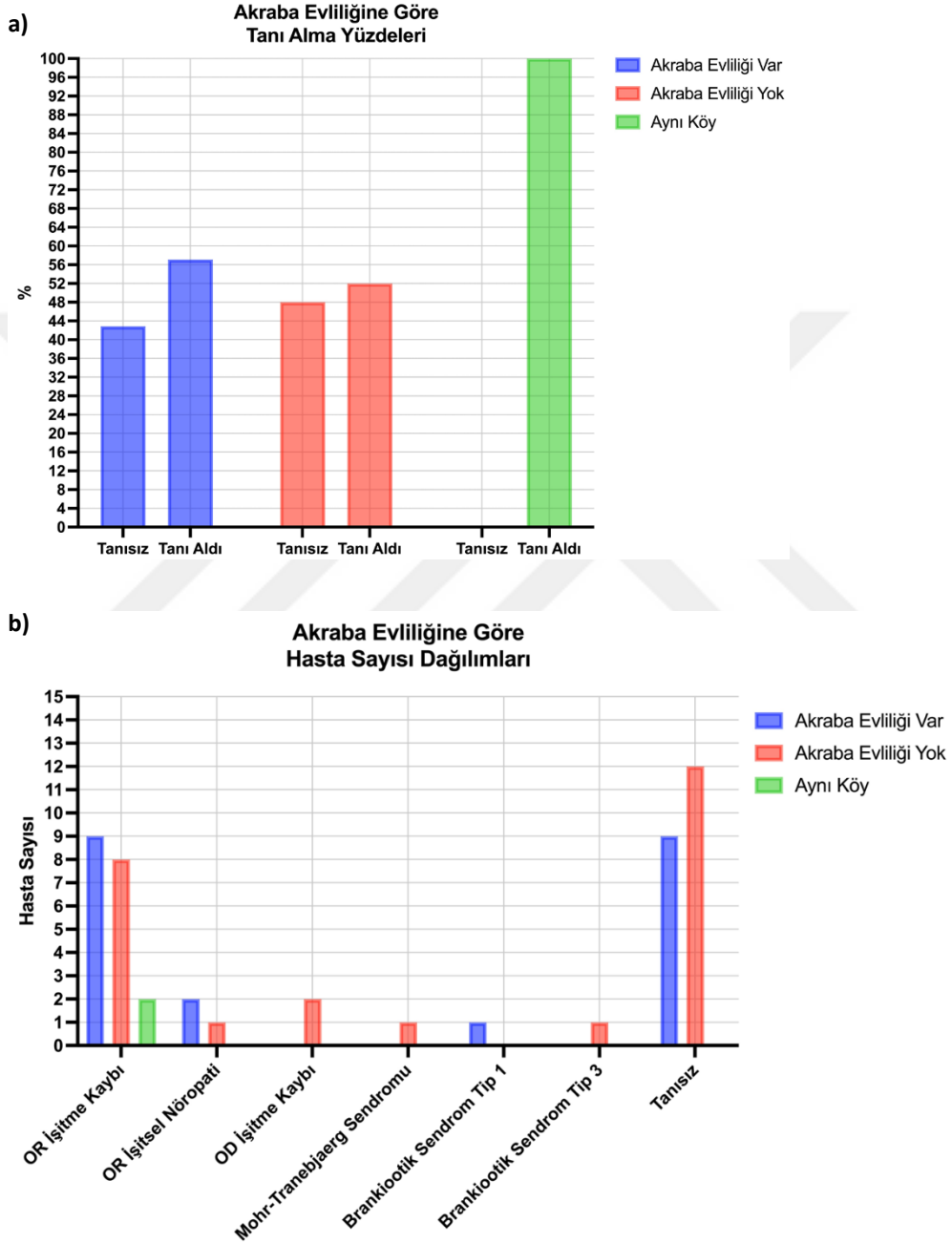
Şekil 22: Kesin genetik tanı alan hastaların tanı gruplarına göre dağılımı

Kesin genetik tanı alan olguların 20'sinde (%74,07) ailede benzer fenotipte birey vardı. Aile öyküsü pozitif olan 34 hastanın 20'sine (%58,82) kesin genetik tanı konulmuştur (Şekil 23).



Şekil 23: a) aile öyküsü varlığına göre tanı alma oranları b) aile öyküsü varlığına göre saptanan tanıların dağılımı

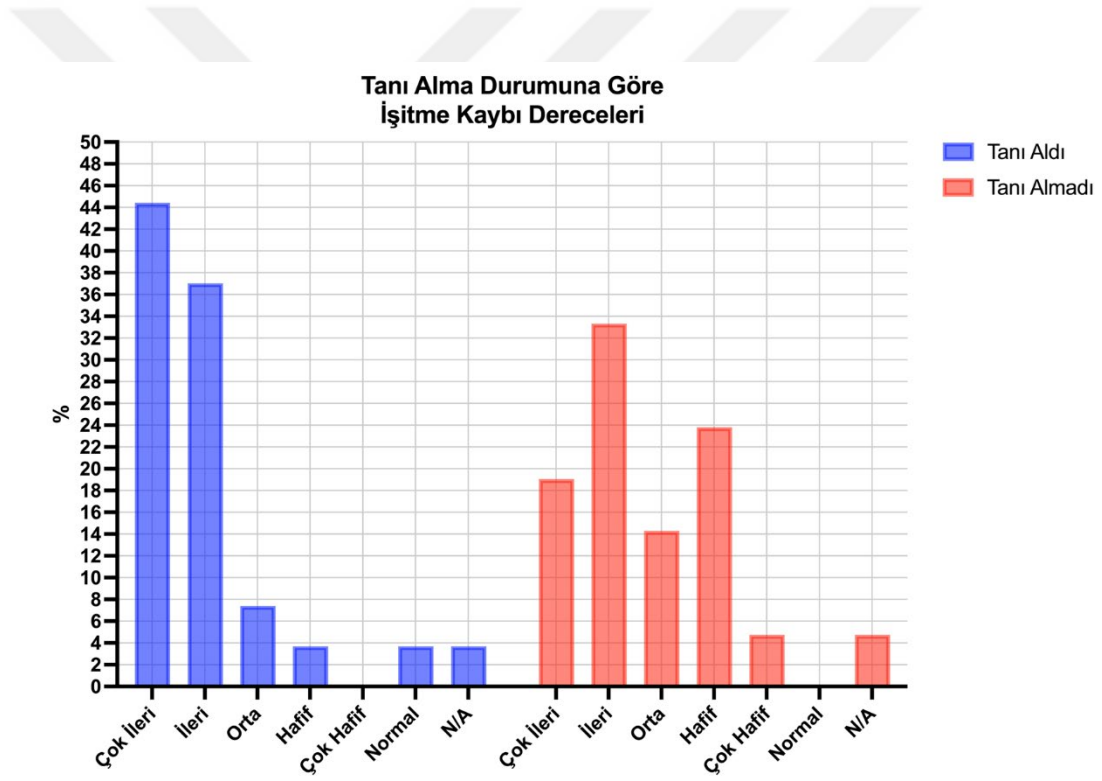
Kesin genetik tanı alan 27 olgunun 12'sinde (%44,44) anne baba arasında akraba evliliği vardı. 2'sinin (%7,4) anne ve babası aynı köydendi. 13'ünün ailesinde akraba evliliği yoktu (%48,14). Anne babası arasında akraba evliliği olan 21 olgunun 12'si (%57,14) kesin genetik tanı almıştır (Şekil 24).



Şekil 24: a) hastaların anne babası arasında akraba evliliği olma durumuna göre tanı alma oranları b) akraba evliliği varlığına göre saptanan tanılarının dağılımı

16 hastanın (%33,33) en az bir kulağında çok ileri işitme kaybı, 17 hastanın (%35,41) en az bir kulağında ileri işitme kaybı, 5 hastanın (%10,41) en az bir kulağında orta işitme kaybı, 6 hastanın (%12,5) en az bir kulağında hafif işitme kaybı, 1 hastanın (%2,1) en az bir kulağında çok hafif işitme kaybı vardı. 1 hastanın (%2,1) odyolojik değerlendirmesi işitsel nöropati ile uyumlu olmakla birlikte işitme eşiği normal sınırlardaydı. 2 hastanın (%4,16) odyolojik verilerine ulaşamamıştır.

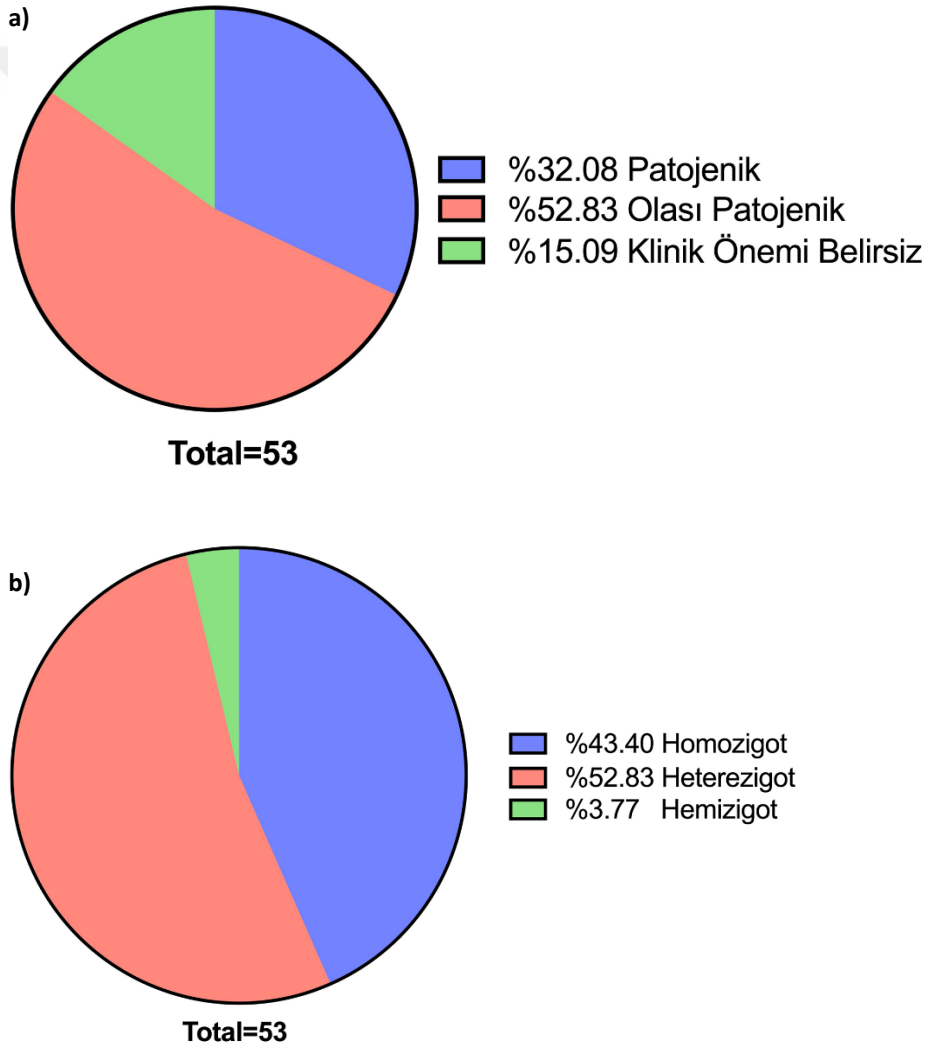
Çok ileri işitme kaybı olan 16 hastanın 12'si (%75), ileri işitme kaybı olan 17 hastanın 10'u (%58,82), orta işitme kaybı olan 5 hastanın 2'si (%40), hafif işitme kaybı olan 6 hastanın 1'i (%17) kesin genetik tanı almıştır. İşitme eşiği normal sınırdaki işitsel nöropati spektrum bozukluğu hastası ve odyolojik verilerine ulaşamayan 2 hastadan birinin de genetik tanısı kesinleştirilmiştir (Şekil 25).



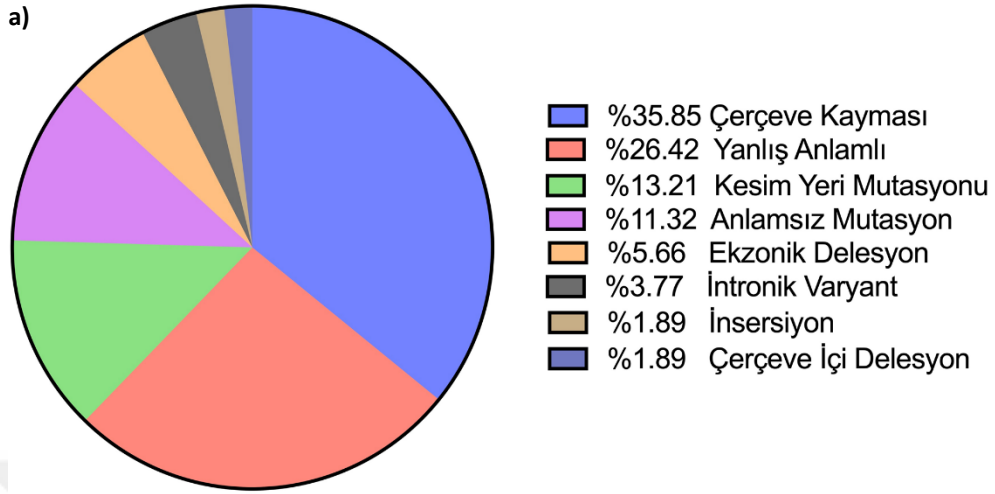
Şekil 25: Tanı alma durumuna göre işitme kaybı dereceleri

4.2.2) Saptanan Varyantlar

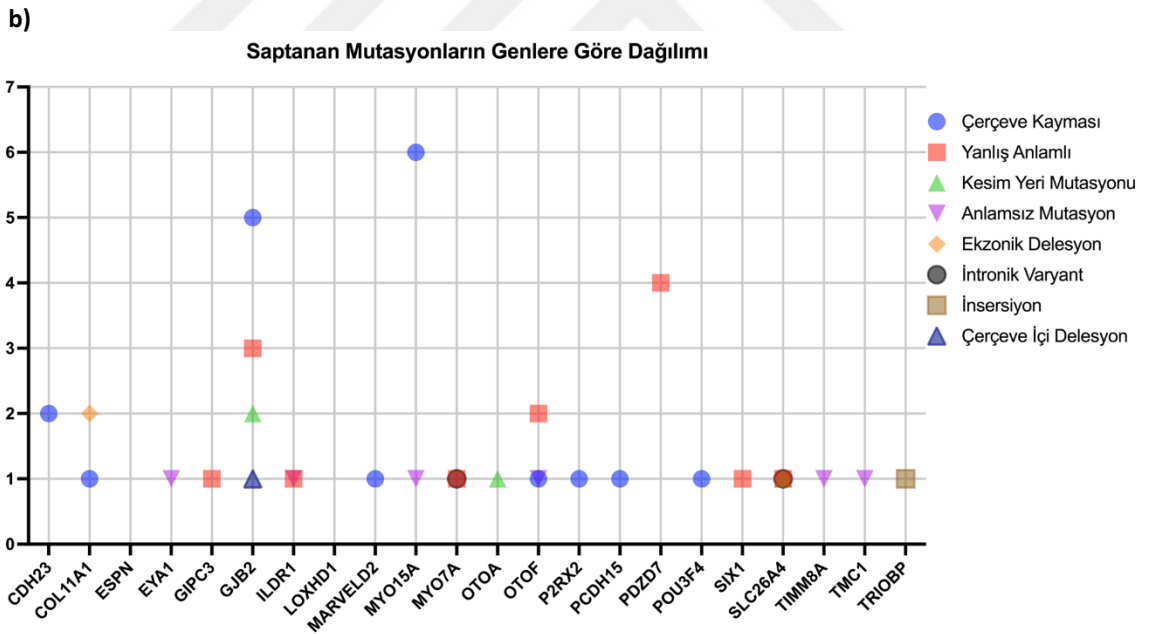
Yeni nesil dizileme analizi yapılan 48 hastada toplam 53 genetik değişiklik saptanmıştır. Saptanan varyantların 17'si (%32,08) patojenik, 28'i (%52,83) olası patojenik, 8'i (%15,09) VUS olarak değerlendirilmiştir (Şekil 26-a). Tespit edilen 53 varyasyonun; 19'u (%35,84) çerçeve kayması, 14'ü (%26,41) yanlış anlamlı (*missense*), 8'i (%15,1) kesim yeri mutasyonu (*splice site*), 6'sı (%11,32) anlamsız (*nonsense*), 3'ü (%5,66) ekzonik delesyon, 1'i (%1,9) çerçeve içi delesyon, 1'i (%1,9) insersiyon, 1'i (%1,9) intronik varyanttır (Şekil 27). Saptanan varyantların 28'i (%52,8) heterozigot, 23'ü (%43,4) homozigot, 2'si (%3,8) hemizigottur (Şekil 26-b). 21 varyant (%39,62) daha önce literatürde bildirilmemiştir.



Şekil 26: a) Saptanan varyantların patojenite dağılımı. b) varyantların zigositeye göre dağılımı



Total=53

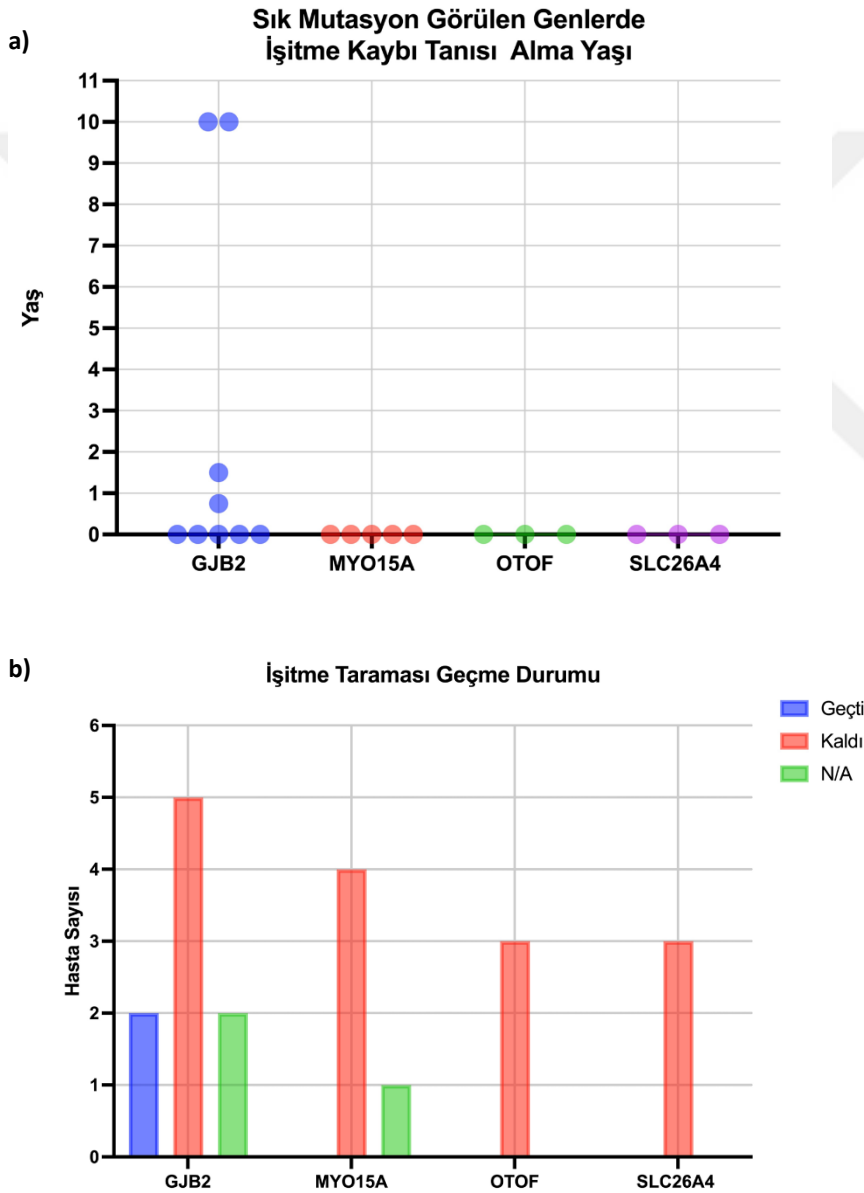


Şekil 27: a) Varyantların mutasyon tipine göre dağılımı b) Genlere göre mutasyon tiplerinin dağılımı

4.2.3) Sık Varyant Saptanan Genler

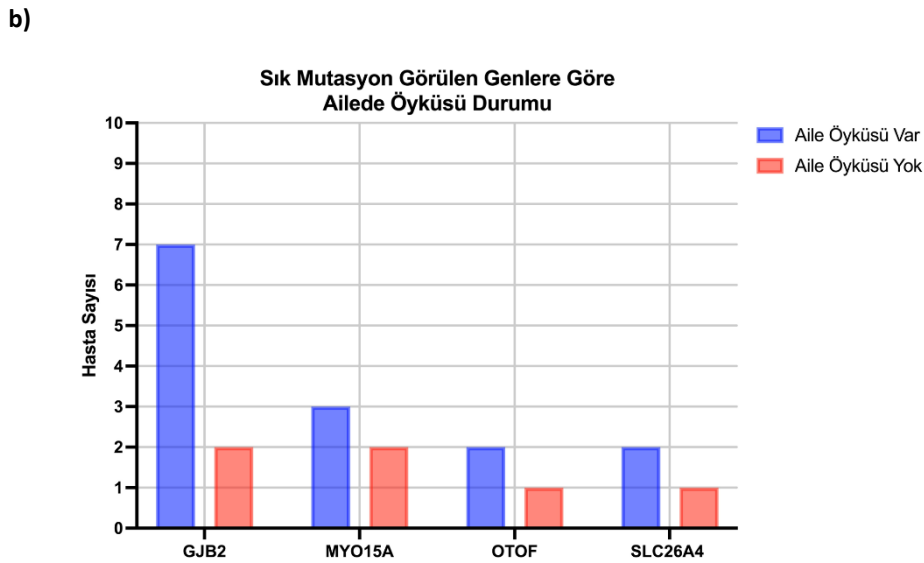
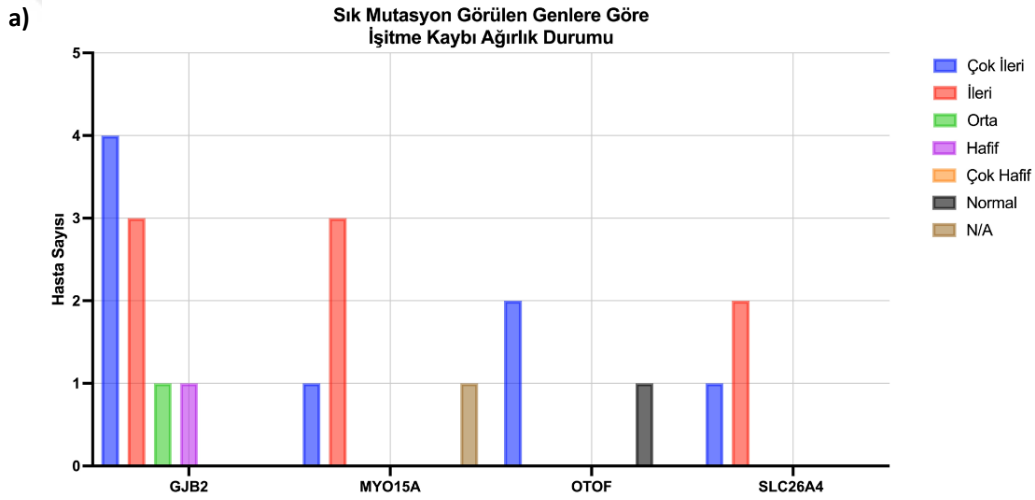
53 varyantın 14'ü (%26,51) *GJB2*, 7'si (%13,2) *MYO15A*, 4'ü (%7,54) *SLC26A4*, 3'ü (%5,66) *OTOF* genlerindedir.

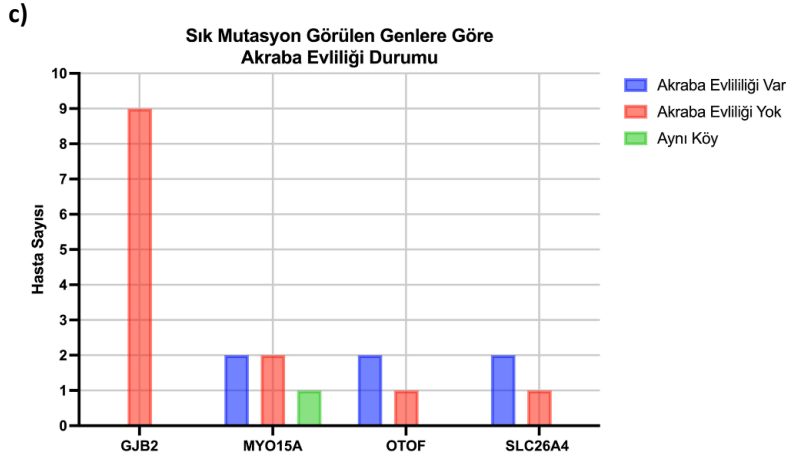
GJB2 varyantı saptanan 9 hastanın 5'i (%55,5) yenidoğan işitme taramasından kalmış, 2'si (%22,2) geçmiştir. *MYO15A* varyantı saptanan 5 hastanın 4'ü (%80) yenidoğan işitme taramasından kalmış, 1'i (%20) geçmiştir. *OTOF* varyantı saptanan 3 hasta ve *SLC26A4* varyantı saptanan 3 hasta yenidoğan işitme taramasından kalmıştır (Şekil 28).



Şekil 28: a) *GJB2*, *MYO15A*, *OTOF* ve *SLC26A4* genlerinde varyant saptanan hastaların işitme kaybı tanı yaşları b) yenidoğan tarama testini geçme durumuna göre dağılımları

GJB2 mutasyonu saptanan hastaların 4'ünde (%44) çok ileri, 3'ünde ileri (%33) 1'inde (%11) orta, 1'inde (%11) hafif; MYO15A mutasyonu saptanan hastaların 1'inde (%20) çok ileri, 3'ünde (%60) ileri, SLC26A4 mutasyonu saptanan hastaların 1'inde (%33) çok ileri, 2'sinde (%67) ileri; OTOF mutasyonu saptanan hastaların 2'sinde (%67) çok ileri işitme kaybı saptanmıştır (Şekil 29-a). Aile öyküsü, GJB2 mutasyonu saptanan hastaların 7'sinde (%78), MYO15A mutasyonu saptanan hastaların 5'inde (%60), OTOF mutasyonu saptanan hastaların 2'sinde (%67), SLC26A4 mutasyonu saptanan hastaların 2'sinde (%67) pozitiftir (Şekil 29-b). GJB2 mutasyonu saptanan hastaların hiçbirinde anne baba arasında akraba evliliği yoktur. MYO15A mutasyonu saptanan hastaların 2'sinin (%40), OTOF mutasyonu saptanan hastaların 2'sinin (%67), SLC26A4 mutasyonu saptanan hastaların 2'sinin (%67) anne babası arasında akraba evliliği vardır. MYO15A mutasyonu saptanan 1 hasanın (%20) anne ve babası aynı köydendir (Şekil 29-c).

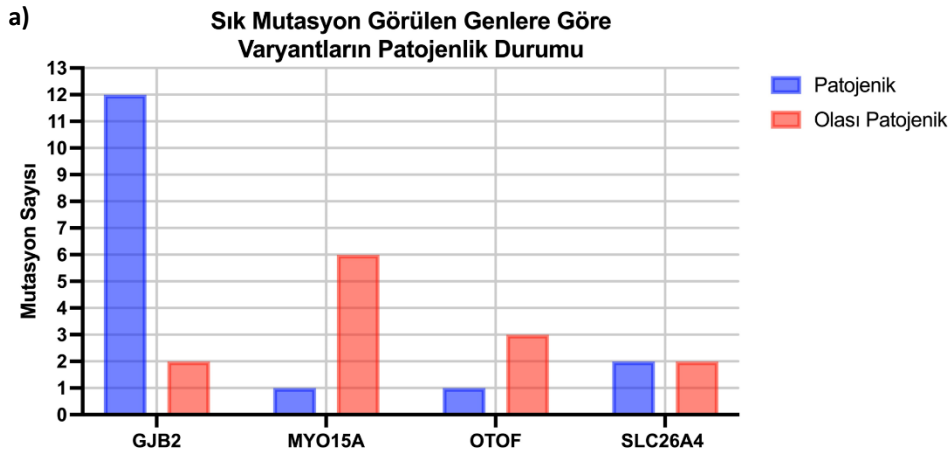


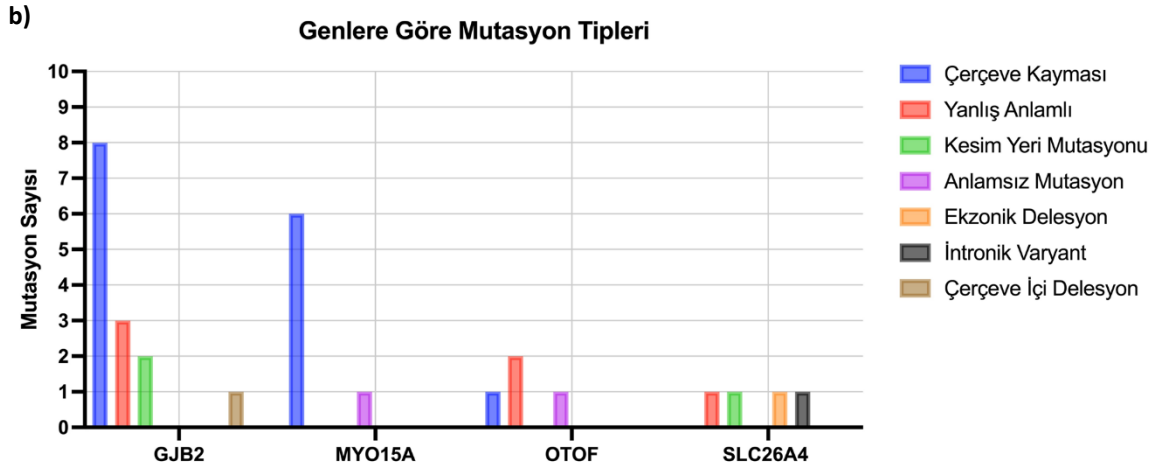


Şekil 29: a) *GJB2*, *MYO15A*, *OTOF* ve *SLC26A4* genlerinde varyant saptanan hastaların işitme kaybı derecesi dağılımı b) ailede benzer klinik öykü dağılımı c) anne babaları arasında akraba evliliği dağılımı

GJB2 geninde saptanan 14 varyantın 12'si (%85,7) patojenik, 2'si (%14,3) olası patojenik; *MYO15A* geninde saptanan 7 varyantın 1'i (%14,3) patojenik, 6'sı (%85,7) olası patojenik; *OTOF* geninde saptanan 4 varyantın 1'i (%25) patojenik, 3'ü (%75) olası patojenik; *SLC26A4* geninde saptanan 4 varyantın 2'si (%50) patojenik, 2'si (%50) olası patojenik olarak değerlendirilmiştir (Şekil 30-a).

GJB2 geninde saptanan varyantların 8'i (%57,14) çerçeve kayması, 3'ü (%21,42) yanlış anlamlı, 2'si (%14,28) kesim yeri mutasyonu, 1'i (%7,14) çerçeve içi delesyon; *MYO15A* geninde saptanan mutasyonların 6'sı (%85,71) çerçeve kayması, 1'i (%14,29) anlamsız mutasyon; *OTOF* geninde saptanan mutasyonların 1'i (%25) çerçeve kayması, 2'si (%50) yanlış anlamlı, 1'i (%25) anlamsız; *SLC26A4* geninde saptanan mutasyonların 1'i (%25) yanlış anlamlı, 1'i (%25) kesim yeri mutasyonu, 1'i (%25) ekzonik delesyon, 1'i (%25) intronik varyant şeklindedir (Şekil 30-b).





Şekil 30: a) *GJB2*, *MYO15A*, *OTOF* ve *SLC26A4* genlerinde saptanan varyantların patojenite dağılımı b) mutasyon tipi dağılımı

Otozomal resesif işitme kaybı tanısı konulan hastaların 6'sında (%31,58) *GJB2*, 4'ünde (%21,05) *MYO15A*, 3'ünde (%15,79) *SLC26A4*, 2'sinde (%10,52) *ESPN*, 1'inde (%5,26) *OTOF*, 1'inde (%5,26) *LOXHD1*, 1'inde (%5,26) *TMC1*, 1'inde *PCDH15* (%5,26) genlerinde bialelik patojenik varyant saptanmıştır.

GJB2 geninde varyant saptanan olgular:

Aile no	Hasta no	Cinsiyet	Tanı	İşitme kaybı derece sağ	İşitme kaybı derece sol	Tanı yaşı	İşitme Taraması	Akraba evliliği	Aile öyküsü	
A3	P3	K	c.35del;c.35del	Kesin	Çok ileri	Çok ileri	Konjenital	kalmış	Yok	Var
A3	P4	E	c.35del;c.-23+1G>A ?	Olası	Orta	Çok ileri	Konjenital	kalmış	Yok	Var
A5	P6	K	c.35del; c.551G>C	Kesin	İleri	İleri	Konjenital	kalmış	Yok	Var
A8	P9	K	c.358_360del; c.-23+1G>A ?	Olası	Hafif	Hafif	Konjenital	kalmış	Yok	Yok
A12	P15	K	c.35del;c.35del	Kesin	Çok ileri	İleri	10 yaş	N/A	Yok	Var
A19	P23	K	c.35del;c.35del	Kesin	İleri	İleri	18 ay	geçmiş	Yok	Var
A21	P25	E	c.35del;c.35del	Kesin	Çok ileri	Çok ileri	9 ay	geçmiş	Yok	Yok
A38	P42	E	c.35del;c..517C>T	Kesin	İleri	İleri	10 yaş	N/A	Yok	Var
A42	P46	K	c.35del; c.94C>T ?	Olası	Orta	Orta	Konjenital	kalmış	Yok	Var

Tablo 5: *GJB2* geninde varyant saptanan hastalar ve özellikleri (6 kesin, 3 olası tanıli hasta)

Kesin tanı konulan ve olası tanı belirlenen toplam 9 hastada 14 *GJB2* varyantı saptanmıştır. Bu varyantların tamamı daha önce Clinvar'da patojenik ve/veya olası patojenik olarak bildirilmiştir. Toplam 14 varyantın 8'i (%57) c.35del (p.Gly12Valfs*2) varyantıdır.

9 hastanın hiçbirinin anne ve babası arasında akraba evliliği yoktur. 7 hastada (%78) aile öyküsü varken 2 hastanın (%22) ailesinde benzer klinik şikayetleri olan birey yoktur. Yenidoğan işitme taramasından 2 hasta (%22) geçmiş, 5 (%55) hasta kalmıştır. 2 hastanın tarama verilerine ulaşılamamıştır.

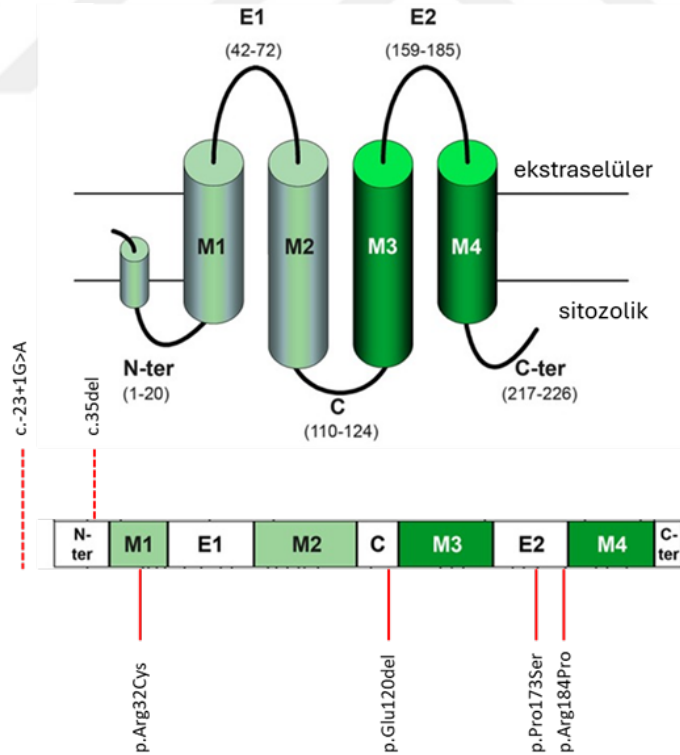
GJB2 geninde mutasyon saptanarak kesin genetik tanı alan 6 hastada 8 varyant saptanmıştır. 8 varyantın 6'sı c.35del (p.Gly12Valfs*2) varyantıdır.

Saptanan varyantlar açısından 6 hastanın 4'ü (%66,7) homozigot, 2'si (%33,3) bileşik heterozigottur. 6 hastanın 5'inde (%83,3) ailede benzer olgu varken 1'inde (%16,7) aile öyküsü yoktur. 3 hastanın (%50) en az bir kulağında çok ileri, 3 hastanın (%50) en az bir kulağında ileri işitme kaybı vardır.

Homozigot varyant saptanan 4 hasta farklı ailelerdendir ve hepsinde c.35del (p.Gly12Valfs*2) varyantı saptanmıştır.

Bileşik heterozigot olan iki hastanın da bir varyantı c.35del (p.Gly12Valfs*2)'dir. 6 numaralı hasta c.35del varyantı ile *trans* formda c.551G>C (p.Arg184Pro) heterozigot varyantını taşımaktadır. 42 numaralı hasta c.35del varyantı ile *trans* formda c.517C>T (p.Pro173Ser) varyantını taşımaktadır.

Hastalarda saptanan *GJB2* varyantlarının protein üzerindeki konumu Şekil 31'de gösterilmiştir.



Şekil 31: Hastalarda saptanan *GJB2* varyantlarının domainlere dağılımı. Kesikli çizgiler: protein kısaltıcı varyantlar. M1: Transmembran domain1, E1 ekstraselüler halka 1, M2: Transmembran domain 2, C: intrasitoplazmik halka, M3: Transmembran domain 3, E2: Ekstraselüler halka, M4: Transmembran domain 4. [72]'den uyarlanmıştır.

MYO15A geninde varyant saptanan olgular:

Aile no	Hasta no	Cinsiyet	Tanı	İşitme kaybı derece sağ	İşitme kaybı derece sol	Tanı yaşı	İşitme Taraması	Akraba evliliği	Aile öyküsü	
A7	P8	K	c.5808_5814del; c.5808_5814del	Kesin	N/A	N/A	Konjenital	Yapılmamış	Var	Var
A11	P14	K	c.3558dup; c.5808_5814del ?	Olası	İleri	İleri	Konjenital	Kalmış	Yok	Yok
A22	P26	E	c.6864_6874del; c.6864_6874del	Kesin	Çok ileri	Çok ileri	Konjenital	Kalmış	Aynı köy	Var
A27	P31	K	c.9893G>A; c.9893G>A	Kesin	İleri	İleri	Konjenital	Kalmış	Var	Yok
A34	P38	E	c.5808_5814del; c.9995_10002dup	Kesin	İleri	İleri	Konjenital	Kalmış	Yok	Var

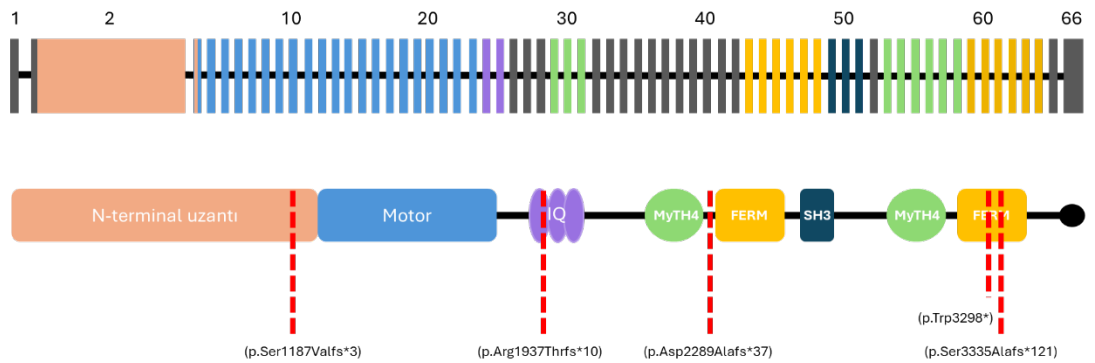
Tablo 6: MYO15A geninde varyant saptanan hastalar ve özellikleri (*Hasta 14'ün tanısı kesinleştirilmemiştir.)

MYO15A mutasyonu saptanan 5 hastanın 2'sinin (%40) anne ve babası arasında akraba evliliği vardır, 2'sinin (%40) anne babası arasında akrabalık yoktur, 1 (%20) hastanın anne ve babası aynı köydedir. 3 hastanın (%60) ailesinde benzer klinik şikayetleri olan bireyler varken 2 hastanın (%40) aile öyküsü yoktur. Yenidoğan işitme taramasına girmemiş bir hasta dışında tüm hastalar işitme taramasından kalmıştır.

MYO15A geninde mutasyon saptanarak kesin genetik tanı alan 4 hastada 5 varyant saptandı. 5 varyantın 2'si c.5808_5814del (p.Arg1937Thrfs*10) varyantıdır.

Saptanan varyantlar açısından 4 hastanın 3'ü (%75) homozigot, 1' (%25) bileşik heterozigottur. 4 hastadan birinin işitme kaybı derecesine dair verilere ulaşılamamıştır. 2'sinde (%50) her iki kulakta ileri, 1'inde (%25) her iki kulakta çok ileri işitme kaybı vardır.

MYO15A geninde saptadığımız varyantların tamamı protein kısaltıcı varyantlardır ve protein üzerindeki konumları Şekil 32'de gösterilmiştir.



Şekil 32: Hastalarda saptanan MYO15A varyantlarının domainlere göre dağılımı. [73]'den uyarlanmıştır.

SLC26A4 geninde varyant saptanan olgular:

Aile no	Hasta no	Cinsiyet	Tanı	İşitme kaybı derece sağ	İşitme kaybı derece sol	Tanı yaşı	İşitme Taraması	Akraba evliliği	Aile öyküsü
A13	P16	E	c.1804-81G>A; c.1614+1G>C	Kesin İleri	İleri	Konjenital	kalmış	Yok	Var
A26	P30	E	Ekzon 1 delesyonu; Ekzon 1 delasyonu	Kesin Çok ileri	Çok ileri	Konjenital	kalmış	Var	Var
A28	P32	E	c.1334T>G; c.1334T>G	Kesin İleri	İleri	Konjenital	kalmış	Var	Yok

Tablo 7: SLC26A4 geninde varyant saptanan hastalar ve özellikleri

3 hastada 4 SLC26A4 varyantı saptanmıştır. Saptanan varyantların biri patojenik/olası patojenik, biri patojenik olarak Clinvar'da tanımlanmıştır. 2 varyasyon daha önce literatürde bildirilmemiştir.

Saptanan varyantlar açısından 3 hastanın 2'si (%66,7) homozigot, 1'i (%33,3) bileşik heterozigottur. Homozigot genetik değişiklik gözlenen iki hastanın anne babası arasında akraba evliliği vardır. Bu iki hastadan birinin aile öyküsü mevcutken diğerinin ailesinde benzer olgu yoktur. Bileşik heterozigot varyant saptanan hastanın anne ve babası arasında akrabalık yoktur, ailede benzer fenotipe sahip birey vardı. 3 hastada da klinik ve laboratuvar hipotirodi bulguları saptanmamıştır.

Hasta 12 ve hasta 13'te ESPN geninde homozigot ekzon 7-8 delesyonu saptanmıştır. Daha önce bildirilmemiş olan kopya sayısı değişikliği olası patojenik olarak değerlendirilmiştir.

3 yaşında bilateral çok ileri sensörinöral işitme kaybı tanısı alan hasta 22'de TMC1(NM_138691.3) geninde homozigot c.1564C>T (p.Gln522*) varyantı tespit edilmiştir. Clinvar'da bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirilmiştir.

Konjenital bilateral orta derece işitme kaybı olan hasta 40'ta OTOA(NM_144672.4) geninde homozigot c.2302-2A>C varyantı saptanmıştır. Clinvar'da bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirilmiştir.

Bilateral ileri sensörinöral işitme kaybı olan hasta 43'te LOXHD1(NM_001384474.1) geninde homozigot c.1289G>A (p.Trp430*) varyantı saptanmıştır. Clinvar'da tanımlı olmayan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirilmiştir.

Bilateral konjenital ileri işitme kaybı olan hasta 29'un anne babası arasında akrabalık ve aile öyküsü mevcuttur. Hastada PCDH15(NM_001384140.1) geninde homozigot c.3717+5G>A varyantı saptanmıştır. Daha önce literatürde bildirilmemiş olan

varyantın kırılmayı bozduğu öngörülmüştür ve ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2, PP3) olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda 2 hasta otozomal dominant işitme kaybı tanısı almıştır (%4,16).

Sağ kulağında çok ileri, sol kulağında ileri konjenital sensörinöral ilerleyici işitme kaybı olan 5 numaralı hastada *P2RX2*(NM_170682.4) geninde heterozigot c.103_104delinsA (p.Val35Argfs*2) varyantı saptanmıştır. Daha önce bildirilmemiş olan varyant olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirilmiş ve hastaya otozomal dominant işitme kaybı tip 41 tanısı konulmuştur.

39 numaralı hastada *COL11A1*(NM_001854.4) geninde heterozigot c.4459_4460dup (p.Asp1487Glufs*12) varyantı saptanmıştır. Daha önce bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirilmiş ve izole bilateral orta derece konjenital işitme kaybı olan hastaya otozomal dominant işitme kaybı tip 37 (MIM:#618533) tanısı konulmuştur.

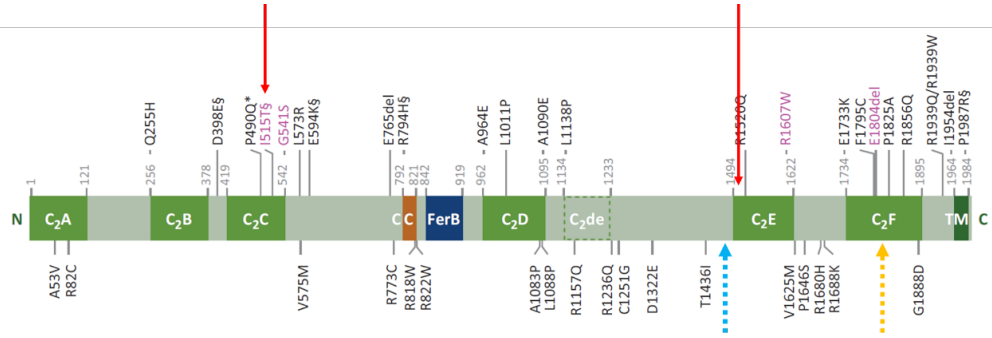
3 hastaya otozomal resesif işitsel nöropati tip 1 (MIM: #601071) tanısı konulmuştur. (%6,25). 3 hastada *OTOF* geninde toplam 4 varyant saptanmıştır. Bunların ikisi ClinVar veri tabanında daha önce patojenik ve/veya olası patojenik olarak tanımlanmıştır. Diğer varyantlardan biri ClinVar'da tanımlı değilken literatürde [74] bildirilmiştir, diğer varyant ise noveldir. Saptanan novel varyant olası patojenik (PM2, PP3, PP4) olarak değerlendirilmiştir.

Otozomal resesif işitsel nöropati tanısı alan olgular:

Aile no	Hasta no	Cinsiyet	Tanı	İşitme kaybı derece sağ	İşitme kaybı derece sol	Tanı yaşı	İşitme Taraması	Akraba evliliği	Aile öyküsü	
A1	P1	K	c.4467dup; c.4467dup	Kesin	Çok ileri	Çok ileri	Konjenital	kalmış	Var	Var
A6	P7	E	c.1544T>C; c.4499G>C	Kesin	-	-	Konjenital	kalmış	Yok	Yok
A24	P28	E	c.5431A>T; c.5431A>T	Kesin	Çok ileri	Çok ileri	Konjenital	kalmış	Var	Var

Tablo 8: *OTOF* geninde varyant saptanan hastalar ve özellikleri

Saptanan *OTOF* varyantlarının protein üzerindeki konumu Şekil 33'te gösterilmiştir.



Şekil 33: Hastalarda saptanan *OTOF* varyantlarının otoferlin proteini domainleri üzerinde şematik gösterimi. Mavi ok: Hasta 1'de saptanan p.Ile1490Hisfs*19 varyantı. Kırmızı ok: Hasta 7'de saptanan p.Ile515Thr ve p.Arg1500Pro varyantları. Sarı ok: Hasta 28'de saptanan p.Lys1811* varyantı. Tireli oklar: Kısıltıcı varyantlar. [75]'den uyarlanmıştır.

1 numaralı hastada *OTOF*(NM_194248.3) geninde homozigot c.4467dup (p.Ile1490Hisfs*19) varyantı saptanmıştır. Daha önce Clinvar'da tanımlanmamış olan varyant Türk bir resesif işitme kaybı ailesinde bildirilmiştir [138]. ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirilmiştir.

7 numaralı hastada *OTOF* geninde bileşik heterozigot c.1544T>C (p.Ile515Thr) ve c.4499G>C (p.Arg1500Pro) varyantları saptanmıştır. *OTOF* c.1544T>C varyantı daha önce Clinvar'da olası patojenik olarak bildirilmiştir, c.4499G>C varyantı daha önce bildirilmemiş olup ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PM2, PM3, PP3, PP4) olarak değerlendirilmiştir.

28 numaralı hastada *OTOF* geninde homozigot c.5431A>T (p.Lys1811*) varyantı saptanmıştır. Varyant daha önce Clinvar'da patojenik, olası patojenik olarak bildirilmiştir.

İzole işitme kaybı tanısı ile değerlendirilen 3 hasta genetik sendrom tanısı almıştır (%6,25).

41 numaralı hastada *EYA1*(NM_000503.6) geninde heterozigot c.1081C>T (p.Arg361*) varyantı saptanarak brankiootik sendrom tip 1 (MIM: #602588) tanısı konulmuştur. Varyant, Clinvar veri tabanında patojenik olarak bildirilmiştir.

45 numaralı hastada *SIX1*(NM_005982.4) geninde heterozigot c.328_330delinsTGT (p.Arg110Cys) varyantı saptanmış ve brankiootik sendrom tip 3 ((MIM:#608389) tanısı konulmuştur. Clinvar'da tanımlı olmayan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PM1, PM2, PM5, PP4) olarak değerlendirilmiştir.

47 numaralı hastada *TIMM8A*(NM_004085.4) geninde heterozigot c.65_66delinsAA (p.Phe22*) varyantı saptanmış ve daha önce bildirilmemiş olan varyant ACMG

kriterlerine göre olası patojenik (PVS, PM2) olarak değerlendirilerek hastaya Mohr-Tranebjaerg Sendromu (MTS) tanısı konulmuştur.

48 hastanın 21'ine (%43,75) kesin tanı konulmamıştır. Genetik tanısı kesinleşmeyen hastaların 12'sinde (%57,14) olası genetik tanıyı açıklayabilecek varyantlar saptanmıştır.

5 hastada saptanan varyantların zigositesi tespit edilemediğinden tanı kesinleştirilememiştir.

Sağ kulağında orta, sol kulağında çok ileri derecede konjenital sensörinöral işitme kaybı olan 4 numaralı hastanın genetik değerlendirmesinde *GJB2*(NM_004004.6) geninde heterozigot c.35del (p.Gly12Valfs*2) ve heterozigot c.-23+1G>A varyantları saptanmıştır. Varyantların *trans* formda taşındığının doğrulanamamış olması nedeniyle 4 numaralı hastanın genetik tanısı kesinleştirilmemiştir.

9 numaralı hasta, bilateral hafif konjenital sensörinöral işitme kaybı olan 3 yaşında kız hastaydı. Anne ve babası arasında akraba evliliği olmayan hastanın *GJB2*(NM_004004.6) geninde heterozigot c.358_360del (p.Glu120del) ve heterozigot c.-23+1G>A varyantları saptanmıştır. Saptanan varyantlar daha önce patojenik olarak bildirilmiş varyantlardır. Ancak segregasyon analizi yapılamadığından varyantların bileşik heterozigot olup olmadığı gözlenememiş ve genetik tanı kesinleştirilememiştir.

14 numaralı hasta bilateral konjenital ileri sensörinöral işitme kaybı olan 2 yaşında kız hasta idi. Anne ve babası arasında akrabalık olmayan hastanın *MYO15A*(NM_016239.4) geninde heterozigot c.3558dup (p.Ser1187Valfs*3) ve heterozigot c.5808_5814del (p.Arg1937Thrfs*10) varyantları saptanmıştır. İki varyant da daha önce literatürde bildirilmemiş olup ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirilmiştir. *MYO15A* ilişkili işitme kaybı hastanın kliniği ile uyumlu olmakla birlikte gözlenen varyantların *trans* formda taşındığının gösterilememesi nedeniyle genetik tanı kesinleştirilmemiştir.

Yenidoğan işitme taramasını geçen ve 10 aylıkken bilateral ileri sensörinöral işitme kaybı tanısı alan hasta 18'in aile öyküsü ve anne babası arasında akrabalık yoktur. Hastanın *CDH23*(NM_001171930.2) geninde heterozigot c.2290-1G>A varyantı saptanmıştır. Varyant, daha önce Clinvar'da olası patojenik olarak bildirilmiştir. Hastanın *CDH23*(NM_001171930.2) geninde ayrıca heterozigot c.67+1G>T varyantı saptanmıştır. Daha önce Clinvar'da bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirilmiştir. Saptanan varyantların bileşik heterozigotluğu doğrulanamamıştır.

46 numaralı hasta bilateral konjenital orta derece sensörinöral işitme kaybı olan 1 yaşında kız hastaydı. Anne ve babası arasında akrabalık olmayan hastanın kız kardeşinde benzer fenotip vardır. Ek sistem bulguları normal olan hastanın genetik incelemesinde *GJB2*(NM_004004) geninde heterozigot c.35del (p.Gly12Valfs*2) ve heterozigot c.94C>T (p.Arg32Cys) varyantları saptanmıştır. İki varyant da Clinvar'da patojenik olarak tanımlanmış ve otozomal resesif işitme kaybı tip 1 ile ilişkilendirilmiştir. Ancak segregasyon analizi yapılamaması nedeniyle bileşik heterozigotluk doğrulanamamış ve hastanın genetik tanısı kesinleştirilememiştir.

5 hastada klinik önemi belirsiz varyant saptanarak olası tanılar öngörülmüştür.

Bunlar arasında, Hasta 10 ve hasta 11 farklı zamanlarda yeni nesil dizileme yapılmış iki kardeşdir. Hasta 10, 2 yaşında bilateral sensörinöral orta derece işitme kaybı tanısı almıştır; hasta 11 ise yenidoğan işitme taramasından geçememiştir. Anne babaları arasında akraba evliliği olan iki kardeşte de ek sistem bulgusu mevcut değildir. Genetik değerlendirmede iki kardeşte de *PDZD7*(NM_001195263.2) geninde homozigot c.224A>T (p.Glu75Val) varyantı saptanmıştır. Clinvar'da VUS olarak bildirilmiş olan varyant, ACMG kriterlerine göre de VUS (PM2, PP1, PP3, PP4) olarak değerlendirilmiştir.

Bilateral konjenital ileri işitme kaybı olan hasta 24'te *PDZD7*(NM_001195263.2) geninde bileşik heterozigot olarak c.307G>C (p.Gly103Arg) ve c.316G>C (p.Glu106Gln) varyantları saptanmıştır. *PDZD7* c.307G>C varyantı daha önce Clinvar'da patojenik/olası patojenik olarak bildirilmiştir. Daha önce tanımlanmamış olan c.316G>C varyantı ACMG kriterlerine göre VUS (PM2, PP3) olarak değerlendirilmiştir.

Aile öyküsü ve anne babası arasında akraba evliliği mevcut olan hasta 33'te bilateral konjenital ileri işitme kaybı vardır. Genetik değerlendirmesinde *MARVELD2*(NM_001038603.3) geninde homozigot c.1621_1625del (p.Gln541Asnfs*5) varyantı saptanmıştır. Clinvar'da tanımlı olmayan varyant ACMG kriterlerine göre VUS (PM2) olarak değerlendirilmiştir. Hastada ayrıca *ILDR1*(NM_001199799.2) geninde homozigot c.979C>G (p.Arg327Gly) değişimi saptanmıştır. Varyant, Clinvar'da tanımlı değildir ve ACMG kriterlerine göre VUS (PM2, PP3) olarak değerlendirilmiştir.

Yenidoğan işitme taramasını geçmiş olan hasta 48, 7 aylıkken bilateral ileri işitme kaybı tanısı almıştır. Aile öyküsü ve anne babası arasında akrabalık olan hastanın *GIPC3*(NM_133261.3) geninde homozigot c.592G>A (p.Asp198Asn) varyantı saptanmıştır. c.592G>A varyantı Clinvar'da VUS olarak bildirilmiştir ve ACMG kriterlerine göre VUS (PM2, PP3) olarak değerlendirilmiştir.

2 hastada saptanan varyantlar data kalitesi güvenilir olmadığından şüpheli bulunmuş ve genetik tanı kesinleştirilmemiştir.

2 yaşında bilateral sensörinöral işitme kaybı tanısı almış olan hasta 17'de *TRIOBP*(NM_001039141.2) geninde homozigot c.1772_1773ins294 (p.Pro590_Asn591ins98) şüphesi saptanmıştır. Clinvar'da tanımlı olmayan varyantın ACMG kriterlerine göre olası patojenik olduğu öngörülmüştür ancak, data kalitesi yeterli görülmediğinden genetik tanı kesinleştirilmemiştir. Hastada *MYO7A*(NM_000260.3) geninde heterozigot c.2282+5G>A ve heterozigot c.2119C>A (p.Arg707Ser) varyantları saptanmıştır. *MYO7A* geninde saptanan her iki varyant da Clinvar'da VUS olarak tanımlıdır ve ACMG kriterlerine göre VUS (sırasıyla; PM2, PP3 ve PM2) olarak değerlendirilmiştir.

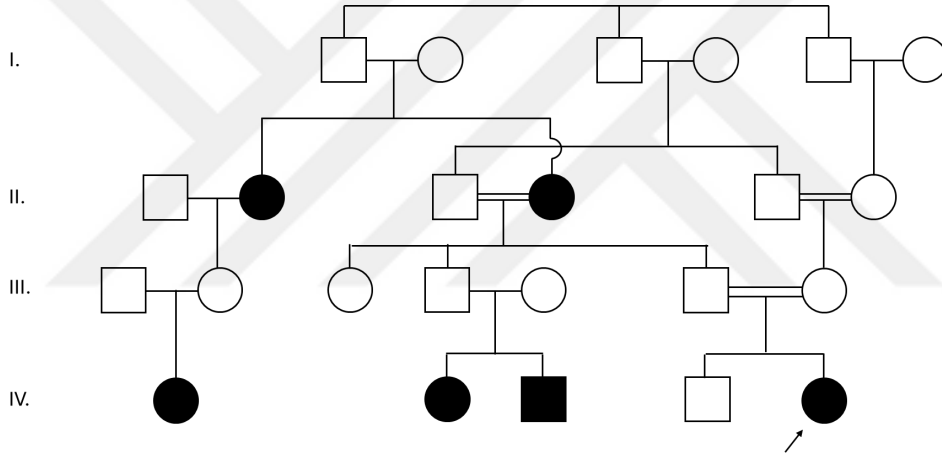
Anne babası arasında akraba evliliği olmayan ve aile öyküsü pozitif olan hasta 27'nin bilateral konjenital sensörinöral orta derece işitme kaybı vardır. Hastada *POU3F4*(NM_000307.5) geninde hemizigot c.111_504delinsGTACAGTTATAAAGTTATAACTGTTC (p.Leu38Tyrfs*32) varyant şüphesi gözlenmiştir. Clinvar'da bildirilmemiş olan varyantın ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olduğu öngörülmekle birlikte data kalitesi güvenilir bulunmadığından genetik tanı kesinleştirilmemiştir.

4.3) Seçili Olguların Klinik ve Genetik Bulguları

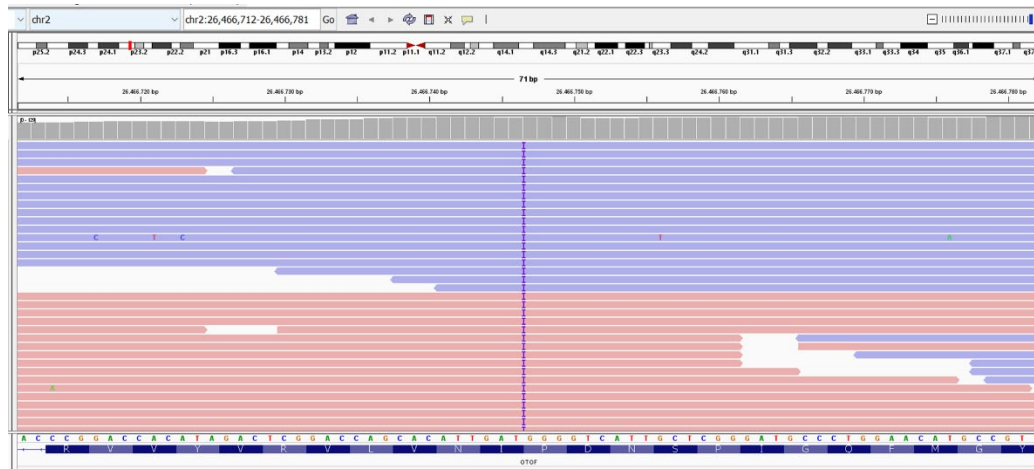
Hasta 1:

1 yaş 8 aylık kız hasta. Yenidoğan işitme taramasından geçemeyen hastanın odyolojik değerlendirmesinde işitsel nöropati spektrum bozukluğu ve bilateral çok ileri sensörinöral işitme kaybı saptandı. Hastanın anne ve babası arasında çift kuzen evliliği vardı (Şekil 34). Ek bulgusu olmayan hasta, bilateral koklear implant ile takip edilmekteydi.

Yapılan genetik incelemesinde, *OTOF*(NM_194248.3) geninde homozigot c.4467dup p.(Ile1490Hisfs*19) varyantı saptandı (Şekil 35). Clinvar'da daha önce bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. *OTOF* genindeki bialelik mutasyonlar OMIM'de (MIM:#601071) otozomal resesif işitsel nöropati tip 1 ile ilişkilendirilmiştir. Saptanan varyant açısından aile taraması planlandı.



Şekil 34: Hasta 1'in aile ağacı çizimi.



Şekil 35: *OTOF*(NM_194248.3) homozigot c.4467dup varyantının IGV görüntüsü.

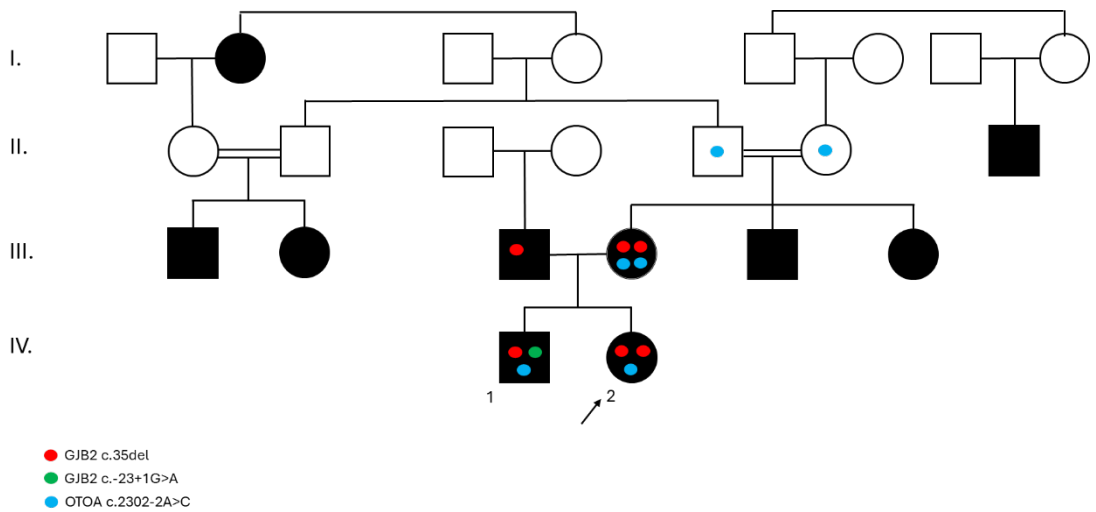
Hasta 3:

3 yaşında kız hasta. Yenidoğan işitme taramasından geçemeyen hastaya odyolojik değerlendirme sonucu bilateral çok ileri sensörinöral işitme kaybı tanısı konuldu. Hastanın 8 yaşındaki erkek kardeşinde (hasta 4), annesinde ve babasında da konjenital bilateral sensörinöral işitme kaybı vardı. Anne ve babası arasında akrabalık olmayan hastanın ve ailesindeki işitme kaybı olan bireylerin ek sistem bulgusu yoktu (Şekil 36).

Yapılan genetik incelemede hasta 3'ün *GJB2*(NM_004004.6) geninde homozigot c.35del (p.Gly12Valfs*2) varyantı saptandı. Hastanın işitme kaybı olan erkek kardeşinden (hasta 4) yapılan yeni nesil dizileme analizinde *GJB2*(NM_004004.6) geninde heterozigot c.35del (p.Gly12Valfs*2) varyantı ve heterozigot c.-23+1G>A varyantı saptandı (Şekil 37). *GJB2*(NM_004004.6) c.35del ve c.-23+1G>A varyantları Clinvar veri tabanında patojenik olarak bildirilmiştir. *GJB2* genindeki bilalelik mutasyonlar OMIM'de (MIM: #220290) otozomal resesif işitme kaybı tip 1A ile ilişkilendirilmiştir.

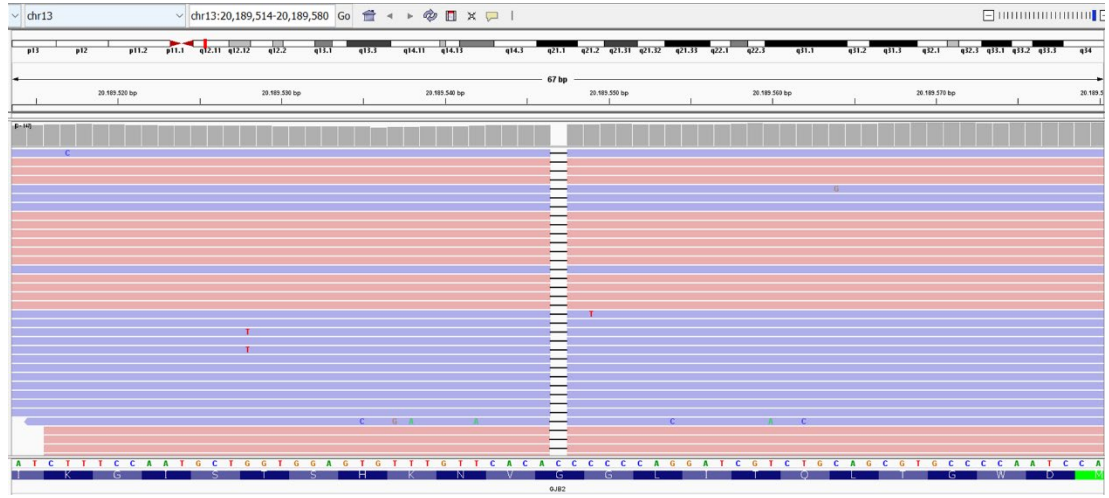
Hastanın annesine dış merkezde genetik test yapılmıştı ve *GJB2*(NM_004004.6) geninde homozigot c.35del (p.Gly12Valfs*2) varyantı ile *OTOA*(NM_144672.4) geninde homozigot c.2302-2A>C varyantı bildirilmişti.

Hastanın babasından yapılan segregasyon analizinde *GJB2*(NM_004004.6) geninde heterozigot c.35del p.(Gly12Valfs*2) varyantı saptanmıştır. *GJB2*(NM_004004.6) c.-23+1G>A varyantı için segregasyon planlandı.

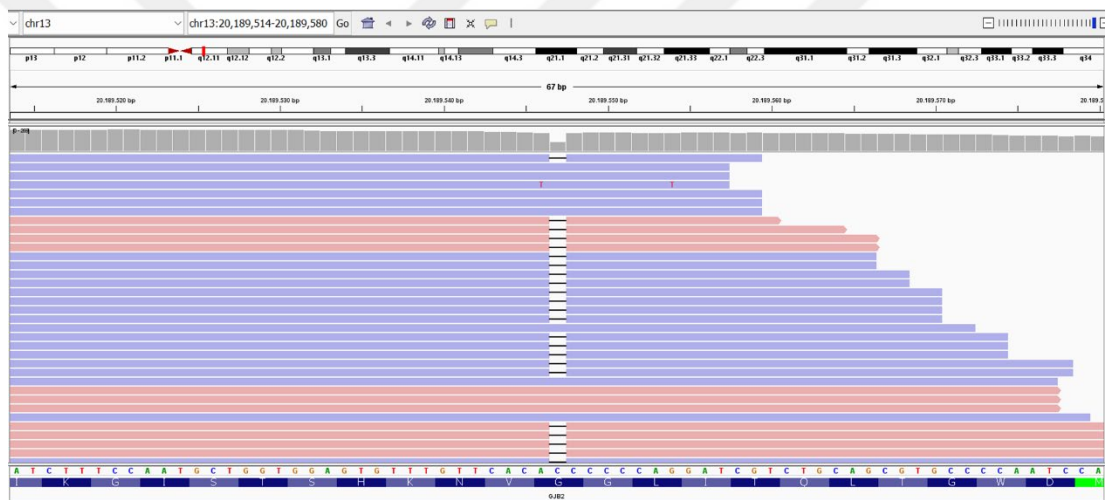


Şekil 36: Hasta 3'ün aile ağacı çizimi

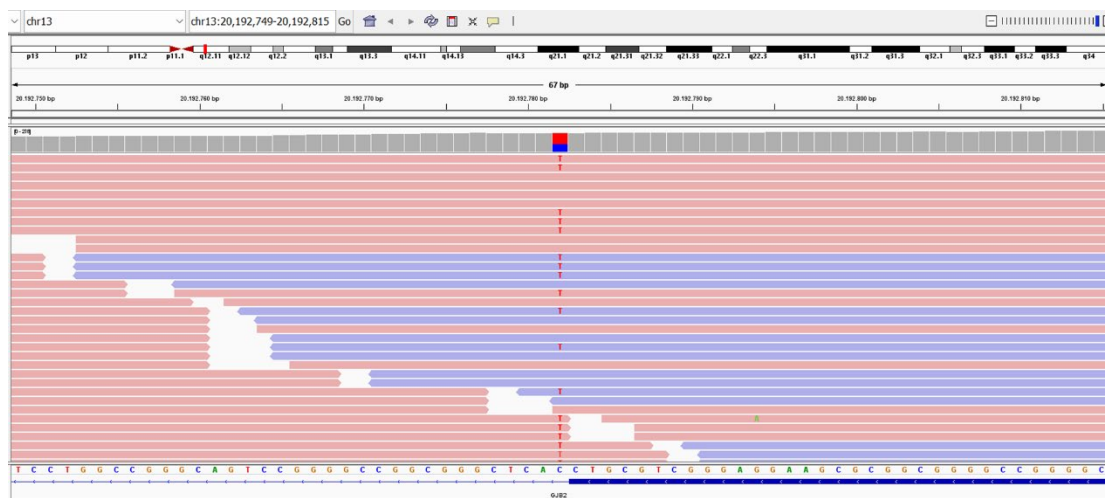
a)



b)



c)

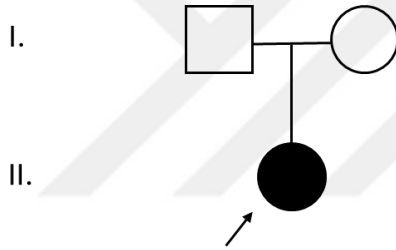


Şekil 37: a) Hasta 3' e ait *GJB2*(NM_004004.6) homozigot c.35del varyantı IGV görüntüsü b-c) Hasta 4'e ait, sırasıyla, *GJB2*(NM_004004.6) heterozigot c.35del ve heterozigot c.-23+1G>A varyantlarının IGV görüntüleri

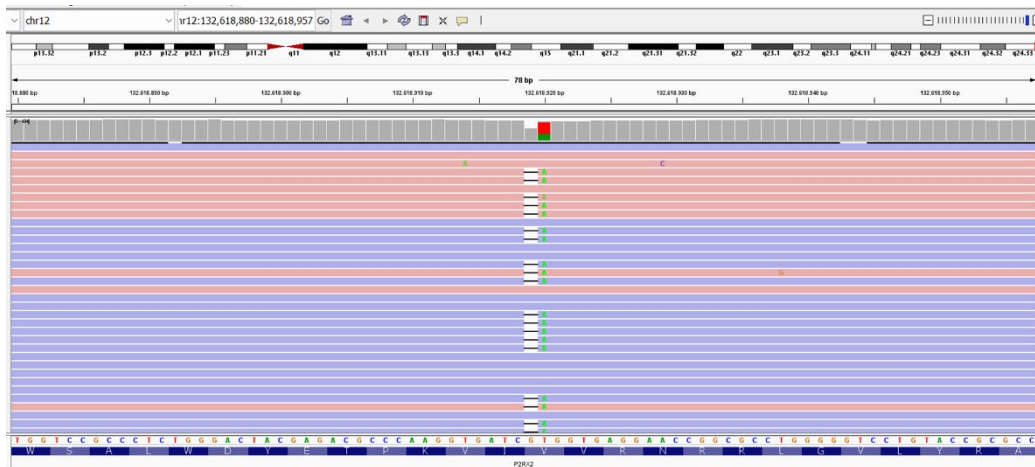
Hasta 5:

8 yaşında kız hasta. Yenidoğan işitme taramasında bilateral işitme kaybı saptanan hasta, ilerleyici sensörinöral işitme kaybı nedeniyle değerlendirildi. Hastanın sağ kulağı, ileriden çok ileri işitme kaybına; sol kulağı ortadan ileri işitme kaybına ilerlemişti. Hastaya 2,5 yaşında iken bilateral koklear implant uygulanmıştı. Ek bulgusu olmayan hastanın anne ve babası arasında akrabalık bulunmuyordu (Şekil 38).

Yapılan genetik incelemesinde *P2RX2*(NM_170682.4) geninde heterozigot c.103_104delinsA (p.Val35Argfs*2) varyantı tespit edildi (Şekil 39). Saptanan varyant, Clinvar veri tabanında tanımlı değildi ve ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. *P2RX2* genindeki monoalelik mutasyonlar OMIM'de (MIM:#608224) otozomal dominant işitme kaybı tip 41 ile ilişkilendirilmiştir. Ailesinde benzer olgu olmayan hastanın anne ve babasından segregasyon analizi planlandı.



Şekil 38: Hasta 5'in aile ağacı çizimi.

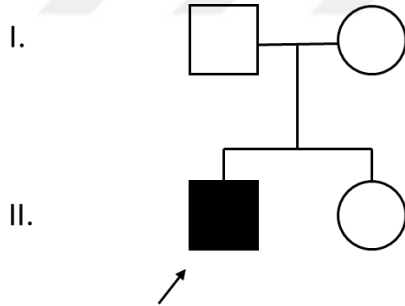


Şekil 39: *P2RX2* (NM_170682.4) heterozigot c.103_104delinsA varyantının IGV görüntüsü.

Hasta 7:

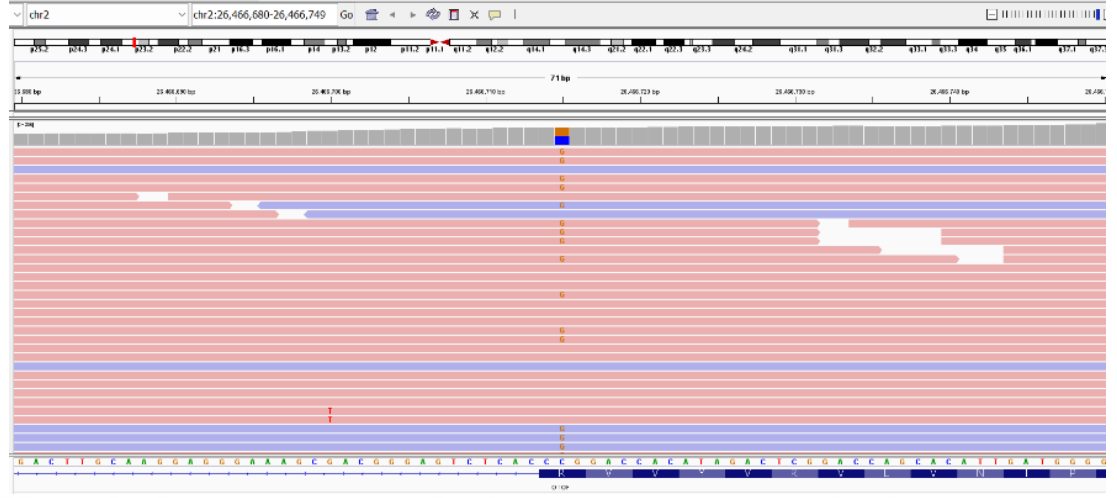
7 yaşında erkek hasta, yenidoğan işitme taramasından bilateral geçememesi üzerine yapılan araştırmada işitsel nöropati spektrum bozukluğu tanısı alması üzerine değerlendirildi. Annesinden alınan anamnezinde hastanın sese yanıt verdiği, konuşmaya zamanında başladığı ancak enfeksiyon dönemlerinde sese yanıtı azaldığı ve ani işitme kaybı şikayetiyle tekrarlayan hastane başvuruları olduğu öğrenildi. Enfeksiyonsuz dönemlerde yapılan odyolojik değerlendirmede işitme eşikleri normal sınırlarda saptanıyordu. Ek sistem bulgusu olmayan hastanın anne ve babası arasında akraba evliliği yoktu (Şekil 40).

Genetik incelemede *OTOF*(NM_194248.3) geninde heterozigot c.1544T>C (p.Ile515Thr) varyantı ve heterozigot c.4499G>C (p.Arg1500Pro) varyantları saptandı (Şekil 41). *OTOF*(NM_194248.3) p.Ile515Thr varyantı daha önce Clinvar'da olası patojenik olarak bildirilmişti ve ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PM2, PM3, PP1, PP3, PP4) olarak değerlendirildi. *OTOF*(NM_194248.3) p.Arg1500Pro varyantı daha önce Clinvar'da bildirilmemişti. ACMG kriterlerine göre olası patojenik varyant (PM2, PM3, PP3, PP4) olarak değerlendirildi. *OTOF* genindeki bialelik mutasyonlar OMIM'de (MIM:#601071) otozomal resesif işitsel nöropati tip 1 ile ilişkilendirilmiştir. Saptanan varyant açısından segregasyon çalışması planlandı.

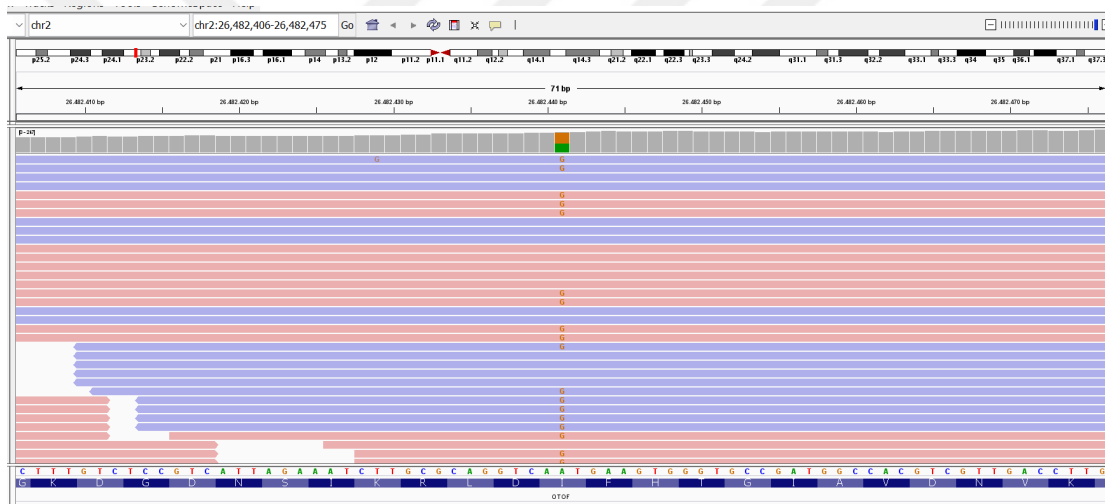


Şekil 40: Hasta 7'nin aile ağacı çizimi.

a)



b)

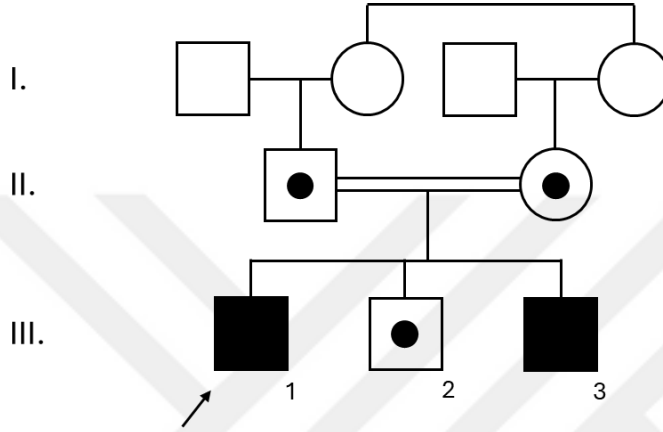


Şekil 41: a) *OTOF*(NM_194248.3) heterozigot c.1544T>C varyantının IGV görüntüsü. b) *OTOF*(NM_194248.3) heterozigot c.4499G>C varyantının IGV görüntüsü.

Hasta 10:

16 yaşında erkek hasta. 2 yaşında, konuşmada gecikme nedeniyle yapılan tetkiklerde bilateral orta dereceli sensörinöral işitme kaybı tanısı alması ve 5 yaşındaki erkek kardeşinde (hasta 11) konjenital bilateral sensörinöral işitme kaybı olması nedeniyle değerlendirilmeye alındı. Anne ve babaları arasında birinci kuzen evliliği olan iki kardeşin ek sistem bulguları yoktu (Şekil 42).

Yapılan genetik incelemede iki kardeşte de *PDZD7*(NM_001195263.2) geninde homozigot c.224A>T p.(Glu75Val) varyantı saptandı (Şekil 43). Saptanan varyant daha önce Clinvar'da klinik önemi belirsiz varyant olarak bildirilmişti. ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz varyant (PM2, PP1, PP3, PP4) olarak değerlendirildi. Yapılan segregasyon çalışmasında anne, baba ve sağlıklı kardeşin taşıyıcı olduğu saptandı. *PDZD7* geninde saptanan bialelik mutasyonlar OMIM'de (MIM:#618003) otozomal resesif işitme kaybı tip 57 ile ilişkilendirilmiştir.

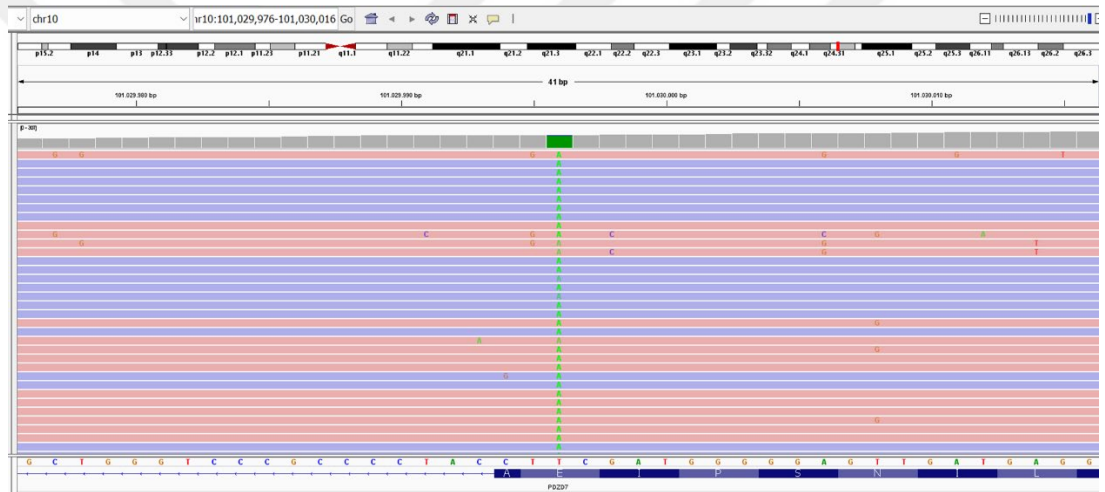


Şekil 42: Hasta 10 (III-1) ve 11'in (III-3) aile ağacı çizimi.

a)



b)



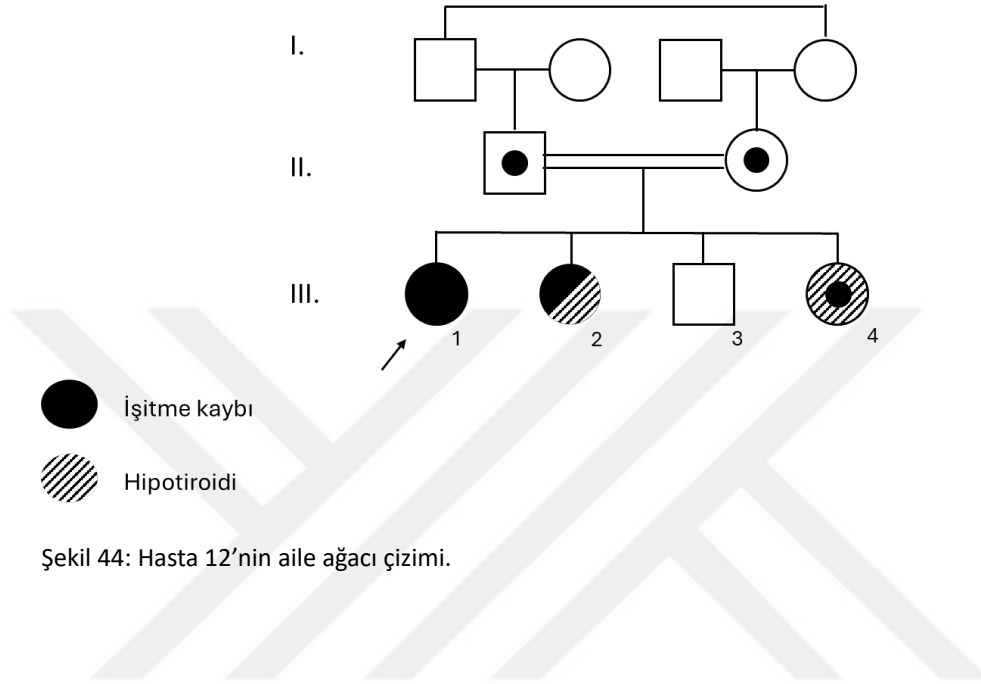
Şekil 43: a ve b) sırasıyla hasta 10 ve hasta 11'de saptanan *PDZD7*(NM_001195263.2) homozigot c.224A>T varyantının IGV görüntüleri.

Hasta 12:

20 yaşında kadın hasta, bilateral konjenital çok ileri sensörinöral işitme kaybı olması; kız kardeşinde (Hasta 13), bilateral konjenital sensörinöral işitme kaybı ve hipotiroidi olması nedeniyle genetik değerlendirmeye alındı. Anne ve babası arasında 1. kuzen evliliği olan hastanın işitmesi normal olan diğer kız kardeşinde konjenital hipotiroidi vardı (Şekil 44).

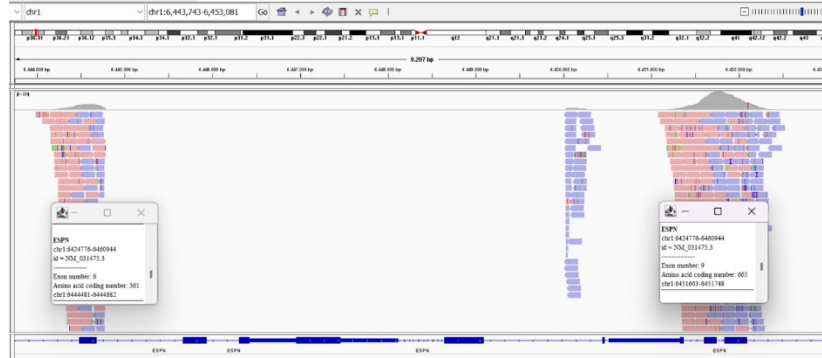
Yapılan yeni nesil dizileme analizinde, işitme kaybını açıklayacak nokta mutasyonu saptanmadı ancak *ESPN*(NM_031475) geninde ekzon 7 ve ekzon 8'i içeren homozigot delesyon şüphesi gözlemlendi. Hastanın işitme kaybı olan kız kardeşinden (Hasta 13) yapılan yeni nesil dizileme analizinde *ESPN*(NM_031475) geninde aynı bölgede homozigot delesyon şüphesi saptandı. Hastanın annesinde, babasında ve konjenital hipotirodi nedeniyle tetkik edilen, işitme kaybı olmayan, kız kardeşinde

ESPN(NM_031475) geninde ekzon 7 ve ekzon 8'i içeren heterozigot delesyon şüphesi saptandı (Şekil 45). *ESPN* genindeki bialelik mutasyonlar OMIM'de (MIM:#609006) otozomal resesif işitme kaybı tip 36 ile ilişkilendirilmiştir.



Şekil 44: Hasta 12'nin aile ağacı çizimi.

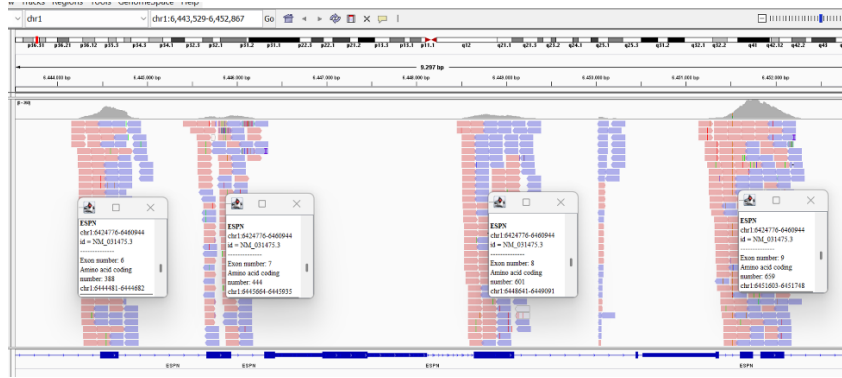
a)



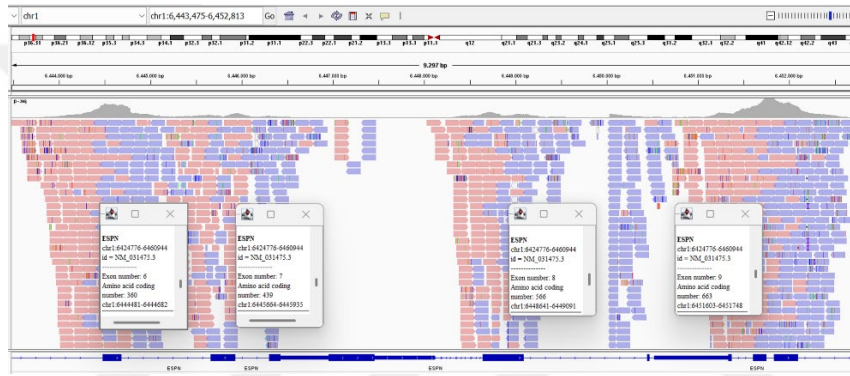
b)



c)



d)



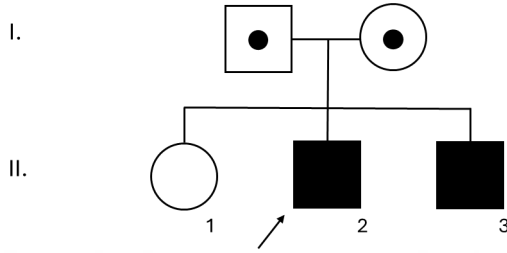
Şekil 45: a ve b) Sırasıyla, hasta 12 ve hasta 13'ün *ESPN*(NM_031475) geni ekzon 7,8 homozigot delesyonu destekleyen IGV görüntüsü c ve d) Sırasıyla anne ve babanın *ESPN*(NM_031475) geni ekzon 7,8 heterozigot delesyonu destekleyen IGV görüntüsü.

Hasta 16:

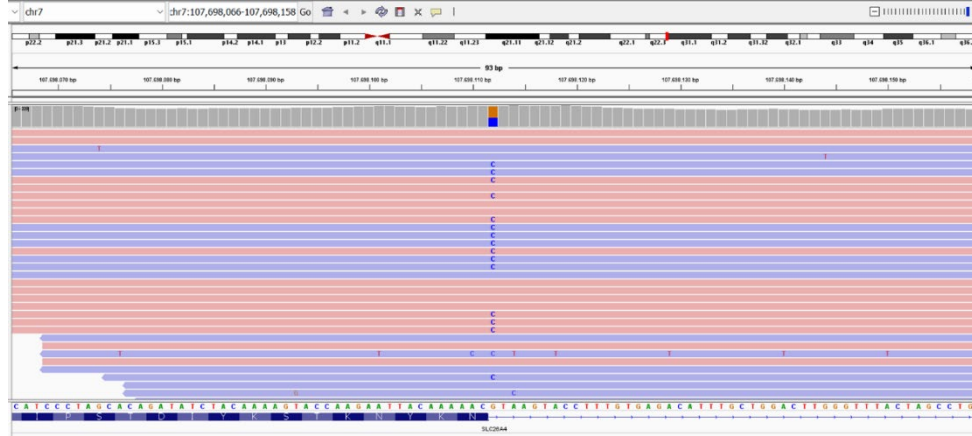
7 yaşında erkek hasta. Kendisinde ve 4 yaşındaki erkek kardeşinde konjenital bilateral sensörinöral işitme kaybı olması nedeniyle genetik incelemeye alındı. Yapılan odyolojik değerlendirmelerinde sağ kulakta ileri, sol kulakta çok ileri işitme kaybı saptanan hastaya 3 yaşında bilateral koklear implantasyon uygulanmıştı. Hastanın kardeşinde, bilateral hafif işitme kaybı saptandı ve işitme cihazı takıldı. Kendisinde ve kardeşinde ek sistem bulgusu olmayan hastanın anne babası arasında akrabalık yoktu (Şekil 46).

Genetik inceleme sonucunda *SLC26A4*(NM_000441.2) geninde heterozigot c.1614+1G>C ve heterozigot c.1804-81G>A varyantları saptandı (Şekil 47). Daha önce Clinvar'da patojenik/olası patojenik olarak bildirilmiş olan c.1614+1G>C varyantı, ACMG kriterlerine göre patojenik (PVS1, PM2, PM3) olarak değerlendirildi. c.1804-81G>A varyantı daha önce Clinvar veri tabanında bildirilmemişti ve ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PM2, PM3, PP1, PP3) olarak değerlendirildi. İşitme

kayı olan kardeşinden ve sağlıklı anne babadan yapılan segregasyon çalışması sonucunda; işitme kaybı olan kardeşin *SLC26A4* (NM_000441.2) c.1614+1G>C ve c.1804-81G>A varyantlarını heterozigot taşıdığı, annenin c.1804-81G>A varyantını heterozigot taşıdığı, babanın c.1614+1G>C varyantını heterozigot taşıdığı saptandı (Şekil 48). *SLC26A4* genindeki bialelik mutasyonlar OMIM’de (MIM:#600791) genişlemiş vestibüler akuaduktun eşlik ettiği otozomal resesif işitme kaybı tip 4 ile ilişkilendirilmiştir.



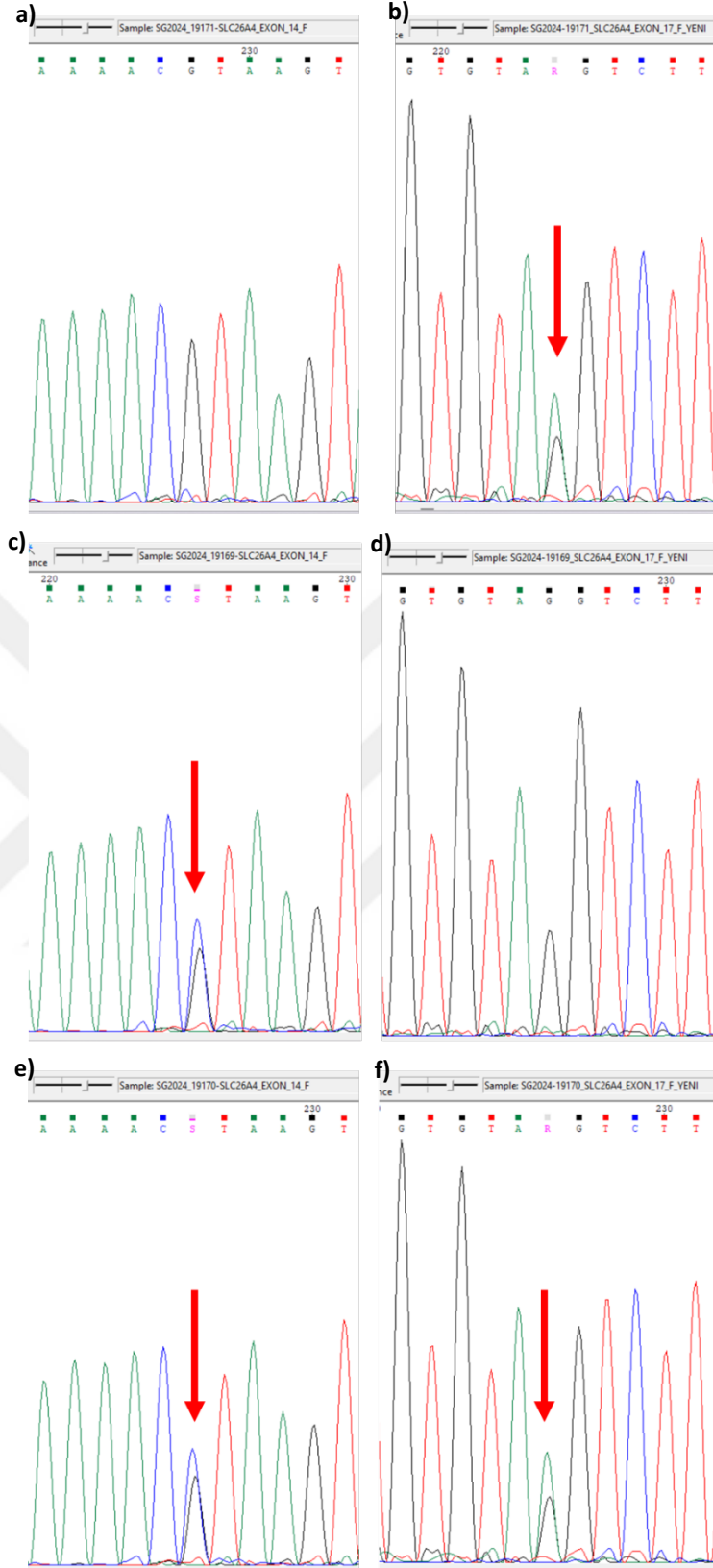
a)



b)



Şekil 47: a) *SLC26A4*(NM_000441.2) heterozigot c.1614+1G>C varyantının IGV görüntüsü. b) *SLC26A4*(NM_000441.2) heterozigot c.1804-81G>A varyantının IGV görüntüsü.

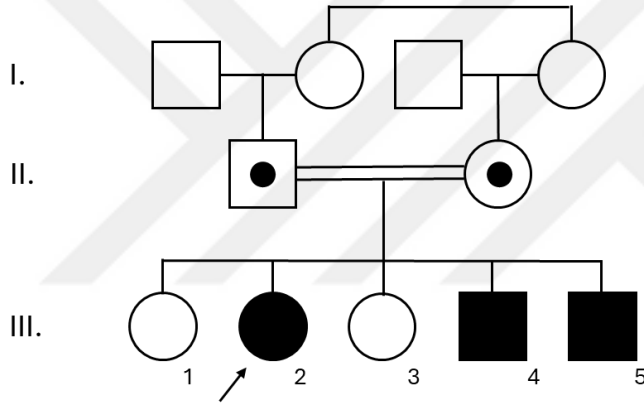


şekil 48: Hasta 16'nın ailesine ait *Sanger* dizileme görüntüleri. a) Anne *SLC26A4*(NM_000441.2) c.1614+1G normal. b) Anne c.1804-81G>A heterozigot. c) Baba *SLC26A4*(NM_000441.2) c.1614+1G>C heterozigot. d) Baba *SLC26A4* (NM_000441.2) c.1804-81G normal. e ve f) İşitme kaybı olan kardeş (II-3) *SLC26A4*(NM_000441.2) c.1614+1G>C ve c.1804-81G>A varyantları heterozigot.

Hasta 22:

16 yaşında kız hasta. İşitme taramasına girmemiş olan hasta, konuşmada gecikme üzerine 3 yaşında yapılan odyolojik değerlendirmede bilateral çok ileri sensörinöral işitme kaybı tanısı aldı. Anne babası arasında 1. kuzen evliliği olan hastanın işitme taramasından kalan 2 erkek kardeşinde bilateral çok ileri işitme kaybı saptandı (Şekil 49).

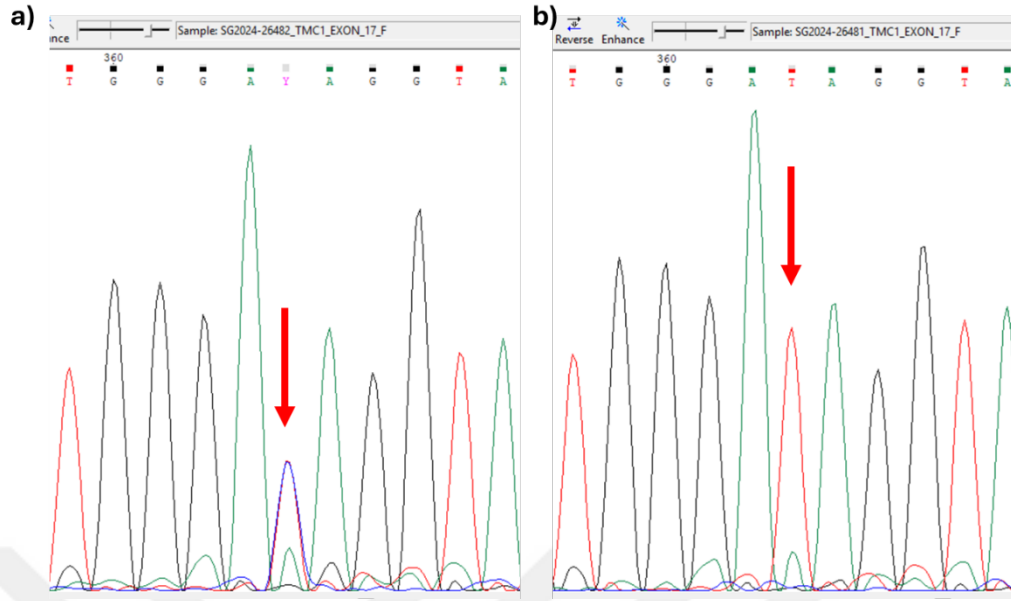
Genetik incelemede *TMC1*(NM_138691.3) geninde homozigot c.1564C>T (p.Gln522*) varyantı saptandı (Şekil 50). Daha önce Clinvar'da bildirilmemiş olan varyant, ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. *TMC1* geninde saptanan bialelik mutasyonlar OMIM'de (MIM:#600974) otozomal resesif işitme kaybı tip 7 ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan segregasyon çalışması sonunda, işitme kaybı olan iki kardeşinin de aynı varyant için homozigot olduğu, anne babanın taşıyıcı olduğu saptandı (Şekil 51).



Şekil 49: Hasta 22'nin aile ağacı çizimi.



Şekil 50: *TMC1*(NM_138691.3) homozigot c.1564C>T varyantının IGV görüntüsü.

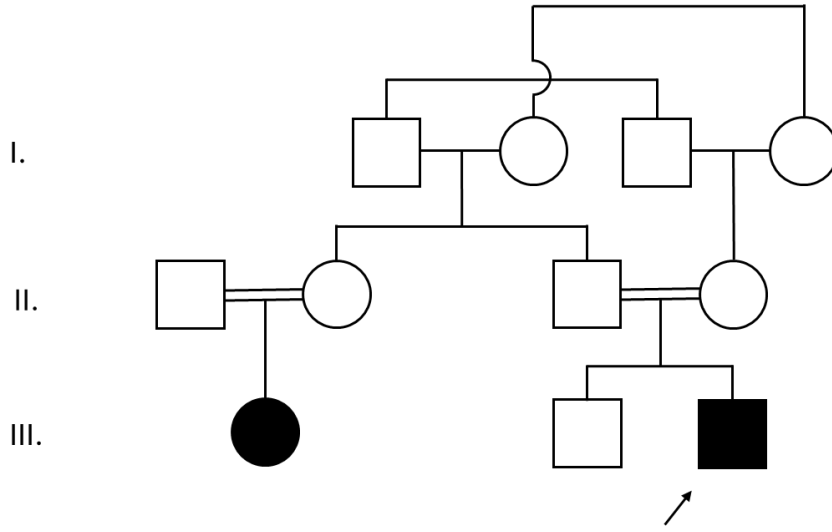


Şekil 51: a) Hasta 22'nin annesine ait *TMC1*(NM_138691.3) heterozigot c.1564C>T varyantının *Sanger* dizileme görüntüsü b) hasta 22'nin etkilenmiş erkek kardeşine ait (III-4) *TMC1*(NM_138691.3) homozigot c.1564C>T varyantının *Sanger* dizileme görüntüsü

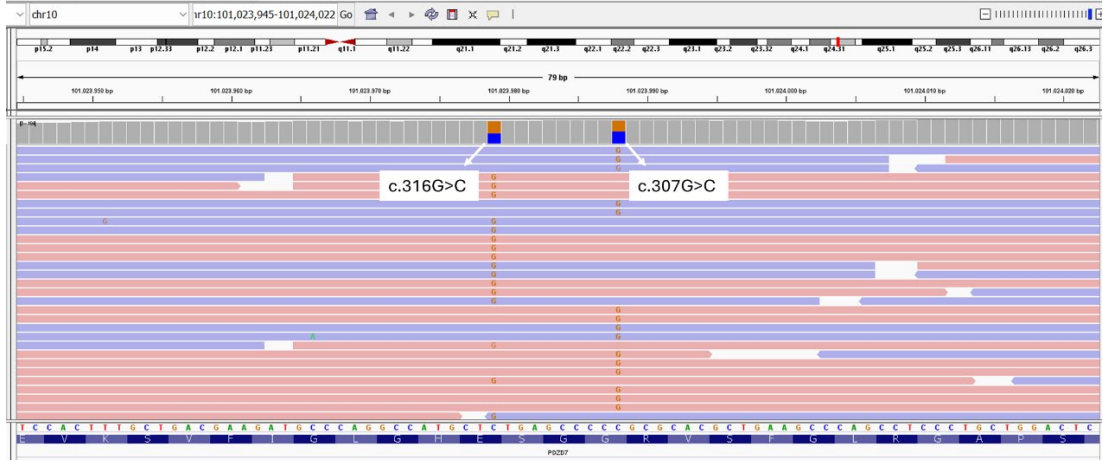
Hasta 24:

8 aylık erkek hasta. Yenidoğan işitme taramasından geçemeyen hasta yapılan odyolojik değerlendirmede bilateral ileri sensörinöral işitme kaybı tanısı aldı. Ek bulgusu olmayan hastanın anne babası arasında çift kuzen evliliği vardı (Şekil 52).

Yapılan genetik incelemede *PDZD7*(NM_001195263.2) geninde heterozigot c.307G>C (p.Gly103Arg) ve heterozigot c.316G>C (p.Glu106Gln) varyantları saptandı. Daha önce Clinvar'da patojenik, olası patojenik olarak bildirilmiş olan *PDZD7*(NM_001195263.2) p.Gly103Arg varyantı ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PS1, PM2, PP3) olarak değerlendirildi. *PDZD7*(NM_001195263.2) p.Glu106Gln varyantı daha önce Clinvar'da bildirilmemişti ve ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz varyant (PM2, PM3, PP3) olarak değerlendirildi. Saptanan varyantların IGV görüntüsünde *trans* formda olduğu gözlemlendi (Şekil 53). *PDZD7* genindeki bialelik mutasyonlar OMIM'de (MIM: #618003) otozomal resesif işitme kaybı tip 57 ile ilişkilendirilmiştir. Hastanın anne ve babasından ve etkilenmiş kuzeninden segregasyon analizi planlandı.



Şekil 52: Hasta 24'ün aile ağacı çizimi.

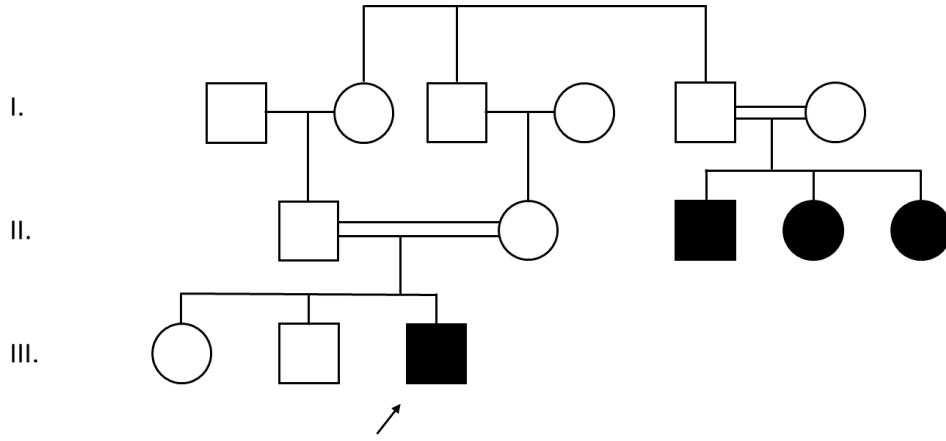


Şekil 53: PDZD7 (NM_001195263.2) heterozigot c.307G>C ve heterozigot c.316G>C varyantlarının IGV görüntüsü.

Hasta 28:

1 yaş 6 aylık erkek hasta. Yenidoğan işitme taramasından geçemeyen hasta, bilateral işitsel nöropati spektrum bozukluğu nedeniyle değerlendirmeye alındı. Ek sistem bulgusu olmayan hastanın anne ve babası arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 54).

Genetik değerlendirme sonucunda *OTOF*(NM_194248.3) geninde homozigot c.5431A>T (p.Lys1811*) varyantı saptandı (Şekil 55). Daha önce Clinvar'da patojenik, olası patojenik olarak bildirilmiş olan varyant ACMG kriterlerine göre patojenik (PVS1, PM2, PM3) olarak değerlendirildi. *OTOF* genindeki bialelik mutasyonlar OMIM'de (MIM:#601071) otozomal resesif işitsel nöropati tip 1 ile ilişkilendirilmiştir. Aile taraması planlandı.



Şekil 54: Hasta 28'in aile ağacı çizimi.

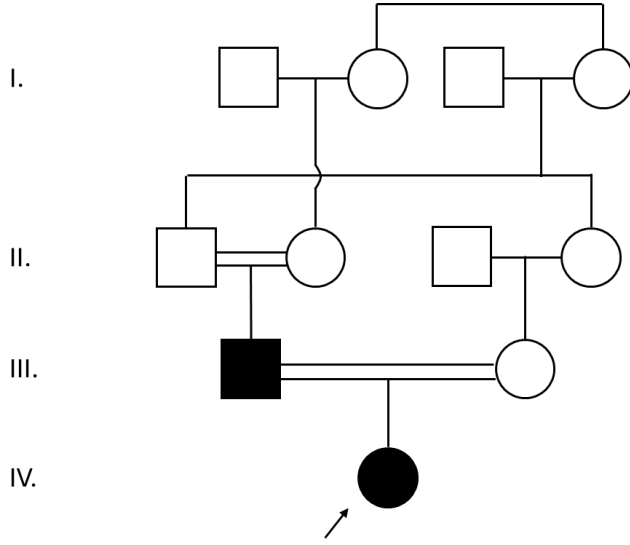


Şekil 55: OTOF (NM_194248.3) homozigot c.5431A>T varyantının IGV görüntüsü.

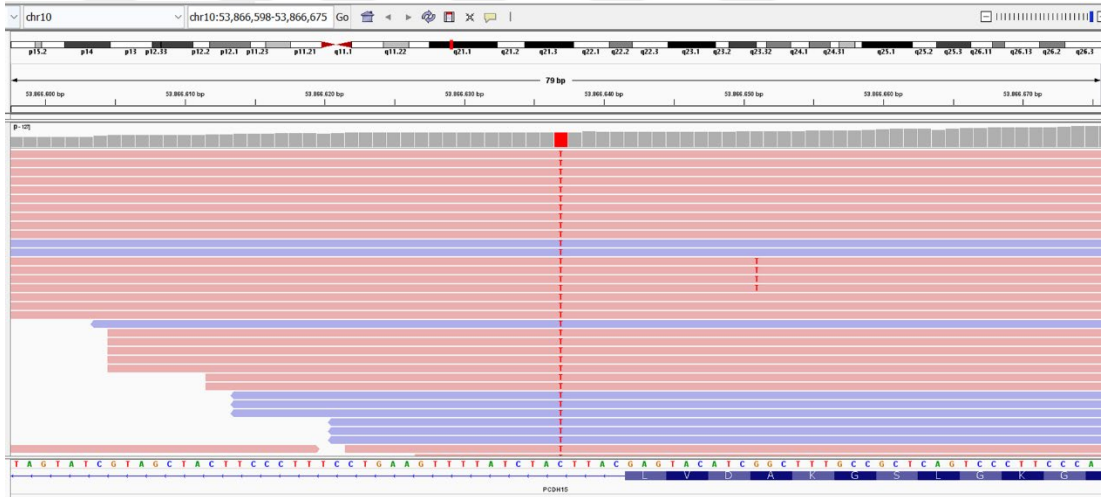
Hasta 29:

6 yaşında kız hasta. Yenidoğan işitme taramasından geçememesi üzerine yapılan odyolojik değerlendirmede bilateral sensörinöral işitme kaybı tanısı almış olan hasta koklear implant ile takip edilmekteydi. Ek bulgusu olmayan hastanın anne ve babası arasında çift kuzen evliliği vardı (Şekil 56).

Yapılan genetik incelemede *PCDH15*(NM_001384140.1) geninde homozigot c.3717+5G>A varyantı saptandı (Şekil 57). Clinvar veri tabanında bildirilmemiş olan varyant, ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2, PP3) olarak değerlendirildi. *PCDH15* genindeki bialelik mutasyonlar OMIM'de (MIM:#609533) otozomal resesif işitme kaybı tip 23 ve (MIM:#602083) Usher sendromu tip 1F ile ilişkilendirilmiştir. Segregasyon analizi planlandı.



Şekil 56: Hasta 29'un aile ağacı çizimi

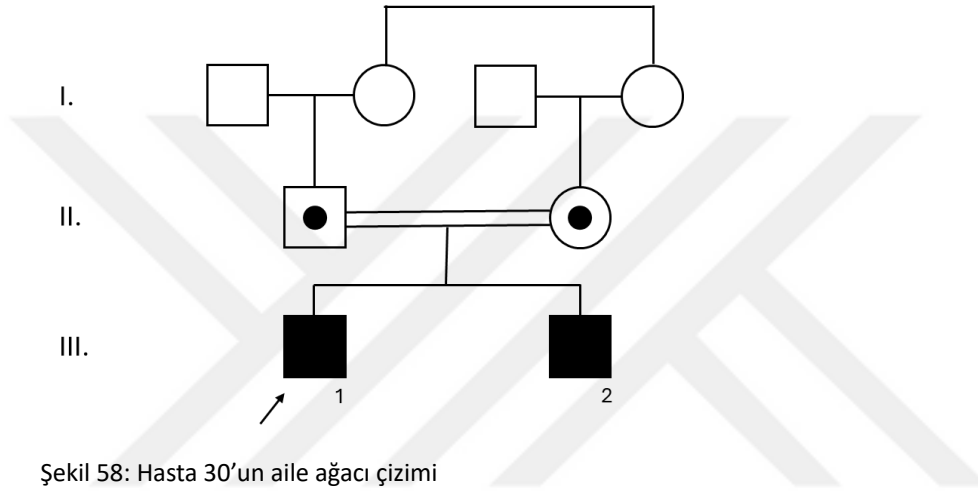


Şekil 57: PCDH15 (NM_001384140.1) homozigot c.3717+5G>A varyantının IGV görüntüsü.

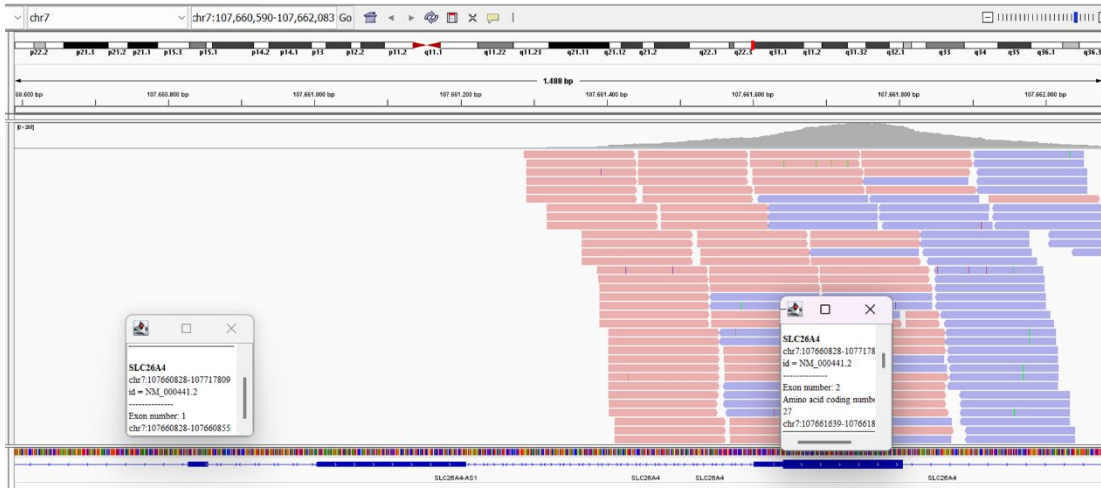
Hasta 30:

6 yaşında erkek hasta. Yenidoğan işitme taramasından geçememesi üzerine yapılan odyolojik değerlendirmede bilateral ileri sensörinöral işitme kaybı saptanan ve bilateral koklear implantasyon uygulanan hastanın takiplerinde işitme kaybının derecesi ilerlemişti. Güncel olarak çok ileri işitme kaybı olan hastanın 4 yaşındaki erkek kardeşinde de çok hızlı ilerleyici bilateral konjenital işitme kaybı saptandı. Ek klinik bulguları olmayan hastaların anne ve babaları arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 58).

Hastanın yeni nesil dizileme analizinde işitme kaybını açıklayabilecek nokta mutasyonu saptanmadı ancak *SLC26A4*(NM_000441) geninin 1. Ekzonunda homozigot delesyon şüphesi gözlemlendi. Bunun üzerine yapılan MLPA analizi ile ilgili bölgede homozigot delesyon doğrulandı (Şekil 59). *SLC26A4* genindeki bialelik mutasyonlar OMIM’de (MIM:#600791) genişlemiş vestibüler akuaduktun eşlik ettiği otozomal resesif işitme kaybı tip 4 ve (MIM:#274600) Pendred sendromu ile ilişkilendirilmiştir. Hastanın işitme kaybı olan erkek kardeşinde aynı bölgede homozigot delesyon gözlemlendi. Anne ve babadan yapılan MLPA analizi heterozigot delesyon taşıyıcılığını doğruladı.



Şekil 58: Hasta 30’un aile ağacı çizimi

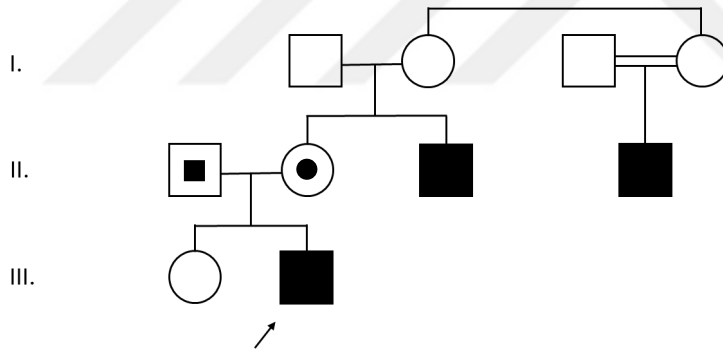


Şekil 59: SLC26A4 ekzon 1 ve ekzon 2 bölgelerini kapsayan IGV görüntüsü.

Hasta 38:

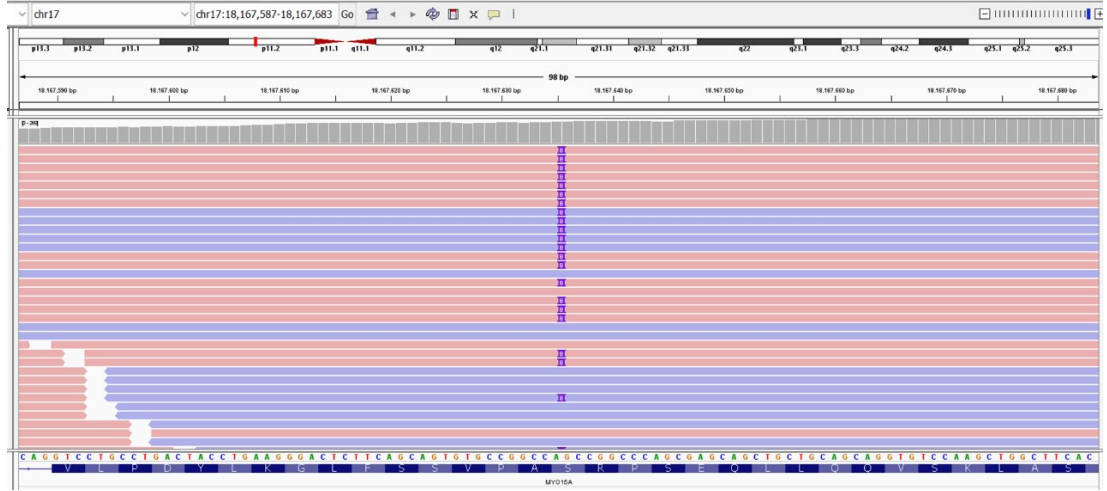
2 yaşında erkek hasta. Yenidoğan işitme taramasından geçemeyen hastada bilateral çok ileri sensörinöral işitme kaybı saptandı ve bilateral koklear implantasyon uygulandı. Annesinin erkek kardeşinde ve kuzeninde işitme kaybı olan hastanın anne ve babası arasında akrabalık yoktu (Şekil 60).

Yapılan genetik incelemede *MYO15A*(NM_016239.4) geninde heterozigot c.9995_10002dup (p.Ser3335Alafs*121) ve heterozigot c.5808_5814del (p.Arg1937Thrfs*10) varyantları saptandı (Şekil 61). p.Ser3335Alafs*121 varyantı daha Clinvar'da patojenik olarak bildirilmişti ve ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. Daha önce Clinvar'da bildirilmemiş olan p.Arg1937Thrfs*10 varyantı ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. Yapılan segregasyon çalışmasında annesinin *MYO15A*(NM_016239.4) p.Ser3335Alafs*121 varyantı açısından, babasının ise *MYO15A*(NM_016239.4) p.Arg1937Thrfs*10 varyantı açısından heterozigot taşıyıcı olduğu saptandı (Şekil 62). *MYO15A* genindeki bialelik mutasyonlar OMIM'de (MIM:#600316) otozomal resesif işitme kaybı tip 3 ile ilişkilendirilmiştir.



Şekil 60: Hasta 38'in aile ağacı görüntüsü

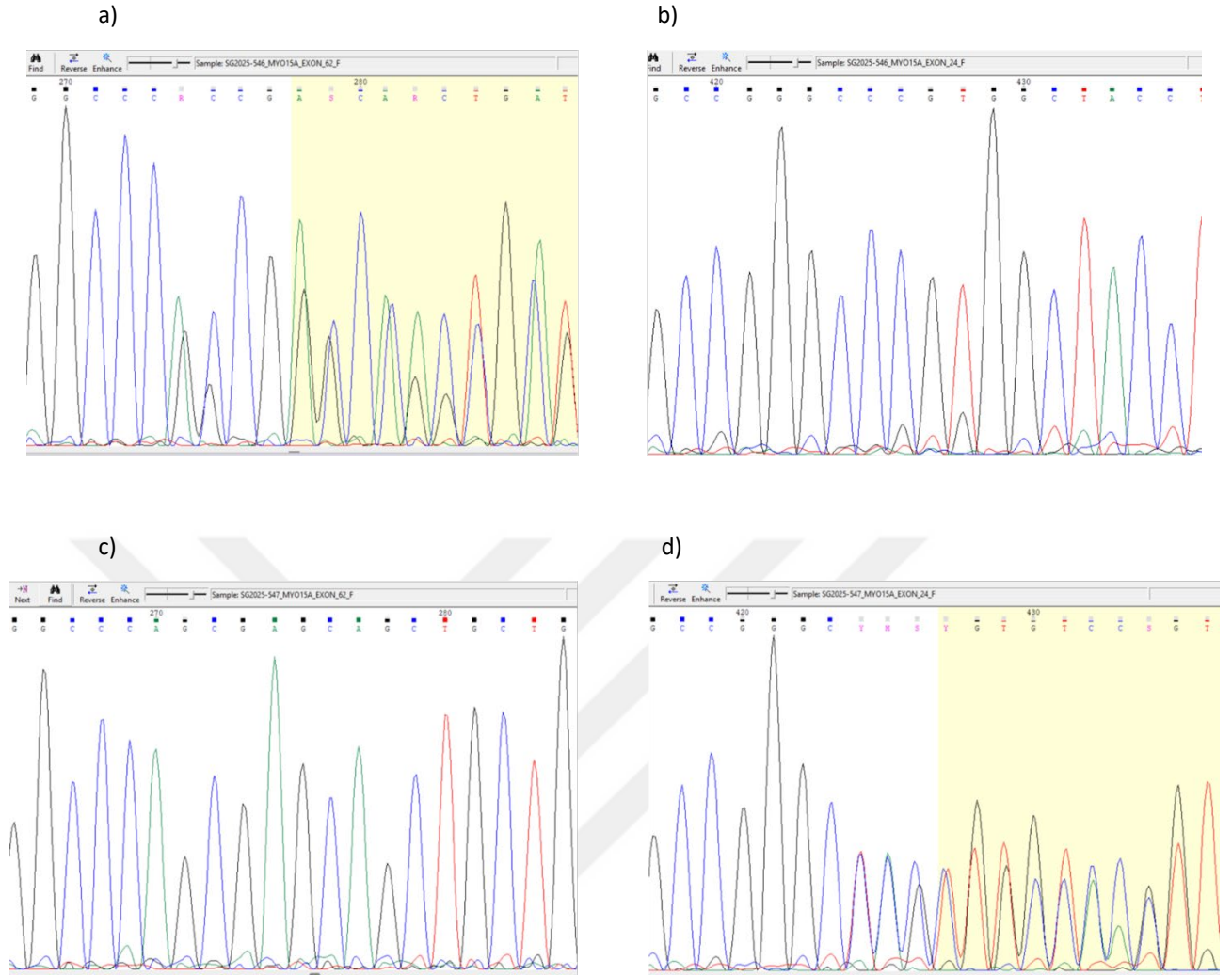
a)



b)



Şekil 61: a-b) Sırasıyla, MYO15A (NM_016239.4) heterozigot c.9995_10002dup ve heterozigot c.5808_5814del varyantlarının IGV görüntüsü.



Şekil 62: Hasta 38'in anne ve babasına ait Sanger dizileme görüntüleri. a) Annede MYO15A(NM_016239.4) heterozigot c.9995_10002dup varyantı. b) anneye ait c.5808 bölgesinin yabancı tip olduğu görülüyor. c) babada c.9995 bölgesinin yabancı tip olduğu görülüyor. d) babaya ait MYO15A(NM_016239.4) heterozigot c.5808_5814del varyantı

Hasta 40:

10 yaşında erkek hasta. Yenidoğan işitme taramasından geçemeyen hastanın odyolojik değerlendirmesinde bilateral orta derece sensörinöral işitme kaybı saptandı. Erkek kardeşinde, dayılarında, teyzesinde, teyze ve hala çocuklarında işitme kaybı olan hastanın anne ve babası aynı köylü idi (Şekil 63). Aileden alınan anamnezde “köyün yaklaşık 50 haneli olduğu ve her hanede işitme kaybı olan bireylerin olduğu” öğrenildi. Hastanın diğer sistem bulguları normaldi.

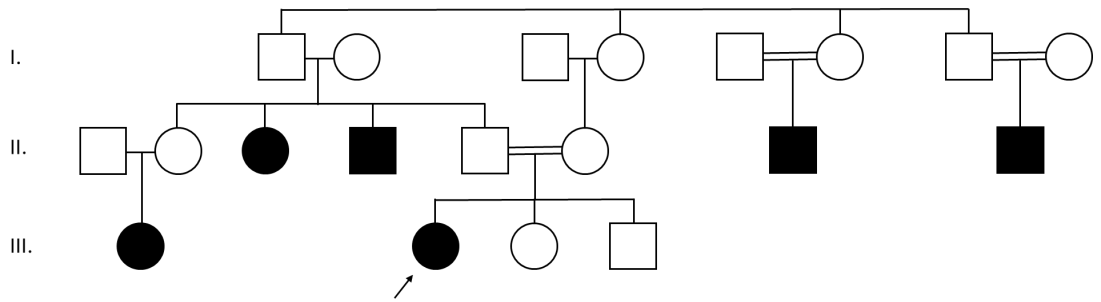
Yapılan genetik incelemede OTOA(NM_144672.4) geninde homozigot c.2302-2A>C varyantı saptandı (Şekil 64). Clinvar'da tanımlı olmayan varyant ACMG kriterlerine

yaptığı ve hipoplazik olduğu görüldü. Hastanın anne babası arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 66).

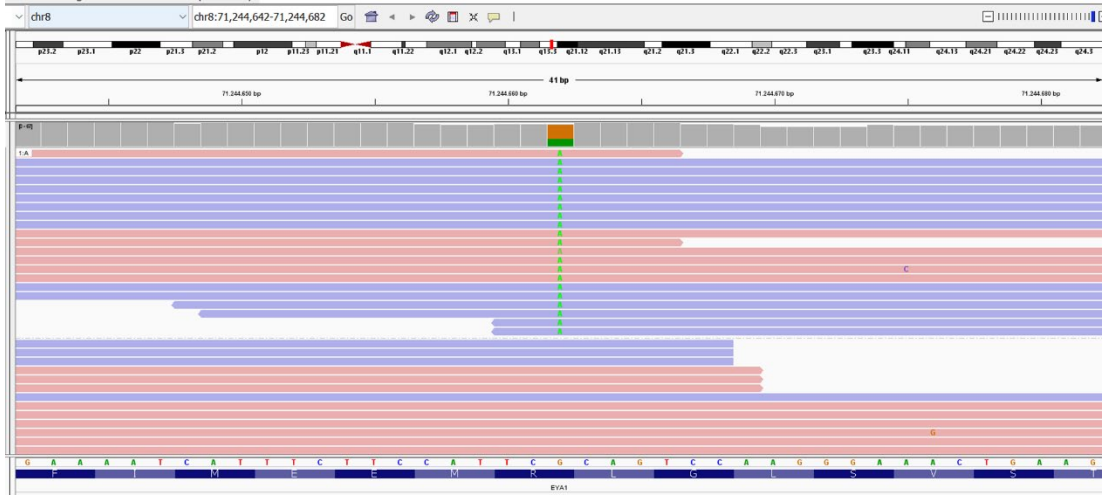
Yapılan genetik değerlendirmede *EYA1*(NM_000503.6) geninde heterozigot c.1081C>T (p.Arg361*) varyantı saptandı (Şekil 67). Daha önce Clinvar'da patojenik olarak bildirilmiş olan varyant ACMG kriterlerine göre patojenik (PVS1, PS2, PM2) olarak değerlendirildi. *EYA1* genindeki monoalelik mutasyonlar OMIM'de, (MIM: #602588) brankiotoik sendrom tip 1 ve (MIM:#113650) brankiotoorenal sendrom tip 1 ile ilişkilendirilmiştir. Aile üyelerinden segregasyon çalışması planlandı.



Şekil 65: Hasta 41. Sağ kulak önünde *skin tag* (kırmızı ok)



Şekil 66: Hasta 41'in aile ağacı çizimi



Şekil 67: *EYA1*(NM_000503.6) heterozigot c.1081C>T varyantının IGV görüntüsü.

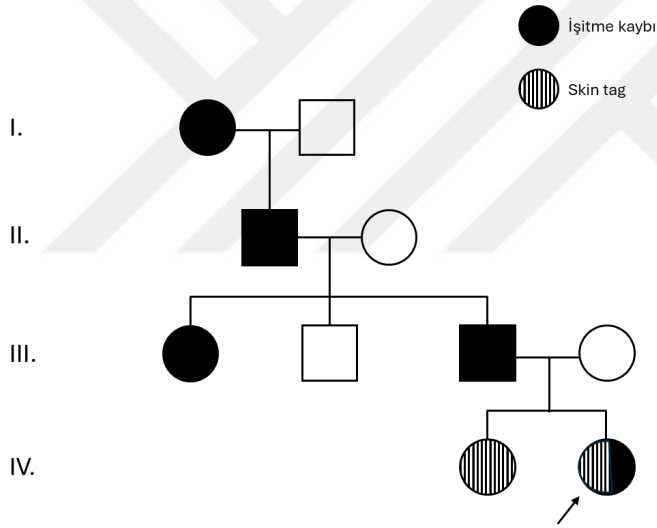
Hasta 45:

6 aylık kız hasta. Yenidoğan işitme taramasından geçememesi üzerine yapılan odyolojik değerlendirmede bilateral hafif-orta sensörinöral işitme kaybı saptandı. Fizik muayenesinde sağ kulak önünde polipöz cilt çıkıntısı (*skin tag*) gözlemlendi (Şekil 68). Ek klinik bulgusu olmayan hastanın anne babası arasında akrabalık olmadığı öğrenildi. Babasında konjenital bilateral işitme kaybı olduğu öğrenilen hastanın işitmesi normal olan kız kardeşinde, kulak önünde skin tag gözlemlendi. Anamnezde, hastanın baba tarafında her nesilde işitme kaybı olan akrabaları olduğu belirtildi (Şekil 69).

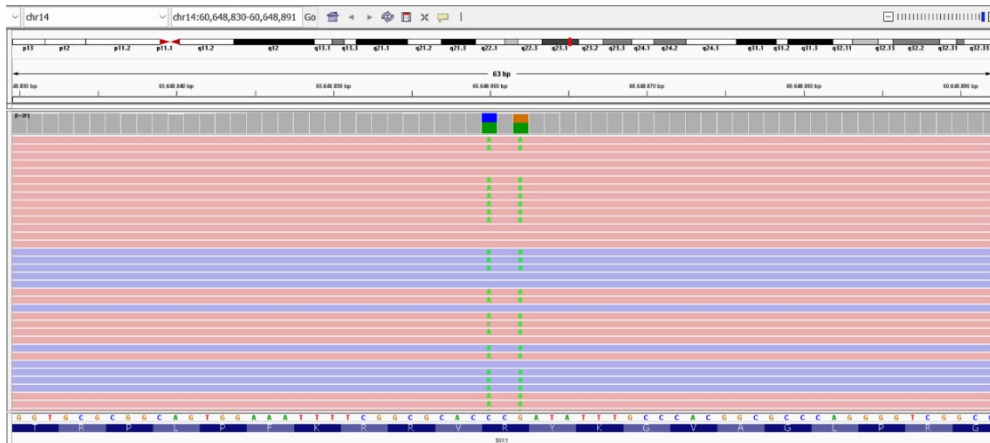
Yapılan genetik incelemede *SIX1*(NM_005982.4) geninde heterozigot c.328_330delinsTGT (p.Arg110Cys) varyantı saptandı (Şekil 70). Clinvar'da tanımlı olmayan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PM1, PM2, PM5, PP4) olarak değerlendirildi. *SIX1* genindeki monoalelik mutasyonlar OMIM'de (MIM:#608389) brankiootik sendrom tip 3 ve (MIM:#605192) otozomal dominant işitme kaybı tip 23 ile ilişkilendirilmiştir. Aile taraması planlandı.



Şekil 68: Hasta 45. Sağ kulak önünde *skin tag* (kırmızı ok)



Şekil 69: Hasta 45'in aile ağacı çizimi

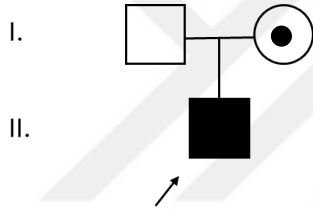


Şekil 70: *SIX1*(NM_005982.4) heterozigot c.328_330delinsTGT varyantının IGV görüntüsü.

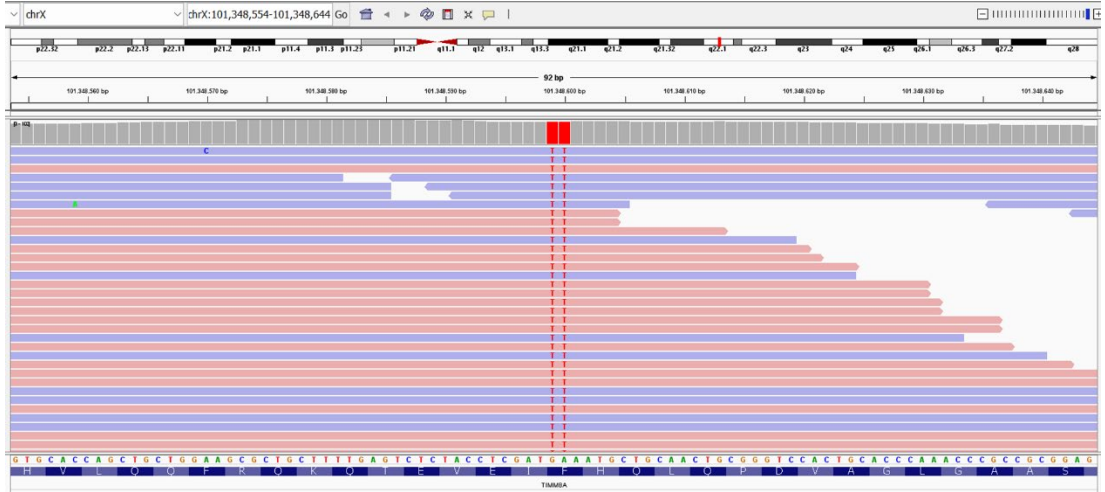
Hasta 47:

2 yaşında erkek hasta. Yenidoğan işitme taramasını geçen hasta 17 aylıkken sese yanıt vermemesi ve konuşmada gecikme nedeniyle yapılan odyolojik değerlendirmesinde işitsel nöropati spektrum bozukluğu ile uyumlu bilateral çok ileri sensörinöral işitme kaybı tanısı aldı ve koklear implantasyon uygulandı. Ailesinde benzer olgu olmayan hastanın anne ve babası arasında akrabalık yoktu (Şekil 71).

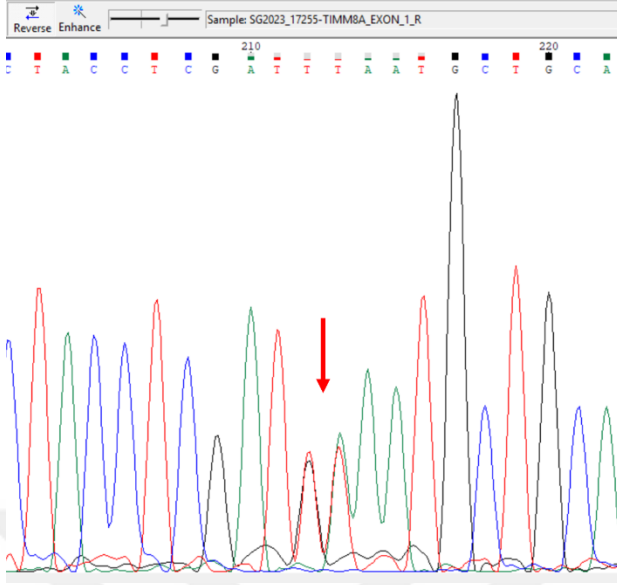
Genetik incelemede *TIMM8A*(NM_004085.4) geninde hemizigot c.65_66delinsAA (p.Phe22*) varyantı saptandı (Şekil 72). Clinvar'da daha önce bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. *TIMM8A* genindeki mutasyonlar (MIM:# 304700) Mohr-Tranebjaerg sendromu ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan segregasyon analizinde, ailesinde benzer olgu bulunmayan annesinin heterozigot taşıyıcı olduğu saptandı (Şekil 73).



Şekil 71: Hasta 47'nin aile ağacı çizimi



Şekil 72: *TIMM8A*(NM_004085.4) hemizigot c.65_66delinsAA varyantının IGV görüntüsü

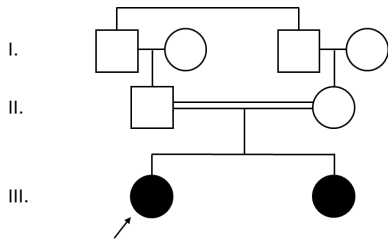


Şekil 73: Hasta 47'nin annesine ait *Sanger* dizilemede *TIMM8A*(NM_004085.4) heterozigot c.65_66delinsAA varyantının görüntüsü

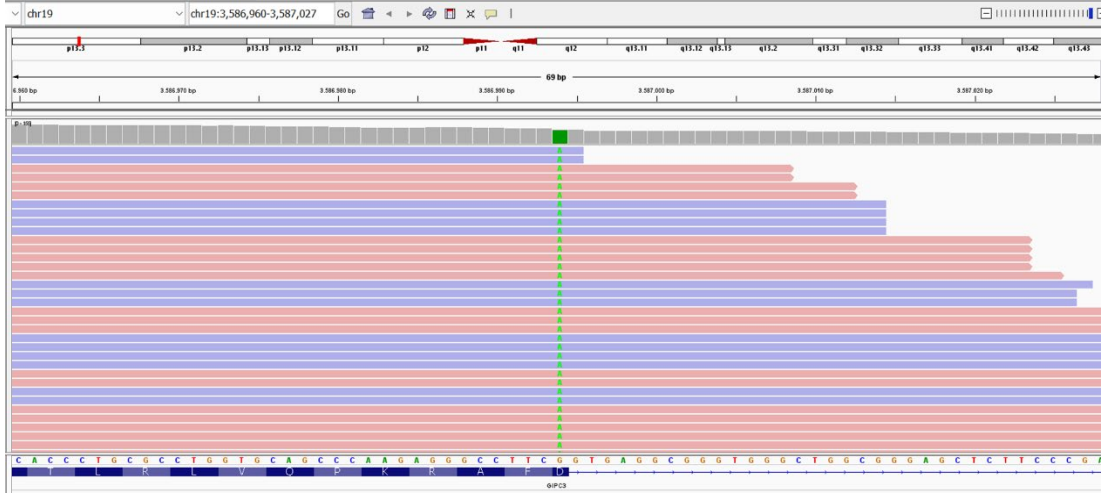
Hasta 48:

11 yaşında kız hasta. Yenidoğan işitme taramasını geçen hasta 7 aylıkken sese yanıtızsız olması nedeniyle yapılan odyolojik değerlendirmede bilateral ileri sensörinöral işitme kaybı tanısı aldı. Anne ve babası arasında 1. kuzen evliliği olan hastanın kız kardeşinde de sensörinöral işitme kaybı vardı (Şekil 74). Olgunun diğer sistem bulguları normaldi.

Genetik incelemede *GIPC3*(NM_133261.3) geninde homozigot c.592G>A (p.Asp198Asn) varyantı saptandı (Şekil 75). Daha önce Clinvar'da VUS olarak bildirilen p.Asp198Asn varyantı ACMG kriterlerine göre de VUS (PM2, PP3) olarak değerlendirildi. *GIPC3* geninde saptanan bialelik mutasyonlar OMIM'de (MIM: #601869) otozomal resesif işitme kaybı tip 15 ile ilişkilendirilmiştir. Segregasyon planlandı.



Şekil 74: Hasta 48'in aile ağacı çizimi



Şekil 75: *GIPC3*(NM_133261.3) homozygot c.592G>A varyantının IGV görüntüsü.



5) TARTIŞMA

Literatürde, tüm ekzom dizileme (WES) yapılan farklı ırklardan nonsendromik işitme kaybı olgularında genetik tanı oranı %40-53 olarak bildirilmiştir [76], [77]. Türk hastalar ile yapılan çalışmalarda ise %35-%72,5 arasında değişen oranlar bildirilmiştir [10], [11]. Çalışmamızda, çoklu gen paneli ile değerlendirilen 48 hastanın 26'sına (%54,17) kesin genetik tanı konulmuş, 13'ünde (%27) olası tanı tespit edilmiştir. Tanı oranımız, literatür ile uyumlu görünmektedir.

Çalışmaya dahil ettiğimiz 48 hastada toplam 53 varyasyon saptanmıştır. Saptanan varyantların 17'si (%32,08) patojenik, 25'i (%47,17) olası patojenik, 11'i (%20,75) VUS olarak değerlendirilmiştir. Daha önce bildirilmemiş olan 21 varyant çalışmamızla literatüre kazandırılmıştır. Novel varyantların 18'i (%85,71) olası patojenik, 3'ü (%14,28) VUS olarak değerlendirilmiştir.

5.1) Otozomal Resesif İşitme Kaybı Tanısı Alan Olgular

48 hastanın 9'unda (%18,75) *GJB2* varyantı saptanmış, 6'sında (%12,50) *GJB2* ilişkili işitme kaybı kesinleştirilmiştir. Otozomal resesif işitme kaybı tanısı alan hastaların (%31,58)'ine *GJB2* ilişkili işitme kaybı tanısı konulmuştur. Literatürde, popülasyonlar arasında değişkenlik göstermekle birlikte, genetik nonsendromik işitme kaybının %50'ye kadarının *GJB2* mutasyonlarından kaynaklandığını bildiren çalışmalar mevcuttur [78]. Türkiye ve çevre ülkelerde genetik etyolojinin %20 ila 50'sinin *GJB2* mutasyonlarına bağlı olduğu bildirilmiştir [79].

Literatürde, 16 ülkeden 1531 otozomal resesif işitme kaybı hastası ile yapılan çalışmada, hastalarımızda saptadığımız c.35del varyantı %72,44; -23+1G>A varyantı %0,75, p.Glu120del varyantı %0,75, p.Arg184Pro varyantı %0,74, p.Arg32Cys varyantı %0,07 sıklığında bildirilmiştir [80].

266 amino asitlik Cx26 proteininin N-terminal bölgesinde çerçeve kaymasına ve erken durdurma kodonuna yol açan *GJB2* c.35del (p.Gly12Valfs*2) varyantın bialelik ekspresyonunda fonksiyonel protein oluşumu beklenmemekte ve hücredeki *gap junction* üretimi bozulmaktadır. Varyant tipik olarak bilateral, simetrik, ileri-çok ileri prelingual işitme kaybına yol açmaktadır. Hasta grubumuzda, homozigot c.35del varyantı görülen 4 olguda bilateral ileri ve/veya çok ileri işitme kaybı vardır. Hastaların biri yenidoğan işitme taramasından kalmış, ikisi taramayı geçmiştir. Bir hastanın yenidoğan işitme taraması verilerine ulaşılamamıştır. İşitme taramasını geçen iki hasta da prelingual (2 yaşından önce) işitme kaybı tanısı almıştır. İşitme taraması verilerine ulaşılamayan hasta 15'in ailesi, işitme kaybı tanısının 10 yaşında konulduğunu belirtmiştir ancak anamnez şüpheli bulunmuştur. Hastanın bilateral ileri/çok ileri işitme kaybı vardır.

GJB2 c.35del (veya c.35delG) varyantı işitme kaybı hastalarında en fazla saptanan varyanttır. Sağlıklı Avrupa popülasyonunda c.35del mutasyonunun taşıyıcılık oranı %2-4 iken Türk popülasyonunda bu oran %1,7-2,7 arasında değişmektedir [81].

Tekin ve arkadaşları işitme kaybı üzerine yaptıkları bir çalışmada c.35del mutasyonunun alel sıklığının Türkiye'deki bölgeler arasında %5 ile %53 arasında değiştiğini bildirmiştir [82]. c.35del mutasyon sıklığı Karadeniz bölgesinden ebeveynlerin çocuklarında daha sık görülürken Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinden ebeveynlerin çocuklarında daha düşük oranda gözlenmiştir [83].

Bizim çalışmamızdaki tüm işitme kaybı hastalarında c.35del taşıma oranı %16,7; *GJB2* ilişkili işitme kaybı olgularında c.35del taşıma oranı %88,9 olarak saptanmıştır. Literatürde, Uyguner ve arkadaşları 60 indeks olgudan yaptıkları çalışmada *GJB2* ilişkili işitme kaybında c.35del varyant oranını %73.6 saptamışlardır [81].

Çalışmamızda, bialelik c.35del mutasyonuna bağlı işitme kaybı oranı tüm hastalar içinde %8,3; otozomal resesif işitme kaybı tanısı alan olgular içinde %22,2, *GJB2* ilişkili işitme kaybı olguları içinde %66,7'dir. Özyılmaz ve arkadaşlarının 104 indeks olgudan yaptığı çalışmada, c.35del varyantının otozomal resesif işitme kaybı hastaların %24'ünün tanısını açıkladığı bildirilmiştir [84]. Hasta grubumuzdaki bu oran, literatür ile uyumlu görünmektedir.

GJB2 geninin protein kodlamayan 1. Ekzonu ile protein kodlayan 2. Ekzonu arasındaki kırılmayı bozan c.-23 + 1G > A kesim yeri (*splice site*) varyantı Türkiye'de yüksek taşıyıcılık oranı ile bildirilmiştir [85]. Bizim çalışmamızda 2 hastada c.-23+1G>A varyantı heterozigot formda saptanmıştır. Ancak, iki hastada da eşlik ettiği diğer heterozigot varyant ile *trans* formda taşındığı doğrulanmamıştır.

Homozigot -23+1G>A varyantı taşıyan olgularda kliniğin bialelik c.35delG taşıyan olgulara göre daha hafif olduğu, bialelik *missense* varyant taşıyan olgulara göre daha ağır olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte varyantın, hafif işitme kaybından çok ileri işitme kaybına değışen kliniklere yol açabildiği gösterilmiştir [86].

GJB2 c.-23+1G>A varyantı hakkında ilginç bir nokta, selektif taşıyıcı avantajı öngörülmesidir. Orta Asya ve Sırbistan'da yüksek taşıyıcılık oranına sahip olan varyantın Doğu Sibiry topluluklarında daha kalın cilt epidermisine sahip olmakla korale olduğu bulunmuş ve Doğu Sibiry topluluklarında seçici taşıyıcılık avantajı olduğu öne sürülmüştür [87].

GJB2 geninde c.551G>C değişimi, aminoasit dizisinin 184. Pozisyonundaki arjininin yerine prolinin gelmesi ile sonuçlanır. Fonksiyonel çalışmalar mutant (p.Arg184Pro)-Cx26 proteinin oligomerize olamadığını ve plazma membranına taşınamadığını göstermiştir. Sitozolda biriken (p.Arg184Pro)-Cx26 diğer proteinlerle etkileşemez ve bunun sonucunda Cx26 fonksiyon kaybına bağlı olarak *gap junction* oluşumu gözlenmez [88], [89], [90].

GJB2 genindeki protein kısaltıcı olmayan mutasyonların protein kısaltıcı varyantlara göre daha hafif klinik oluşturması beklenmekle birlikte *gap junction* oluşumunu engelleyen p.Arg184Pro varyantının ağır fenotip oluşturduğu gözlenmektedir. c.551G>C varyantı daha önce literatürde çeşitli etnisitelerden hastalarda bildirilmiştir. Yılmaz ve arkadaşlarının çalışmasında 151 Türk işitme kaybı hastasının 2'sinde c.551G>C varyantı c.35del ile bileşik heterozigot saptanmıştır [91]. Yine, Kalay ve arkadaşlarının 93 otozomal resesif işitme kaybı hastasından yaptığı çalışmada, çok ileri işitme kaybı olan 1 hastada c.551G>C varyantı c.35del varyantı ile *trans* formda saptanmıştır [92]. Bozdoğan ve arkadaşları ise homozigot c.551G>C varyantı taşıyan bir Türk hastayı bildirmişlerdir [93].

Çalışmamızda, konjenital bilateral ileri işitme kaybı olan hasta 6'da, *GJB2* c.551G>C ve c.35del varyantları bileşik heterozigot olarak saptanmıştır. Hastamızın fenotipi literatürde bildirilen ile uyumlu görünmektedir.

GJB2 c.358_360del varyantı, Cx26 hücre içi sitoplazmik halka (*loop*) domainine denk gelen 120. aminoasit pozisyonundaki korunmamış bir glutamik asit rezidüsünün silinmesine yol açar. Konneksinler arasında sitoplazmik halka domainindeki rezidüleri büyük oranda değişiklik gösterir, bu nedenle düzenlemeden sorumlu oldukları düşünülmektedir [57]. Yapılan fonksiyonel çalışmalarda p.Glu120del varyantı taşıyan Cx26 proteinlerinin membrana lokalize olabildiği ancak fonksiyonel *gap junction* kanalları oluşturamadığı gözlenmiştir [88], [94].

c.358_360del varyantı şimdiye kadar farklı etnisitelerden çok sayıda toplumda, farklı fenotiplerle bildirilmiştir. Literatürde, 256 işitme kaybı hastası ile yapılan bir çalışmada, 5 hastada p.Glu120del bildirilmiştir. Bu hastalardan homozigot c.358_360del iken diğer dördü c.358_360del;c.35del bileşik heterozigottur. Homozigot c.358_360del varyantı saptanan hastada orta derece işitme kaybı bildirilirken; bileşik heterozigot olan hastaların birinde çok ileri, birinde ileri, ikisinde hafif işitme kaybı gözlenmiştir [95]. 2010 yılında İranlı bir aileden yapılan çalışmada, hafif-orta işitme kaybı olan indeks olgu ile ileri işitme kaybı olan kardeşinde c.358_360del varyantı homozigot olarak saptanmıştır [96]. Türkiye'de 2006 yılında 63 hastadan yapılan bir çalışmada 4 hastada homozigot c.358_360del varyantı gözlenmiş ve bu hastaların birinde orta, birinde ileri, ikisinde çok ileri işitme kaybı bildirilmiştir [97].

Bizim çalışmamızda, 9 numaralı hastada heterozigot c.358_360del ve heterozigot c.-23+1G>A varyantları saptandı ancak varyantların *trans* formda taşındığı kanıtlanmamıştır. Hasta 9'da bilateral konjenital hafif sensörinöral işitme kaybı vardır. Literatürde, daha önce, c.358_360del ve heterozigot c.-23+1G>A varyantları bileşik heterozigot olarak taşıyan hastada çok ileri işitme kaybı bildirilmiştir [80].

GJB2 c.517C>T varyantı ekstraselüler halka (*loop*) 2 domainindeki 173. pozisyonda yer alan prolin aminoasidinin serin ile değişmesine yol açan bir *missense* varyanttır. Literatürde, bu varyant hakkında fonksiyonel çalışma bildirilmemiş olmakla birlikte,

aynı pozisyondaki p.Pro173Arg varyantı taşıyan Cx26 proteinlerinin membrana lokalize olmadığı ve hücreler arası bağlantı oluşmadığı gösterilmiştir [90].

Çalışmamızda, bilateral ileri sensörinöral işitme kaybı olan 42 numaralı hastada, c.517C>T varyantı c.35del ile bileşik heterozigot olarak saptanmıştır. c.517C>T (p.Pro173Ser) varyantı daha önce ilk defa Kalay ve arkadaşları tarafından, birinde ileri diğerinde çok ileri işitme kaybı olan iki Türk kardeşte c.35del varyantı ile bileşik heterozigot olarak bildirilmiştir [92]. Olgumuzun fenotipi daha önce bildirilen bu olgularla uyumlu olmakla birlikte c.517C>T varyantını taşıyan daha fazla hastanın değerlendirilmesi ile daha anlamlı sonuçlar elde edilecektir.

Cx26 N-terminal ucu ve etrafındaki bölgede, monomer yapısını stabilize eden iki hidrofilik, iki hidrofobik olmak üzere dört grup kalıntı tanımlanmıştır [98]. p.Arg32Cys varyantının bu kalıntıları etkileyerek mutant polipeptidin endoplazmik retikulumda yanlış katlanmasına ve hapsolmesine yol açacağı öngörülmektedir [72].

p.Arg32Cys varyantı literatürde daha önce farklı ağırlıkta işitme kayıpları ile bildirilmiştir. Cryns ve arkadaşları 2006 yılında orta işitme kaybı olan bir hastada p.Arg32Cys varyantını Glu47* ile bileşik heterozigot olarak bildirmiştir [99]. Öte yandan 2009 yılında Primignani ve arkadaşları aynı genotipi çok ileri işitme kaybı olan hastada raporlamıştır [100].

Çalışmamızda, bilateral konjenital orta derece işitme kaybı olan hasta 46'da heterozigot c.94C>T ve heterozigot c.35del varyantları saptanmıştır ancak bu varyantların *trans* formda olduğu doğrulanamamıştır. Literatürde protein kısaltıcı başka bir varyant ile bileşik heterozigot olduğunda farklı derecelerde işitme kaybına yol açabildiği gösterilmiş olan c.94C>T (p.Arg32Cys) varyantının bizim hastamızda da patojeniteye katkı sağladığını düşünmekteyiz ancak bunun kesinleşmesi için öncelikle *cis/trans* ayrımının yapılması gerekmektedir.

GJB2 nonsendromik işitme kaybında en fazla mutasyon saptanan genidir. Türkiye'de nonsendromik işitme kaybı olgularının %30-35'inde *GJB2* mutasyonu bildirilmiştir [92], [101]. Çalışmamızda, 48 hastanın 6'sına (%12,5) *GJB2* ilişkili işitme kaybı tanısı konulmuştur. Olası tanı alan hastalarla birlikte oran %18,75 olup literatürde bildirilenin altındadır. Bu; örneklem boyutu, seçilen hastaların özellikleri, otozomal resesif işitme kaybına uymayan soy ağaçlarının çalışmamıza dahil olması, işitme kaybı hastalarının bir kısmının önceki yıllarda *GJB2* tek gen dizileme analizleri ile tanı aldığı için panel çalışılmamış olması gibi nedenlerden kaynaklanıyor olabilir. Daha fazla sayıda hastanın tetkik edilmesi ile, Türkiye'deki hasta popülasyonunun genetik etyolojisi hakkında daha sağlıklı sonuçlar elde edilecektir.

Kesin tanı konulan ve olası tanı belirlenen toplam 5 hastada 7 *MYO15A* varyantı saptanmıştır. Clinvar'da bu varyantlardan biri patojenik, biri olası patojenik olarak tanımlanmıştır. Diğer varyantlar Clinvar veri tabanında bildirilmemiştir. Toplam 7

varyantın 3'ü (%42,85) c.5808_5814del (p.Arg1937Thrfs*10) varyantıdır. Bu varyant Clinvar'da tanımlı olmamakla beraber literatürde Cengiz ve arkadaşları tarafından 3 Türk işitme kaybı ailesinde bildirilmiştir [102].

Bilateral konjenital çok ileri işitme kaybı olan hasta 26'da saptanan homozigot c.6864_6874del (p.Asp2289Alafs*37) varyantının anlamsız aracılı yıkıma neden olduğu ve hastada fonksiyonel MYO15A izoformlarının oluşmadığı öngörülmektedir.

Bilateral ileri konjenital işitme kaybı olan hasta 31'de saptanan homozigot c.9893G>A (p.Trp3298*) varyantı son FERM domaininde kısaltmaya yol açmaktadır. Transkriptin anlamsız aracılı yıkıma gittiği ve fonksiyonel MYO15A proteininin oluşmadığı öngörülmektedir.

Bilateral konjenital ileri işitme kaybı olan hasta 38'de saptanan c.9995_10002dup (p.Ser3335Alafs*121) ve c.5808_5814del (p.Arg1937Thrfs*10) varyantları protein boyunu kısaltmaktadır. İki varyantın anlamsız aracılı yıkıma neden olarak fonksiyonel protein üretimini engellediği öngörülmüştür.

MyTH4-FERM miyozinlerinin alt ailesinden MYO15A proteini, sterosilya yapısında aktin tabanlı uzamayı, tüylü hücre apikal bölgesinde doğru konumlanmayı ve MET kanal düzenlenmesini sağlar. MYO15A defektlerinde sterosilyer demet yapısının bozularak işitme kaybı ile sonuçlanması beklenmektedir [103].

MYO15A defektlerinde çoğunlukla ileri-çok ileri işitme kaybı beklenirken son yıllarda daha hafif kliniklere yol açan MYO15A mutasyonları bildirilmiştir ve fenotipin çeşitliliği etkilenen protein domaini ile açıklanmaya çalışılmıştır. MYO15A'nın ekzon 2 tarafından kodlanan N-terminal uzantısını içeren (izoform 1) ve içermeyen (izoform 2) 2 izoformu vardır ve iç kulakta N-terminal uzantıyı içermeyen izoform 2, izoform 1'e göre daha baskın eksprese edilmektedir [104], [105], [106]. Bu nedenle, N-terminal alanındaki patojenik varyantların, MYO15A'daki diğer patojenik varyantlarla karşılaştırıldığında, daha hafif bir işitsel fenotipe yol açtığı bilinmektedir [73]. Cengiz ve arkadaşlarının Türk ailelerden yaptıkları çalışmada, Motor ve FERM domainlerinde protein kısaltıcı veya *missense* varyantlar taşıyan ailelerde çok ileri işitme kaybı gözlenirken N-terminal uzantıda protein kısaltıcı homozigot varyant taşıyan ailede ilerleyici orta-ileri işitme kaybı bildirilmiştir [102].

Bilateral ileri konjenital sensörinöral işitme kaybı olan hasta 14'te heterozigot c.3558dup ve heterozigot c.5808_5814del varyantları saptanmıştır. MYO15A c.3558dup varyantı 2. Ekzonda yer almakta ve N-terminal uzantıda protein kısaltıcı etki ile yalnızca izoform 1'i etkilemesi beklenmektedir. Hastada saptanan diğer varyant olan c.5808_5814del varyantının ise proteinin iki izoformunda da kısaltmaya yol açtığı öngörülmektedir. Hastanın kesin tanısı için varyantların *cis/trans* durumunun belirlenmesi ve varyantların MYO15A fonksiyonuna etkisinin gösterilebilmesi için fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda, aralarında akrabalık olmayan 3 hastada saptanan *MYO15A*(NM_016239.4) c.5808_5814del (p.Arg1937Thrfs*10) varyantı literatürde daha önce Cengiz ve arkadaşları tarafından 3 Türk ailede bildirilmiştir [102]. Bu durum, bu varyantın kurucu mutasyon olasılığını düşündürmektedir. Daha fazla toplumda daha fazla hastadan yapılacak olan genetik değerlendirmeler, varyantın doğası ve dağılımı hakkında daha net bilgilere sahip olmamızı sağlayacaktır.

MYO15A geninde daha önce bildirilmemiş olan 2 varyant çalışmamız ile literatüre kazandırılmıştır.

SLC26A4 ile ilişkili sensörinöral işitme kaybı genişlemiş vestibüler akuaduktun eşlik ettiği nonsendromik snik ve Pendred sendromu olmak üzere iki fenotipi içerir

Hastalarda sensörinöral işitme kaybının başlangıç zamanı ve ağırlığı değişkenlik göstermektedir. Hastaların bir kısmı yenidoğan işitme taramasını geçebilir. Ancak bialelik *SLC26A4* mutasyonu olan çoğu çocukta ilk yıllarda ataklar halinde işitme kaybı görülürken üç yaşına gelindiğinde bilateral ileri-çok ileri işitme kaybı gelişmiş olmaktadır [107]. Vestibüler disfonksiyonun belirtileri işitme bulgularından önce gelebilir veya bunlara eşlik edebilir [108]. Pendred sendromu olgularında guatr ve diğer tiroid bulguları 10 yaşından sonra beklenmektedir [109].

SLC26A4 hastalarında işitme kaybı, temporal kemik anomalileri ve tiroid bulgularının aynı aile içinde değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. Bu durum, özellikle erken çocukluk dönemlerinde nonsendromik işitme kaybı ile Pendred sendromunun ayrımını güçleştirmektedir [110], [111], [112].

Literatürde, *SLC26A4* mutasyonları ile ilişkili güncel olarak genotip fenotip korelasyonu kurulamamıştır.

Konjenital bilateral ileri işitme kaybı olan hasta 16'da c.1614+1G>C ve c.1804-81G>A varyantları bileşik heterozigot olarak saptanmıştır. c.1614+1G>C Clinvar veritabanında patojenik/olası patojenik olarak hem otozomal resesif işitme kaybı olgularında hem de Pendred sendromu olgularında bildirilmiştir. 21 ekzonlu genin 14. İntronunda ye alan varyantın kırılmayı bozarak defektif transkript oluşumuna yol açtığı düşünülmektedir [113].

c.1804-81G>A varyantı daha önce literatürde bildirilmemiştir. 16. intronda bulunan varyant, ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PM2, PM3, PP1, PP3) olarak değerlendirilmiştir. *Human Splicing Finder'a* göre kriptik bir alıcı kesim bölgesini (*cryptic acceptor site*) aktive ettiği ve kırılmayı etkileyebileceği öngörülmüştür (Şekil 75).



Şekil 76: *SLC26A4*(NM_00441.2) c.1804-81G>A varyantının HSF analiz görüntüsü.

Literatürde *SLC26A4* ilişkili işitme kaybı ile uyumlu fenotipe sahip olduğu halde monoalelik *SLC26A4* mutasyonu saptanan olgular bildirilmiştir. Bu bireylerde kodlamayan bölgelerdeki varyantların protein ekspresyonunu etkileyebileceği öne sürülmüştür. Genişlemiş vestibüler akuadukt (GVA) saptanan Çin, Kore ve Japon kökenli bireylerde, %67-90'ında biallelik *SLC26A4* patojenik varyantları (M2 genotipi) ve %8-21'inde tek bir *SLC26A4* patojenik varyantı (M1 genotipi) gözlenmiştir [114], [115], [116]. Kuzey Avrupa kökenli GVA'lı bireylerin yaklaşık %25'inde biallelik *SLC26A4* patojenik varyantları (M2 genotipi), yaklaşık %25'inde tek bir *SLC26A4* patojenik varyantı (M1 genotipi) vardır. Kalan %50'sinde herhangi bir *SLC26A4* patojenik varyantı saptanmamıştır (M0 genotipi). Bu yüzdeler, bu etnik gruptaki GVA ve M1 genotipi olan bireylerde kodlamayan bir bölgede tespit edilmemiş/tanınmamış bir *SLC26A4* patojenik varyantının varlığını düşündürmektedir. Bugüne kadar böyle bir *SLC26A4* patojenik varyantı tanımlanmamış olsa da M1 genotipi olan birçok bireyde paylaşılan bir haplotip ("Kafkas" GVA [CEVA] haplotipi) tanımlanmıştır [117], [118]. Yuan ve arkadaşları 2012 yılında bir hastada 2343+69C>A varyantı bildirmişlerdir. Ancak bu intronik varyantın patojenitesini değerlendirecek fonksiyonel çalışmalar yapılmamıştır ve

VUS olarak değerlendirilmiştir [119]. Tian ve arkadaşları 2024 yılınca derin intronik c.304+941C>T varyantının Alu elementinin kısmi ekzonizasyonu ile sonuçlandığını göstermişlerdir [120]. Bu veriler, SLC26A4 genindeki derin intronik varyantların hastalık mekanizmasında sık görülebileceğini desteklemektedir.

Çalışmamızda, 16 numaralı hastada saptanan c.1614+1G>C ve c.1804-81G>A varyantları benzer fenotipteki kardeşinde de saptanmıştır. Fenotip ile uyumlu olması, aile içinde kosegrege olması, literatürde SLC26A4 geninin intronik varyantlarının hastalık yapıcı potansiyeline işaret edilmiş olması ve HSF'e göre kırılmayı etkilediğinin öngörülmesi SLC26A4(NM_000441.2) c.1804-81G>A varyantının patojenik etki gösterdiğini düşündürmektedir. Ancak bu etkinin kesin olarak anlaşılabilmesi için fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır. SLC26A4 RNA'sının kanda düşük seviyede eksprese edilmesi saptanan varyantların kırılma üzerindeki etkisini tespit edecek çalışmaları zorlaştırmaktadır.

Konjenital bilateral çok ileri işitme kaybı olan hasta 30'da SLC26A4 geninde homozigot ekzon 1 delesyonu saptanmıştır. MLPA analizi ile doğrulanan delesyon akraba evliliği ve aile öyküsü mevcut olan ailede kosegrege olmuştur.

SLC26A4 geninin 1. ekzonu protein kodlamamaktadır. Ancak genin *promoteri* 1. ekzonu kapsamaktadır. Bialelik ekzon 1 kaybının *promoter* yapısını bozarak transkripsiyona engel olacağı ve yeterli protein üretiminin gerçekleşmeyeceği öngörülmektedir.

Literatürde SLC26A4 ekzon 1-2 ve ekzon 1-3 delesyonu saptanan çalışmalar mevcuttur [121], [122], [123]. Tian ve arkadaşları 2024 yılındaki çalışmalarında ekzon 1-3 delesyonu içeren ileri-çok ileri işitme kayıplı hastalar bildirmiştir [120]. Ancak bildiğimiz kadarıyla çalışmamızdaki hasta 30 izole 1. ekzon delesyonu bildirilen ilk hastadır.

Bilateral konjenital ileri işitme kaybı hasta 32'de homozigot SLC26A4(NM_000441.2) c.1334T>G (p.Leu445Trp) varyantı saptanmıştır. 11. ekzonda yer alan ve proteinin dış halkasında 445. aminoasit pozisyonundaki lösin triptofan ile değiştiren varyant daha önce hem nonsendromik işitme kaybı olgularında hem de Pendred sendromu olgularında patojenik olarak bildirilmiştir. p.Leu445Trp değişiminin iyon kanalının yapısal kapanmasını engellediği ve iyon transportunu bozduğu öngörülmüştür [124].

Hasta 12 ve hasta 13, farklı zamanlarda yeni nesil dizileme yapılmış iki kardeştir. Hasta 12’de bilateral konjenital çok ileri işitme kaybı, hasta 13’te ise bilateral konjenital ileri işitme kaybı ve konjenital hipotiroidi vardır. Hastaların işitmesi normal olan diğer kız kardeşlerinde yalnızca konjenital hipotiroidi vardır.

Hipotiroidi ve işitme kaybının birlikte görülmesi ilk bakışta Pendred sendromunu düşündürmektedir. Ancak hasta 13’ün moleküler analizinde *TPO* geninde homozigot patojenik varyant saptanarak hasta, tiroid dishormonogenezisi tip 2A (MIM: #274500) tanısı almıştır. Bunun üzerine işitme kaybını açıklamak için genişletilen analizde *ESPN*(NM_031475) geninde ekzon 7 ve 8’de homozigot delesyon şüphesi saptanarak otozomal resesif işitme kaybı tip 36 (MIM: #609006) tanısı konulmuştur.

Espin bir akin düzenleyicidir ve tüylü hücrede sterosilya yapısının korunmasından sorumlu proteinlerdendir. Protein yapısı hala tam olarak çözülememiş olsa da, ankirin tekrarları, prolinden zengin domain 1 (PR1), aktin bağlayıcı domain 6 (xABS), prolinden zengin domain 2 (PR2), WH2 domaini ve C terminal aktin bağlayıcı motif içermektedir. *ESPN* ekzon 7 ve 8’in prolinden zengin domaini kodladığı, ekzon 7’nin aynı zamanda xABS domainini kodladığı bilinmektedir. Prolinden zengin domainler diğer proteinlerle etkileşim için gereklidir. xABS ise aktinle etkileşen ikincil domainidir. PR1-xABS aynı zamanda PIP2’ye bağlanmaktadır [125]. Aynı zamanda, Ahmed ve arkadaşları 2018 yılında çok ileri işitme kaybı, vestibülopati ve görme kaybı olan Pakistanlı bir ailede 18 bazlık çerçeve içi delesyon bildirmiş ve Usher sendromu ile ilişkilendirmişlerdir [126].

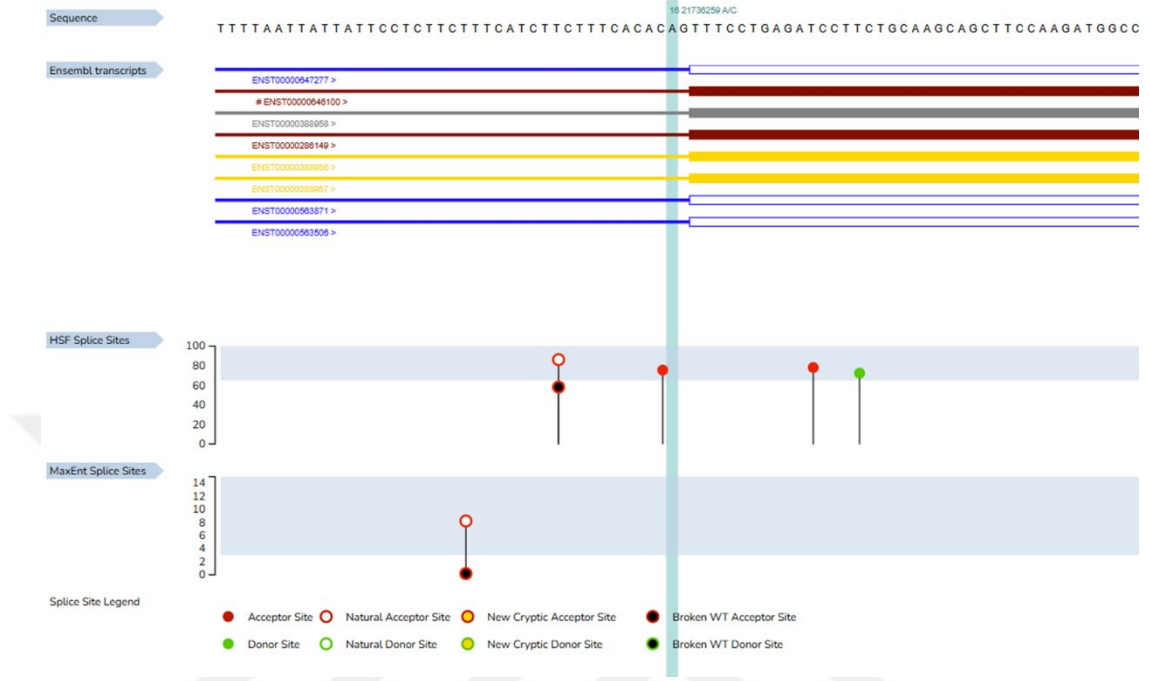
Hasta 12 ve 13’te saptanan çerçeve içi ekzon 7-8 delesyonlarının prolinden zengin ve xABS domainlerinin üretilmesini engelleyerek protein fonksiyonunu bozduğu öngörülmüştür. Hasta 12 ve 13’te saptanan varyantın ailede kosegrege olması homozigot *ESPN* ekzon 7-8 delesyonunun hastalık yapıcı doğasını destekler niteliktedir. Moleküler mekanizmanın aydınlatılması için fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

40 numaralı hastada *OTOA*(NM_144672.4) geninde homozigot c.2302-2A>C varyantı saptanarak otozomal resesif işitme kaybı tip 22 tanısı konulmuştur.

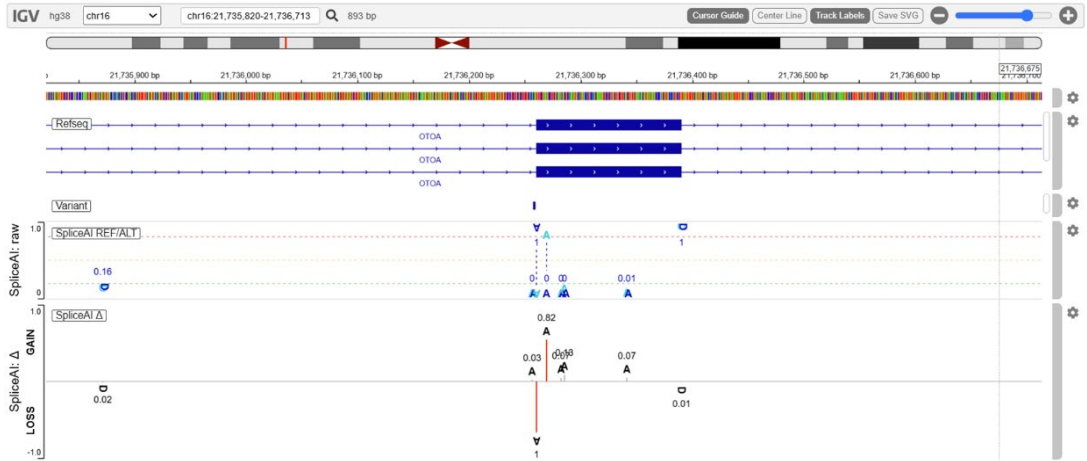
Otoankorin, tektoryel membran nonkollajenöz glikoproteinlerindendir ve membranın spiral limbusta sabitlenmesinden sorumludur [34]. *OTOA* fonksiyon kaybında tektoryel membranın limbustan ayrışmasının iç tüylü hücre uyarılmasında defektle sonuçlandığı ve işitme kaybına yol açtığı gösterilmiştir [50]. Bugüne kadar Clinvar veritabanında 180’den fazla patojenik/olası patojenik *OTOA* varyantı bildirilmiştir. Saptanan varyantların büyük kısmını küçük delesyonlar oluşturmaktadır [127].

Hasta 40’ta saptanan varyant 22. Ekzonun alıcı bölgesine (*splice acceptor*) denk gelmektedir. *Human Splicing Finder (HSF)* programında analiz edildiğinde alıcı

bölgeyi bozarak kırılma defektine yol açabileceği öngörülmüştür. *SpliceAI*, varyantı alıcı bölge kaybı için 1, alıcı bölge kazanımı için 0.82 olarak skorlandırmıştır.



Şekil 77: *OTOA*(NM_144672.4) c.2302-2A>C varyantının HSF analiz görüntüsü



Şekil 78: *OTOA*(NM_144672.4) c.2302-2A>C varyantının *SpliceAI* analiz görüntüsü

Ekzon 22, *OTOA* psödogeni *OTOAP1* ile homoloji gösteren bölgededir. Ancak, *OTOAP1*'in işlenmiş psödogen olması, hastanın IGV görüntüsünde en düşük MAPQ değerinin 40 olması, mutasyonun bildirilmiş *OTOA* hastalık yapıcı varyantları ile

uyumluluğu ve kliniğin otoankorin ilişkili işitme kaybı ile uyumlu olması nedeniyle c.2302-2A>C varyantının *OTOA* geninde olduğu düşünülmüştür.

Daha önce bildirilmemiş olan *OTOA*(NM_144672.4) c.2302-2A>C varyantı, çalışmamız ile literatüre kazandırılmıştır.

5 yaşından önce işitme bilateral ileri sensörinöral işitme kaybı tanısı alan hasta 43'te *LOXHD1*(NM_001384474.1) geninde homozigot c.1289G>A (p.Trp430*) varyantı saptanmış ve ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirilerek hastaya otozomal resesif işitme kaybı tip 77 (MIM:#613079) tanısı konulmuştur. Sterosilyer bir protein olan *LOXHD1*'deki fonksiyon kaybettirici mutasyonların mekanotransdüksiyon defektlerine yol açarak işitme kaybına neden olduğu öngörülmüştür [128], [129]. *LOXHD1* genindeki fonksiyon kaybettiren mutasyonların çoğunun *nonsense* olduğu bildirilmiştir [130]. Literatür ile uyumlu şekilde, 43 numaralı hastada saptadığımız homozigot c.1289G>A (p.Trp430*) varyantının anlamsız aracılı yıkıma neden olarak fonksiyon kaybına yol açması beklenilmektedir. Daha önce bildirilmemiş olan varyant çalışmamız ile literatüre kazandırılmıştır.

Bilateral çok ileri işitme kaybı olan hasta 22'de *TMC1*(NM_138691.3) geninde homozigot c.1564C>T (p.Gln522*) varyantı saptanmıştır. MET kanal proteinlerinden olan *TMC1*'in fonksiyon kaybı mekanoelektriksel transdüksiyonun bozulması ve işitme kaybı ile sonuçlanır [46], [131]. *TMC1* genindeki mutasyonlar hem otozomal dominant hem de otozomal resesif işitme kaybı ile ilişkilendirilmiştir [132]. Bununla birlikte bildirilen varyantların çoğu otozomal resesif kalıtım paternine sahiptir. Ancak net bir genotip fenotip korelasyonu kurulamamıştır. *TMC1* mutasyonları işitme kaybı hastalarında göreceli olarak siktir. Farklı çalışmalarda, Türk otozomal resesif işitme kaybı hastalarında *TMC1* mutasyonlarının oranı %4-8 olarak bildirilmiştir [133], [134], [135].

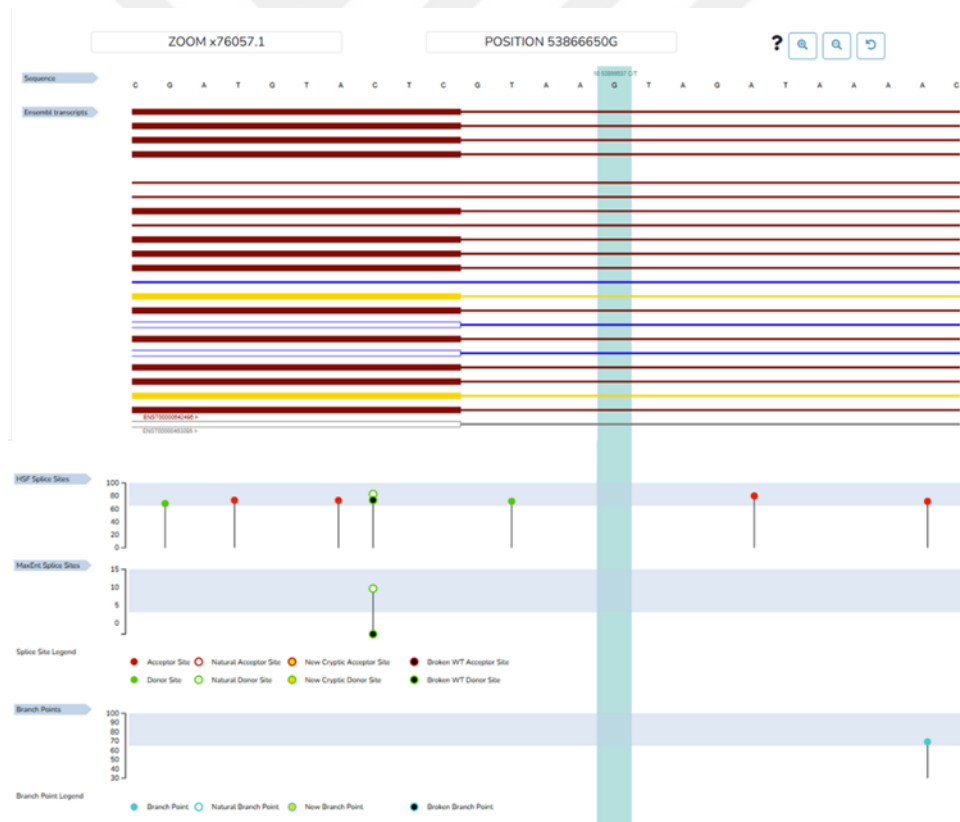
22 numaralı hastada saptadığımız homozigot p.Gln522* varyantının anlamsız aracılı yıkıma yol açtığı ve fonksiyonel protein oluşumunu engellediği öngörülmüştür. Daha önce bildirilmemiş olan varyant çalışmamız ile literatüre kazandırılmıştır.

Hasta 29'da *PCDH15*(NM_001384140.1) geninde homozigot c.3717+5G>A varyantı saptanmıştır. *PCDH15* c.3717+5G>A varyantı daha önce literatürde bildirilmemiştir ancak 2008 yılında Ahmed ve arkadaşları, vestibüler disfonksiyonu ve çok ileri sensörinöral işitme kaybı olan hastada *PCDH15* c.3717+1G>T varyantının kırılmayı bozduğunu öngörerek olası patojenik olarak bildirmişlerdir [136]. Sonraki yıllarda

c.3717+1G>T varyantı Clinvar'da birçok merkez tarafından patojenik olarak bildirilmiştir.

Ekzon intron bileşkelerinde yüksek oranda korunmuş olduğu bilinen +5 guanin nükleotidindeki değişikliklerin kırılmayı bozan en sık değişiklikler arasında olduğu bilinmektedir [137]. *PCDH15* geninin 27. intronunda yer alan değişiklik HSF programında analiz edildiğinde kırılma bölgesinde verici kesim noktasını (*splice donor*) bozduğu öngörülmüştür (Şekil 79). *SpliceAI*, varyantı verici bölge kaybı için 0.99, verici bölge kazanımı için 0.83 olarak skorlandırmıştır.

İşaret edilen veriler bir arada değerlendirildiğinde, hastanın fenotipi ile uyumlu olan *PCDH15* c.3717+5G>A varyantının kırılmayı etkileyerek protein boyunu değiştirdiği öngörülmüştür ve ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2, PP3) olarak değerlendirilmiştir. Varyantın kesim bölgesine etkisi ve oluşacak kırılma ürününün protein üzerindeki etkisinin tam olarak anlaşılabilmesi için fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.



Şekil 79: *PCDH15*(NM_001384140.1) c.3717+5G>A varyantının HSF analiz görüntüsü.

5.2) Otozomal Dominant İşitme Kaybı Tanısı Alan Olgular

5 numaralı hastada *P2RX2*(NM_170682.4) geninde heterozigot c.103_104delinsA (p.Val35Argfs*2) varyantı saptanarak otozomal dominant işitme kaybı tip 41 tanısı konulmuştur.

P2RX2 reseptörleri endokoklear potansiyeli azaltarak işitsel sistemi gürültü kaynaklı hasarlara karşı koruyan katyon kanallarıdır [138]. Literatürde *P2RX2* mutasyonu taşıyan işitme kaybı olguları az sayıda olmakla birlikte, işitme kaybının ikinci dekatta başlaması ve gürültüye maruziyet ile orantılı olarak ilerlemesi beklenmektedir. Bildirilen hastaların çoğunda *missense* mutasyon saptanmıştır [139]. Bunun yanında, 2021 yılında İranlı bir aileden yapılan çalışmada, konjenital bilateral sensörinöral ilerleyici işitme kaybı olan hastada durma kodonunu kaybettiren ve daha uzun protein ürününe yol açtığı öngörülen *P2RX2* p.Ter350Glu varyantı bildirilmiştir. Varyantın proteinde hem yapısal hem de fonksiyonel bozukluğa yol açtığı öngörülmüştür [140].

5 numaralı hastamızda, literatürdeki hastaların çoğunun aksine, konjenital bilateral progresif ileri işitme kaybı saptanmıştır. *P2RX2* c.103_104delinsA (p.Val35Argfs*2) varyantı 11 ekzonlu genin 1. ekzonundadır ve transkripsiyon ürününün anlamsız aracılı yıkıma gitmesi, fonksiyonel protein oluşmaması beklenmektedir. Bunun yanında hasta *SLC26A4* (NM_000441.2) geninde patojenik heterozigot c.2027T>A p.(Leu676Gln) varyantı açısından taşıyıcıdır. *SLC26A4*'nın kodladığı pendrin bir iyon kanalıdır ve otozomal resesif işitme kaybı ile ilişkilidir. Literatürde *SLC26A4* geninde monoalelik varyant saptanan hastalar bildirilmiş olmakla birlikte bu hastalarda ekzon dizilemesi ile saptanamayan ikinci varyantın var olduğu varsayılmıştır [141]. *P2RX2* ve pendrin proteinleri arasında doğrudan etkileşim bilinmese de mevcut tablonun işitme kaybı fenotipine etkisinin olup olmadığının anlaşılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

SLC26A4 varyantının yanı sıra, *P2RX2* geninin ve proteininin etkileştiği diğer moleküllerdeki olası mutasyonlar veya polimorfizmler, işitme fonksiyonunu etkileyen diğer genlerdeki olası mutasyonlar, gürültü başta olmak üzere, hastanın maruz kaldığı çevresel etmenler hastanın literatürde bildirilenden daha ağır bir fenotip ile karşımıza gelmesinde etkili olmuş olabilir. Etki eden diğer faktörlerin tanımlanması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

COL11A1, tip XI kolajenin alfa 1 zincirini kodlar. Tip XI kolajenin, kolajen fibrillerinin lateral büyümesini kontrol ederek tip II kolajen fibrillerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı varsayılmaktadır. *COL11A1* patojenik varyantları genellikle dominant negatif etki ile tip XI kolajen heterotrimerinin formasyonunu bozarak hastalık yapıcı etki gösterir [142]. *COL11A1* mutasyonlarının, tektoryel membranın oluşumu ve işlevi üzerindeki etkileri nedeniyle işitmeyi etkileyebileceği öne sürülmektedir [143].

COL11A1 geninde dominant negatif etkiye neden olan missense mutasyonlar ve çerçeve içi delesyonlara neden olan kesim yeri mutasyonları otozomal dominant Stickler sendromu tip 2 ile ilişkilidir. Haployetmezliğe neden olan mutasyonlar daha nadir gözlenir ve nonsendromik işitme kaybı gibi daha hafif bir kliniğe yol açması beklenir [142].

39 numaralı hastada saptadığımız, 67 ekzonlu genin 59. Ekzonuna denk gelen c.4459_4460dup varyantının anlamsız aracılı yıkıma neden olarak haployetmezliğe ve bunun sonucunda nonsendromik işitme kaybına yol açtığı öngörülmüştür. Daha önce bildirilmemiş olan varyant çalışmamız ile literatüre kazandırılmıştır.

5.3) Otozomal Resesif İşitsel Nöropati Tanısı Alan Olgular

OTOF genindeki varyasyonlar, konjenital, nonsendromik işitme kaybı vakalarının %1-8'inden sorumludur ve işitsel nöropati spektrum bozukluklarının önde gelen nedenidir [67]. Türk popülasyonundaki işitme kaybı hastalarında *OTOF* mutasyonu prevalansı hakkında yeterli veri yoktur. 2011 yılında 49 nonsendromik işitme kaybı ailesinden yapılan bir çalışmada genetik tanının %5'ini *OTOF* mutasyonlarının oluşturduğu bildirilmiştir [144].

OTOF ile ilişkili işitme kaybını oluşturan iki fenotip vardır: tipik *OTOF* ile ilişkili işitme kaybı ve atipik *OTOF* ile ilişkili işitme kaybı. Tipik *OTOF* ile ilişkili işitme kaybı, konjenital ya da prelingual dönemde başlayan, genellikle ileri-çok ileri düzeyde (>71 dB) bilateral işitme kaybı ile karakterizedir. Bu durum normal OAE'ler (otoakustik emisyonlar) ve anormal ABR'lerle (işitsel beyin sapı yanıtları) birlikte görülür. Yaş ilerledikçe, bireylerin %20 ila %80'inde OAE'ler azalır ya da tamamen kaybolur.

Atipik *OTOF* ile ilişkili işitme kaybı ise ya sıcaklığa duyarlı *OTOF* ile ilişkili işitme kaybı ya da ilerleyici *OTOF* ile ilişkili işitme kaybı ile karakterizedir. Sıcaklığa duyarlı *OTOF* ile ilişkili işitme kaybında, hastalar bazal vücut sıcaklığında normal işitmeye veya orta derece işitme kaybına (0-55 dB) sahipken, vücut ısısının yaklaşık 0.5 °C veya daha fazla artmasıyla birlikte işitme eşliğinin bilateral ileri-çok ileri (>71 dB) işitme kaybı seviyesine yükseldiği gözlenir. Vücut ısısının normale dönmesinden sonraki birkaç saat içinde işitme genellikle eski düzeyine döner. İlerleyici *OTOF* ile ilişkili işitme kaybı ise başlangıçta hafif ila orta derecede olup, birkaç ay ya da yıl içinde çok ileri düzeye ilerleyebilir. İşitme kaybının ilerleme hızı bireyden bireye değişkenlik gösterir [67].

2020 yılına kadar, *OTOF* geninde patojenik veya muhtemel patojenik olarak sınıflandırılan toplam 219 varyant tanımlanmıştır. Bu varyantların 84'ü yanlış anlamlı (*missense*), 44'ü çerçevesi kayması (*frameshift*), 43'ü anlamsız (*nonsense*), 36'sı kesim yeri mutasyonu (*splice site*), 7'si çerçeve içi duplikasyon veya delesyon, 3'ü kopya sayısı varyantı (*CNV*), 1'i durdurma kaybı (*stop-loss*), 1'i düzenleyici bölge varyantı şeklindedir [145].

OTOF geninde her iki alelde de prematür durdurma (*nonsense*) ve çerçeve kayması (*frameshift*) gibi kısaltıcı (*truncating*) *OTOF* varyantlarının bulunması, dil öncesi başlayan çok ileri düzeyde işitme kaybına neden olur. Her iki alelde de kısaltıcı olmayan (*nontruncating*) *OTOF* varyantları (örneğin, *missense* varyantlar), daha hafif bir fenotipe yol açar. Bir kısaltıcı ve bir kısaltıcı olmayan *OTOF* varyantının birlikte bulunması ile iki kısaltıcı olmayan varyantın birlikteliği arasında anlamlı bir klinik fark gözlenmemiştir. Atipik, sıcaklığa duyarlı *OTOF* ile ilişkili işitme kaybı olan tüm bireylerde ya her iki alelde kısaltıcı olmayan patojenik varyantlar ya da bir kısaltıcı ve bir kısaltıcı olmayan patojenik varyant bulunur [146]. Bununla birlikte, benzer genotiplere sahip hastalarda bile işitme kaybı derecesinde geniş bir standart sapma vardır ve bu, gözlemlenen farklılıklara katkıda bulunan çevresel faktörler veya genetik değiştiriciler olabileceğini düşündürmektedir [147].

Sıcaklığa duyarlı işitsel sinaptopatiye neden olduğu keşfedilen ilk varyant p.Ile515Thr'dir [148]. Bunun dışında sıcaklığa duyarlı 12 patojenik varyant bildirilmiştir. Bu varyantlardan üçü (p.Glu841Lys, p.Gln994ValfsTer7 ve p.Glu1700Gln), hem tipik *OTOF* ile ilişkili işitme kaybı hem de atipik ilerleyici *OTOF* ile ilişkili işitme kaybı olan bireylerde de rapor edilmiştir. Bu durum, en az bir sıcaklığa duyarlı patojenik varyanta sahip bileşik heterozigotluğun bu fenotipe neden olabileceğini düşündürmektedir [145].

OTOF mutasyonlarının genotip fenotip ilişkisini anlamak için yapılan çalışmalarda protein domainleri ile fenotip arasında bir ölçüde korelasyon gözlemlenmiştir. Hastaların varyantları novel olsa dahi varyantların kısaltıcı olup olmamasından ve proteinin etkilenen bölgesinden hareketle klinik öngörülerde bulunabileceği öne sürülmüştür.

Otoferlinin insan kokleasındaki kanonik izoformunda kalsiyuma bağlanan veya diğer proteinlerle etkileşime giren altı C2 domaini, bir varsayımsal C2 domaini (C2de), fosfolipid membranlarla etkileşen en az bir Fer domaini ve bir transmembran domain bulunmaktadır. Klinikle ilişkili mutasyonların çoğu, kalsiyum bağlayan C2 domainlerinde bildirilmiştir [149].

1 numaralı hastada saptanan homozigot c.4467dup (p.Ile1490Hisfs*19) varyantı daha önce Clinvar'da tanımlanmamış olmakla birlikte Türk bir resesif işitme kaybı ailesinde bildirilmiştir [74]. Otoferlin C2D ve C2E domainleri arasında C2de bölgesinde bulunan varyantın çerçeve kaymasına yol açarak protein boyunu kısalttığı öngörülmektedir. 1 numaralı hastada, literatürdeki diğer kısaltıcı mutasyon taşıyan olgularla uyumlu şekilde, tipik çok ileri işitme kaybı vardır.

7 numaralı hasta 7 yaşındayken değerlendirildi. İşitme taramasını geçememiş olan ve odyolojik değerlendirmede işitsel nöropati spektrum bozukluğu tanısı almış olan hastanın annesinden alınan anamnezde, hastanın normal şartlarda işittiği ancak

ateşli hastalık dönemlerinde ani gelişen sağırlığı olduğu, öğrenilmiştir. Hastada *OTOF* geninde heterozigot iki varyant saptanmıştır. Yapılan segregasyon çalışması sonucunda annesinden kalıtıldığı belirlenen c.1544T>C (p.Ile515Thr) varyantı daha önce Clinvar'da olası patojenik olarak bildirilmiş olmakla birlikte, sıcağa duyarlı işitme kaybına sebep olduğu iyi bilinen bir varyanttır. Mutasyona sahip hastalarda vücut sıcaklığı yükseldiğinde, plazma zarındaki düzgün katlanmış otoferlin düzeyinin sinaptik ses iletimi için kritik eşiğin altına düştüğü ve C2C domainindeki dengesizlik nedeniyle uygun şekilde yeniden katlanma olasılığının azaldığı öne sürülmüştür. Böylece hastalar, sıcaklık kaynaklı sağırlıktan ancak birkaç saat sonra, yeterli miktarda otoferlinin de novo sentezinden sonra, işitme duyusunu yeniden kazanırlar [150]. Babasından kalıtıldığı belirlenen c.4499G>C (p.Arg1500Pro) varyantı ise daha önce literatürde bildirilmemiş bir varyanttır. ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PM2, PM3, PP3, PP4) olarak değerlendirilen varyant, proteinin C2E domaininde bulunmaktadır. Literatürde, C2E domaininde yer alan varyantların ön planda atipik *OTOF* ilişkili sağırlık fenotipi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [149]. Bunun yanı sıra, *OTOF* dışında hiçbir gen sıcaklığa duyarlı işitme kaybı formlarıyla ilişkilendirilmemiştir ve literatürde benzer bir fenotipe sahip tüm vakalar, popülasyon geçmişinden bağımsız olarak patojenik *OTOF* varyantlarını ortaya koymuştur. Açıklanan tüm ikameler yalnızca bir C2 alanının hafif dengesizleşmesine neden oluyor gibi görünmektedir [145]. Bu veriler göz önünde bulundurulduğunda hastada heterozigot formda saptanan (p.Arg1500Pro) varyantının hastalık yapıcı olduğu öngörülmektedir.

28 numaralı hastada saptanan homozigot c.5431A>T (p.Lys1811*) varyantı daha önce Clinvar'da patojenik, olası patojenik olarak bildirilmiştir. C2F domaininde erken sonlanmaya neden olan varyantı taşıyan hastada literatürdeki diğer olgularla uyumlu olarak çok ileri işitme kaybı vardır.

OTOF ile ilişkili işitme kaybı için gen tedavisi hızla ilerlemektedir ve birçok klinik çalışma umut verici sonuçlar bildirmiştir. Ana yaklaşım, adeno-ilişkili virüs (AAV) aracılığıyla gen aktarımını içerir ve amaç, kokleada iç tüylü hücrelerde otoferlin üretimini yeniden sağlamaktır [151], [152], [153]. Yakın gelecekte, hastaların erken dönemde genetik tanı alması tedaviye erişimde en önemli basamaklardan olacaktır.

5.4) Sendrom Tanısı Alan olgular

Brankiyootorenal spektrum bozukluğu (BORSD); iletim tipi, sensörinöral veya mikst tip işitme kaybı, brankiyal fistüller/kistler ve hafif böbrek hipoplazisinden bilateral böbrek agenezisine kadar değişen böbrek malformasyonlarıyla ilişkili dış, orta ve iç kulak malformasyonlarıyla karakterize bir hastalık spektrumudur.

Brankiyootorenal spektrum bozukluğu, yalnızca böbrek anomalilerinin varlığı veya yokluğu açısından farklılık gösteren iki fenotip olan brankiyootorenal (BOR)

sendromu ve brankiyootik sendromu (BOS) içerir. Moleküler genetik testlerle tanısı doğrulanan aileler içinde aynı mutasyonu taşıyan bireylerin bir kısmının BOR sendromu ile bir kısmının ise BOS ile uyumlu kliniğe sahip olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle, bu sendromlar en iyi şekilde brankiyootorenal spektrum bozukluğu olarak bilinen tek bir bozukluk olarak düşünülür [154].

Fraser'in 1980 çalışmasına göre BOR/BO genel pediatrik popülasyonda 1:40.000 oranında yaygınlık gösterir ve çocuklarda derin sağırlığın %2'sinden sorumludur [155].

Tanısı için klinik kriterler geliştirilmiş olmakla birlikte *EYA1*, *SIX1* veya *SIX5* genlerinde heterozigot mutasyonun saptanmasıyla genetik tanısı kesinleştirilir. Hastaların %40'ında *EYA1*, %7'sinde *SIX1*, %2.5'unda *SIX5* geninde mutasyon saptanmıştır.

BORSD hatalarının %90'dan fazlasında işitme kaybı, %82 preauriküler pit, %36 *lop ear* malformasyonu, %13 preauriküler tag, %67'sinde böbrek anomalileri gözlenmiştir.

BORSD için bir genotip-fenotip korelasyonu tanımlanmamıştır [154].

Eyes Absent ailesi (*EYA1-4*), hem tirozin fosfataz hem de transkripsiyonel koaktivatör olarak görev yapan bir grup çift fonksiyonlu proteindir.

EYA'lar, farklı biyolojik aktiviteleri kodlayan iki işlevsel domaine sahiptir. Birincisi, yüksek homoloji C-terminal protein tirozin fosfataz domaini (*EYA* domaini) ve ikincisi, nispeten düşük homoloji N-terminal kotranskripsiyonel transaktivasyon domainidir [156].

SO/SIX ailesi transkripsiyon faktörlerinin homeodomain (HD) süper ailesinin farklı bir grubudur. Yüksek oranda korunmuş 60 amino asitli HD ve protein etkileşiminde görevli 110-115 amino asitli *SO/SIX*'e özgü domain (SD) içerirler [157].

Bağlama bağlı olarak, *SIX* proteinleri transkripsiyonel aktivatör veya repressör işlevi görebilir ancak *EYA* ile birlikte eksprese edildiğinde *EYA-SIX* kompleksi, *SIX*'in HD'sinin DNA bağlayıcı aktivitesini ve *EYA*'nın N-terminal domaininin transaktivasyon potansiyelini sağlamasıyla iki taraflı bir transkripsiyon faktörünün oluşumuna yol açar. Bu da *SIX*'in tek başına repressör olarak hareket ettiği koşullarda dahi kompleksin aktivatör olarak hareket etmesi ile sonuçlanır.

EYA1 ve *SIX1* iç kulakta erken embriyonik dönemde birlikte eksprese edilir. *EYA1-SIX1* kompleksinin; hücrelerin çoğalma durumunu sürdürmek, nöronal ve duyuşal tüylü hücre farklılaşma programlarını tetiklemek ve hücrenin hayatta kalmasını sağlamak gibi çoklu işlevleri vardır. *EYA1-SIX1* transkripsiyonel aktivasyon kompleksi, Corti organı ve tüylü hücre farklılaşmasında önemli bir düzenleyicidir. Ayrıca, *EYA1* ve *SIX1* spiral ganglionlardaki farklılaşan nöronlarda eş zamanlı eksprese edilir ve bu bölgedeki nöral gelişimin başlatılmasındaki anahtar transkripsiyon faktörleri olarak görülmektedir [158].

EYA1 geninde 160'dan fazla patojenik varyant bildirilmiştir [159]. Yapılan çalışmalar hızla parçalanmış anormal gen ürününün haployetmezliğe yol açarak BORSD kliniği ile sonuçlandığını öngörmektedir [160].

41 numaralı hastada saptadığımız (p.Arg361*) varyantı; 2006 yılında laringomalezi, glossoptozis, retrognati, pektus ekskavatum, bilateral kulak çukurları (*ear pits*) olan çocukta ve hafif retrognati, unilateral kulak önü çukuru, sol brankial boyun fistülü, sağ brankial kisti olan annesinde bildirilmiştir. Çocuğun ve annenin işitmesi ve böbrek fonksiyonları normaldir. 2008 yılında işitme kaybı ve renal anomalilerin gözleendiği iki farklı ailede bildirilmiştir. 2011 yılında bir atipik BOR sendromu hastasında ve iki tipik BOR sendromu hastasında bildirilmiştir. Yine 2008 yılında Yarık damak bilateral preauriküler pit, brankiyal fistül, bilateral mikst işitme kaybı, unilateral renal agenezi, miyop, düz yüzü olan bir hastada COL2A1 genindeki varyantın yanı sıra EYA1 p.Arg361* varyantı saptandığı bildirilmiştir.

Birkaç *SIX1* patojenik varyantının işlevsel karakterizasyonu, bunların SIX1-EYA1 kompleks oluşumunu ortadan kaldırıp nükleer lokalizasyonu önleyerek (örneğin, p.Val17Glu); veya SIX1-EYA1 kompleksinin DNA bağlanmasını iptal ederek (örneğin, p.Arg110Trp, p.Arg112Cys, p.Tyr129Cys) kompleksin fonksiyonunu bozduğunu açığa çıkarmıştır [161], [162], [163].

45 numaralı hastada saptanan (p.Arg110Cys) varyantı daha önce literatürde bildirilmemiştir. Ancak Clinvar'da, aynı pozisyondaki, (p.Arg110Trp) varyantı brankiyoetik sendrom tip 3 ve otozomal dominant işitme kaybı ile; (p.Arg110Gln) varyantı brankiyoetik sendrom tip 3 ile; (p.Arg110Leu) varyantı brankiyoetik sendrom tip 3 ve otozomal dominant işitme kaybı ile ilişkili patojenik/olası patojenik varyantlar olarak bildirilmiştir.

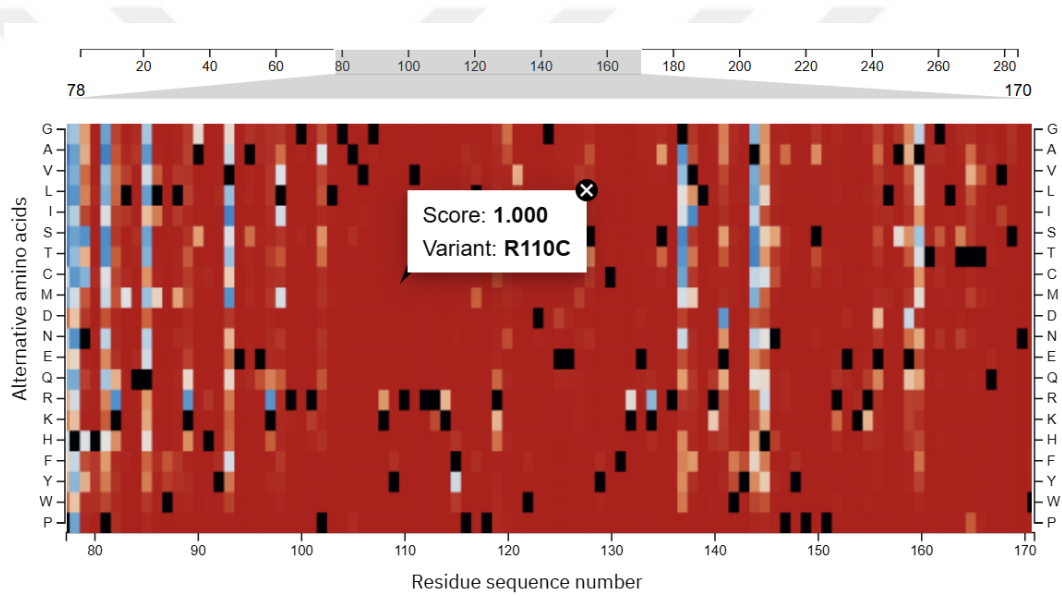
2008 yılında 247 BORSD ailesinden yapılan çalışmada, 5 ailede p.Arg110Trp varyantı, 1 ailede p.Arg110Gln varyantı bildirilmiştir [164]. Ruf ve arkadaşlarının çalışmasında işitme kaybı ve brankiyal anomali gözlenen 2 ayrı ailede p.Arg110Trp değişimi saptanmıştır. Bu çalışmada, *SIX1*'in DNA'ya bağlanmasını etkilemediği ancak *SIX1*-*EYA1* etkileşimini bozduğu ve hedef transkripsiyonu ortadan kaldırdığı gösterilmiştir [162].

SIX1 proteininin SD domaininde yer alan Arg110 rezidüsünün Six protein ailesinde korunmuş olması ve bu pozisyondaki aminoasit değişimlerinin farklı etnisitelerden ayrı BORSD ailelerinde bildirilmiş olması p.Arg110 rezidüsünün mutasyonel bir sıcak nokta (*hot spot*) olduğunu düşündürmektedir. Bu durum, 45 numaralı hastada saptadığımız p.Arg110Cys varyantının patojen olduğuna dair görüşlerimizi desteklemektedir.

SIX1 mutasyonları OMIM'de brankiyoetik sendrom tip 3'ün yanı sıra, (#605192) otozomal dominant işitme kaybı tip 23 ile de ilişkilendirilmiştir. Mutai ve arkadaşlarının çalışmasında nonsendromik işitme kaybı ailesinde *SIX1* p.Arg110Trp

varyantı saptanmış ve etkilenen aile üyelerinin işitme kaybı dışında BORSD klinik kriterlerini karşılamaması, fenotipin brankiootik sendrom tip 3'ten ayrı bir antite olarak yorumlanmasına yol açmıştır [42]. Otozomal resesif işitme kaybı tip 23 kliniğine dahil edilen diğer hastada ise sol hipoplastik böbrek ve vezikoüreteral reflü bildirilmiştir [162].

BORSD klinik heterojenitesi yüksek bir hastalık grubudur. SIX1 mutasyonu saptanan olgularda nonsendromik işitme kaybı kliniği ile bildirilen hasta sayısının azlığı, bildirilen hastaların çoğunda saptanan p.Arg110Trp varyantının BOR/BO kliniği gösteren hastalarda da bildirilmiş olması, klinik ayrımı destekleyecek fonksiyonel çalışmaların yokluğu, bildirilmiş ailelerin birinde ek sistem bulgularının varlığı SIX1 mutasyonlarında gözlenen izole işitme kaybının brankiyootorenal spektrum bozukluğunun bir parçası olduğunu düşündürmektedir.



Şekil 80: Hasta 45'te saptanan p.Arg110Cys varyantının *AlphaMissense Pathogenicity Heatmap* skoru.

Mohr-Tranebjaerg sendromu (MTS), diğer adıyla sağırılık-distoni-optik nöronopati sendromu, erken çocukluk döneminde sensörinöral işitme kaybıyla ortaya çıkan bir hastalıktır. MTS, tipik olarak, ergenlik döneminde yavaş ilerleyen distoni veya ataksi, 20'li yaşlardan itibaren yavaş ilerleyen görme kaybı ve 40'lı yaşlardan itibaren gelişen demansla ilişkilidir. İşitme kaybı tüm hastalarda, ilk bulgu olarak, beklenirken diğer sistem bulgularının ortaya çıkışı hastadan hastaya değişkenlik göstermektedir. Ancak, şimdiye kadar, fenotipi izole işitme kaybı ile sınırlı kalan hasta bildirilmemiştir [165].

Farklı popülasyonlardan vakalar bildirilmiş olmakla birlikte MTS'nin kesin prevalansı bilinmemektedir. 2012 yılında 37 aileden 91 etkilenen birey tanımlanmıştır [166].

Etkilenen birey sayısının sınırlı olması, klinik seyrin son derece değişken olması ve tanımlanan her patojenik varyantın aileye özgü olması, genotip-fenotip korelasyonlarının tespitini sınırlamaktadır.

TIMM8A, mitokondriyal taşıma süreçlerinde yer alan 97 amino asitli mitokondriyal iç zar translokaz alt birimi *TIMM8A*'yı kodlar. Mitokondrinin zarlar arası boşluğunda *TIMM8A*, *TIMM13* ile kompleks oluşturarak *TIMM23* gibi diğer proteinlerin iç zardan taşınmasını sağlar. *TIMM8A-TIMM13* kompleksinin fonksiyon kaybının oksidatif fosforilasyon defektine yol açtığı düşünülmektedir [167], [168].

TIMM8A'nın sistein rezidüleri aracılığı ile protein etkileşimine girdiği ve MTS patogenezinde protein etkileşiminin bozulmasının rol aldığı düşünülmektedir [169]. 47 numaralı hastada saptadığımız p.Phe22* varyantı 43. Pozisyondaki ilk sistein rezidüsünden önce protein sonlanmasına neden olmaktadır. Oluşan güdük yapının anlamsız aracılı yıkıma gittiğini öngörülmüştür.

MTS'nin erken çocukluk döneminde işitme kaybı kliniği ile ortaya çıkan bir sendrom olması nedeniyle nonsendromik işitme kaybının taklit eden bir doğası vardır. Özellikle bazı ailelerde otozomal resesif işitme kaybı benzeri kalıtım tabloları ile karşılaşılabılır. Bu durumda, hastanın genetik tanısının kesinleştirilmesi, hasta takibinde, yönetiminde ve aileye verilecek genetik danışmada büyük önem arz etmektedir. Özellikle, soy ağacında işitme kaybının yanında distoni, görme kaybı, erken demans, psikiyatrik semptomlara sahip bireyler tariflenen erkek çocuklarda MTS ihtimali akılda tutulmalı ve yapılacak genetik testin kapsamı bu yönde seçilmelidir.

Hastamız, bildiğimiz kadarıyla literatürde bildirilen ilk Türk MTS hastasıdır ve daha önce bildirilmemiş olan *TIMM8A*(NM_004085.4) c.65_66delinsAA p.(Phe22*) varyantı çalışmamız ile literatüre kazandırılmıştır.

5.6) Kesin Tanı Almayan Olgular

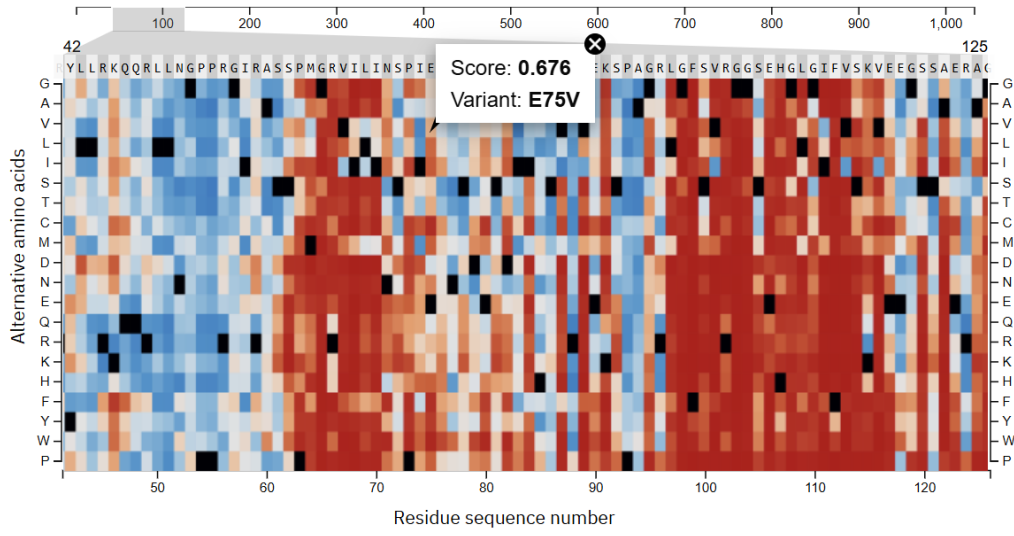
4 numaralı hastanın anne ve babasında da işitme kaybı olan hastanın benzer fenotipli ablasında (hasta 3) *GJB2*(NM_004004.6) geninde homozigot c.35del (p.Gly12Valfs*2) varyantı saptanmıştır. İşitme kaybı olan annesinden dış merkezde yapılan genetik testte *OTOA*(NM_144672.4) geninde homozigot c.2302-2A>C varyantı ve *GJB2*(NM_004004.6) geninde homozigot c.35del (p.Gly12Valfs*2) varyantları saptanmıştır ancak taşıyıcılıklar belirtilmemiştir. Hasta 4'te *GJB2*(NM_004004.6) geninde heterozigot c.35del (p.Gly12Valfs*2) ve heterozigot c.-23+1G>A varyantları saptanmıştır. Saptanan varyantların ikisinin de Türk toplumunda taşıyıcılık oranı yüksek patojenik varyantlar olduğu bilinmekte ve

hastanın bu varyantlar açısından bileşik heterozigot olduğu düşünülmektedir. Ancak, hastanın anne veya babasının c.-23+1G>A varyantını taşıyıp taşımadığı tespit edilememiştir. Varyantların *trans* formda taşındığının doğrulanamamış olması nedeniyle 4 numaralı hastanın genetik tanısı kesinleştirilmemiştir.

Hasta 4'ün annesinde dış merkezde saptanmış olan *OTOA*(NM_144672.4) c.2302-2A>C varyantı 40 numaralı hastada saptadığımız novel varyanttır. Bu varyantın iki ayrı ailede gözlenmiş olması kurucu mutasyon (*founder mutation*) olasılığını düşündürmektedir. Ancak bunun doğrulanması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

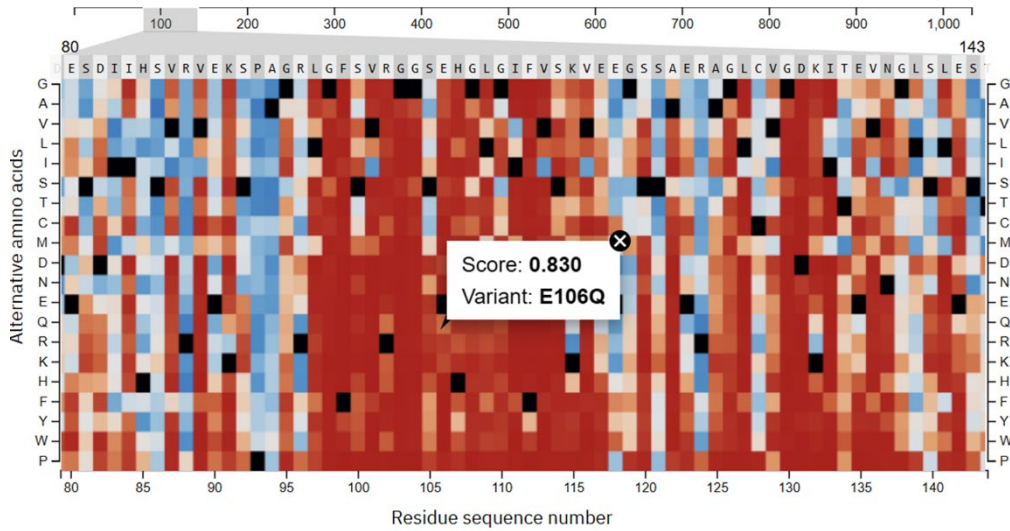
Hasta 18'de *CDH23*(NM_001171930.2) geninde saptanan heterozigot varyantlardan c.2290-1G>A daha önce Clinvar'da olası patojenik olarak bildirilmiştir, c.67+1G>T varyantı Clinvar'da bildirilmemiştir ve ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirilmiştir. Literatürde, *CDH23* genindeki bialelik protein kısaltıcı (*truncating*) mutasyonların *Usher* sendromu tip 1D (MIM: #601067) ile ilişkili olduğu, buna karşın bialelik *missense* mutasyonların ya da bir protein kısaltıcı mutasyon ile bir *missense* mutasyonun bileşik heterozigot biçimde birlikte bulunmasının ise otozomal resesif işitme kaybı tip 12 (MIM: #601386) ile ilişkilendirildiği bildirilmektedir [170]. Bununla birlikte, 2025 yılında yayınlanan bir çalışmada Çinli nonsendromik işitme kaybı hastasında protein boyunu kısaltan iki varyantın bileşik heterozigot olduğu bildirilmiştir [171]. Saptadığımız c.2290-1G>A ve c.67+1G>T varyantlarının kesim yerini bozarak protein boyunu değiştirdiği öngörülmüştür. 18 numaralı hastada işitme kaybı dışında klinik bulgu olamamakla birlikte *Usher* sendromunda göz bulgularının ikinci dekatta da ortaya çıkabileceği bilinmektedir [172]. Bu nedenle, göz bulguları olmayan hastalarda genotip fenotip ilişkisi kurmadan önce takip önerilmektedir. Hasta 18'in genetik tanısı, segregasyon analizi ile bileşik heterozigotluğun doğrulanması ve diğer sistem bulgularının ayrıntılı değerlendirmesi ile kesinleştirilecektir.

Hasta 10 ve hasta 11'in *PDZD7*(NM_001195263.2) geninde homozigot c.224A>T (p.Glu75Val) varyantı saptandı. Clinvar'da VUS olarak bildirilmiş olan varyant, ACMG kriterlerine göre de VUS (PM2, PP1, PP3, PP4) olarak değerlendirilmiştir. Varyant, PDZ1 domaininin 75. pozisyondaki glutamatın valin ile değişmesine neden olmaktadır.



Şekil 81: *PDZD7*(NM_001195263.2) p.Glu75Val varyantının *AlphaMissense Pathogenicity Heatmap* skoru.

24 numaralı hastada heterozigot saptanan *PDZD7*(NM_001195263.2) c.307G>C (p.Gly103Arg) varyantı daha önce Clinvar'da nonsendromik işitme kaybı hastalarında ve Usher sendromu hastasında patojenik/olası patojenik olarak bildirilmiştir. Aynı ekzonda daha önce tanımlanmamış olan c.316G>C (p.Glu106Gln) varyantı ACMG kriterlerine göre VUS (PM2, PP3) olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 82: *PDZD7*(NM_001195263.2) p.Glu106Gln varyantının *AlphaMissense Pathogenicity Heatmap* skoru.

PDZD7, PDZ domainleri içeren bir adaptör proteindir. Sensör hücrelerde usherin, whirlin, harmonin gibi proteinlerle etkileşerek kompleks yapar, Usher protein kompleksinin oluşumunda köprü kurucu rol oynar. Sterosilya mimarisinin korunmasında görevlidir [173]. Hasta 10, 11'de saptadığımız p.Glu75Val varyantı ve hasta 24'te saptadığımız p.Gly103Arg ve p.Glu106Gln varyantları PDZ1 domaini üzerinde yer alan aminoasitlerin değişimine neden olmaktadır. Daha önce literatürde c.307G>C (p.Gly103Arg) değişikliğinin USH2 kompleks etkileşimini bozduğu öngörülmüştür [174]. PDZ1 domainleri diğer proteinlere bağlanmak için gereklidir ancak p.Glu75Val ve p.Glu106Gln varyantının domain üzerindeki etkisinin anlaşılması için fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bildiğimiz kadarıyla şimdiye kadar hiçbir Türk hastada *PDZD7* mutasyonu bildirilmemiştir.

Hasta 33'ün genetik değerlendirmesinde *MARVELD2*(NM_001038603.3) homozigot c.1621_1625del (p.Gln541Asnfs*5) ve *ILDR1*(NM_001199799.2) homozigot c.979C>G (p.Arg327Gly) varyantları saptanmıştır.

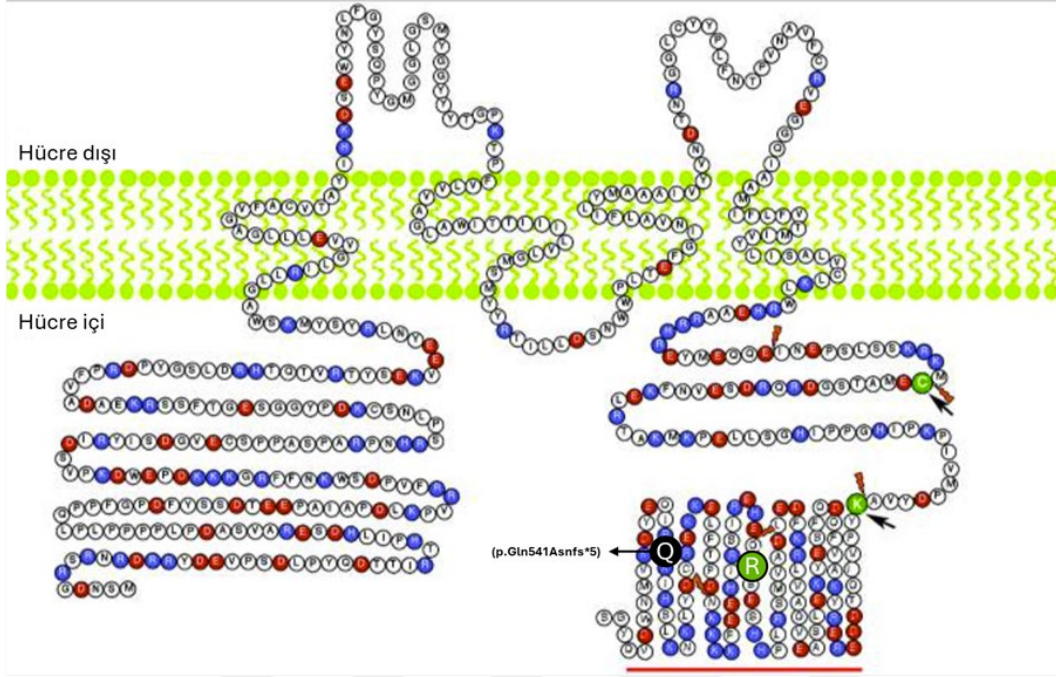
MARVELD2 geninin kodladığı triselülin proteini C-terminal ucundaki okludin-ELL domaini aracılığı ile *ILDR1* ile etkileşir ve epitelin triselüler sıkı bağlantı (*tricellular tight junction*) bölgelerine yerleşir.

Riazuddin ve arkadaşlarının çalışmasında işitme kaybı hastasında okludin-ELL domaininde yer alan p.Arg500* varyantı saptanmış, hastanın lenfosit hattında mRNA'nın kısmen korunduğu ve anlamsız aracılı yıkımdan kaçtığı tespit edilmiştir [39].

Öte yandan, Higashi ve arkadaşları p.Arg500* mutant proteinlerinin triselüler bağlantılardaki lokalizasyonunun bozulduğunu göstermiştir. Çalışmalarında, okludin-ELL domainindeki defektin *ILDR1* aracılı sıkı bağlantı bölgesine taşınma sistemini bozduğunu, *ILDR1* ve triselülin mutasyonlarının Corti organı epitel bariyer fonksiyonunun bozulmasıyla sonuçlandığını öne sürmüşlerdir [175]. Nayak ve arkadaşlarının çalışmasında da insan p.Arg500* varyantının karşılığı olarak p.Arg479* knock-in fare modellerinde üreten C-terminal okludin-ELL domain kaybının iç kulak epitelindeki iki hücreli ve üç hücreli sıkı bağlantıları birbirine bağlayan intramembranöz bağları bozduğu ve Corti organındaki tüylü hücrelerin kaybına yol açtığını gösterilmiştir [176].

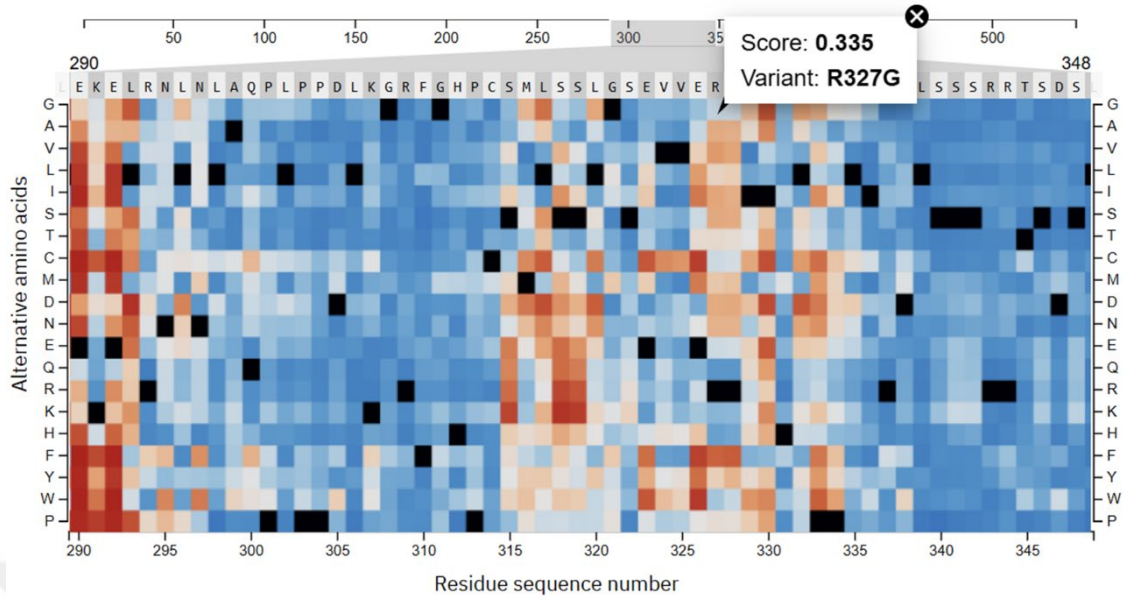
Hasta 33'te saptadığımız *MARVELD2* c.1621_1625del p.Gln541Asnfs*5 varyantı C-terminal okludin-ELL domaininde yer almaktadır (Şekil 83). Varyantın 7 ekzonlu genin 7. Ekzonunda bulunması nedeniyle anlamsız aracılı yıkıma yol açmadığı öngörülmüştür ve klinik önemi belirsiz varyant olarak değerlendirilmiştir. Ancak literatürde protein yapısını ve fonksiyonunu bozduğu gösterilen p.Arg500*

varyantından 46 aminoasit sonra durdurma kodonuna yol açan varyantın patojenitesinin tespit edilebilmesi için fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.



Şekil 83: *MARVELD2* p.Gln541Asnfs*5 varyantının protein üzerindeki gösterimi. Siyah daire: 541. pozisyondaki glutamin. Yeşil daire: 500. Pozisyondaki arjinin. Okludin-ELL domaininin altı kırmızı ile çizilmiştir. [39]'dan uyarlanmıştır.

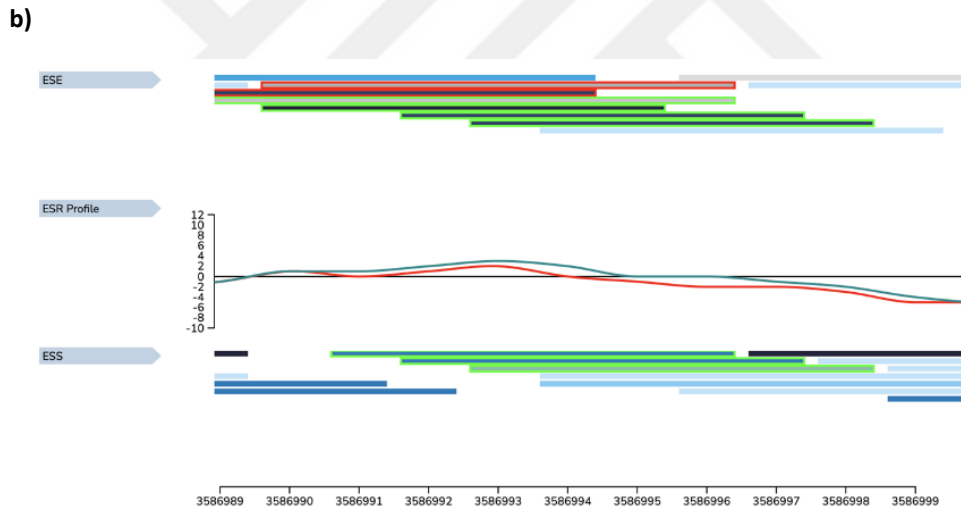
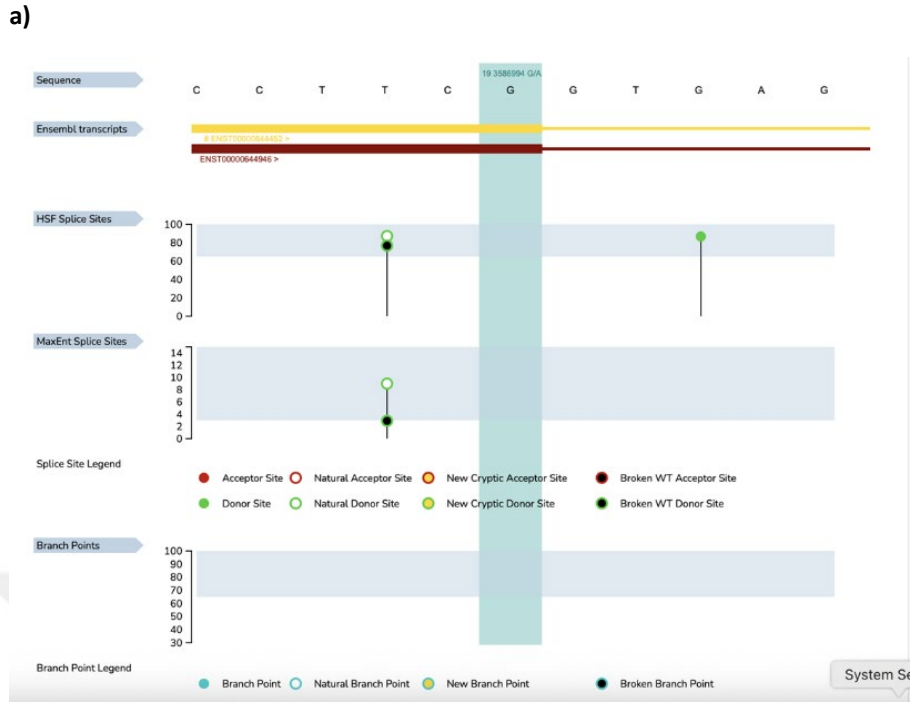
33 numaralı hastada saptadığımız diğer varyant olan homozigot *ILDR1* p.Arg327Gly varyantı proteinin hücre için C-terminaline yakın arjininden zengin bölgesinde yer almaktadır ve daha önce bildirilmemiştir. Protein protein etkileşimlerinde rol oynayan arjininden zengin domain, *ILDR1*-triselülin etkileşiminde rol alıyor olabilir [177]. Bununla birlikte, Clinvar veri tabanında *ILDR1* arjininden zengin domainde bildirilen patojenik/olası patojenik varyantların tamamı protein kısaltıcı varyantlardır. Hastada saptadığımız klinik önemi belirsiz p.Arg327Gly varyantının tek başına ve *MARVELD2* p.Gln541Asnfs*5 varyantı ile birlikte görüldüğünde protein işlevi üzerinde etkisinin olup olmadığının anlaşılması için fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.



Şekil 84: *ILDR1*(NM_001199799.2) p.Arg327Gly varyantının *AlphaMissense Pathogenicity Heatmap* skoru.

Hasta 48'de saptanan homozigot *GIPC3*(NM_133261.3) c.592G>A (p.Asp198Asn) varyantı daha önce Clinvar'da VUS olarak bildirilmiştir. *GIPC3* proteininin N-terminal GH1, PDZ ve C-terminal GH2 olmak üzere üç ana domaini vardır [178]. p.Asp198Asn varyantının PDZ ve GH2 domainleri arasında yer aldığı öngörülmüştür. Protein protein etkileşimleri aracılığı ile tüylü hücre apikal bölgesinin yapısal düzenlenmesinde rol oynayan PDZ ve GH2 domainlerinde patojenik varyantlar bildirilmiş olmakla birlikte 198. Pozisyondaki aspartat-asparajin değişiminin etkisi tam olarak bilinmemektedir [179], [180], [181].

c.592G>A varyantı 6 ekzonlu *GIPC3* geninde 3. ekzonunun sonundaki guanin nükleotidinin adenin ile değişmesine neden olan bir transisyondur. Ekzonun son nükleotidindeki değişimin kırılmayı etkileme ihtimali göz önünde bulundurulmalıdır. *SpliceAI* c.592G>A değişimi için 0.39 verici kaybı (*donor loss*), 0.47 verici kazancı (*donor gain*) skoru vermiştir. HSF programında analiz edildiğinde ekzon kırılma kuvvetlendirici/susturucu motif oranında (ESE/ESS) belirgin değişikliğe yol açtığı gözlenmiştir (Şekil 85). Saptanan klinik önemi belirsiz varyantın mRNA kırılması, protein yapısı ve fonksiyonu üzerindeki etkilerinin tespit edilmesi için fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.



Şekil 85: *GIPC3*(NM_133261.3) c.592G>A varyantının HSF analiz görüntüsü. a) Bozulmuş verici bölge öngörüsü b) Değişmiş ESE/ESS oranı

Hasta 17'de *TRIOBP*(NM_001039141.2) geninde homozigot c.1772_1773ins294 (p.Pro590_Asn591ins98) şüphesi saptanmıştır ancak varyant konfirme edilememiştir. *TRIOBP* aktin düzenlenmesinden sorumlu proteinlerdendir, işitme kaybı hastalarında bildirilen mutasyonların çoğu protein kısaltıcı mutasyonlardır [182]. Hastada *TRIOBP* homozigot c.1772_1773ins294 varyantının doğrulanması ve genin 3,319 nükleotid uzunluğundaki 7. Ekzonunda 294 bazlık çerçeve içi insersiyona neden olan varyantın protein ürününe nasıl etki edeceğinin anlaşılması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Hasta 27'de *POU3F4*(NM_000307.5) geninde hemizigot c.111_504delinsGTACAGTTATAAAGTTATAACTGTTC (p.Leu38Tyrfs*32) şüphesi saptanmıştır ancak varyant konfirme edilememiştir. *POU3F4*, 361 aminoasitlik bir transkripsiyon faktörünü kodlayan tek ekzonlu bir genidir. X'e bağlı işitme kaybı olgularının yaklaşık %50'sinde moleküler etyolojinin *POU3F4* mutasyonlarından kaynaklandığı bildirilmiştir [183]. Mutasyonlarında işitme kaybının yanı sıra iç kulak malformasyonları görülmektedir ve bu durum hastalara koklear implantasyon uygulanmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle *POU3F4* mutasyonlarına yönelik gen tedavileri gündemdedir [184]. Hasta 27'de p.Leu38Tyrfs*32 varyantın varlığını kesinleştirmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6) SONUÇ VE ÖNERİLER

İşitme kaybı ile ilişkilendirilmiş 65 gen içeren panele alınan 48 nonsendromik işitme kaybı hastasının poliklinik dosyaları ve genetik dataları retrospektif olarak incelenmiştir. Saptanan bulgular hastaların kliniği ve güncel literatür eşliğinde değerlendirilmiş, ulaşılan sonuçlar aşağıda listelenmiştir:

- 1- Çalışmaya dahil ettiğimiz 48 hastanın 27'sine (%56,25) kesin genetik tanı konulmuştur. Literatürde Türk hastalarda bu oran %35-72 arası bildirilmiştir [10], [11]. Literatürdeki aralık oldukça geniş olmakla birlikte, tanı oranımız bu aralıktadır.
- 2- Çalışmaya dahil edilen 48 hastada 17 (%32,08) patojenik, 28 (%52,83) olası patojenik, 8 (%15,09) VUS olarak değerlendirilen toplam 53 varyasyon saptanmıştır. Bunlardan 21'i (%39,62) daha önce literatürde bildirilmemiş olup çalışmamızla literatüre kazandırılmıştır. Bu varyantların moleküler etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.
- 3- 27 kesin genetik tanınının 19'u (%70,37) otozomal resesif işitme kaybı, 3'ü (%11,11) otozomal resesif işitsel nöropati, 2'si (%7,4) otozomal dominant işitme kaybı, 1'i (%3,7) Mohr-Tranebjaerg sendromu, 1'i (%3,7) Brankiootik sendrom tip 1, 1'i (%3,7) Brankiootik sendrom tip 3 şeklindedir. Literatürde nonsendromik işitme kaybının en sık nedeni (%70-80) otozomal resesif işitme kaybı olarak bildirilmiştir ve bulgumuz literatür ile uyumludur.
- 4- Çalışmamızda 48 hastanın 23'ünde (%47,91), genetik tanı alan 27 hastanın 12'sinde (%44,44), genetik otozomal resesif işitme kaybı ve işitsel nöropati tanısı alan 22 hastanın 11'inde (%50) anne baba arasında akraba evliliği saptanmıştır. Anne babası aynı köylü olan 2 hasta genetik tanı almıştır. *GJB2* ilişkili işitme kaybı tanısı alan hastaların hiçbirinde anne baba arasında akraba evliliği bulunmamaktadır. Bu durum, yüksek taşıyıcılık oranı gözlenen *GJB2* geninde, literatür verileri ile uyumludur.
- 5- Aile öyküsü pozitif olan 35 hastanın 20'sinde (%57,14) genetik etyoloji tespit edilmiş, 15'inde (%42,85) tespit edilememiştir. Bu durum, analiz genlerin kapsamının genişletilmesi gerektiğini desteklemektedir.
- 6- Çalışmamızda, 4 aileden farklı zamanlarda, segregasyon amacı taşımadan, işitme kaybı paneline alınmış 2'şer kardeş ayrı olgular olarak değerlendirilmiştir. Bu durum, varyant saptama oranında yanlılığa neden olabilir. Bununla birlikte aile 3'te iki kardeş olan hasta 3 ve hasta 4 *GJB2* geninde farklı patojenik varyantlar taşımaktadır. Hastaların işitme kaybı tanılı anneleri *GJB2*'nin yanında *OTOA* geninde patojen varyant taşımaktadır. Bu

durum, toplumda sık görülen işitme kaybı gibi kliniklerde aile içi genetik heterozigotitenin ne kadar yüksek olabileceğinin göstergesidir.

- 7- 40 numaralı hastada saptadığımız *OTOA* varyantını psödogenden ayırt edebilmek ve varyantın kırılmaya etkisini görebilmek için ilgili ekzonlara yönelik tasarlanmış primerler ile c.DNA'dan PZR uygulanmıştır. Ancak jel elektroforezde hasta, heterozigot taşıyıcı ve kontrolde anlamlı PZR bandı elde edilememiştir. Bu sorunun, *OTOA*'nın lökositte RNA ekspresyonunun düşük olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Varyant etkisini görebilmek için ileri çalışmalar planlanmalıdır.
- 8- Nonsendromik işitme kaybı olarak değerlendirilen 3 hasta (%6,25) sendrom tanısı almıştır. Aynı zamanda genetik nonsendromik işitme kaybı tanısı alan hastalar içinde *SLC26A4*, *PCDH15*, *COL11A1* gibi sendromik klinikleri bildirilmiş genlerde mutasyon saptanan olgularımız olmuştur. Bu durum, hastaların nonsendromik olarak değerlendirilme kriterlerinin netleştirilmesinin ve tanı sonrası gelişebilecek semptomlar açısından hastaların takip edilmesinin önemini göstermektedir. Aynı zamanda genetik başvurusu esnasında sendromik bir hastanın işitme kaybı dışındaki bulgularının gelişmemiş olabileceği göz önüne alınarak genetik test kapsamı geniş tutulmalıdır.
- 9- Bir hastada *SIX1* mutasyonu saptanmıştır. *SIX1* mutasyonları brankiootik sendrom ile ilişkilendirildiği gibi ayrıca nonsendromik işitme kaybı ile de ilişkilendirilmiştir. Ancak literatürde iki fenotipin birbirinden ayrı antiteler olduğunu söylemek için yeterli veri bulunmamaktadır. Bir gendeki mutasyonların yol açtığı farklı klinik tabloların bir spektrumun ayrı noktalarına mı yoksa birbirinden ayrı klinik antitelere mi işaret ettiğinin tespiti doğru genetik danışmanın verilebilmesi ve eksiksiz hasta takibi için elzemdir.
- 10- İşitme kaybın tedavisinde güncel yaklaşım olan yardımcı işitme cihazları ve koklear implantasyonun etkinliği hastanın etyolojisine göre değişkenlik göstermektedir. Aynı zamanda, işitme kaybında gen terapisi araştırmaları hızla devam etmektedir. Hastaların genetik tanısının erken yaşlarda kesinleştirilmesi yakın gelecekte tanıdan itibaren kendileri için en uygun tedavi planının uygulanmasına olanak sağlayacaktır.
- 11- Çalışmamızın retrospektif olması bazı hastaların verilerine erişimimizi engellemiştir. Daha fazla hastada güncel çalışmaların yapılması Türk toplumunda nonsendromik işitme kaybının moleküler etyolojisinin ve mekanizmalarının anlaşılması açısından önem arz etmektedir.

7) KAYNAKLAR

- [1] T.C. Sağlık Bakanlığı, "Uluslararası İşitme Engelliler Haftası", Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Erişim: 21 Nisan 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/haberler/uluslararası%C4%B1-i%CC%87%C5%9Fitme-engelliler-haftası%C4%B1.html>
- [2] R. D. De Siaty, F. Rosenzweig, G. Gersdorff, A. Gregoire, P. Rombaux, ve N. Deggouj, "Auditory Neuropathy Spectrum Disorders: From Diagnosis to Treatment: Literature Review and Case Reports", *J. Clin. Med.*, c. 9, sy 4, s. 1074, Nis. 2020, doi: 10.3390/jcm9041074.
- [3] N. Zafar, M. H. Hohman, ve M. A. Khan, "Otosclerosis", içinde *StatPearls*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025. Erişim: 25 Nisan 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560671/>
- [4] A. E. Shearer, M. S. Hildebrand, A. M. Odell, ve R. J. Smith, "Genetic Hearing Loss Overview", içinde *GeneReviews*[®], M. P. Adam, J. Feldman, G. M. Mirzaa, R. A. Pagon, S. E. Wallace, ve A. Amemiya, Ed., Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993. Erişim: 21 Nisan 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1434/>
- [5] "Nonsyndromic Hearing Loss | Hereditary Hearing Loss Homepage". Erişim: 21 Nisan 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://hereditaryhearingloss.org/nonsyndromic>
- [6] A. Tropitzsch vd., "Diagnostic Yield of Targeted Hearing Loss Gene Panel Sequencing in a Large German Cohort With a Balanced Age Distribution from a Single Diagnostic Center: An Eight-year Study", *Ear Hear.*, c. 43, sy 3, ss. 1049-1066, Kas. 2021, doi: 10.1097/AUD.0000000000001159.
- [7] J. Wang vd., "Molecular diagnosis of non-syndromic hearing loss patients using a stepwise approach", *Sci. Rep.*, c. 11, s. 4036, Şub. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-83493-6.
- [8] T. Imizcoz vd., "Next-generation sequencing improves precision medicine in hearing loss", *Front. Genet.*, c. 14, s. 1264899, Eyl. 2023, doi: 10.3389/fgene.2023.1264899.
- [9] S. Alkhdhir vd., "The genetic basis and the diagnostic yield of genetic testing related to nonsyndromic hearing loss in Qatar", *Sci. Rep.*, c. 14, s. 4202, Şub. 2024, doi: 10.1038/s41598-024-52784-z.
- [10] Department of Medical Genetics, Trakya University Faculty of Medicine, Edirne, Türkiye vd., "Investigation of Targeted Genes and Identification of Novel Variants with Next Generation Sequencing Method in Hearing Loss", *J. Int. Adv. Otol.*, c. 20, sy 4, ss. 312-324, Ağu. 2024, doi: 10.5152/iao.2024.22919.
- [11] T. Atik vd., "Comprehensive Analysis of Deafness Genes in Families with Autosomal Recessive Nonsyndromic Hearing Loss", *PLoS ONE*, c. 10, sy 11, s. e0142154, Kas. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0142154.
- [12] J. Lv vd., "AAV1-hOTOF gene therapy for autosomal recessive deafness 9: a single-arm trial", *Lancet Lond. Engl.*, c. 403, sy 10441, ss. 2317-2325, May. 2024, doi: 10.1016/S0140-6736(23)02874-X.

- [13] R. J. Smith, H. Azaiez, ve K. Booth, "GJB2-Related Autosomal Recessive Nonsyndromic Hearing Loss", içinde *GeneReviews*[®], M. P. Adam, J. Feldman, G. M. Mirzaa, R. A. Pagon, S. E. Wallace, ve A. Amemiya, Ed., Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993. Erişim: 14 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1272/>
- [14] R. J. Carlson, S. Taiber, ve J. T. Rubinstein, "Gene Therapy for Hearing Loss: Which Genes Next?", *Otol. Neurotol. Off. Publ. Am. Otol. Soc. Am. Neurotol. Soc. Eur. Acad. Otol. Neurotol.*, c. 46, sy 3, ss. 239-247, Mar. 2025, doi: 10.1097/MAO.0000000000004423.
- [15] A. L. Mescher, *Junqueira's basic histology: text and atlas*, Sixteenth edition. içinde McGraw-Hill's AccessMedicine. New York Chicago San Francisco Athens London Madrid Mexico City Milan New Delhi Singapore Sydney Toronto: McGraw-Hill Education, 2021.
- [16] R. Lim ve A. M. Brichta, "Anatomical and physiological development of the human inner ear", *Hear. Res.*, c. 338, ss. 9-21, Ağu. 2016, doi: 10.1016/j.heares.2016.02.004.
- [17] Sadler, T. W. (Thomas W.), *Langman's medical embryology / T.W. Sadler*, Fourteenth edition. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2019.
- [18] E. C. Driver ve M. W. Kelley, "Development of the cochlea", *Development*, c. 147, sy 12, s. dev162263, Haz. 2020, doi: 10.1242/dev.162263.
- [19] Hall, John E. ve Hall, Michael E., *Guyton And Hall Textbook Of Medical Physiology*, Fourteenth edition. Philadelphia: Elyse O'Grady, 2021. Erişim: 08 Nisan 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://archive.org/details/guyton-and-hall-textbook-of-medical-physiology-14ed>
- [20] "Voyage au centre de l'audition", Voyage au centre de l'audition. Erişim: 25 Nisan 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.cochlea.eu/>
- [21] H. H. Nakajima, W. Dong, E. S. Olson, S. N. Merchant, M. E. Ravicz, ve J. J. Rosowski, "Differential intracochlear sound pressure measurements in normal human temporal bones", *J. Assoc. Res. Otolaryngol. JARO*, c. 10, sy 1, ss. 23-36, Mar. 2009, doi: 10.1007/s10162-008-0150-y.
- [22] J. O. Pickles, "Auditory pathways", içinde *Handbook of Clinical Neurology*, c. 129, Elsevier, 2015, ss. 3-25. doi: 10.1016/B978-0-444-62630-1.00001-9.
- [23] J. Ashmore, "Cochlear outer hair cell motility", *Physiol. Rev.*, c. 88, sy 1, ss. 173-210, Oca. 2008, doi: 10.1152/physrev.00044.2006.
- [24] J. Zheng, W. Shen, D. Z. He, K. B. Long, L. D. Madison, ve P. Dallos, "Prestin is the motor protein of cochlear outer hair cells", *Nature*, c. 405, sy 6783, ss. 149-155, May. 2000, doi: 10.1038/35012009.
- [25] R. Fettiplace ve C. M. Hackney, "The sensory and motor roles of auditory hair cells", *Nat. Rev. Neurosci.*, c. 7, sy 1, ss. 19-29, Oca. 2006, doi: 10.1038/nrn1828.
- [26] S. Liu, S. Wang, L. Zou, ve W. Xiong, "Mechanisms in cochlear hair cell mechano-electrical transduction for acquisition of sound frequency and intensity", *Cell. Mol. Life Sci. CMLS*, c. 78, sy 12, ss. 5083-5094, Haz. 2021, doi: 10.1007/s00018-021-03840-8.

- [27] O. F. Adunka, "Physiology of Cochlea", içinde *Encyclopedia of Otolaryngology, Head and Neck Surgery*, S. E. Kountakis, Ed., Berlin, Heidelberg: Springer, 2013, ss. 2155-2159. doi: 10.1007/978-3-642-23499-6_805.
- [28] T. Miyoshi, I. A. Belyantseva, M. Sajeevadathan, ve T. B. Friedman, "Pathophysiology of human hearing loss associated with variants in myosins", *Front. Physiol.*, c. 15, s. 1374901, 2024, doi: 10.3389/fphys.2024.1374901.
- [29] Z. Brownstein vd., "Novel myosin mutations for hereditary hearing loss revealed by targeted genomic capture and massively parallel sequencing", *Eur. J. Hum. Genet.*, c. 22, sy 6, ss. 768-775, Haz. 2014, doi: 10.1038/ejhg.2013.232.
- [30] I. A. Belyantseva vd., "Myosin-XVa is required for tip localization of whirlin and differential elongation of hair-cell stereocilia", *Nat. Cell Biol.*, c. 7, sy 2, ss. 148-156, Şub. 2005, doi: 10.1038/ncb1219.
- [31] H. Azaiez vd., "HOMER2, a Stereociliary Scaffolding Protein, Is Essential for Normal Hearing in Humans and Mice", *PLoS Genet.*, c. 11, sy 3, s. e1005137, Mar. 2015, doi: 10.1371/journal.pgen.1005137.
- [32] A. Al-Maawali vd., "Novel Loss-of-Function Variants in DIAPH1 Associated With Syndromic Microcephaly, Blindness, and Early Onset Seizures", *Am. J. Med. Genet. A.*, c. 170A, sy 2, ss. 435-440, Şub. 2016, doi: 10.1002/ajmg.a.37422.
- [33] F. T. Salles vd., "CLIC5 stabilizes membrane-actin filament linkages at the base of hair cell stereocilia in a molecular complex with radixin, taperin, and myosin VI", *Cytoskeleton. Hoboken NJ*, c. 71, sy 1, ss. 61-78, Oca. 2014, doi: 10.1002/cm.21159.
- [34] M. Hirono, C. S. Denis, G. P. Richardson, ve P. G. Gillespie, "Hair cells require phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate for mechanical transduction and adaptation", *Neuron*, c. 44, sy 2, ss. 309-320, Eki. 2004, doi: 10.1016/j.neuron.2004.09.020.
- [35] N. J. Bradshaw, A. S. K. Yerabham, R. Marreiros, T. Zhang, L. Nagel-Steger, ve C. Korth, "An unpredicted aggregation-critical region of the actin-polymerizing protein TRIOBP-1/Tara, determined by elucidation of its domain structure", *J. Biol. Chem.*, c. 292, sy 23, ss. 9583-9598, Haz. 2017, doi: 10.1074/jbc.M116.767939.
- [36] M. C. Simmler vd., "Targeted disruption of otog results in deafness and severe imbalance", *Nat. Genet.*, c. 24, sy 2, ss. 139-143, Şub. 2000, doi: 10.1038/72793.
- [37] I. Zwaenepoel vd., "Otoancorin, an inner ear protein restricted to the interface between the apical surface of sensory epithelia and their overlying acellular gels, is defective in autosomal recessive deafness DFNB22", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, c. 99, sy 9, ss. 6240-6245, Nis. 2002, doi: 10.1073/pnas.082515999.
- [38] J. Zheng vd., "Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 16 interacts with α -tectorin and is mutated in autosomal dominant hearing loss (DFNA4)", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, c. 108, sy 10, ss. 4218-4223, Mar. 2011, doi: 10.1073/pnas.1005842108.
- [39] S. Riazuddin vd., "Tricellulin Is a Tight-Junction Protein Necessary for Hearing", *Am. J. Hum. Genet.*, c. 79, sy 6, ss. 1040-1051, Ara. 2006.

- [40] E. R. Wilcox *vd.*, "Mutations in the gene encoding tight junction claudin-14 cause autosomal recessive deafness DFNB29", *Cell*, c. 104, sy 1, ss. 165-172, Oca. 2001, doi: 10.1016/s0092-8674(01)00200-8.
- [41] D. Oliver *vd.*, "Intracellular anions as the voltage sensor of prestin, the outer hair cell motor protein", *Science*, c. 292, sy 5525, ss. 2340-2343, Haz. 2001, doi: 10.1126/science.1060939.
- [42] H. Mutai *vd.*, "Diverse spectrum of rare deafness genes underlies early-childhood hearing loss in Japanese patients: a cross-sectional, multi-center next-generation sequencing study", *Orphanet J. Rare Dis.*, c. 8, s. 172, Eki. 2013, doi: 10.1186/1750-1172-8-172.
- [43] A. J. Griffith ve P. Wangemann, "Hearing loss associated with enlargement of the vestibular aqueduct: mechanistic insights from clinical phenotypes, genotypes, and mouse models", *Hear. Res.*, c. 281, sy 1-2, ss. 11-17, Kas. 2011, doi: 10.1016/j.heares.2011.05.009.
- [44] P. Wangemann, "The role of pendrin in the development of the murine inner ear", *Cell. Physiol. Biochem. Int. J. Exp. Cell. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, c. 28, sy 3, ss. 527-534, 2011, doi: 10.1159/000335113.
- [45] P. Kazmierczak *vd.*, "Cadherin 23 and protocadherin 15 interact to form tip-link filaments in sensory hair cells", *Nature*, c. 449, sy 7158, ss. 87-91, Eyl. 2007, doi: 10.1038/nature06091.
- [46] B. Pan *vd.*, "TMC1 and TMC2 are components of the mechanotransduction channel in hair cells of the mammalian inner ear", *Neuron*, c. 79, sy 3, s. 10.1016/j.neuron.2013.06.019, Ağu. 2013, doi: 10.1016/j.neuron.2013.06.019.
- [47] W. Xiong *vd.*, "TMHS is an Integral Component of the Mechanotransduction Machinery of Cochlear Hair Cells", *Cell*, c. 151, sy 6, ss. 1283-1295, Ara. 2012, doi: 10.1016/j.cell.2012.10.041.
- [48] B. Zhao *vd.*, "TMIE is an essential component of the mechanotransduction machinery of cochlear hair cells", *Neuron*, c. 84, sy 5, ss. 954-967, Ara. 2014, doi: 10.1016/j.neuron.2014.10.041.
- [49] A. P. Nesterova *vd.*, "Chapter 7 - Diseases of the ear", içinde *Disease Pathways*, A. P. Nesterova, E. A. Klimov, M. Zharkova, S. Sozin, V. Sobolev, N. V. Ivanikova, M. Shkrob, ve A. Yuryev, Ed., Elsevier, 2020, ss. 297-325. doi: 10.1016/B978-0-12-817086-1.00007-5.
- [50] D. Yan *vd.*, "Mutation of the ATP-gated P2X(2) receptor leads to progressive hearing loss and increased susceptibility to noise", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, c. 110, sy 6, ss. 2228-2233, Şub. 2013, doi: 10.1073/pnas.1222285110.
- [51] C. S. Bailey, H. J. Moldenhauer, S. M. Park, S. Keros, ve A. L. Meredith, "KCNMA1-linked channelopathy", *J. Gen. Physiol.*, c. 151, sy 10, ss. 1173-1189, Eki. 2019, doi: 10.1085/jgp.201912457.

- [52] C. Kubisch *vd.*, “KCNQ4, a novel potassium channel expressed in sensory outer hair cells, is mutated in dominant deafness”, *Cell*, c. 96, sy 3, ss. 437-446, Şub. 1999, doi: 10.1016/s0092-8674(00)80556-5.
- [53] K. B. Gagnon ve E. Delpire, “Physiology of SLC12 transporters: lessons from inherited human genetic mutations and genetically engineered mouse knockouts”, *Am. J. Physiol. - Cell Physiol.*, c. 304, sy 8, ss. C693-C714, Nis. 2013, doi: 10.1152/ajpcell.00350.2012.
- [54] T. Kudo *vd.*, “Transgenic expression of a dominant-negative connexin26 causes degeneration of the organ of Corti and non-syndromic deafness”, *Hum. Mol. Genet.*, c. 12, sy 9, ss. 995-1004, May. 2003, doi: 10.1093/hmg/ddg116.
- [55] G. Crispino *vd.*, “BAAV Mediated GJB2 Gene Transfer Restores Gap Junction Coupling in Cochlear Organotypic Cultures from Deaf Cx26Sox10Cre Mice”, *PLoS ONE*, c. 6, sy 8, s. e23279, Ağu. 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0023279.
- [56] M. S. Nielsen, L. N. Axelsen, P. L. Sorgen, V. Verma, M. Delmar, ve N.-H. Holstein-Rathlou, “Gap Junctions”, *Compr. Physiol.*, c. 2, sy 3, s. 10.1002/cphy.c110051, Tem. 2012, doi: 10.1002/cphy.c110051.
- [57] N. M. Kumar ve N. B. Gilula, “The gap junction communication channel”, *Cell*, c. 84, sy 3, ss. 381-388, Şub. 1996, doi: 10.1016/s0092-8674(00)81282-9.
- [58] E. C. Beyer ve V. M. Berthoud, “Gap junction structure: unraveled, but not fully revealed”, *F1000Research*, c. 6, s. 568, 2017, doi: 10.12688/f1000research.10490.1.
- [59] S. Ahmad, S. Chen, J. Sun, ve X. Lin, “Connexins 26 and 30 are co-assembled to form gap junctions in the cochlea of mice”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, c. 307, sy 2, ss. 362-368, Tem. 2003, doi: 10.1016/s0006-291x(03)01166-5.
- [60] A. F. Thévenin, T. J. Kowal, J. T. Fong, R. M. Kells, C. G. Fisher, ve M. M. Falk, “Proteins and mechanisms regulating gap-junction assembly, internalization, and degradation”, *Physiol. Bethesda Md*, c. 28, sy 2, ss. 93-116, Mar. 2013, doi: 10.1152/physiol.00038.2012.
- [61] W. Liu, M. Boström, A. Kinnefors, ve H. Rask-Andersen, “Unique expression of connexins in the human cochlea”, *Hear. Res.*, c. 250, sy 1-2, ss. 55-62, Nis. 2009, doi: 10.1016/j.heares.2009.01.010.
- [62] P. Chen *vd.*, “Pathological mechanisms of connexin26-related hearing loss: Potassium recycling, ATP-calcium signaling, or energy supply?”, *Front. Mol. Neurosci.*, c. 15, s. 976388, Eyl. 2022, doi: 10.3389/fnmol.2022.976388.
- [63] R. P. Seal *vd.*, “Sensorineural deafness and seizures in mice lacking vesicular glutamate transporter 3”, *Neuron*, c. 57, sy 2, ss. 263-275, Oca. 2008, doi: 10.1016/j.neuron.2007.11.032.
- [64] J. Striessnig, “Lonely but diverse”, *Channels*, c. 7, sy 3, ss. 133-134, May. 2013, doi: 10.4161/chan.24457.

- [65] M. M. Picher *vd.*, “Ca²⁺-binding protein 2 inhibits Ca²⁺-channel inactivation in mouse inner hair cells”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, c. 114, sy 9, ss. E1717-E1726, Şub. 2017, doi: 10.1073/pnas.1617533114.
- [66] N. Michalski *vd.*, “Otoferlin acts as a Ca²⁺ sensor for vesicle fusion and vesicle pool replenishment at auditory hair cell ribbon synapses”, *eLife*, c. 6, s. e31013, doi: 10.7554/eLife.31013.
- [67] H. Azaiez, R. K. Thorpe, A. M. Odell, ve R. J. Smith, “OTOF-Related Hearing Loss”, içinde *GeneReviews*[®], M. P. Adam, J. Feldman, G. M. Mirzaa, R. A. Pagon, S. E. Wallace, ve A. Amemiya, Ed., Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993. Erişim: 24 Mart 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1251/>
- [68] X. Li, L. Shi, ve L. Wang, “A review of the mechanisms underlying the role of the GIPC3 gene in hereditary deafness”, *Front. Synaptic Neurosci.*, c. 14, s. 1101587, Oca. 2023, doi: 10.3389/fnsyn.2022.1101587.
- [69] S. Richards *vd.*, “Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology”, *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.*, c. 17, sy 5, ss. 405-424, May. 2015, doi: 10.1038/gim.2015.30.
- [70] L. G. Biesecker, S. M. Harrison, ve ClinGen Sequence Variant Interpretation Working Group, “The ACMG/AMP reputable source criteria for the interpretation of sequence variants”, *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.*, c. 20, sy 12, ss. 1687-1688, Ara. 2018, doi: 10.1038/gim.2018.42.
- [71] A. M. Oza *vd.*, “Expert specification of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for genetic hearing loss”, *Hum. Mutat.*, c. 39, sy 11, ss. 1593-1613, Kas. 2018, doi: 10.1002/humu.23630.
- [72] F. J. del Castillo ve I. del Castillo, “DFNB1 Non-syndromic Hearing Impairment: Diversity of Mutations and Associated Phenotypes”, *Front. Mol. Neurosci.*, c. 10, s. 428, Ara. 2017, doi: 10.3389/fnmol.2017.00428.
- [73] M. Y. Chang *vd.*, “Expansion of phenotypic spectrum of MYO15A pathogenic variants to include postlingual onset of progressive partial deafness”, *BMC Med. Genet.*, c. 19, sy 1, s. 29, Şub. 2018, doi: 10.1186/s12881-018-0541-9.
- [74] M. Yildirim-Baylan, G. Bademci, D. Duman, H. Ozturkmen-Akay, S. Tokgoz-Yilmaz, ve M. Tekin, “Evidence for genotype-phenotype correlation for OTOF mutations”, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, c. 78, sy 6, ss. 950-953, Haz. 2014, doi: 10.1016/j.ijporl.2014.03.022.
- [75] T. Pangršič, E. Reisinger, ve T. Moser, “Otoferlin: a multi-C2 domain protein essential for hearing”, *Trends Neurosci.*, c. 35, sy 11, ss. 671-680, Kas. 2012, doi: 10.1016/j.tins.2012.08.002.
- [76] G. Bademci *vd.*, “Comprehensive analysis via exome sequencing uncovers genetic etiology in autosomal recessive nonsyndromic deafness in a large multiethnic cohort”, *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.*, c. 18, sy 4, ss. 364-371, Nis. 2016, doi: 10.1038/gim.2015.89.

- [77] M. Ramzan *vd.*, "Genome sequencing identifies coding and non-coding variants for non-syndromic hearing loss", *J. Hum. Genet.*, c. 68, sy 10, ss. 657-669, Eki. 2023, doi: 10.1038/s10038-023-01159-9.
- [78] A. Kenneson, K. Van Naarden Braun, ve C. Boyle, "GJB2 (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: a HuGE review", *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.*, c. 4, sy 4, ss. 258-274, 2002, doi: 10.1097/00125817-200207000-00004.
- [79] M. Tekin, T. Duman, G. Boğoçlu, A. Incesulu, S. Cin, ve N. Akar, "Moderate hearing loss and pseudodominant inheritance due to L90P/35delG mutations in the GJB2 (connexin 26) gene", *Genet. Couns. Geneva Switz.*, c. 14, sy 4, ss. 379-386, 2003.
- [80] R. L. Snoeckx *vd.*, "GJB2 mutations and degree of hearing loss: a multicenter study", *Am. J. Hum. Genet.*, c. 77, sy 6, ss. 945-957, Ara. 2005, doi: 10.1086/497996.
- [81] O. Uyguner *vd.*, "Frequencies of gap- and tight-junction mutations in Turkish families with autosomal-recessive non-syndromic hearing loss", *Clin. Genet.*, c. 64, sy 1, ss. 65-69, Tem. 2003, doi: 10.1034/j.1399-0004.2003.00101.x.
- [82] M. Tekin *vd.*, "Evidence for single origins of 35delG and delE120 mutations in the GJB2 gene in Anatolia", *Clin. Genet.*, c. 67, sy 1, ss. 31-37, Oca. 2005, doi: 10.1111/j.1399-0004.2004.00334.x.
- [83] H. Geden ve L. Seneldir, "Connexin 26 (GJB2) Mutations Associated with Congenital Hearing Loss in a Country of Different Migration Routes: Turkey", *Indian J. Otolaryngol. Head Neck Surg. Off. Publ. Assoc. Otolaryngol. India*, c. 75, sy Suppl 1, ss. 628-634, Nis. 2023, doi: 10.1007/s12070-023-03672-x.
- [84] B. Özyılmaz *vd.*, "First-Line Molecular Genetic Evaluation of Autosomal Recessive Non-Syndromic Hearing Loss", *Turk. Arch. Otorhinolaryngol.*, c. 57, sy 3, ss. 140-148, Eyl. 2019, doi: 10.5152/tao.2019.4320.
- [85] S. M. Adadey *vd.*, "Connexin Genes Variants Associated with Non-Syndromic Hearing Impairment: A Systematic Review of the Global Burden", *Life Basel Switz.*, c. 10, sy 11, s. 258, Eki. 2020, doi: 10.3390/life10110258.
- [86] F. M. Teryutin, V. G. Pshennikova, A. V. Solovyev, G. P. Romanov, S. A. Fedorova, ve N. A. Barashkov, "Genotype-phenotype analysis of hearing function in patients with DFNB1A caused by the c.-23+1G>A splice site variant of the GJB2 gene (Cx26)", *PLoS One*, c. 19, sy 10, s. e0309439, 2024, doi: 10.1371/journal.pone.0309439.
- [87] A. V. Solovyev *vd.*, "Selective Heterozygous Advantage of Carriers of c.-23+1G>A Mutation in GJB2 Gene Causing Autosomal Recessive Deafness 1A", *Bull. Exp. Biol. Med.*, c. 167, sy 3, ss. 380-383, Tem. 2019, doi: 10.1007/s10517-019-04531-y.
- [88] R. S. Mani *vd.*, "Functional consequences of novel connexin 26 mutations associated with hereditary hearing loss", *Eur. J. Hum. Genet. EJHG*, c. 17, sy 4, ss. 502-509, Nis. 2009, doi: 10.1038/ejhg.2008.179.
- [89] O. L. Posukh, E. A. Maslova, V. Y. Danilchenko, M. V. Zytsar, ve K. E. Orishchenko, "Functional Consequences of Pathogenic Variants of the GJB2 Gene (Cx26) Localized in

Different Cx26 Domains”, *Biomolecules*, c. 13, sy 10, s. 1521, Eki. 2023, doi: 10.3390/biom13101521.

[90] E. Thönnissen, R. Rabionet, M. L. Arbonès, X. Estivill, K. Willecke, ve T. Ott, “Human connexin26 (GJB2) deafness mutations affect the function of gap junction channels at different levels of protein expression”, *Hum. Genet.*, c. 111, sy 2, ss. 190-197, Ağu. 2002, doi: 10.1007/s00439-002-0750-2.

[91] A. Yilmaz, S. Menevse, Y. Bayazit, R. Karamert, V. Ergin, ve A. Menevse, “Two novel missense mutations in the connexin 26 gene in Turkish patients with nonsyndromic hearing loss”, *Biochem. Genet.*, c. 48, sy 3-4, ss. 248-256, Nis. 2010, doi: 10.1007/s10528-009-9314-7.

[92] E. Kalay, R. Caylan, H. Kremer, A. P. M. de Brouwer, ve A. Karaguzel, “GJB2 mutations in Turkish patients with ARNSHL: prevalence and two novel mutations”, *Hear. Res.*, c. 203, sy 1-2, ss. 88-93, May. 2005, doi: 10.1016/j.heares.2004.11.022.

[93] S. T. Bozdoğan vd., “The Prevalence of Gap Junction Protein Beta 2 (GJB2) Mutations in Non Syndromic Sensorineural Hearing Loss in Çukurova Region”, *J. Int. Adv. Otol.*, c. 11, sy 2, ss. 118-121, Ağu. 2015, doi: 10.5152/iao.2015.1212.

[94] R. Bruzzone vd., “Loss-of-function and residual channel activity of connexin26 mutations associated with non-syndromic deafness”, *FEBS Lett.*, c. 533, sy 1-3, ss. 79-88, Oca. 2003, doi: 10.1016/s0014-5793(02)03755-9.

[95] S. Marlin vd., “GJB2 and GJB6 mutations: genotypic and phenotypic correlations in a large cohort of hearing-impaired patients”, *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, c. 131, sy 6, ss. 481-487, Haz. 2005, doi: 10.1001/archotol.131.6.481.

[96] N. Mahdieh, H. Bagherian, A. Shirkavand, M. Sharafi, ve S. Zeinali, “High level of intrafamilial phenotypic variability of non-syndromic hearing loss in a Lur family due to delE120 mutation in GJB2 gene”, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, c. 74, sy 9, ss. 1089-1091, Eyl. 2010, doi: 10.1016/j.ijporl.2010.06.005.

[97] B. O. Hişmi, S. T. Yilmaz, A. Incesulu, ve M. Tekin, “Effects of GJB2 genotypes on the audiological phenotype: variability is present for all genotypes”, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, c. 70, sy 10, ss. 1687-1694, Eki. 2006, doi: 10.1016/j.ijporl.2006.03.015.

[98] S. Maeda vd., “Structure of the connexin 26 gap junction channel at 3.5 Å resolution”, *Nature*, c. 458, sy 7238, ss. 597-602, Nis. 2009, doi: 10.1038/nature07869.

[99] K. Cryns vd., “A genotype-phenotype correlation for GJB2 (connexin 26) deafness”, *J. Med. Genet.*, c. 41, sy 3, ss. 147-154, Mar. 2004, doi: 10.1136/jmg.2003.013896.

[100] P. Primignani vd., “Analysis of the GJB2 and GJB6 genes in Italian patients with nonsyndromic hearing loss: frequencies, novel mutations, genotypes, and degree of hearing loss”, *Genet. Test. Mol. Biomark.*, c. 13, sy 2, ss. 209-217, Nis. 2009, doi: 10.1089/gtmb.2008.0086.

- [101] Ç. Güleç *vd.*, "GJB2-RELATED NON-SYNDROMIC HEARING LOSS VARIANTS' SPECTRUM AND THEIR FREQUENCY IN TURKISH POPULATION", *J. Istanbul Fac. Med. İstanbul Tıp Fakültesi Derg.*, c. 0, sy 0, ss. 0-0, Şub. 2022, doi: 10.26650/IUITFD.1011501.
- [102] F. B. Cengiz *vd.*, "Recurrent and private MYO15A mutations are associated with deafness in the Turkish population", *Genet. Test. Mol. Biomark.*, c. 14, sy 4, ss. 543-550, Ağu. 2010, doi: 10.1089/gtmb.2010.0039.
- [103] Z. G. Moreland ve J. E. Bird, "Myosin motors in sensory hair bundle assembly", *Curr. Opin. Cell Biol.*, c. 79, s. 102132, Ara. 2022, doi: 10.1016/j.ceb.2022.102132.
- [104] I. A. Belyantseva, E. T. Boger, ve T. B. Friedman, "Myosin XVa localizes to the tips of inner ear sensory cell stereocilia and is essential for staircase formation of the hair bundle", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, c. 100, sy 24, ss. 13958-13963, Kas. 2003, doi: 10.1073/pnas.2334417100.
- [105] Y. Liang *vd.*, "Characterization of the human and mouse unconventional myosin XV genes responsible for hereditary deafness DFNB3 and shaker 2", *Genomics*, c. 61, sy 3, ss. 243-258, Kas. 1999, doi: 10.1006/geno.1999.5976.
- [106] Q. Fang *vd.*, "The 133-kDa N-terminal domain enables myosin 15 to maintain mechanotransducing stereocilia and is essential for hearing", *eLife*, c. 4, s. e08627, Ağu. 2015, doi: 10.7554/eLife.08627.
- [107] K. Mey, M. Bille, S. H. Rye Rasmussen, L. Tranebjærg, ve P. Cayé-Thomasen, "The Natural History of Hearing Loss in Pendred Syndrome and Non-Syndromic Enlarged Vestibular Aqueduct", *Otol. Neurotol. Off. Publ. Am. Otol. Soc. Am. Neurotol. Soc. Eur. Acad. Otol. Neurotol.*, c. 40, sy 3, ss. e178-e185, Mar. 2019, doi: 10.1097/MAO.0000000000002140.
- [108] M. Sugiura *vd.*, "Long-term follow-up in patients with Pendred syndrome: vestibular, auditory and other phenotypes", *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngol. Off. J. Eur. Fed. Oto-Rhino-Laryngol. Soc. EUFOS Affil. Ger. Soc. Oto-Rhino-Laryngol. - Head Neck Surg.*, c. 262, sy 9, ss. 737-743, Eyl. 2005, doi: 10.1007/s00405-004-0884-z.
- [109] W. Reardon *vd.*, "Prevalence, age of onset, and natural history of thyroid disease in Pendred syndrome", *J. Med. Genet.*, c. 36, sy 8, ss. 595-598, Ağu. 1999.
- [110] U. Napiontek *vd.*, "Intrafamilial variability of the deafness and goiter phenotype in Pendred syndrome caused by a T416P mutation in the SLC26A4 gene", *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, c. 89, sy 11, ss. 5347-5351, Kas. 2004, doi: 10.1210/jc.2004-1013.
- [111] M. Goldfeld, B. Glaser, E. Nassir, J. M. Gomori, E. Hazani, ve N. Bishara, "CT of the ear in Pendred syndrome", *Radiology*, c. 235, sy 2, ss. 537-540, May. 2005, doi: 10.1148/radiol.2352031583.
- [112] A. C. Madeo *vd.*, "Evaluation of the thyroid in patients with hearing loss and enlarged vestibular aqueducts", *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, c. 135, sy 7, ss. 670-676, Tem. 2009, doi: 10.1001/archoto.2009.66.

- [113] N. Chen, L. Tranebjærg, N. D. Rendtorff, ve I. Schrijver, "Mutation analysis of SLC26A4 for Pendred syndrome and nonsyndromic hearing loss by high-resolution melting", *J. Mol. Diagn. JMD*, c. 13, sy 4, ss. 416-426, Tem. 2011, doi: 10.1016/j.jmoldx.2011.03.003.
- [114] B. Y. Choi *vd.*, "Segregation of enlarged vestibular aqueducts in families with non-diagnostic SLC26A4 genotypes", *J. Med. Genet.*, c. 46, sy 12, ss. 856-861, Ara. 2009, doi: 10.1136/jmg.2009.067892.
- [115] M. Miyagawa, S.-Y. Nishio, S.-I. Usami, ve Deafness Gene Study Consortium, "Mutation spectrum and genotype-phenotype correlation of hearing loss patients caused by SLC26A4 mutations in the Japanese: a large cohort study", *J. Hum. Genet.*, c. 59, sy 5, ss. 262-268, May. 2014, doi: 10.1038/jhg.2014.12.
- [116] K. Honda ve A. J. Griffith, "Genetic architecture and phenotypic landscape of SLC26A4-related hearing loss", *Hum. Genet.*, c. 141, sy 3-4, ss. 455-464, Nis. 2022, doi: 10.1007/s00439-021-02311-1.
- [117] P. Chattaraj *vd.*, "A common SLC26A4-linked haplotype underlying non-syndromic hearing loss with enlargement of the vestibular aqueduct", *J. Med. Genet.*, c. 54, sy 10, ss. 665-673, Eki. 2017, doi: 10.1136/jmedgenet-2017-104721.
- [118] J. J. Smits *vd.*, "Exploring the missing heritability in subjects with hearing loss, enlarged vestibular aqueducts, and a single or no pathogenic SLC26A4 variant", *Hum. Genet.*, c. 141, sy 3-4, ss. 465-484, Nis. 2022, doi: 10.1007/s00439-021-02336-6.
- [119] Y. Yuan *vd.*, "Molecular epidemiology and functional assessment of novel allelic variants of SLC26A4 in non-syndromic hearing loss patients with enlarged vestibular aqueduct in China", *PLoS One*, c. 7, sy 11, s. e49984, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0049984.
- [120] Y. Tian *vd.*, "Exonic Deletions and Deep Intronic Variants of the SLC26A4 Gene Contribute to the Genetic Diagnosis of Unsolved Patients With Enlarged Vestibular Aqueduct", *Hum. Mutat.*, c. 2024, sy 1, s. 8444122, 2024, doi: 10.1155/2024/8444122.
- [121] S. Anwar *vd.*, "SLC26A4 mutation spectrum associated with DFNB4 deafness and Pendred's syndrome in Pakistanis", *J. Hum. Genet.*, c. 54, sy 5, ss. 266-270, May. 2009, doi: 10.1038/jhg.2009.21.
- [122] X. Pang *vd.*, "A 7666-bp genomic deletion is frequent in Chinese Han deaf patients with non-syndromic enlarged vestibular aqueduct but without bi-allelic SLC26A4 mutations", *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, c. 79, sy 12, ss. 2248-2252, Ara. 2015, doi: 10.1016/j.ijporl.2015.10.015.
- [123] Y.-H. Lin *vd.*, "Targeted Next-Generation Sequencing Facilitates Genetic Diagnosis and Provides Novel Pathogenetic Insights into Deafness with Enlarged Vestibular Aqueduct", *J. Mol. Diagn. JMD*, c. 21, sy 1, ss. 138-148, Oca. 2019, doi: 10.1016/j.jmoldx.2018.08.007.
- [124] C. Bassot, G. Minervini, E. Leonardi, ve S. C. E. Tosatto, "Mapping pathogenic mutations suggests an innovative structural model for the pendrin (SLC26A4) transmembrane domain", *Biochimie*, c. 132, ss. 109-120, Oca. 2017, doi: 10.1016/j.biochi.2016.10.002.

- [125] G. Sekerková, L. Zheng, P. A. Loomis, E. Mugnaini, ve J. R. Bartles, "Espins and the actin cytoskeleton of hair cell stereocilia and sensory cell microvilli", *Cell. Mol. Life Sci. CMLS*, c. 63, sy 19-20, ss. 2329-2341, Eki. 2006, doi: 10.1007/s00018-006-6148-x.
- [126] Z. M. Ahmed, G. I. Frolenkov, ve S. Riazuddin, "Usher proteins in inner ear structure and function", *Physiol. Genomics*, c. 45, sy 21, ss. 987-989, Kas. 2013, doi: 10.1152/physiolgenomics.00135.2013.
- [127] N. L. of M. National Institutes of Health, "'otoa'[GENE] - ClinVar - NCBI". Erişim: 13 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=%22otoa%22%5BGENE%5D&redir=gene>
- [128] N. Grillet *vd.*, "Mutations in LOXHD1, an Evolutionarily Conserved Stereociliary Protein, Disrupt Hair Cell Function in Mice and Cause Progressive Hearing Loss in Humans", *Am. J. Hum. Genet.*, c. 85, sy 3, ss. 328-337, Eyl. 2009, doi: 10.1016/j.ajhg.2009.07.017.
- [129] A. Trouillet *vd.*, "Loxhd1 Mutations Cause Mechanotransduction Defects in Cochlear Hair Cells", *J. Neurosci.*, c. 41, sy 15, ss. 3331-3343, Nis. 2021, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0975-20.2021.
- [130] H. Azaiez *vd.*, "Genomic Landscape and Mutational Signatures of Deafness-Associated Genes", *Am. J. Hum. Genet.*, c. 103, sy 4, ss. 484-497, Eki. 2018, doi: 10.1016/j.ajhg.2018.08.006.
- [131] H. Nakanishi, K. Kurima, Y. Kawashima, ve A. J. Griffith, "Mutations of TMC1 cause deafness by disrupting mechano-electrical transduction", *Auris. Nasus. Larynx*, c. 41, sy 5, ss. 399-408, Eki. 2014, doi: 10.1016/j.anl.2014.04.001.
- [132] K. Kurima, Y. Yang, K. Sorber, ve A. J. Griffith, "Characterization of the transmembrane channel-like (TMC) gene family: functional clues from hearing loss and epidermodysplasia verruciformis", *Genomics*, c. 82, sy 3, ss. 300-308, Eyl. 2003, doi: 10.1016/s0888-7543(03)00154-x.
- [133] D. Duman, A. Sirmaci, F. B. Cengiz, H. Ozdag, ve M. Tekin, "Screening of 38 genes identifies mutations in 62% of families with nonsyndromic deafness in Turkey", *Genet. Test. Mol. Biomark.*, c. 15, sy 1-2, ss. 29-33, 2011, doi: 10.1089/gtmb.2010.0120.
- [134] E. Kalay *vd.*, "Four novel TMC1 (DFNB7/DFNB11) mutations in Turkish patients with congenital autosomal recessive nonsyndromic hearing loss", *Hum. Mutat.*, c. 26, sy 6, s. 591, Ara. 2005, doi: 10.1002/humu.9384.
- [135] A. Sirmaci *vd.*, "Mutations in TMC1 contribute significantly to nonsyndromic autosomal recessive sensorineural hearing loss: a report of five novel mutations", *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, c. 73, sy 5, ss. 699-705, May. 2009, doi: 10.1016/j.ijporl.2009.01.005.
- [136] Z. M. Ahmed *vd.*, "Gene structure and mutant alleles of PCDH15: nonsyndromic deafness DFNB23 and type 1 Usher syndrome", *Hum. Genet.*, c. 124, sy 3, ss. 215-223, Eki. 2008, doi: 10.1007/s00439-008-0543-3.

- [137] E. Buratti *vd.*, “Aberrant 5’ splice sites in human disease genes: mutation pattern, nucleotide structure and comparison of computational tools that predict their utilization”, *Nucleic Acids Res.*, c. 35, sy 13, ss. 4250-4263, Tem. 2007, doi: 10.1093/nar/gkm402.
- [138] P.-L. Wand *vd.*, “Differential Effects of Hearing Loss Mutations in Homomeric P2X2 and Heteromeric P2X2/3 Receptors”, *Cells*, c. 14, sy 7, s. 510, Mar. 2025, doi: 10.3390/cells14070510.
- [139] X. Z. Liu, D. Yan, R. Mittal, M. E. Ballard, ve Y. Feng, “Progressive Dominant Hearing Loss (Autosomal Dominant Deafness-41) and P2RX2 Gene Mutations: A Phenotype-Genotype Study”, *The Laryngoscope*, c. 130, sy 7, ss. 1657-1663, Tem. 2020, doi: 10.1002/lary.28318.
- [140] R. Azizi Malamiri, J. Mohammadi Asl, ve F. Ghanbari, “Identification of a Novel Stop Loss Mutation in P2RX2 Gene in an Iranian Family with Autosomal Nonsyndromic Hearing Loss”, *Iran. Biomed. J.*, c. 25, sy 5, ss. 368-373, Eyl. 2021, doi: 10.52547/ibj.25.5.368.
- [141] R. J. Smith, H. Azaiez, ve A. M. Odell, “SLC26A4-Related Sensorineural Hearing Loss”, içinde *GeneReviews*[®], M. P. Adam, J. Feldman, G. M. Mirzaa, R. A. Pagon, S. E. Wallace, ve A. Amemiya, Ed., Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993. Erişim: 18 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1467/>
- [142] G. Mortier, “Stickler Syndrome”, içinde *GeneReviews*[®], M. P. Adam, J. Feldman, G. M. Mirzaa, R. A. Pagon, S. E. Wallace, ve A. Amemiya, Ed., Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993. Erişim: 13 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1302/>
- [143] K. B. Shpargel, T. Makishima, ve A. J. Griffith, “Col11a1 and Col11a2 mRNA expression in the developing mouse cochlea: implications for the correlation of hearing loss phenotype with mutant type XI collagen genotype”, *Acta Otolaryngol. (Stockh.)*, c. 124, sy 3, ss. 242-248, Nis. 2004, doi: 10.1080/00016480410016162.
- [144] D. Duman, A. Sirmaci, F. B. Cengiz, H. Ozdag, ve M. Tekin, “Screening of 38 genes identifies mutations in 62% of families with nonsyndromic deafness in Turkey”, *Genet. Test. Mol. Biomark.*, c. 15, sy 1-2, ss. 29-33, 2011, doi: 10.1089/gtmb.2010.0120.
- [145] B. Vona, A. Rad, ve E. Reisinger, “The Many Faces of DFNB9: Relating OTOF Variants to Hearing Impairment”, *Genes*, c. 11, sy 12, s. 1411, Kas. 2020, doi: 10.3390/genes11121411.
- [146] R. K. Thorpe *vd.*, “The natural history of OTOF-related auditory neuropathy spectrum disorders: a multicenter study”, *Hum. Genet.*, c. 141, sy 3-4, ss. 853-863, Nis. 2022, doi: 10.1007/s00439-021-02340-w.
- [147] W. D. Walls *vd.*, “A comparative analysis of genetic hearing loss phenotypes in European/American and Japanese populations”, *Hum. Genet.*, c. 139, sy 10, ss. 1315-1323, Eki. 2020, doi: 10.1007/s00439-020-02174-y.
- [148] R. Varga *vd.*, “OTOF mutations revealed by genetic analysis of hearing loss families including a potential temperature sensitive auditory neuropathy allele”, *J. Med. Genet.*, c. 43, sy 7, ss. 576-581, Tem. 2006, doi: 10.1136/jmg.2005.038612.

- [149] C. L. Ford, W. J. Riggs, T. Quigley, O. P. Keifer, J. P. Whitton, ve V. Valayannopoulos, "The natural history, clinical outcomes, and genotype-phenotype relationship of otoferlin-related hearing loss: a systematic, quantitative literature review", *Hum. Genet.*, c. 142, sy 10, ss. 1429-1449, Eki. 2023, doi: 10.1007/s00439-023-02595-5.
- [150] N. Strenzke vd., "Hair cell synaptic dysfunction, auditory fatigue and thermal sensitivity in otoferlin Ile515Thr mutants", *EMBO J.*, c. 35, sy 23, ss. 2519-2535, Ara. 2016, doi: 10.15252/embj.201694564.
- [151] J. Qi vd., "AAV-Mediated Gene Therapy Restores Hearing in Patients with DFNB9 Deafness", *Adv. Sci. Weinh. Baden-Wurt. Ger.*, c. 11, sy 11, s. e2306788, Mar. 2024, doi: 10.1002/advs.202306788.
- [152] J. Lv vd., "AAV1-hOTOF gene therapy for autosomal recessive deafness 9: a single-arm trial", *Lancet Lond. Engl.*, c. 403, sy 10441, ss. 2317-2325, May. 2024, doi: 10.1016/S0140-6736(23)02874-X.
- [153] H. Wang vd., "Bilateral gene therapy in children with autosomal recessive deafness 9: single-arm trial results", *Nat. Med.*, c. 30, sy 7, ss. 1898-1904, Tem. 2024, doi: 10.1038/s41591-024-03023-5.
- [154] R. J. Smith, "Branchiootorenal Spectrum Disorder", içinde *GeneReviews*[®], M. P. Adam, J. Feldman, G. M. Mirzaa, R. A. Pagon, S. E. Wallace, ve A. Amemiya, Ed., Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993. Erişim: 06 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1380/>
- [155] F. C. Fraser, J. R. Sproule, ve F. Halal, "Frequency of the branchio-oto-renal (BOR) syndrome in children with profound hearing loss", *Am. J. Med. Genet.*, c. 7, sy 3, ss. 341-349, 1980, doi: 10.1002/ajmg.1320070316.
- [156] K. Roychoudhury ve R. S. Hegde, "The Eyes Absent Proteins: Unusual HAD Family Tyrosine Phosphatases", *Int. J. Mol. Sci.*, c. 22, sy 8, s. 3925, Nis. 2021, doi: 10.3390/ijms22083925.
- [157] F. Pignoni, B. Hu, K. H. Zavitz, J. Xiao, P. A. Garrity, ve S. L. Zipursky, "The eye-specification proteins So and Eya form a complex and regulate multiple steps in Drosophila eye development", *Cell*, c. 91, sy 7, ss. 881-891, Ara. 1997, doi: 10.1016/s0092-8674(00)80480-8.
- [158] E. Y. M. Wong, M. Ahmed, ve P.-X. Xu, "EYA1-SIX1 complex in neurosensory cell fate induction in the mammalian inner ear", *Hear. Res.*, c. 297, ss. 13-19, Mar. 2013, doi: 10.1016/j.heares.2012.09.009.
- [159] A. Castiglione vd., "EYA1-related disorders: two clinical cases and a literature review", *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, c. 78, sy 8, ss. 1201-1210, Ağu. 2014, doi: 10.1016/j.ijporl.2014.03.032.
- [160] Y. Zhang, B. M. Knosp, M. Maconochie, R. A. Friedman, ve R. J. H. Smith, "A comparative study of Eya1 and Eya4 protein function and its implication in branchio-oto-renal syndrome and DFNA10", *J. Assoc. Res. Otolaryngol. JARO*, c. 5, sy 3, ss. 295-304, Eyl. 2004, doi: 10.1007/s10162-004-4044-3.

- [161] H. Ohto *vd.*, “Cooperation of six and eya in activation of their target genes through nuclear translocation of Eya”, *Mol. Cell. Biol.*, c. 19, sy 10, ss. 6815-6824, Eki. 1999, doi: 10.1128/MCB.19.10.6815.
- [162] R. G. Ruf *vd.*, “SIX1 mutations cause branchio-oto-renal syndrome by disruption of EYA1-SIX1-DNA complexes”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, c. 101, sy 21, ss. 8090-8095, May. 2004, doi: 10.1073/pnas.0308475101.
- [163] A. N. Patrick, B. J. Schiemann, K. Yang, R. Zhao, ve H. L. Ford, “Biochemical and functional characterization of six SIX1 Branchio-oto-renal syndrome mutations”, *J. Biol. Chem.*, c. 284, sy 31, ss. 20781-20790, Tem. 2009, doi: 10.1074/jbc.M109.016832.
- [164] A. Kochhar *vd.*, “SIX1 mutation screening in 247 branchio-oto-renal syndrome families: a recurrent missense mutation associated with BOR”, *Hum. Mutat.*, c. 29, sy 4, s. 565, Nis. 2008, doi: 10.1002/humu.20714.
- [165] L. Tranebjærg, “Deafness-Dystonia-Optic Neuronopathy Syndrome”, içinde *GeneReviews*®, M. P. Adam, J. Feldman, G. M. Mirzaa, R. A. Pagon, S. E. Wallace, ve A. Amemiya, Ed., Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993. Erişim: 12 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1216/>
- [166] L. Tranebjærg, “Mitochondrial Diseases Caused by Mutations in Inner Membrane Chaperone Proteins”, içinde *Mitochondrial Disorders Caused by Nuclear Genes*, L.-J. C. Wong, Ed., New York, NY: Springer, 2013, ss. 337-366. doi: 10.1007/978-1-4614-3722-2_21.
- [167] C. M. Koehler, D. Leuenberger, S. Merchant, A. Renold, T. Junne, ve G. Schatz, “Human deafness dystonia syndrome is a mitochondrial disease”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, c. 96, sy 5, ss. 2141-2146, Mar. 1999, doi: 10.1073/pnas.96.5.2141.
- [168] K. Roesch, S. P. Curran, L. Tranebjærg, ve C. M. Koehler, “Human deafness dystonia syndrome is caused by a defect in assembly of the DDP1/TIMM8a-TIMM13 complex”, *Hum. Mol. Genet.*, c. 11, sy 5, ss. 477-486, Mar. 2002, doi: 10.1093/hmg/11.5.477.
- [169] S. A. Paschen, U. Rothbauer, K. Káldi, M. F. Bauer, W. Neupert, ve M. Brunner, “The role of the TIM8-13 complex in the import of Tim23 into mitochondria”, *EMBO J.*, c. 19, sy 23, ss. 6392-6400, Ara. 2000, doi: 10.1093/emboj/19.23.6392.
- [170] J. M. Schultz *vd.*, “Allelic hierarchy of CDH23 mutations causing non-syndromic deafness DFNB12 or Usher syndrome USH1D in compound heterozygotes”, *J. Med. Genet.*, c. 48, sy 11, ss. 767-775, Kas. 2011, doi: 10.1136/jmedgenet-2011-100262.
- [171] B. Liao *vd.*, “Identification of novel CDH23 heterozygous variants causing autosomal recessive nonsyndromic hearing loss”, *Genes Genomics*, c. 47, sy 3, ss. 293-305, Mar. 2025, doi: 10.1007/s13258-024-01611-w.
- [172] T. B. Friedman, J. M. Schultz, Z. M. Ahmed, E. T. Tsilou, ve C. C. Brewer, “Usher syndrome: hearing loss with vision loss”, *Adv. Otorhinolaryngol.*, c. 70, ss. 56-65, 2011, doi: 10.1159/000322473.

- [173] H. Kremer, E. van Wijk, T. Märker, U. Wolfrum, ve R. Roepman, "Usher syndrome: molecular links of pathogenesis, proteins and pathways", *Hum. Mol. Genet.*, c. 15 Spec No 2, ss. R262-270, Eki. 2006, doi: 10.1093/hmg/ddl205.
- [174] K. T. Booth *vd.*, "PDZD7 and hearing loss: more than just a modifier", *Am. J. Med. Genet. A.*, c. 167, sy 12, ss. 2957-2965, Ara. 2015, doi: 10.1002/ajmg.a.37274.
- [175] T. Higashi *vd.*, "Analysis of the 'angulin' proteins LSR, ILDR1 and ILDR2--tricellulin recruitment, epithelial barrier function and implication in deafness pathogenesis", *J. Cell Sci.*, c. 126, sy Pt 4, ss. 966-977, Şub. 2013, doi: 10.1242/jcs.116442.
- [176] G. Nayak *vd.*, "Tricellulin deficiency affects tight junction architecture and cochlear hair cells", *J. Clin. Invest.*, c. 123, sy 9, ss. 4036-4049, Eyl. 2013, doi: 10.1172/JCI69031.
- [177] Y. Liu *vd.*, "Angulin proteins ILDR1 and ILDR2 regulate alternative pre-mRNA splicing through binding to splicing factors TRA2A, TRA2B, or SRSF1", *Sci. Rep.*, c. 7, sy 1, s. 7466, Ağu. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-07530-z.
- [178] T. Saitoh, T. Mine, ve M. Katoh, "Molecular cloning and characterization of mouse Gipc3", *Int. J. Mol. Med.*, c. 9, sy 3, ss. 251-256, Mar. 2002.
- [179] A. U. Rehman *vd.*, "Mutations of GIPC3 cause nonsyndromic hearing loss DFNB72 but not DFNB81 that also maps to chromosome 19p", *Hum. Genet.*, c. 130, sy 6, ss. 759-765, Ara. 2011, doi: 10.1007/s00439-011-1018-5.
- [180] P. Chatterjee *vd.*, "GIPC3 couples to MYO6 and PDZ domain proteins, and shapes the hair cell apical region", *J. Cell Sci.*, c. 136, sy 10, s. jcs261100, May. 2023, doi: 10.1242/jcs.261100.
- [181] M. Kalaimathi *vd.*, "Low incidence of GIPC3 variants among the prelingual hearing impaired from southern India", *J. Genet.*, c. 99, s. 74, 2020.
- [182] B. Zaharija, B. Samardžija, ve N. J. Bradshaw, "The TRIOBP Isoforms and Their Distinct Roles in Actin Stabilization, Deafness, Mental Illness, and Cancer", *Molecules*, c. 25, sy 21, s. 4967, Eki. 2020, doi: 10.3390/molecules25214967.
- [183] E. Bernardinelli, F. Huber, S. Roesch, ve S. Dossena, "Clinical and Molecular Aspects Associated with Defects in the Transcription Factor POU3F4: A Review", *Biomedicines*, c. 11, sy 6, s. 1695, Haz. 2023, doi: 10.3390/biomedicines11061695.
- [184] J. Defourny, "Considering gene therapy to protect from X-linked deafness DFNX2 and associated neurodevelopmental disorders", *Ibrain*, c. 8, sy 4, ss. 431-441, 2022, doi: 10.1002/ibra.12068.