

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**KALITSAL DUYMA KAYIPLARINA NEDEN OLAN
GENLERİN; HARİTALAMA, KRİTİK BÖLGE ANALİZİ
VE MUTASYON TARAMA YÖNTEMLERİ İLE
SAPTANMASI**

ABDULLAH ÜZÜMCÜ

**DANIŞMAN
PROF. DR. SEHER BAŞARAN**

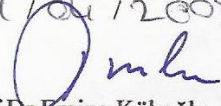
GENETİK ANABİLİM DALI/GENETİK PROGRAMI

İSTANBUL-2008

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

01/04/2008

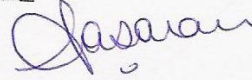

 Prof. Dr. Emine Kökoğlu
 Enstitü Müdürü

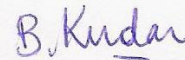
Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
 Program Adı : Genetik Programı
 Programın seviyesi : Yüksek Lisans Doktora
 Anabilim Dalı : Genetik Anabilim Dalı
 Tez Sahibi : Abdullah ÜZÜMCÜ
 Tez Başlığı : Kalıtsal Duyuma Kayıplarına Neden Olan Genlerin; Haritalama, Kritik Bölge Analizi ve Mutasyon Tarama Yöntemleri ile Saptanması
 Sınav Yeri : İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
 Sınav Tarihi : 18 / 03 / 2008

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı _____

1. Prof. Dr. Seher BAŞARAN (Tez Danışmanı/Tez İzleme Komitesi Üyesi),
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
2. Prof. Dr. Betül KIRDAR (Tez İzleme Komitesi Üyesi),
Boğaziçi Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü
3. Doç. Dr. Z. Oya UYGUNER (Tez İzleme Komitesi Üyesi),
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
4. Doç. Dr. Hülya KAYSERİLİ,
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
5. Doç. Dr. Kıvanç ÇEFLE,
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı







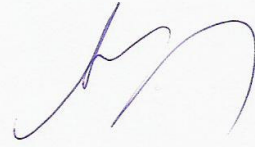




BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Abdullah ÜZÜMCÜ



Canım Kızım Nisan'a...

TEŞEKKÜR

İ.Ü. İ.T.F. Tıbbi Genetik AD'deki öğrenimime olanak sağlayan ve değerli zamanını ayırarak tez danışmanlığımı üstlenen Prof. Dr. Seher Başaran'a,

Öğrenimim süresince bilimsel katkılarını esirgemeyen Prof. Dr. Memnune Yüksel-Apak ve Doç. Dr. Hülya Kayserili'ye,

Tez çalışmamın gerçekleşmesi için her türlü olanağı sağlayan, zaman ayırarak bilimsel ve teknik katkıda bulunan Dr. Bernd Wollnik, Doç. Dr. Zehra Oya Uyguner ve Uzm. Psk. Melike Ulubil-Emiroğlu'na,

Yardım ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Dr. Asadollah Ghanbari Marand, Uzm. Bio. Hacer Eriş, Uzm. Mol. Bio. Ece Selen Şahin ve Bio. Zeynep Gamze Güven'e,

Tez çalışmalarım sırasındaki destekleri için İ.Ü. İ.T.F. Tıbbi Genetik AD'deki tüm çalışma arkadaşlarıma,

Max-Dellbrück Moleküler Tıp Merkezi - Gen Haritalama Merkezi'ndeki çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren Dr. Sabahattin Çırak ve Dr. Alfredo Ramirez'e,

Destegini her zaman arkamda hissettiğim Dr. Lubomir Dostal'a,

Bugünlere ulaşmam için tüm maddi, manevi olanaklarını seferber eden, sevgi ve desteklerini esirgemeyen aileme,

Eşim Neşe ve kızım Nisan'a teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-959/06102006.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xvi
ÖZET	xx
ABSTRACT.....	xxi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İşitme Sistemi	3
2.1.1. Kulağın Yapısı	3
2.1.2. Kulağın Fizyolojisi.....	6
2.1.2.1. Sesin İletimi	6
2.1.2.2. Koklear Çoğaltıcı	8
2.1.2.3. Endokoklear Potansiyel	9
2.1.2.4. Endokoklear K+ Homeostazı.....	9
2.2. Duyma Kaybının Sıklığı	10
2.3. Duyma Kayıplarının Sınıflandırılması.....	11
2.3.1. Defektin Bulunduğu Yere Göre Duyma Kayıpları	11
2.3.2. Derecelerine Göre Duyma Kayıpları	12
2.3.3. Ses Frekanslarına Göre Duyma Kayıpları.....	12
2.3.4. Ortaya Çıkış Dönemlerine Göre Duyma Kayıpları	12
2.3.5. Progresyonlarına Göre Duyma Kayıpları.....	12
2.3.6. Etiyolojiye Göre Duyma Kayıpları.....	12
2.3.6.1. Çevresel Duyma Kayıpları.....	12
2.3.6.1.1. Aminoglikozid Kaynaklı Duyma Kaybı.....	13
2.3.6.1.2. Koklear Oksidatif Stres.....	14
2.3.6.2. Kalıtsal Duyma Kayıpları	16

2.3.6.2.1. Sendromik Duyma Kayıpları	16
2.3.6.2.1.1. Renal Tübüler Asidoz ve Duyma Kaybı.....	17
2.3.6.2.2. Non-Sendromik Duyma Kayıpları	17
2.4. Non-Sendromik Duyma Kaybı ile İlişkili Genler	19
2.4.1. Hücre-İskeleti ile İlişkili Proteinleri Kodlayan Genler	21
2.4.1.1. ACTG1 (DFNA20/26).....	21
2.4.1.2. DIAPH1 (DFNA1)	22
2.4.1.3. ESPN (DFNB36).....	22
2.4.1.4. Miyozinler.....	23
2.4.1.4.1. Konvansiyonel Miyozinleri Kodlayan Genler	24
2.4.1.4.1.1. MYH9 (DFNA17)	25
2.4.1.4.1.2. MYH14 (DFNA4)	25
2.4.1.4.2. Konvansiyonel Olmayan Miyozinleri Kodlayan Genler	26
2.4.1.4.2.1. MYO1A (DFNA48)	26
2.4.1.4.2.2. MYO3A (DFNB30).....	27
2.4.1.4.2.3. MYO6 (DFNA22 ve DFNB37).....	28
2.4.1.4.2.4. MYO7A (DFNA11 ve DFNB2).....	30
2.4.1.4.2.5. MYO15A (DFNB3).....	31
2.4.1.5. PDZ Domain İçeren İskele Proteinleri	32
2.4.1.5.1. USH1C (DFNB18)	32
2.4.1.5.2. WHRN (DFNB31)	34
2.4.1.6. RDX (DFNB24)	35
2.4.1.7. TRIOBP (DFNB28)	35
2.4.2. Hücre Adezyon Moleküllerini Kodlayan Genler.....	36
2.4.2.1. CDH23 (DFNB12)	36
2.4.2.2. PCDH15 (DFNB23)	37
2.4.3. Yapısal Proteinleri Kodlayan Genler	39
2.4.3.1. COCH (DFNA9)	39
2.4.3.2. COL11A2 (DFNA13 ve DFNB53).....	40
2.4.3.3. OTOA (DFNB22)	41
2.4.3.4. STRC (DFNB16).....	41
2.4.3.5. TECTA (DFNA8/12 ve DFNB21).....	42
2.4.4. İyon Homeostazında Rol Oynayan Proteinleri Kodlayan Genler.....	43

2.4.4.1. CRYM	43
2.4.4.2. <i>Gap Junction</i> Proteinleri.....	44
2.4.4.2.1. GJB2 (DFNA3 ve DFNB1)	44
2.4.4.2.2. GJB3 (DFNA2)	46
2.4.4.2.3. GJB6 (DFNA3 ve DFNB1)	46
2.4.4.3. KCNQ4 (DFNA2)	47
2.4.4.4. SLC26 Anyon Transportörleri	48
2.4.4.4.1. SLC26A4/PDS (DFNB4)	48
2.4.4.4.2. SLC26A5/PRES	49
2.4.4.5. <i>Tight Junction</i> Proteinleri	50
2.4.4.5.1. CLDN14 (DFNB29).....	51
2.4.4.5.2. TRIC (DFNB49)	51
2.4.4.6. TMC1 (DFNA36 ve DFNB7/11).....	52
2.4.4.7. TMPRSS3 (DFNB8/10)	53
2.4.5. Transkripsiyon Faktörlerini Kodlayan Genler.....	54
2.4.5.1. EYA4 (DFNA10)	54
2.4.5.2. POU-Domain Genleri	54
2.4.5.2.1. POU3F4 (DFN3)	54
2.4.5.2.2. POU4F3 (DFNA15)	55
2.4.5.3. TFCEP2L3 (DFNA28)	56
2.4.6. Vezikül Trafikinde Rol Oynayan Genler	56
2.4.6.1. OTOF (DFNB9)	56
2.4.7. Fonksiyonu Bilinmeyen/Sınıflandırılmayan Proteinleri Kodlayan Genler.....	57
2.4.7.1. CCDC50 (DFNA44).....	57
2.4.7.2. DFNA5	58
2.4.7.3. PJVK (DFNB59).....	58
2.4.7.4. TMHS (DFNB66/67).....	59
2.4.7.5. TMIE (DFNB6).....	59
2.4.7.6. WFS1 (DFNA6/14/38)	60
2.4.8. Mitokondriyal Genler	61
2.4.8.1. MTRNR1	61
2.4.8.2. MTTT1.....	62
2.5. Kalıtsal Duyma Kayıplarının Tedavisi	62

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	64
3.1. Çalışma Grubu.....	64
3.2. Klinik Değerlendirmeler	64
3.3. Moleküler Analizler.....	64
3.4. DNA Eldesi	65
3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	65
3.6. DNA Dizi Analizi.....	65
3.7. Genom-Boyu Bağlantı Analizi	66
3.8. STR Markör Analizleri	66
3.9. LOD Skor Analizleri.....	66
3.10. Poliakrilamid Jel Elektforezi.....	66
3.11. Restriksiyon Enzim Kesimi.....	67
3.12. Kompütasyonel Analizler.....	67
4. BULGULAR.....	71
4.1. Sendromik Duyma Kayıpları.....	71
4.1.1. Renal Tübüler Asidoz ve Duyma Kaybı	71
4.2. Özgün Oto-/odyolojik Fenotipler	75
4.2.1. Geniş Vestibüler Akvaduktus	75
4.2.2. Düşük Frekans Sensorinöral Duyma Kaybı	80
4.3. Daha Önce Haritalanmış NSDK Ailelerinde Yapılan Çalışmalar.....	85
4.4. Non-Sendromik Duyma Kaybı Ailelerinde Gen Haritalaması	99
4.5. Koklear Oksidatif Stres ile İlişkili Duyma Kaybı	107
4.5.1. Klinik Bulgular	107
4.5.2. Moleküler Genetik ve İstatistiksel Bulgular.....	107
4.5.2.1. Mutasyon Taraması	107
4.5.2.2. Gen Haritalaması.....	111
4.5.2.3. Kritik Bölge Analizi	113
4.5.2.4. Karşılaştırmalı Haplotip Analizi	118
4.5.2.5. Aday Gen Yaklaşımı	118
5. TARTIŞMA	119
5.1. Renal Tübüler Asidoz ve Duyma Kaybı.....	120
5.2. Özgün Oto-/odyolojik Fenotipler	122
5.2.1. Geniş Vestibüler Akvaduktus	122

5.2.2. Düşük Frekans Sensorinöral Duyma Kaybı	124
5.3. Daha Önce Haritalanan NSDK Ailelerinde Yapılan Çalışmalar.....	127
5.4. Non-Sendromik Duyma Kaybına Sahip Aday Ailelerde Gen Haritalaması.....	134
5.5. Koklear Oksidatif Stres ile İlişkili Duyma Kaybı	136
KAYNAKLAR	143
FORMLAR	205
ETİK KURUL KARARI.....	208
ÖZGEÇMİŞ	210

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Non-sendromik duyma kaybı ile ilişkili genler	20
Tablo 3-1: Hedef genlerin amplifikasyonu için kullanılan ileri-geri primerler	68
Tablo 3-2: Çalışma kapsamında gerçekleştirilen enzim kesim analizleri	70
Tablo 4-1: DF#44 ailesinde 6p12.3-p23'teki STR markörler için elde edilen <i>two-point</i> LOD skor değerleri.....	92
Tablo 4-2: SDK ve NSDK ailelerinde dizi analizi ile incelenen genlerde saptanan polimorfizmler	98
Tablo 4-3: KOSDK ailelerindeki etkilenmiş bireylerin klinik bulguları	109
Tablo 4-4: KOSDK#1 ailesinde 12p13.32-q15'teki STR markörler için elde edilen <i>two-point</i> LOD skor değerleri.....	111
Tablo 4-5: KOSDK#1 ailesinde 12p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen <i>two-point</i> LOD skor değerleri.....	113
Tablo 4-6: KOSDK#2 ailesinde 12p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen <i>two-point</i> LOD skor değerleri.....	115
Tablo 4-7: KOSDK#3 ailesinde 12p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen <i>two-point</i> LOD skor değerleri.....	117
Tablo 4-8: KOSDK#1-3 ailelerinde 12p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen <i>two-point</i> LOD skor değerleri.....	117
Tablo 4-9: KOSDK#1 ailesinden V.7.'de dizi analizi ile taranan aday genlerde saptanan polimorfizmler	118

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Kulağın yapısı.	3
Şekil 2-2: Kokleanın enine kesiti.	4
Şekil 2-3: Korti organı.	4
Şekil 2-4: Dış saç hücrelerindeki (A) saç demeti ve (B) stereosillerin tarayıcı elektron mikroskopundaki görünümü.	5
Şekil 2-5: Mekano-elektriksel dönüşüm kanallarının organizasyonu.	7
Şekil 2-6: (A) Kokleanın tonotopik organizasyonu ve (B) frekansa göre baziler membran hareketleri.	8
Şekil 2-7: Endokoklear K ⁺ homeostazı.	10
Şekil 2-8: Erişkin dönemde ortaya çıkan duyma kayıplarının dereceleri ve yaşlara göre oranları.	11
Şekil 4-1: DF#152 ailesindeki etkilenmiş bireyler (A) V.1. ve (B) V.2.'deki odyogram bulguları.	72
Şekil 4-2: DF#152 ailesinden ATP6V1B1 geninin 10. eksonundaki c.C1037G (p.P346R) mutasyonu için (A) wild-type, (B) heterozigot ve (C) homozigot bireylere ait kromatogramlar.	72
Şekil 4-3: DF#152 ailesinden ATP6V1B1 geninin 6. eksonundaki c.G539T (p.G180V) mutasyonu için (A) wild-type ve (B) heterozigot bireylere ait kromatogramlar.	73
Şekil 4-4: ATP6V1B1 genindeki p.G180V ve p.P346R mutasyonlarının DF#152 ailesindeki segregasyonları.	73
Şekil 4-5: İnsan ATP6V1B1 geni ile çeşitli organizmalardaki ortologlarının kodladığı proteinlerin dizilerinin karşılaştırılması.	74
Şekil 4-6: DF#191 ailesindeki etkilenmiş bireyler (A) IV.1. ve (B) IV.2.'deki odyogram bulguları.	74
Şekil 4-7: ATP6V1B1 genindeki p.P346R mutasyonunun DF#191 ailesindeki segregasyonu.	75
Şekil 4-8: DF#39 ailesindeki etkilenmiş bireylerden (A) III.1. ve (B) III.4.'teki odyogram bulguları ile (C) III.7.'deki ABR testi bulgusu.	77
Şekil 4-9: DF#39 ailesinden etkilenmiş birey III.1.'de bilateral geniş vestibüler akuaduktus varlığını gösteren bilgisayarlı tomografi kesiti.	77
Şekil 4-10: DF#39 ailesinde 7q22.3'te lokalize STR markörler kullanılarak yapılan	

bağlantı analizi ve SLC26A4 genindeki p.L445W ve p.F515C mutasyonlarının segregasyonları.....	78
Şekil 4-11: DF#39 ailesinden SLC26A4 geninin 11. eksonundaki c.T1334G (p.L445W) mutasyonu için (A) wild-type ve (B) heterozigot bireylere ait kromatogramlar.....	78
Şekil 4-12: DF#39 ailesinden SLC26A4 geninin 13. eksonundaki c.T1544G (p.F515C) mutasyonu için (A) wild-type ve (B) heterozigot bireylere ait kromatogramlar.....	79
Şekil 4-13: Çeşitli omurgalı hayvanlardaki pendrin homologlarının protein dizilerinin karşılaştırılması.....	79
Şekil 4-14: DF#43 ailesindeki etkilenmiş bireylerden (A) IV.1. ve (B) III.5.'teki odyogram bulguları.....	80
Şekil 4-15: DF#43 ailesinin pedigrisi.....	81
Şekil 4-16: DF#43 ailesinden WFS1 geninin 8. eksonundaki c.2498_2506del TGGGCAGCA (p.L833_K836delinsQ) mutasyonu için (A) wild-type ve (B) heterozigot bireylere ait kromatogramlar.....	81
Şekil 4-17: DF#181 ailesindeki etkilenmiş bireyler (A) II.1., (B) II.2. ve (C) III.1.'deki odyogram bulguları.....	82
Şekil 4-18: DF#181 ailesinden GJB2 geninin 2. eksonundaki c.T269C (p.L90P) mutasyonu için (A) wild-type ve (B) heterozigot bireylere ait kromatogramlar.....	83
Şekil 4-19: DF#181 ailesinden WFS1 geninin 8. eksonundaki c.C2051T (p.A684V) mutasyonu için (A) wild-type ve (B) heterozigot bireylere ait kromatogramlar.....	83
Şekil 4-20: DF#181 ailesinde GJB2 genindeki p.L90P ve WFS1 genindeki p.A684V mutasyonlarının segregasyonları.....	84
Şekil 4-21: Çeşitli omurgalı hayvanlardaki wolframin homologlarının protein dizilerinin karşılaştırılması.....	84
Şekil 4-22: DF#9 ailesinde 3p14.2-p22.1'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler (562).....	86
Şekil 4-23: DF#19 ailesinde 17p13.2-q24.2'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler (562).....	87
Şekil 4-24: DF#9 ailesinden TMIE geninin 3. eksonundaki c.C250T (p.R84W) mutasyonu için (A) wild-type, (B) heterozigot ve (C) homozigot bireylere ait kromatogramlar.....	88
Şekil 4-25: DF#19 ailesinden MYO15A geninin 50. intronundaki c.8974-1G>C mutasyonu için (A) heterozigot ve (B) homozigot bireylere ait kromatogramlar.....	88

Şekil 4-26: DF#44 ailesinde 8p11.21-q13.1'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler (562).	90
Şekil 4-27: DF#44 ailesinden (A) VI.2. ve (B) VI.4.'deki odyogram bulguları ile (C) III.1.'deki ABR testi bulgusu.	91
Şekil 4-28: DF#44 ailesinde 6p12.3-p23'teki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.	92
Şekil 4-29: DF#44 ailesinde 6p21.32-p21.1'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.	93
Şekil 4-30: DF#44 ailesinde 6p21.32-p21.1'deki STR markörler için elde edilen multi-point LOD skor değerleri.	94
Şekil 4-31: DF#44 ailesinden TMHS/LHFPL5 geninin 2. eksonundaki c.649delG mutasyonu için (A) wild-type, (B) heterozigot ve (C) homozigot bireylere ait kromatogramlar.	94
Şekil 4-32: DF#51 ailesinden V.1. (A, C) ve V.3.'te (B, D) yapılan DPOAE (A, B) ve ABR (C, D) testlerinden elde edilen bulgular.	95
Şekil 4-33: DF#51 ailesinde 2p22.3-p24.2'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler (562).	96
Şekil 4-34: DF#51 ailesinden OTOF geninin 44. eksonundaki c.G5567A (p.R1856Q) mutasyonu için (A) wild-type, (B) heterozigot ve (C) homozigot bireylere ait kromatogramlar.	97
Şekil 4-35: Çeşitli omurgalı hayvanlardaki otoferlin homologlarının protein dizilerinin karşılaştırılması.	97
Şekil 4-36: DF#17 ailesinde genom-boyu bağlantı analizinden genotipler üzerinden hesaplanan <i>multi-point</i> LOD skor değerleri.	99
Şekil 4-37: DF#17 ailesinden (A) VI.2. ve (B) V.1.'deki odyogram bulguları.	100
Şekil 4-38: DF#17 ailesinin aile ağacı.	100
Şekil 4-39: DF#17 ailesinde 10q21.21-q23.31'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.	101
Şekil 4-40: DF#17 ailesinde 10q21.1-q23.1'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.	102
Şekil 4-41: DF#17 ailesinden CDH23 geninin 13. eksonundaki c.A1355G (p.N452S) mutasyonu için (A) wild-type, (B) heterozigot ve (C) homozigot bireylere ait kromatogramlar.	103

Şekil 4-42: DF#33 ailesinden V.2.'deki odyogram bulgusu.	104
Şekil 4-43: DF#17 ailesinde genom-boyu bağlantı analizinden genotipler üzerinden hesaplanan multi-point LOD skor değerleri.	104
Şekil 4-44: DF#33 ailesinde 3q26.2-q26.31'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.....	105
Şekil 4-45: DF#33 ailesinde 5q34-q35.2'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.....	106
Şekil 4-46: (A) KOSDK#1, KOSDK#2 ve (C) KOSDK#3 ailelerinin pedigrileri ve (D) nüfusa kayıtlı oldukları il ve ilçeler.....	108
Şekil 4-47: KOSDK ailelerinin etkilenmiş bireylerindeki odyolojik bulgular.	110
Şekil 4-48: KOSDK#1 ailesinde 12p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.....	112
Şekil 4-49: KOSDK#2 ailesinde 12p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.....	114
Şekil 4-50: KOSDK#3 ailesinde 12p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.....	116

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

aa	:	amino asit
ABM	:	actin-bundling module
ABR	:	auditory brainstem response
ABS	:	actin-binding site
AGKDK	:	aminoglikozid kaynaklı duyma kaybı
av	:	Ames waltzer fare modeli/alleli
BAC	:	bacterial artificial chromosome
BB	:	brush border
bç	:	baz çifti
Bth	:	Beethoven fare modeli/alleli
CC	:	coiled-coil
cir	:	circling fare modeli/alleli
CTD	:	C-terminal domain
Cx	:	konneksin
dB	:	desibel
ddl	:	dreidel fare modeli/alleli
dfcr	:	deaf circler fare modeli/alleli
DFSNDK	:	düşük frekans sensorinöral duyma kaybı
dn	:	deafness fare modeli/alleli
DPOAE	:	distortion product otoacoustic emissions
DSH	:	dış saç hücresi
E	:	embriyonik gün
EGF	:	epidermal growth factor
EGFR	:	epidermal growth factor receptor
EK	:	ekstrasellüler kaderin
ELOD	:	expected likelihood of odds
ENT	:	entaktin G1 domaini
ER	:	endoplazmik retikulum
ERM	:	ezrin, radixin, moesin
ESM	:	ekstrasellüler matriks
ETS	:	elektron taşıma sistemi
eya	:	eye absent

eyaHR	:	eya-homolgy region
F-aktin	:	filamentöz aktin
FCH/LCCL	:	Limulus faktör C-homolog
FERM	:	4.1, ezrin, radixin, moesin
G-aktin	:	globüler aktin
GD	:	globüler domain
GJ	:	gap junction
GPI	:	glikosilfosfatidilinositol
GVAD	:	geniş vestibüler akuaduktus
GYGD	:	glisin-tirozin-glisin-aspartik asit
hscy	:	hurry-scurry fare modeli/alleli
Hz	:	hertz
IQ	:	izolösin-glutamin
İSH	:	iç saç hücresi
je	:	jerker fare modeli/alleli
JNK/SAPK	:	c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase
Js	:	Jakson shaker fare modeli/alleli
KI	:	knock-in
KO	:	knock-out
KOS	:	koklear oksidatif stres
KOSDK	:	koklear oksidatif stres ile ilişkili duyma kaybı
KTM	:	koklin-tomoprotein
LDLRA	:	low-density-lipoprotein receptor A
LOD	:	likelihood of odds
Mb	:	megabaz
MED	:	mekano-elektriksel dönüşüm
MIU	:	motif interacting with ubiquitin
MPT	:	mitochondrial permeability transition
mtDNA	:	mitokondriyal DNA
MyTH4	:	myosin tail homolgy 4
NMHC	:	non-muscle myosin heavy chain
NO	:	nitrik oksit
NSDK	:	non-sendromik duyma kaybı
NSRİN	:	non-sendromik resesif işitsel nöropati

ODNSDK	:	otozomal dominant non-sendromik duyma kaybı
orb	:	orbiter zebra balığı modeli
ORNSDK	:	otozomal resesif non-sendromik duyma kaybı
P	:	postnatal gün
PAD	:	paralel aktin demeti
PCR	:	polimeraz zincir reaksiyonu
PDZ	:	postsynaptic density-95/Discs large/zona occludens-1
PH	:	pleckstrin homology
pH	:	asitlik/bazlık derecesi
PIP2	:	fosfatidilinositol 4,5-bifosfat
PLM	:	PDZ-ligand motifi
POUH	:	POU-homeodomain
POUS	:	POU-spesifik domain
PR	:	proline-rich
PS	:	Pendred sendromu
PST	:	prolin-serin-treonin
ROT	:	reaktif oksijen türleri
rRNA	:	ribozomal RNA
RTADK	:	renal tübüler asidoz ve duyma kaybı
sai	:	satellite zebra balığı modeli
SDK	:	sendromik duyma kaybı
sh1	:	Shaker-1 fare modeli/alleli
sh2	:	Shaker-2 fare modeli/alleli
SH3	:	src homolgy type 3
SNP	:	single nucleotide polymorphism
sr	:	spinner fare modeli/alleli
SRCR	:	scavenger-receptor cysteine-rich
STAS	:	sulfate transporter and anti-sigma
Sti	:	Sirtaki fare modeli/alleli
STR	:	short tandem repeat
sv	:	Snell's waltzer fare modeli/alleli
TH1	:	tail homology 1
TH3	:	tail homology 3
TJ	:	tight junction

TM	:	transmembran
TMC	:	transmembrane channel-like
TTSP	:	tip II transmembran serin proteaz
UPI	:	Usher protein interaktomu
v	:	waltzer fare modeli/alleli
vWFA	:	von Willebrand faktör A
vWFD	:	von Willebrand faktör D
WH2	:	WASP homology 2
wi	:	whirler fare modeli/alleli
WS-I	:	Wolfram sendromu tip I
Z	:	LOD skor
ZA	:	zonadesin
ZP	:	zona pellusida
Δ GJB6	:	GJB6 geni delesyonları
θ	:	rekombinasyon fraksiyonu

ÖZET

Üzümcü A. Kalıtsal Duyma Kayıplarına Neden Olan Genlerin; Haritalama, Kritik Bölge Analizi ve Mutasyon Tarama Yöntemleri ile Saptanması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik AD. Doktora Tezi. İstanbul. 2008.

Bu çalışmada, Türk toplumunda bilinen duyma kaybı genlerindeki yeni mutasyonların ve yeni duyma kaybı genlerinin tanımlanması amacı ile iki sendromik, dokuz non-sendromik ve üç koklear oksidatif stres kaynaklı duyma kaybı ailesinde genom-boyu bağlantı analizi ile gen haritalaması çalışmaları, kritik bölge analizleri ve mutasyon taramaları gerçekleştirildi.

Sendromik ve özgün oto-/odyolojik özellikleri olan non-sendromik duyma kayıplarından etkilenmiş ailelerde, ilişkili genlerde bilinen ve yeni mutasyonlar saptandı.

Daha önce DFNB6, DFNB3 ve DFNB9 lokuslarına haritalanan DF#9, DF#19 ve DF#51 ailelerinde TMIE, MYO15A ve OTOF genlerinde bilinen ve yeni mutasyonlar saptandı. Fenokopi saptanan ve önceki veriler üzerinden ileri istatistiksel analizler ile 6p21.1-p21.31 kromozomal bölgesine haritalanan DF#44'teki duyma kaybının, daha önce tanımlanmamış TMHS/LHFPL5 geni ile ilişkili olduğu belirlendi.

Gen haritalama çalışmaları sonucunda istatistiksel olarak anlamlı LOD skor değerlerine ulaşamayan iki duyma kaybı ailesinden DF#33'ün kullanılan STR markörlerin büyük kısmı için non-informatif olduğu saptandı. İki farklı duyma kaybı formunun segregasyon gösterdiği DF#17 ailesinin non-sendromik duyma kaybından etkilenmiş kolunun, genom-boyu haplotip ve dizi analizleri ile CDH23 geninde bilinen bir mutasyon taşıdığı belirlendi.

Üç ailede yapılan homozigotluk haritalaması ve kritik bölge analizleri sonucunda, koklear oksidatif stres kaynaklı duyma kaybına otozomal resesif yatkınlıktan sorumlu gen 12p12.3-p13.2 kromozomal bölgesine haritalandı. Aday genlerde yapılan dizi analizlerinde duyma kaybı ile ilişkili olabilecek bir mutasyon saptanmadı. Kritik bölgede yer alan diğer genlerin mutasyon taramaları ile incelenmesi planlandı.

Sonuç olarak; bu çalışma ile, TMHS/LHFPL5, TMIE ve CDH23 genlerinin Türk toplumunda non-sendromik duyma kaybı ile ilişkili olduğu ilk kez gösterildi ve koklear oksidatif stres kaynaklı duyma kaybına otozomal resesif yatkınlık ile ilişkili ilk lokus tanımlandı.

Anahtar Kelimeler: işitme kaybı, koklear oksidatif stres, gen haritalama, mutasyon.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-959/06102006.

ABSTRACT

Uzumcu A. Identification of Genes Causing Hereditary Hearing Loss by Gene Mapping, Linkage Analysis and Mutation Screening. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Genetics. Ph.D. Thesis. Istanbul. 2008.

In this study, gene mapping studies, linkage analyses, and mutation screenings were performed in two and nine families with syndromic (SHL) and non-syndromic hearing loss (NSHL), respectively, and in three families with cochlear oxidative stress-induced hearing loss (COSHL) in order to identify novel genes as well as novel mutations in known genes in Turkish population.

In families with either SHL or NSHL associated with special otological/audiological features, known and novel mutations were detected in known causative genes.

In DF#9, DF#19, and DF#51 families, previously mapped to DFNB6, DFNB3, and DFNB9 loci, known and novel mutations were identified in TMIE, MYO15A, and OTOF genes, respectively. A novel deafness gene, TMHS/LHFPL5, was identified in DF#44 family linked to chromosome 6p21.1-p21.31 by using previous mapping-data after the identification of phenocopy.

Statistically significant LOD scores could not be achieved in two NSHL families. DF#33 family was found to be non-informative for the majority of STR markers. In DF#17 family with both SHL and NSHL segregating, a known mutation in CDH23 gene was identified in the branch affected with NSHL.

A locus responsible for autosomal recessive susceptibility for COSHL was mapped to chromosome 12p12.3-p13.2 by homozygosity mapping and linkage analyses in three families. No mutation was identified in candidate genes screened. Further screening of the remaining genes in the critical region was planned.

By this study, for the first time, a locus underlying autosomal recessive COSHL was identified, and also the association of TMHS/LHFPL5, TMIE, and CDH23 genes with NSHL was presented in Turkish population.

Key Words: hearing loss, cochlear oxidative stress, gene mapping, mutation.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. T-959/06102006.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gelişmiş ülkelerde nüfusun %6-8'ini etkileyen duyma kaybı, insanlarda görülen en yaygın duyu organı bozukluğudur (52, 431). Konjenital duyma kaybının insidansı gelişmiş ülkelerde ~1:1000, ülkemizde ise 1:500 olarak bildirilmektedir (180, 378). Bunların en az yarısının genetik kökenli olduğu düşünülmektedir (451).

Konuşma yeteneğinin gelişiminden önce ortaya çıkan duyma kaybı, etkilenmiş çocukların normal iletişim kuramamasına ve buna bağlı olarak zihinsel ve ruhsal gelişimlerinin gecikmesine neden olmaktadır. Zihinsel ve ruhsal gelişimdeki gecikme sosyolojik ve psikolojik sorunları da beraberinde getirmektedir (357). Buna karşın, erken tanı ve tedavi ile uygun eğitim, duyma kaybının yol açacağı olumsuz etkileri azaltmakta, aile ve toplum üzerindeki yükü hafifletmektedir (411). Kalıtsal duyma kayıplarında en erken tanıya moleküler tanı yöntemleri kullanılarak ulaşılabilmektedir. Ancak kalıtsal duyma kayıplarına moleküler tanı imkanının sunulabilmesi için öncelikle bir toplumdaki duyma kaybı ile ilişkili genlerin ve bunların sıklıklarının belirlenmesi gerekmektedir.

Sendromik ve bazı non-sendromik duyma kayıplarında çeşitli gen defektlerine özgü klinik bulguların bulunması, moleküler tanı konmasını kolaylaştırmakta ise de non-sendromik duyma kayıplarının oldukça büyük bir kısmı ayırıcı klinik özelliklere sahip bulunmaktadır (52, 392). Ayrıca, bu duyma kaybı formları yüksek genetik heterojenite ile ilişkilidir (566). Bu nedenle, -özellikle otozomal resesif- non-sendromik duyma kayıpları ile ilişkili genlerin tanımlanması için yakın akraba evliliği yapmış aileler tercih edilmektedir. Bugüne kadar, Orta ve Güney Asya ile Orta Doğu'daki yakın akraba evliliği yapmış ailelerde çok sayıda otozomal resesif duyma kaybı geni haritalanmış ve tanımlanmıştır (429).

Türkiye, akraba evliliklerinin oldukça sık (%23) görüldüğü bir ülkedir (37). Bundan dolayı, Türk toplumunda pek çok kalıtsal hastalık gibi, özellikle otozomal resesif kalıtım gösteren duyma kayıpları da sıklıkla görülmektedir (37). Ülkemizdeki kalıtsal çocukluk çağı duyma kayıplarının %25'inden GJB2 genindeki mutasyonlar sorumlu bulunmaktadır (35, 561, 543). Kalıtsal duyma kayıpları ile ilişkili olan yeni genlerin ve mutasyonlarının saptanması, bilimsel açıdan işitme duyusunda etkin genler

ve fizyolojisinin aydınlatılmasına katkıda bulunacağı gibi Türk toplumundaki kalıtsal duyma kayıplarının moleküler tanısı açısından da oldukça önemlidir.

Çevresel etmenlerden kaynaklanan ve koklear oksidatif stres ile ilişkilendirilen duyma kayıplarında da genetik yatkınlık rol oynamaktadır (163, 167, 207, 302). Ülkemizdeki yüksek akraba evliliği oranı, çevresel duyma kaybına yatkınlık sağlayan allellerin de Türk toplumunda artmasına neden olmaktadır. Koklear oksidatif stres ile ilişkili çevresel/edinsel duyma kayıplarından sorumlu genlerin tanımlanması ve mutasyonlarının saptanması, ülkemizdeki riskli aile ve bireylerin belirlenmesini sağlayacaktır. Bu aile ve bireylerin risk yaratan çevresel faktörlerden uzak tutulması ile duyma kaybının oluşması engellenebilecektir.

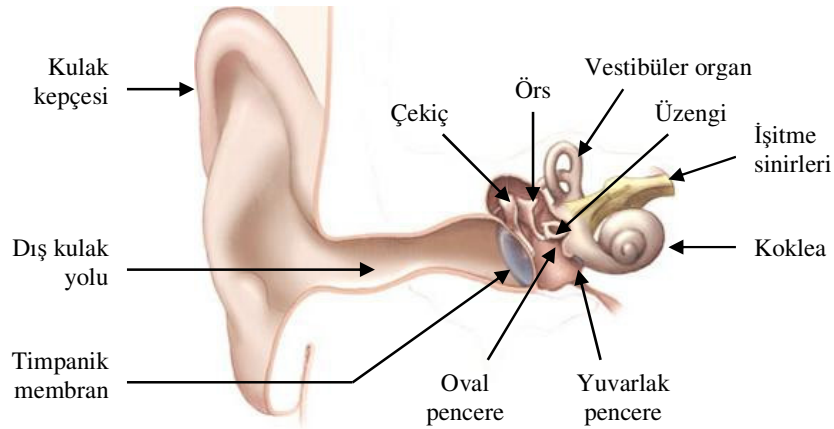
Bu çalışma ile; Türk toplumunda, bilinen duyma kaybı genlerindeki yeni mutasyonların tanımlanmasının yanı sıra duyma kaybına yol açan yeni genler ve mutasyonlarının da tanımlanması amaçlandı. Bilinen genlerdeki yeni mutasyonların tanımlanması amacı ile, sendromik (renal tübüler asidoz ve duyma kaybı) ve özgün oto-/odyolojik özellikleri (geniş vestibüler akuaduktus ve düşük frekans sensorinöral duyma kaybı) olan non-sendromik duyma kaybı ailelerinde, bu duyma kaybı formları ile ilişkili olduğu bildirilen genler (ATP6V1B1, SLC26A4 ve WFS1) bağlantı analizini takiben ya da doğrudan dizi analizi ile incelendi. Ayrıca, daha önce genom-boyu bağlantı analizi ile haritalanan dört non-sendromik duyma kaybı ailesinde (562) bilinen ve aday genlerde mutasyon taraması yapıldı. Non-sendromik ve koklear oksidatif stres kaynaklı duyma kaybı ile ilişkili yeni genlerin tanımlanması için beş ailede genom-boyu bağlantı ve/veya kritik bölge analizleri ile mutasyon taramaları gerçekleştirildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İşitme Sistemi

2.1.1. Kulağın Yapısı

İnsan kulağı, dış, orta ve iç kulak olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. Kulak kepçesi ve dış kulak yolundan oluşan dış kulak, timpanik zar ile sonlanmaktadır. Orta kulak üç osikülün (çekiç, örs ve üzengi kemikleri) yer aldığı bir kanal şeklinde olup timpanik zar ile oval pencereyi birbirlerine bağlamaktadır (221, 442). İç kulak, işitme duyusu organı koklea ve dengeden sorumlu olan vestibüler organdan oluşmaktadır (Şekil 2-1). Hem koklea hem de vestibüler organ ektodermal kökenli olup otik plakoddan gelişmektedir (171, 258).

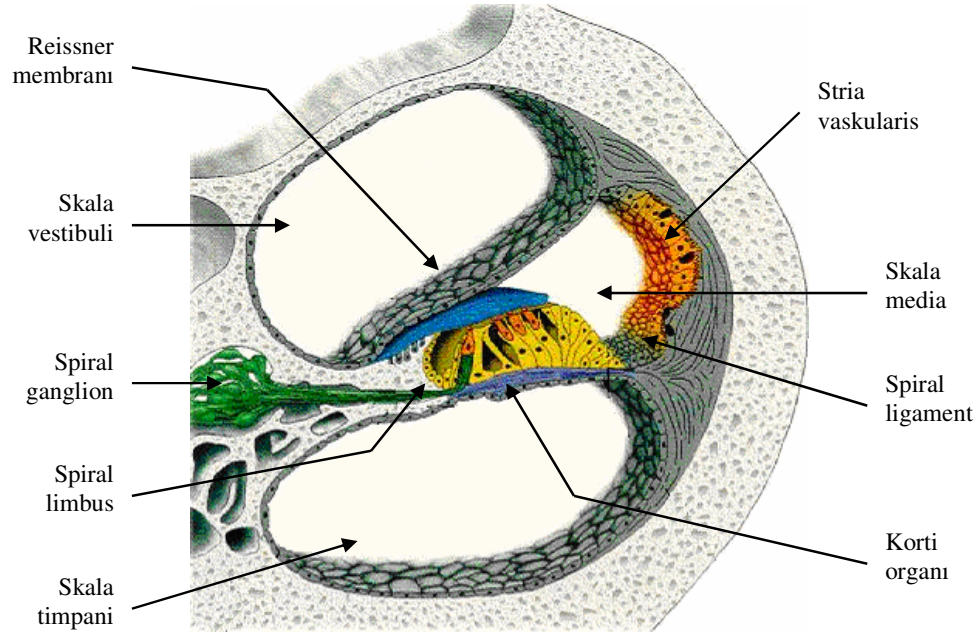


Şekil 2-1: Kulağın yapısı.

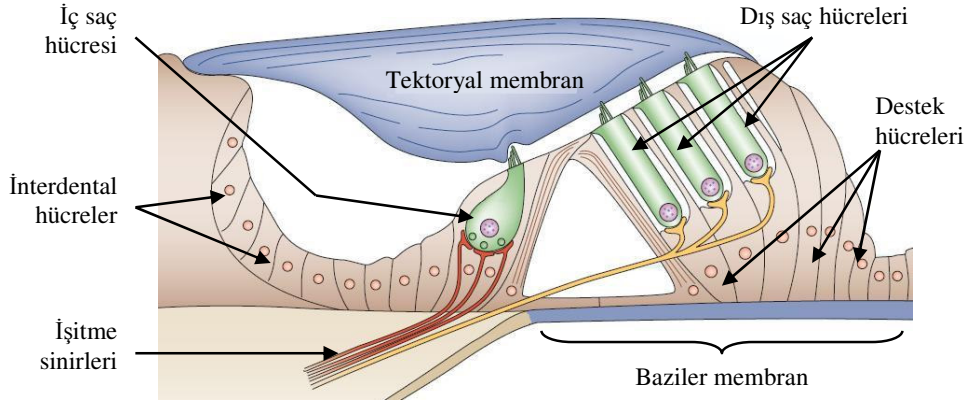
Ütrikül, sakkül ve yarım-daire kanallarından oluşan vestibüler organ, yatay ve açışal hızlanma sonucunda oluşan sıvı hareketlerine yanıt vererek vücudun dengede kalmasını sağlamaktadır (442).

Koklea, vestibüler (Reissner membranı) ve baziler membranlar tarafından skala vestibüli, skala timpani ve skala media olmak üzere üç kısma ayrılmıştır (Şekil 2-2). Bunlardan skala vestibüli ve skala timpani perilenf içermektedir ve kokleanın apeksinde birbirleri ile ilişkidirler. Bunların arasında kalan skala media'nın içersinde ise endolenf bulunmaktadır. Perilenf, yüksek Na^+ ve düşük K^+ konsantrasyonlarına

sahipken endolenf düşük Na^+ ve yüksek K^+ konsantrasyonlarına sahiptir. Perilenfin Ca^{+2} konsantrasyonu ise endolenfinkinden daha yüksektir (431, 604).



Şekil 2-2: Kokleanın enine kesiti.

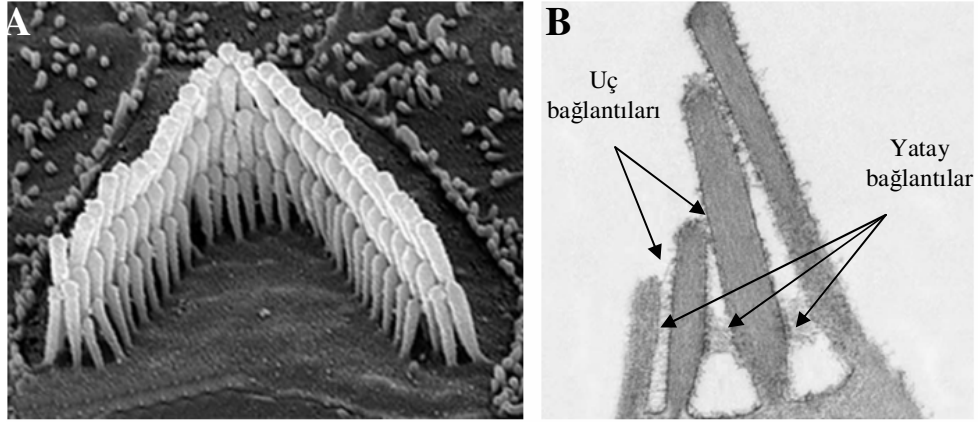


Şekil 2-3: Korti organı.

Kokleanın algılayıcı kısmını “Korti organı” oluşturmaktadır (Şekil 2-3). Duyu ve destek hücreleri olmak üzere iki tip hücre grubundan oluşan Korti organı, baziler membran üzerinde yer almaktadır. Duyu hücrelerinin apikal yüzeylerinde stereosil adı verilen aktinden zengin mikrovillüsler bulunmakta ve bu nedenle bu hücreler “saç

hücreleri” (hair cells) olarak isimlendirilmektedir. Saç hücrelerinde 100 ya da daha fazla stereosil bir araya gelerek “saç demetlerini” (hair bundles) meydana getirmektedir. Saç demetlerinin yapısını oluşturan stereosiller basamak görünümünde yan yana dizilmiş durumda bulunmaktadır (Şekil 2-4). Stereosiller uzunlukları boyunca yer alan yatay bağlantılar sayesinde birbirleri ile ilişkidirler. Bunun yanı sıra stereosillerin tepesinde komşu stereosil ile bağlantı sağlayan uç bağlantıları bulunmaktadır (160, 171, 431, 442).

Saç hücreleri, iç saç hücreleri (İSH; inner hair cells) ve dış saç hücreleri (DSH; outer hair cells) olmak üzere iki çeşittir. Korti organında bir sıra İSH ve üç sıra DSH bulunmaktadır. İSH’ler duyu hücreleridir ve bazal yüzeylerinde afferent (getirici) sinirler ile ilişkidir. Bu afferent sinirlerin yer aldığı kısım spiral ganglion olarak adlandırılmaktadır. DSH’ler ise hem afferent hem de efferent (götürücü) sinirler ile bağlantı halindedir. DSH’ler motor aktiviteleri ile sesi amplifiye ederek frekans çözünürlüğüne ve seçilimine katkıda bulunmaktadır (160, 171, 221, 431).



Şekil 2-4: Dış saç hücrelerindeki (A) saç demeti ve (B) stereosillerin tarayıcı elektron mikroskobundaki görünümü.

Korti organında çok çeşitli destek hücreleri yer almaktadır. Destek hücrelerinin bir kısmı saç hücrelerinin sinaptik uçları etrafındaki nörotransmitterlerin alınmasından sorumlu iken diğer bir kısmı da endolenfin K^+ konsantrasyonunun devamlılığının sağlanmasında yani iyon hemostazında rol oynamaktadır (431, 603). Saç hücreleri ile destek hücreleri aralarındaki *tight junction* (TJ)’lar sayesinde birbirlerinden ayrılmış ve

aralarındaki iletişim kesilmiş bulunmaktadır (43). Saç hücreleri ile destek hücrelerinden oluşan yapının üzerinde ise tektoryal membran uzanmaktadır. Glikoproteinden zengin, elastik yapıdaki tektoryal membran, saç hücrelerinin stereosilleri ile temas halindedir (431).

Kokleadaki destek hücreleri *gap junction* (GJ)'lar aracılığıyla birbirleri ve spiral ligamentin fibrositleri ile ilişkidir. Spiral ligamentin fibrositleri ile stria vaskularisin intermediyal hücreleri arasında da GJ'ler sayesinde madde geçişi gerçekleşmektedir. Böylece, saç hücrelerinden başlayan, destek hücrelerinden ve fibrositlerden geçerek intermediyal hücreler ile stria vaskulariste sonlanan bir hücreler arası iletişim hattı kurulmuş bulunmaktadır (272, 431, 659).

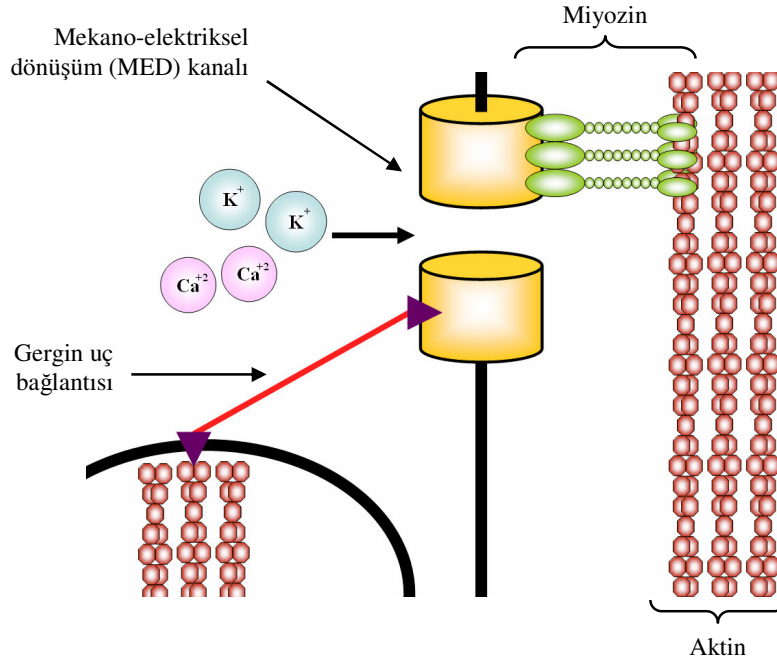
Stria vaskularis, kokleanın lateral duvarında yer almaktadır ve endolenfe K^+ iyonlarının salınımından sorumludur. Marjinal ve bazal olmak üzere iki hücre tabakasına sahiptir. Stria vaskulariste iki farklı TJ bariyer sistemi bulunmaktadır. Bu bariyerler, marjinal ve bazal hücreler arasında endolenf ve perilenf ile karışmayan kapalı bir intrastriyal boşluk meydana getirmektedir. İntrastriyal boşlukta endokoklear potansiyelin oluşturulmasında rol oynayan, düzensiz yerleşimli intermediyal hücreler yer almaktadır. Bu hücreler GJ'ler aracılığıyla bazal hücreler ile ilişkidir ve bu nedenle elektriksel olarak bazal hücrelerin devamı olarak kabul edilmektedir. Stria vaskularisin bu yapısı, bazal hücrelere ulaşan iyonların intermediyal ve marjinal hücreler üzerinden endolenfe kadar iletilmesini sağlayarak iyon hemostazında rol oynamakta ve endokoklear potansiyelin oluşumunu sağlamaktadır (431, 603, 604).

2.1.2. Kulağın Fizyolojisi

2.1.2.1. Sesin İletimi

Dış kulak, havada dalgalar halinde yayılan sesi toplamakta ve timpanik membrana iletmektedir. Timpanik membrana ulaşan ses dalgaları burada titreşimler oluşturmaktadır. Bu titreşimler orta kulakta yer alan osiküller aracılığıyla çoğaltılarak oval pencereye iletilmekte ve endolenfte dalgaların oluşmasına yol açmaktadır. Bu dalgalar, baziler membranda dikey titreşimler oluşturmaktadır (221). Baziler membranın yukarı doğru titreşimleri sonucunda DSH'lerin saç demetleri tektoryal membrana yaslanmakta ve bunun sonucunda saç demetleri en uzun stereosilin olduğu tarafa doğru bükülmektedir. Diğer taraftan, DSH'lerin saç demetlerinin yaslanması tektoryal membranın da hareket etmesine ve sonuçta İSH'lerin saç demetlerinin

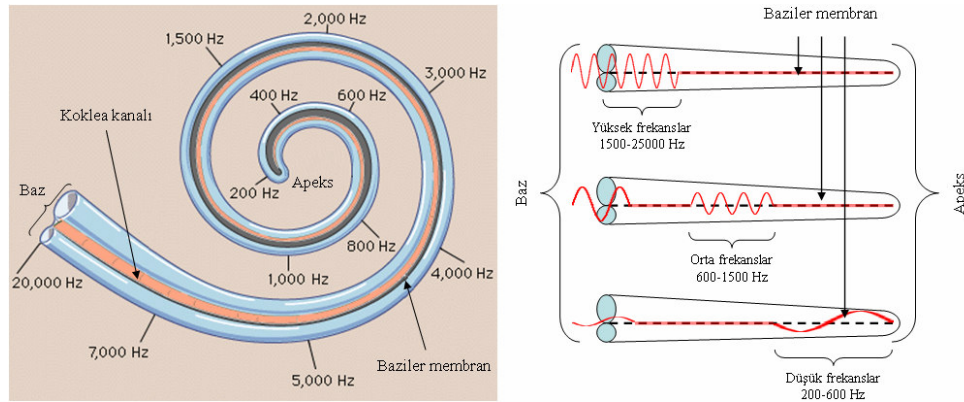
bükülmesine yol açmaktadır. Bu bükülme sonucunda saç demetlerindeki stereosilleri birbirlerine bağlayan uç bağlantılarının gerilimleri artmaktadır. Gerilimdeki artış, stereosillerin yüzeylerinde bulunan mekano-elektriksel dönüşüm (MED) kanallarının açılmasını sağlamaktadır (Şekil 2-5). MED kanallarının açılması sonucunda endolenften saç hücrelerine doğru bir K^+ ve Ca^{+2} akımı oluşmakta ve sonuçta saç hücreleri depolarize olmaktadır. İSH'lerin depolarizasyonu baziler membran boyunca bir Ca^{+2} akımı oluşturmaktadır. Ca^{+2} akımı sinaptik veziküllerin plazma membranı ile birleşmesini sağlamakta ve bunu da nörotransmitterlerin salınımı izlemektedir. Bu sayede sesin yoğunluğu, zamanı ve frekansı afferent sinir fiberleri aracılığıyla beyne iletilmektedir (160, 221, 380, 431, 442).



Şekil 2-5: Mekano-elektriksel dönüşüm kanallarının organizasyonu.

Kokleanın salyangoz benzeri yapısı, farklı frekanslardaki seslerin duyulabilmesini sağlamaktadır (Şekil 2-6A). Farklı frekanslardaki sesler, koklea boyunca uzanan baziler membranda farklı boyutlarda titreşimler meydana getirmektedir (Şekil 2-6B). Bu durum baziler membranın geometrisi ile ilişkili bulunmaktadır. Baziler membran apikal uçta daha geniş ve dolayısı ile daha esnek iken bazal uçta daha dar olup çok daha az esnektir. Sesin baziler membranda meydana getirdiği dalga hareketi

bazaldan başlayıp apekse doğru ilerlemektedir. Farklı frekanslardaki seslerin baziler membranda oluşturdukları dalga hareketleri membranın farklı noktalarında maksimum titreşimler gösterip sonlanmaktadır. Dalga hareketlerinin sonlandığı bu noktalarda sesin duyumsal iletimi gerçekleşmektedir. Baziler membranın bu tonotopik organizasyonu nedeni ile yüksek frekanstaki seslerin iletimi bazale, düşük frekanstaki seslerin iletimi ise apekse yakın konumda bulunan Korti organlarının saç hücreleri aracılığı ile gerçekleşmektedir (442).



Şekil 2-6: (A) Kokleanın tonotopik organizasyonu ve (B) frekansa göre baziler membran hareketleri.

2.1.2.2. Koklear Çoğaltıcı

Farklı ses frekanslarının algılanması, sadece baziler membranın titreşimlerine değil, aynı zamanda her saç hücresinin özel bir frekansa verdiği ayarlayıcı yanıtı da bağlı bulunmaktadır. Yüksek frekanslar, kokleanın bazal kısmında analiz edilirken alçak frekanslar apikal kısımda analiz edilmektedir. DSH'ler frekans çözücü olarak rol oynamaktadır. DSH'lerin boylarında K^+ akımından kaynaklanan depolarizasyon sonucunda hızlı değişimler meydana gelmektedir. Bu değişimler sayesinde düşük düzeydeki sesler için baziler membranda meydana gelen titreşimlerin hem büyüklüğü hem de frekans seçiciliği artmakta ve sonuçta işitme duyarlılığına yaklaşık 40 dB'lik bir katkı sağlanmaktadır. DSH'lerin işitme duyarlılığına yaptıkları bu katkı "koklear çoğaltıcı" olarak isimlendirilmektedir (110, 160, 221).

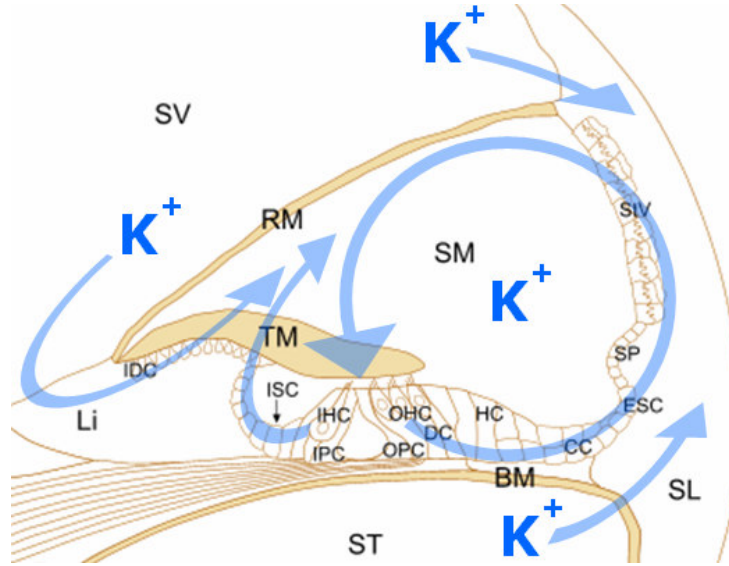
2.1.2.3. Endokoklear Potansiyel

Stria vaskularis tarafından oluşturulan 80-100 mV'luk endokoklear potansiyel, endolenfteki 150 mM'lık K^+ konsantrasyonu ile birlikte, saç hücrelerindeki duyumsal dönüşümü sürdürerek işitmenin gerçekleşmesini sağlamaktadır. Endokoklear potansiyeli bir K^+ denge potansiyeli olup intermediyal hücrelerde bulunan Kcnj10 K^+ kanalları tarafından oluşturulmaktadır. Strial marjinal hücreler intrastriyal boşluğu dolduran sıvıdaki K^+ konsantrasyonunu oldukça düşük tutarak ve spiral ligament fibrositleri de intermediyal hücrelerdeki K^+ konsantrasyonunun yüksek olarak kalmasını sağlayarak endokoklear potansiyelin oluşumuna katkıda bulunmaktadır (345, 604, 659).

2.1.2.4. Endokoklear K^+ Homeostazi

Endolenfteki K^+ iyon konsantrasyonunun korunması, işitmenin devamlılığı için oldukça önemlidir. Saç hücrelerinin apikal yüzeylerinde yer alan MED kanalları aracılığıyla hücre içerisine giren K^+ iyonları, depolarizasyonu sağladıktan sonra bazolateral K^+ kanalları olan KCNQ4, Kcnn2 ve Kcma1 tarafından saç hücrelerinden uzaklaştırılmaktadır. Saç hücrelerinden salınan K^+ iyonları Korti organında bir yol izleyerek spiral ligamentin fibrositlerine ulaşmaktadır. K^+ iyonlarının izlediği bu yol ile ilgili olarak iki farklı görüş bulunmaktadır. Bu görüşlerden ilki, K^+ iyonlarının saç hücrelerinden perilenfe salındığını, perilenfte spiral ligamente doğru bir akış gösterdiğini ve sonuçta spiral ligamentin fibrositleri tarafından alındığını ileri sürmektedir. İkinci görüşe göre ise, K^+ iyonları saç hücrelerinden Korti organının ekstrasellüler alanına salınmakta, buradan saç hücrelerine komşu destek hücreleri tarafından alınmakta ve GJ sistemi aracılığı ile bir destek hücresinden diğerine difüzyon ile geçerek epitelyal GJ sisteminin son kısmı olan kök hücrelerinden spiral ligament içerisindeki ekstrasellüler alana salınmaktadır. K^+ iyonları spiral ligamentin fibrositlerinin hücre zarında yer alan Na, K-ATPaz (Atp1a1/Atp1b2)'lar ve Na-K-Cl kotransportör (Slc12a2)'leri tarafından alınmakta ve bağ doku GJ sistemi (GJB2 ve GJB6) aracılığı ile stria vaskularisin bazal hücrelerine ve oradan da intermediyal hücrelere difüze olmaktadır. İntermediyal hücrelerdeki Kcnj10 K^+ kanalları tarafından intrastriyal alana salınan ve burada endokoklear potansiyelin oluşumunu sağlayan K^+ iyonları, Na, K-ATPazlar ve Na-K-Cl kotransportörleri tarafından marjinal hücrelere alınmaktadır. Alınan K^+ iyonları daha sonra marjinal hücrelerden KCNQ1/KCNE1 K^+

kanalı aracılığı ile endolenfe salınmakta ve böylelikle K^+ iyon döngüsü tamamlanmış olmaktadır (Şekil 2-7). Bu arada, Na-K-Cl kotransportörleri tarafından K^+ iyonlarının alınımı sırasında intrastriyal alandan marjinal hücrelere geçen Cl^- iyonları da bazolateral membranlarda yer alan Cl^- kanalları CLCNKA, CLCNKB ve BSND tarafından intrastriyal alana geri salınmaktadır. İntrastriyal ve marjinal hücreler arasındaki bu Cl^- döngüsünün, K^+ iyonlarının endolenfe salınımı ve endokoklear potansiyelin oluşumu için gerekli olduğu düşünülmektedir (271, 603, 604, 659).



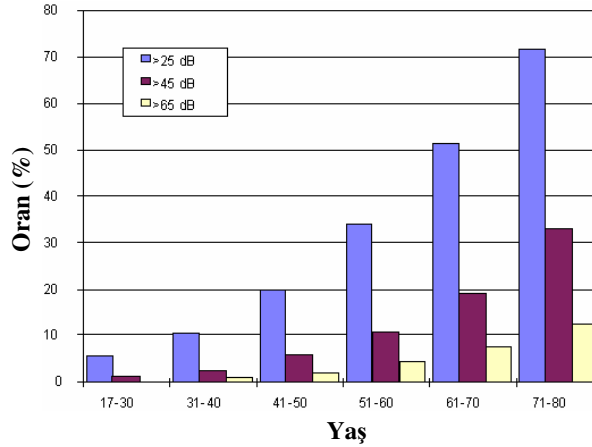
Şekil 2-7: Endokoklear K^+ homeostazi.

BM, baziler membran; CC, Claudius hücreleri; DC, Deiters hücreleri; ESC, dış sulkus hücreleri; HC, Hensen hücreleri; IDC, interdental hücreler; IHC, iç saç hücreleri; IPC, iç pillar hücreler; ISC, iç sulkus hücreleri; Li, spiral limbus; OHC, dış saç hücreleri; OPC, dış pillar hücreler; RM, Reissner membranı; SL, spiral ligament; SM, skala media; SP, spiral prominence; ST, skala timpani; StV, stria vaskularis; SV, skala vestibuli; TM, tectoryal membran.

2.2. Duyma Kaybının Sıklığı

Konjenital duyma kaybının yenidoğanlardaki sıklığı, gelişmiş ülkelerde ~1:1000 olarak (378), ülkemizde ise 1:500 olarak bulunmuştur (180). Doğumda duyma kaybı olmayan her 1000 çocuktan 1'inde ise erişkin dönemden önce duyma kaybı ortaya çıktığı bildirilmektedir (431).

Erişkinlerde 25 dB'in üzerindeki duyma kaybının prevalansı ~%15-20'dir. Bu oran, yaşla beraber artmaktadır (Şekil 2-8). 60-70 yaş grubu erişkinlerinde 25 dB'den daha yüksek duyma kaybı yaklaşık %70 oranında görülmektedir. Genel olarak gelişmiş ülkelerde nüfusun %6-8'i duyma kaybından etkilenmiş bulunmaktadır (114, 167, 431).



Şekil 2-8: Erişkin dönemde ortaya çıkan duyma kayıplarının dereceleri ve yaşlara göre oranları.

2.3. Duyma Kayıplarının Sınıflandırılması

2.3.1. Defektin Bulunduğu Yere Göre Duyma Kayıpları

Duyma kaybına neden olan defektin bulunduğu yere göre duyma kayıpları dörde ayrılmaktadır (481, 542):

1. Konduktif tip duyma kaybı: Dış veya orta kulak defektinden kaynaklanmakta ve ses yeterli düzeyde iç kulağa iletilmemektedir.
2. Sensorinöral tip duyma kaybı: Kokleanın kendi defektlerinden kaynaklanmakta olup ses sinyalleri iç kulaktaki İSH'lerden afferent sinir uçlarına iletilmemektedir.
3. Merkezi duyma kaybı: VIII. sinirdeki defektlerden kaynaklanmaktadır ve İSH'lerden alınan duyusal iletiler beyindeki işitme merkezine iletilmemektedir.
4. Karma tip: Konduktif, sensorinöral ya da merkezi duyma kayıpları bir arada bulunmaktadır.

2.3.2. Derecelerine Göre Duyma Kayıpları

Derecelerine göre duyma kayıpları; hafif (21-40 dB), orta (41-60 dB), orta-ağır (61-80 dB), ağır (81-100 dB) ve çok ağır (>100 dB) olmak üzere beşe ayrılmaktadır (162, 542).

2.3.3. Ses Frekanslarına Göre Duyma Kayıpları

Duyma kayıpları, etkilenen ses frekanslarına göre alçak (<500 Hz), orta (500 Hz-2 kHz), yüksek (>2 kHz) frekans olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Duyma kayıpları, ses frekanslarının bir kısmını veya tümünü kapsayabilmektedir (519, 542).

2.3.4. Ortaya Çıkış Dönemlerine Göre Duyma Kayıpları

Duyma kayıpları, ortaya çıkış dönemlerine göre prelingual (konuşma yetisi gelişmeden önce) veya postlingual (konuşma yetisi geliştikten sonra) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (542).

2.3.5. Progresyonlarına Göre Duyma Kayıpları

Duyma kayıpları, progresyon durumlarına göre progresif, non-progresif veya iniş-çıkışlı olmak üzere üçe ayrılmaktadır (542).

2.3.6. Etiyolojiye Göre Duyma Kayıpları

2.3.6.1. Çevresel Duyma Kayıpları

Gelişmiş ülkelerdeki duyma kayıplarının ~%40-50'sinin pre-, peri- veya postnatal dönemde karşılaşılan çevresel faktörlerden kaynaklandığı bildirilmektedir (451). Sensorinöral duyma kayıplarının %5-10'undan sorumlu olan prenatal faktörler arasında toksoplazma, rubella ve sitomegalovirüs gibi intrauterin enfeksiyonlar ile maternal ilaç ve alkol kullanımı sayılabilir. Perinatal dönemde karşılaşılan prematüre doğum ve/veya düşük doğum tartısı, hipoksi ve hiperbilirubinemi gibi durumlar tüm duyma kayıplarının %5-15'inden sorumlu tutulmaktadır. Otitis media, akustik travma, menenjit ve diğer yüksek ateşli hastalıklar ile aminoglikozid antibiyotikler gibi ototoksik ilaçların kullanımı, duyma kayıplarının postnatal nedenleri olup çevresel duyma kaybı vakalarının %10-20'sini oluşturmaktadır (379, 463, 505). Erişkin dönemdeki duyma kayıpları ise daha çok yüksek sese maruz kalınması ya da ototoksik ilaçların kullanılması sonucunda ortaya çıkmaktadır (167).

Edinsel duyma kayıplarının temelinde sadece çevresel faktörlerin rolü değil çevresel ve kalıtsal faktörlerin etkileşimlerinin de yatmakta olduğu bildirilmektedir. Örneğin, ikiz çalışmaları, ileri yaşta ortaya çıkan ya da yüksek sese maruz kalınmasından kaynaklanan duyma kayıplarında genetik etmenlerin rolünü işaret etmektedir (89, 207). Diğer taraftan, aminoglikozid kaynaklı duyma kaybı (AGKDK) ile mitokondriyal DNA'daki A1555G mutasyonu arasındaki ilişki oldukça iyi bilinmektedir (163).

2.3.6.1.1. Aminoglikozid Kaynaklı Duyma Kaybı

Aminoglikozid antibiyotikler tüberküloz başta olmak üzere gram-negatif bakterilerin oluşturduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Streptomisin, gentamisin, neomisin, kanamisin, amikasin, tobramisin ve netilmisin bu antibiyotik grubunda yer almaktadır (143, 536). Aminoglikozidler, bakteriyel 30S ribozomal RNA (rRNA)'nın 16S alt-ünitesine bağlanıp protein sentezini geri dönüşümsüz olarak inhibe etmektedir (438, 536).

Parenteral, topikal, intratimpanik, intratrakeal ya da oral olarak vücuda verilebilen aminoglikozidlerin, hangi yoldan verildiklerinin önemi olmaksızın, değişken derecelerde ototoksisite ile ilişkili oldukları bildirilmektedir (443). Perfore timpanik zarın eşlik ettiği akut/kronik otitis media tedavisinde olduğu gibi kulak damlası olarak kullanılan aminoglikozidlerin oval pencere zarından geçerek koklear sıvılara ulaştığı kabul edilmektedir (205). Doğrudan dış veya orta kulak yapıları arasına verilmeyen aminoglikozid antibiyotiklerin kan yolu ile iç kulak yapılarına taşındığı ve spiral ligament tarafından perilenfe ya da stria vaskularis tarafından endolenfe salındığı ileri sürülmektedir (443, 473).

Histolojik çalışmalar, aminoglikozid maruziyetinin öncelikle DSH'lerin kaybı ile ilişkili olduğunu ve İSH'lerin DSH'lere kıyasla aminoglikozidlere daha dirençli olduklarını göstermiştir (390, 443).

AGKDK'nın ortaya çıkışında genetik faktörler de rol oynamaktadır. Özellikle mitokondriyal 12S rRNA'yı kodlayan MTRNR1 genindeki A1555G ve C1494T mutasyonları AGKDK ile ilişkili bulunmaktadır. Bu mutasyonlar, normalde birbirleri ile baz eşleşmesi yapmayan C1494 ile A1555 nükleotidlerini değiştirerek 1494C-G1555 ve 1494T-A1555 eşleşmelerinin gerçekleşmesine neden olmaktadır. 12S rRNA'nın 3'-ucunda yer alan bu yeni eşleşmeler, molekülün yapısını *Escherichia coli*'nin 16S

rRNA'sının ikincil yapısına çok daha benzer kılmakta ve aminoglikozidlerin çok daha fazla afinite gösterdiği bir hedef oluşturmaktadır (438, 536, 657). Aminoglikozidlerin mutasyon taşıyan 12S rRNA'lara bağlanması, mitokondriyal protein sentezini inhibe etmekte ve mitokondrilerin ölümüne neden olmaktadır (536). Bu iki mutasyonun yanı sıra MTRNR1 geninde saptanan A827G, T961G ve T1095C mutasyonlarının da AGKDK ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (536, 635).

Zigottaki mitokondrilerin tümü yumurta hücresinden gelmekte ve dolayısıyla mitokondriyal DNA (mtDNA)'daki mutasyonlar maternal kalıtım göstermektedir. AGKDK ile ilişkili MTRNR1 mutasyonları da bu durum için bir istisna oluşturmamaktadır (405, 438).

2.3.6.1.2. Koklear Oksidatif Stres

Kokleada reaktif oksijen türleri (ROT)'nin aşırı düzeyde artmasına bağlı olarak gelişen koklear oksidatif stres (KOS)'in çeşitli çevresel etmenlerden kaynaklanan duyma kayıplarının patofizyolojisinde başlıca rol oynadığı bildirilmektedir (302).

Yüksek ses maruziyetinin süre ve yoğunluğuna bağlı olarak DSH'lerin uzun bir süre boyunca depolarize olarak kalması, daha çok Ca^{+2} iyonunun hücre içine girmesine ve dolayısıyla Ca^{+2} konsantrasyonunun artmasına neden olmaktadır (168, 208). Artmış intrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonları mitokondrilerin iç membranında MPT (mitochondrial permeability transition) porlarının açılmasını tetiklemektedir. Ozmotik regülasyonun bozulması sonucunda solunum reaksiyonları için kritik olan nükleotid, iyon ve diğer moleküllerin açılan MPT porlarından sitoplazmaya çıkması ve mitokondriyal iç membran potansiyelinin kaybı, oksijenli solunumun inhibe olmasına ve üretilen ATP miktarının azalmasına yol açmaktadır (250, 403, 478). Diğer taraftan, yüksek sese maruz kalan DSH'ler aşırı uyarım nedeni ile normalden daha fazla enerjiye gereksinim duymaktadır. Her iki durumda da ortaya çıkan enerji gereksinimini gidermek için mitokondriler daha çok oksijenli solunum reaksiyonu gerçekleştirmekte ve elektron taşıma sistemi (ETS)'ni daha çok kullanmaktadır. ATP sentezinde kullanılmak üzere enerji üretmek için bir taşıyıcıdan diğerine elektron taşınan bir dizi reaksiyondan oluşan ETS, hücre içerisindeki ROT'nin asıl kaynağını oluşturmaktadır. ETS'de gerçekleşen her bir elektron değişiminde ara ürün olarak ortaya çıkan süperoksit daha sonra diğer moleküller ile etkileşerek yüksek miktarlarda ROT oluşumuna neden olmaktadır (209).

Ses uyarımının İSH'lerden afferent sinirlere iletiminde rol oynayan moleküllerden biri de eksitatör bir nörotransmitter olan glutamattır. Sinaptik veziküllerin plazma membranı ile birleşmesini takiben İSH'lerden ribon sinapslarına salınan glutamat molekülleri afferent sinirlerin dendiritik hücre zarlarında yerleşik glutamat reseptörlerine bağlanarak nitrik oksit (NO) sinyal yolunu aktive etmektedir (407). NO'nun spiral ganglionda nörotransmitter (ya da nöromodülatör) olarak rol oynadığı düşünülmektedir (654). Kokleanın yüksek düzeyde sese maruz kalması ile aşırı aktivite gösteren İSH'lerden sinapslara yüksek miktarlarda glutamat salınımı gerçekleşmektedir. Yüksek glutamat konsantrasyonu afferent sinirlerdeki glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılmasına ve bu reseptörlerden hücre içine aşırı Ca^{+2} akışı olmasına yol açmaktadır. Ca^{+2} konsantrasyonlarının yükselmesi aşırı NO ve ROT üretimi ile ilişkili bulunmaktadır (335, 441).

Koklear kan akışının iskemi nedeni ile sekteye uğraması halinde ortaya çıkan hipoksi, koklear hücrelerde enerji açığının ortaya çıkmasına ve sonuçta mitokondrilerde süperoksit üretiminin artmasına neden olmaktadır. İskeminin ortadan kalkmasını takiben koklear yapılara yeniden oksijen taşınmasının ise süperoksit oluşumunu daha da artırdığı belirtilmektedir (209, 636).

Aminoglikozid ototoksitesisi için ileri sürülen çok sayıda mekanizma arasından demir kelasyonu aracılığı ile serbest radikal oluşumu öne çıkmaktadır (626). Aminoglikozidlerin demir molekülleri ile kompleksler oluşturabildiği ve doymamış yağ asitlerinden demir molekülleri tarafından katalizlenen ROT oluşumunu artırdığı bildirilmiştir (143, 309). Diğer taraftan, aminoglikozid antibiyotiklerin MTRNR1 geninde mutasyon taşıyan mitokondrilerde birikerek protein sentezini ve dolayısıyla oksijenli solunumu inhibe ettiği ve bunun sonucunda koklear saç hücrelerindeki mitokondrilerin oluşan enerji açığının gidermeye çalışırken oksidatif fosforilasyon üzerinden ROT oluşumunu artırdığı bildirilmektedir (194, 635).

ROT ve diğer serbest radikallerin artmış düzeylerinin oluşturduğu oksidatif stres, DNA ve protein yıkımı yolu ile apoptotik, lipid peroksidasyonu aracılığı ile de nekrotik mekanizmaların tetiklenmesine neden olmaktadır (209, 300). KOS kaynaklı nekroz ve apoptozun JNK/SAPK (c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase) sinyal iletim yolu ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (600).

KOS ile ilişkili duyma kaybı (KOSDK), özellikle yüksek frekansları tutmaktadır. Bu durum, kokleanın tonotopik organizasyonu (Şekil 2-6A) dikkate alındığında, kokleanın bazalinde yer alan ve yüksek frekans seslerin iletiminden sorumlu olan saç hücrelerinin düşük frekans seslerin iletimini sağlayan apikal saç hücrelerinden daha çok etkilendiğini göstermektedir. Bunun nedeni olarak, yüksek ses maruziyeti ve toplikal aminoglikozid antibiyotik kullanımı dikkate alınarak, bazal kısımların dış kulak yoluna daha yakın ve dolayısıyla çevresel faktörlerin etkilerine daha açık olması gösterilmektedir (156, 350, 382). Ancak sistemik olarak verilen ve kan yolu ile kokleanın tüm kısımlarına ulaşan aminoglikozidlerin de daha çok bazal kısımları etkilediği ve yine yüksek frekans duyma kaybı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (390, 473). Serbest radikallerin meydana getirdiği oksidatif hasara karşı hücreleri koruyan glutatyonun DSH'lerdeki düzeylerinin bazalden apikale doğru dereceli olarak artış gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen bu bulguya dayanılarak ROT ve diğer serbest radikallerden kaynaklanan koklear hasarda görülen bazalden apekse doğru değişimin – glutatyon düzeyi örneğinde olduğu gibi- DSH'lerin sahip oldukları intrinsik faktörlerin yarattığı farklı yatkınlıklardan kaynaklandığı ileri sürülmektedir (503).

2.3.6.2. Kalıtsal Duyma Kayıpları

Konjenital duyma kayıplarının ~%50-60'ından sorumlu bulunan kalıtsal duyma kayıpları, duyma kaybının yanı sıra başka klinik bulguların bulunup bulunmamasına göre; sendromik ve non-sendromik duyma kayıpları olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (451).

2.3.6.2.1. Sendromik Duyma Kayıpları

Sendromik duyma kayıpları (SDK), duyma kaybına eşlik eden başka klinik bulguların varlığı ile karakterizedir (392). Kraniofasiyel malformasyonlar, iskelet anomalileri, dental, oküler, kardiyak ve dermal anormallikler, renal defektler, endronolojik ve nörolojik fonksiyon bozuklukları ve metabolik hastalıklar SDK'lar ile ilişkili olabilmektedir (529). Bugüne kadar dört yüzün üzerinde SDK tanımlanmış olup bunlar kalıtsal duyma kayıplarının ~%30'unu oluşturmaktadır (392, 451). Belli başlı SDK'lar arasında; Alport Sendromu, brankiyo-oto-renal sendrom, Jervell-Lange-Nielsen sendromu, Norrie hastalığı, Pendred sendromu, renal tübüler asidoz ve duyma kaybı (RTADK), Stickler sendromu, Treacher-Collins sendromu, Usher sendromu, Waardenburg sendromu ve Wolfram sendromu yer almaktadır (413, 566).

2.3.6.2.1.1. Renal Tübüler Asidoz ve Duyma Kaybı

RTADK, böbrekte renal nefron ile iç kulakta endolenfatik kese ve spiral limbustan lümenine H^+ atılımı ve dolayısıyla ürün ile endolenfatik kanal ve kokleayı dolduran endolenfite asidifikasyon bozukluğundan kaynaklanmaktadır. RTADK; alkali ürün, artmış ürün Ca^{+2} düzeyi, düşük serum K^+ düzeyi ve progresif duyma kaybı ile karakterizedir. Alkali replasmanı şeklindeki basit tedavi uygulanmadığında, asidoz durumu kemiklerin erimesine ve böbrekte nefrokalsinoz ve taş oluşumuna yol açmaktadır. Alkali replasman tedavisinin, duyma kaybının ilerlemesini önleme/yavaşlatmada yarar sağlamadığı bildirilmektedir (255).

Otozomal resesif olarak kalıtılan RTADK'nın ATP6V1B1 ve ATP6V0A4 genlerindeki mutasyonlar ile ilişkili olduğu tanımlanmıştır (255, 527, 583). RTADK'nın en yaygın nedeni olarak bildirilen ATP6V1B1 geni (255, 467, 527), proton translokasyonundan sorumlu transmembran V0 ve ATP hidrolizinden sorumlu sitoplazmik V1 olmak üzere iki üniteden oluşan vakuoler H^+ -ATPaz proton pompası kompleksinin V1 ünitesinin B1 alt-ünitesini kodlamaktadır (161). ATP6V1B1 geni mutasyonlarından kaynaklanan RTADK'ya geniş vestibüler akuaduktus (GVAD)'un eşlik edebileceği bildirilmektedir (46). Temelde renal tübüler asidozdan sorumlu bulunan ancak –daha geç başlangıçlı olmakla birlikte- işitme kaybı ile de ilişkili olabilen ATP6V0A4 geni ise, V0 ünitesinin A4 alt-ünitesini kodlamaktadır (161, 405, 583).

2.3.6.2.2. Non-Sendromik Duyma Kayıpları

Non-sendromik duyma kayıpları (NSDK), eşlik eden başka bulguların bulunmaması ile karakterizedir. Kalıtsal duyma kayıplarının ~%70'ini oluşturan NSDK'lar, yüksek derecede genetik heterojenite göstermektedir (431, 451, 566). Bugüne kadar 130'un üzerinde NSDK lokusu bildirilmiş ve bunların 59'u ile ilişkili 45 gen tanımlanmış bulunmaktadır (566).

NSDK'lar kalıtım şekillerine göre otozomal dominant, otozomal resesif, X'e bağlı, Y'ye bağlı ve mitokondriyal olmak üzere beş grupta değerlendirilmektedir. Nükleer genomdaki NSDK lokusları “DFN (DeaFNes)” kısaltması ile isimlendirilmektedir. “DFN” kısaltmasının ardına getirilen “A” otozomal dominant, “B” otozomal resesif ve “Y” Y'ye bağlı kalıtım şekillerini ifade etmektedir. X kromozomu üzerine haritalanmış NSDK lokusları için sadece “DFN” kısaltması kullanılırken

modifiye edici lokuslar için bu kısaltmanın arkasına “M” getirilmektedir. Mitokondriyal genomdaki NSDK genleri için lokus ismi kullanılmamaktadır. NSDK lokusları haritalanma sıralarına göre numaralandırılmaktadır (566). NSDK’ların ~%77’si otozomal resesif, %22’si otozomal dominant, %1’i X’e bağlı ve <%1’i mitokondriyal ve Y’ye bağlı kalıtım göstermektedir (451).

Otozomal resesif NSDK (ORNSDK)’lar fenotipik olarak genellikle prelingual, tüm frekanslarda ağır-çok ağır ve non-progresif duyma kaybı ile ilişkili bulunmaktadır. İstisnai olarak duyma kaybı, DFNB21’de yüksek ve düşük frekanslarda orta-ağır, orta frekanslarda ağır-çok ağır düzeyde (387) iken DFNB30’da yüksek frekanslarda ağır-çok ağır, orta frekanslarda orta-ağır ve düşük frekanslarda hafif-orta düzeyde olabilmektedir (596). DFNB2, DFNB8/10, DFNB16 ve DFNB30 postlingual dönemde ortaya çıkmaktadır (323, 589, 590, 596). DFNB13 ve DFNB30 progresif özellik göstermektedir (52, 385, 413, 596). Bunun dışında, duyma kaybının yanı sıra DFNB4’te GVAD ve Mondini displazisi (78, 560), DFNB37’de hafif fasiyel dismorfizm (12), DFNB9 ve DFNB59’da işitsel nöropati (124, 462, 582) ve DFNB36, DFNB37 ile DFNB59’da vestibüler semptomlar görülebilmektedir (12, 142, 398, 413).

Otozomal dominant NSDK (ODNSDK)’lar ise daha çok postlingual duyma kayıpları ile karakterizedir (52). Bu durumun, mutant proteinin fonksiyonunu kısmen de olsa yerine getirilebilmesi dolayısıyla patolojinin kendini ancak birikerek gösterebilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (576). Örneğin, DFNA2, DFNA4, DFNA9 ve DFNA10’da duyma kaybının ortaya çıkışı 3.-5. dekadlara kadar gecikebilmektedir (99, 83, 343, 412, 413, 631). Buna karşın DFNA3, DFNA6/14/38, DFNA8/12, DFNA13, DFNA23 ve DFNA24’teki duyma kayıpları prelingual dönemde ortaya çıkmaktadır (126, 274, 355, 413, 472, 476, 586). ODNSDK’lar ayrıca progresif özellik göstermektedir (52, 576). DFNA3 ile DFNA8/12 ise progresyon göstermediklerinden birer istisna oluşturmaktadır (126, 274, 586). ODNSDK’lar, progresif karakterleri dolayısıyla 4.-5. dekadlarda tüm frekansları etkiliyor olsalar da, başlangıçta etkilenen frekanslar ile karakterize edilmektedir. ODNSDK’larda en çok yüksek frekanslar etkilenmektedir (52). Ancak DFNA1, DFNA6/14/38 ve DFNA54 düşük frekans (47, 197, 306, 413), DFNA8/12, DFNA13, DFNA21 ve DFNA44 ise orta frekans duyma kaybı ile ilişkili bulunmaktadır (274, 286, 355, 371, 586). Bunlardan başka, DFNA2 işitsel ve periferik nöropati (331), DFNA9 vestibüler/okülomotor

fonksiyon bozukluğu (460, 530) ve DFNA22 de hipertrofik kardiyomyopati ve QT aralığında uzama ile birliktelik gösterebilmektedir (52, 372).

DFNA39'a *dentinogenesis imperfecta*'nın ve DFN1'e görme bozukluğu, distoni ve mental retardasyonun eşlik ettiğinin saptanması üzerine bu duyma kaybı formları NSDK grubundan çıkarılıp SDK grubu altında sınıflandırılmıştır (413, 550, 566, 634).

Bunların dışında, DFNM1 ve DFNM2 olmak üzere iki modifiye edici lokus tanımlanmış bulunmaktadır (413, 566). 1q24'te lokalize olan ve otozomal dominant kalıtım gösteren DFNM1'in DFNB26'dan kaynaklanan duyma kaybını baskıladığı bildirilmektedir (453). 8p23'e haritalanan DFNM2 ise bazı ailelerde MTRNR1 genindeki A1555G mutasyonunun modifikasyonundan ve sonuçta aminoglikozid kullanımına gerek kalmadan duyma kaybının ortaya çıkmasından sorumlu tutulmaktadır (74). Ayrıca ATP2B2 genindeki bir mutasyonunun homozigot CDH23 geni mutasyonlarından kaynaklanan DFNB12'yi modifiye ettiği bildirilmiştir (413, 482).

2.4. Non-Sendromik Duyma Kaybı ile İlişkili Genler

Bugüne kadar NSDK ile ilişkili 45 gen tanımlanmıştır. Bu genlerden CDH23, COL11A2, EYA4, GJB2, MYH9, MYO6, MYO7A, PCDH15, POU3F4, SLC26A4, USH1C, WFS1 ve WHRN (141) ile mitokondriyal MTTS1 genlerinin allelik mutasyonları hem SDK hem de NSDK'ya yol açmaktadır (413; Tablo 2-1). Ayrıca COL11A2, GJB2, GJB3, GJB6, MYO6, MYO7A,TECTA ve TMC1 genleri hem ORNSDK hem de ODNSDK'lardan sorumlu bulunmaktadır (413, 566).

NSDK genleri fonksiyonlarına göre sekiz gruba ayrılmaktadır (424, 451, 542):

- 1) Hücre-iskeleti ile ilişkili proteinleri kodlayan genler
- 2) Hücre adezyon moleküllerini kodlayan genler
- 3) Yapısal proteinleri kodlayan genler
- 4) İyon homeostazında rol oynayan proteinleri kodlayan genler
- 5) Transkripsiyon faktörlerini kodlayan genler
- 6) Vezikül trafiğinde rol oynayan genler
- 7) Fonksiyonu bilinmeyen/sınıflandırılmayan proteinleri kodlayan genler
- 8) Mitokondriyal genler

Tablo 2-1: Non-sendromik duyma kaybı ile ilişkili genler

Gen	Lokalizasyon	Lokus
<i>Nükleer genler</i>		
ACTG1	17q25	DFNA20/26
CCDC50	3q28	DFNA44
CDH23	10q21-q22	DFNB12
CLDN14	21q22.3	DFNB29
COCH	14q12-q13	DFNA9
COL11A2	6p21.3	DFNA13 ve DFNB53
CRYM	16p12.3-p13.11	ODNSDK
DFNA5	7p15	DFNA5
DIAPH1	5q31	DFNA1
ESPN	1p36.11-p36.31	DFNB36
EYA4	6q23	DFNA10
GJB2	13q11-q12	DFNA3 ve DFNB1
GJB3	1p34	DFNA2 ve ORNSDK
GJB6	13q12	DFNA3 ve DFNB1
KCNQ4	1p34	DFNA2
MYH9	22q13.1	DFNA17
MYH14	19q13.33	DFNA4
MYO1A	12q13-q14	DFNA48
MYO3A	10p11.1	DFNB30
MYO6	6q13	DFNA22 ve DFNB37
MYO7A	11q13.5	DFNA11 ve DFNB2
MYO15A	17p11.2	DFNB3
OTOA	16p12.2	DFNB22
OTOF	2p23.1	DFNB9
PCDH15	10q21.1	DFNB23
PJVK	2q31.2	DFNB59
POU3F4	Xq21.1	DFN3
POU4F3	5q31	DFNA15
RDX	11q23	DFNB24
SLC26A4/PDS	7q31	DFNB4
SLC26A5/PRES	7q22.1	ORNSDK
STRC	15q15.3	DFNB16
TECTA	11q22-q24	DFNA8/12 ve DFNB21
TFCP2L3	8q22.3	DFNA28
TMC1	9q21.12	DFNA36 ve DFNB7/DFNB11
TMHS/LHFPL5	6p21.31	DFNB66/67
TMIE	3p21	DFNB6
TMPRSS3	21q22.3	DFNB8/10
TRIC	5q13.2	DFNB49
TRIOBP	22q13.1	DFNB28
USH1C	11p14-p15.1	DFNB18
WFS1	4p16	DFNA6/14/38
WHRN	9q32-q34	DFNB31
<i>Mitokondriyal genler</i>		
MTRNR1		
MTTS1		

ODNSDK, otozomal dominant non-sendromik duyma kaybı; ORNSDK, otozomal resesif non-sendromik duyma kaybı.

2.4.1. Hücre-İskeleti ile İlişkili Proteinleri Kodlayan Genler

2.4.1.1. ACTG1 (DFNA20/26)

ACTG1, bir hücre-iskelet proteini olan γ -1-aktini kodlamaktadır. Memelilerde, her biri 375 aa'ten oluşan ve aralarındaki çeşitlilik birkaç rezidüdeki farklılıktan kaynaklanan altı aktin izoformu bulunmaktadır. Bunlardan dördünün transkriptlerine sadece düz ve çizgili kaslarda rastlanırken β - ve γ -1-aktin kaslar dışındaki bütün dokularda eksprese olmaktadır (97, 326).

Hücrede globüler aktin (G-aktin) monomerleri bir araya gelerek filamentöz aktin (F-aktin) polimerlerini meydana getirmektedir. F-aktin molekülünün iki ucunda arasında polimerleşme hızı bağlamında farklılık bulunmaktadır. Polimerizasyonun hızlı ilerlediği uç (+), yavaş olduğu uç ise (-) olarak tanımlanmaktadır. F-aktinin (+) ucundaki polimerizasyonun (-) ucundakinden 5 ile 10 kat daha hızlı gerçekleştiği bildirilmektedir (19, 97, 326).

Aktin filamentler dayanıklılık sağladıklarından çeşitli hücrelerin apikal yüzeylerinde yer alan kırılğan parmaksı membran uzantılarının asıl yapısını oluşturmaktadır (97). Saç hücrelerindeki stereosiller de paralel sıralanmış F-aktin polimerlerinden oluşan bir omurgaya sahip membran yapılarıdır. Stereosillerdeki oryantasyonları (+) uçları apikale ve (-) uçları bazale gelecek şekilde olan aktin filamentler, kesintisiz olarak polarizasyon ve yeniden şekillenme göstermektedir. Stereosillerin saç hücrelerinin apikal yüzeylerine tutunmalarını sağlayan kutiküler plak da aktinden oluşan jel benzeri bir ağ yapısına sahip bulunmaktadır. Ayrıca paralel aktin demetlerini *adherens junction*'lara bağlayan yüzük şeklindeki yapı da yine aktin moleküllerinden oluşmaktadır. Bunların yanı sıra aktin filamentler, saç hücrelerinin bazolateral kısımlarında hücre membranına destek sağlamakta ve sinaptik veziküllerin geçişi için yol oluşturmaktadır (479, 579, 667).

Stereosillerin ana gövdesini oluşturan F-aktin polimerlerinin –saç hücrelerindeki baskın izoform olan- γ -1-aktin (G-aktin) monomerlerinin eklenmesi ile sürekli olarak yenilenmesi (263, 479) ve ACTG1 genindeki mutasyonlardan kaynaklanan DFNA20/26'nın geç başlangıçlı (≥ 3 . dekad), progresif yüksek frekans duyma kaybı ile karakterize olmasına dayanılarak γ -1-aktinin, saç hücrelerinin devamlılığının sağlanmasında ve/veya ses kaynaklı travma sonrası tamir sırasında işlev gördüğü ileri sürülmektedir (450, 579, 645, 667).

2.4.1.2. DIAPH1 (DFNA1)

İlk dekadının sonlarına doğru düşük frekans sensorinöral duyma kaybı (DFSNDK) ile kendini gösteren ve 4. dekada kadar tüm frekansları etkileyen DFNA1 (DFSNDK1)'den sorumlu olan DIAPH1, *Drosophila* homologu diaphanous-1 proteinini kodlamaktadır (306, 336). Diaphanous-1, hücre polaritesinin sağlanması ve sitokinezde görev alan formin ailesinin bir üyesi olup bu protein ailesinin diğer üyeleri gibi N-ucunda bir Rho-bağlayan domaine, C-ucunda formin-homoloji domainlerine ve bunların tam ortasında PR (proline-rich) domaine sahiptir (169, 336, 431). Hemen bütün vücut hücrelerinde eksprese olan DIAPH1 geni, saç hücrelerinde diğer koklear hücrelere kıyasla çok daha yüksek düzeyde eksprese olmaktadır (336, 431).

Diaphanous-1'in faredeki homologu mDia, Rho ile kompleks oluşturarak aktin polimerizasyonunun regülasyonunda rol oynayan profilini stereosillerin apikal yüzeyine taşımakta ve bu şekilde aktin dinamiklerinin düzenlenmesine katılmaktadır (336, 431, 607). Bunun yanı sıra, diaphanous-1 DSH'lerin kontraksiyonunu düzenleyen, asetilkolinin aktive ettiği Rho sinyal yolunda da görev almaktadır (431).

2.4.1.3. ESPN (DFNB36)

Vestibüler arefleksinin eşlik edebildiği prelingual çok-ağır derecede duyma kaybı ile karakterize DFNB36 ile bir ODNSDK formundan sorumlu olan ESPN geni espini kodlamaktadır (133, 398). ESPN/Espn geni, moleküler ağırlıkları 25 ile 110 kDa arasında değişen dört temel espin izoformu kodlamaktadır (493). En uzun izoform olan espin-1'in domain organizasyonu N-terminalde sekiz ankirin-benzeri tekrar, profilin ve SH3 (src homology type 3) proteinlerine bağlanmada rol oynayan prolinden zengin PR1 ve PR2 domainleri, F-aktine bağlanmayı sağlayan ABS (actin-binding site) domaini, fosfatidilinositol 4,5-bifosfat (PIP₂) bağlanma bölgesi, G-aktine bağlanmada rol oynayan WH2 (WASP homology 2) domaini ve C-terminalde ABM (actin-bundling module) domaininden oluşmaktadır. WH2 ve ABM domainleri tüm espin izoformlarında bulunmakta iken ankirin-benzeri tekrarlar espin-1'in dışındaki izoformlarda yer almamaktadır. Espin-2'lerde PIP₂ bağlanma bölgesi, PR1, PR2 ve ABS domainleri mevcutken espin-3'lerde sadece PR2 domaini bulunmaktadır. Sadece WH2 ve ABM domaininden oluşan espin-4'te espin-1 ve -3'lerde bulunan PIP₂ bağlanma bölgesi bulunmazken yalnız espin-4'e özgü eksonlar tarafından kodlanan peptidler başka bir PIP₂ bağlanma bölgesi oluşturmaktadır (493, 494).

Espin izoformlarına tat reseptörleri, kemoreseptör hücreler ve vomeronazal duyu hücreleri gibi duyuşal iletinin gerekleştigi, paralel aktin demeti (PAD) içeren mikrovilluslara sahip hücrelerde rastlanmaktadır (492, 493, 494). Bununla uyumlu olarak, Espn geni koklear ve vestibüler sa hücrelerinde eksprese olmaktadır (494, 665). Espin birikimi sa hücrelerindeki stereosilogeneze PAD'lerin oluşunu boyunca artarak devam etmektedir (312, 495.). Yapılan alışmalar çeşitli espin izoformlarının belli tipteki sa hücreleri ya da stereosilogenezin belli fazları ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (495). Örneğin, sıçanlarda espin-1 vestibüler sa hücrelerinde geç embriyonel ve erken postnatal evrelerde eksprese olmakta iken espin-4 koklear sa hücrelerinde postnatal dönemde eksprese olmaktadır (493, 495).

Espin geni için *null* mutant olan *jerker* (je) farelerinde (Espin^{je/je}; 328) yapılan histolojik incelemelerde, mutant stereosillerin normallere göre kısa ve ince olduğu, kutiküler plağın organizasyonunun kaybolduğu ve izleyen dönemde koklear sa hücrelerinin dejenerasyona uğradığı görölmüştür (470).

Espinin domainlerine yönelik mutagenез alışmaları, ABM domainlerinin aktin polimerlerine bağlanarak aralarında çapraz bağlar oluşturduğunu ve bu şekilde PAD'lerin oluşumunu sağladığını göstermiştir (36). Espinin, epitelyal hücrelerde “*brush border*” (BB) mikrovillusların uzamasını sağladığı görölmüş ve uzamanın ABM domaininin aktivitesi ile gerçekleştiği belirlenmiştir (329). Espin ile transfekte edilen sa hücrelerindeki stereosillerin de benzer şekilde uzadığı gözlemlenmiştir (470). Bu verilere dayanılarak espinin stereosillerin uzamasında rol oynadığı ileri sürölmektedir (494).

2.4.1.4. Miyozinler

Miyozinler, bağlandıkları ATP moleküllerini hidrolize ederek elde ettikleri enerji ile aktin filamentleri boyunca güç ve –tek yönlü- hareket oluşturan motor proteinlerdir (360). Miyozinlerde baş, boyun ve kuyruk olmak üzere üç işlevsel kısım bulunmaktadır (259, 499). Baş kısmında aktin ile ATP'ye bağlanan ve ATP'yi hidrolize ederek güç oluşturan motor domaini yer almaktadır. ATP'nin hidrolizi sonucunda motor domaininde meydana gelen konformasyonel değişimler hareketin oluşturulması için kullanılmaktadır (259, 564). Boyun bölgesinde yer alan, IQ (izolösin-glutamin) motifleri kalmodulin ve miyozin hafif zincirlerine bağlanabilme yeteneğindedir. IQ motiflerine bağlanan hafif miyozin zincirlerinin meydana getirdiği “manevela kolu”

motor domaindeki konformasyonel değişimleri çoğaltmaktadır. Boyun kısmı miyozinlerin regülatör bölgesini oluşturmaktadır (130, 169, 259, 360).

Miyozinlerin kuyruk kısımları, domain kompozisyonu ve organizasyonu açısından oldukça büyük çeşitlilik göstermektedir. Kuyruk kısmında yer alan domainler her bir miyozinin hücrel yerleşim ve fonksiyonel özelliğini belirlemektedir (259).

Motor domainlerinin ya da kuyruk kısımlarının karşılaştırılmasına dayalı olarak yapılan filogenetik analizler sonucunda biri konvansiyonel (sınıf II) ve diğerleri konvansiyonel olmayan olmak üzere 17 farklı miyozin sınıfı tanımlanmış bulunmaktadır (214, 259). Memelilerde sadece sınıf I, II, III, V, VI, VII, IX, X ve XV üyelerine rastlanmaktadır (499).

Miyozinler hücre hareketi, kas kasılması, sitokinez, membran trafiğinin yürütülmesi ve sinyal iletimi gibi hücrel olaylarda görev almaktadır (168, 259).

2.4.1.4.1. Konvansiyonel Miyozinleri Kodlayan Genler

İki motor domaini olan hegzamerik myozin-II mekano-enzimleri iki miyozin ağır zinciri ile iki çift miyozin hafif zincirden oluşmaktadır. Miyozin-II'lerin baş kısmını oluşturan motor domainini, bu domaini boyun bölgesindeki “manevela kolu”na bağlayan “dönüştürücü” bölge izlemektedir (259, 499). Geliştirilen bir modele göre ATP hidrolizinin aktine bağlı katalitik motor domainde meydana getirdiği değişimler, “dönüştürücü” ve “manevela kolu” domainlerine aktarılmakta ve bu domainlerin katalitik domaine göre dönmesini sağlamaktadır. Miyozin-II molekülleri, “manevela kolu”nun yaptığı açısıl dönüşler aracılığı ile aktin filamenti boyunca hareket edebilmektedir (218, 259). Miyozin-II moleküllerinin kuyruk kısımlarında birbirleri ile etkileşerek filament yapılarını oluşturan α -heliksel CC (coiled-coil) domainleri yer almaktadır (259, 499).

Vertebratlardaki sınıf II miyozinler motor veya kuyruk domainlerine göre iskelet/kalp kası ve düz kas/kas dışı miyozinler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (259). Miyozin-II'ler, kaslarda kasılma ve güç sağlamada rol oynamakta iken kas dışı dokularda sitokinez, hücre şeklinin korunması, hücrede polarizasyon ve farklılaşmanın sağlanması gibi çeşitli işlevleri yerine getirmektedir (499).

2.4.1.4.1.1. MYH9 (DFNA17)

Postlingual dönemde başlayan ve özellikle yüksek frekansların etkilendiği ancak zamanla tüm frekansların tutulduğu orta-ağır şiddetteki progresif duyma kaybı ile karakterize DFNA17 ile ilişkili olan MYH9 geni, NMHC (non-muscle myosin heavy chain)-IIA'yı kodlamaktadır (295). Kodladığı transkripte hemen bütün vücut hücrelerinde rastlanan MYH9 geni, yüksek düzeyde koklea, trombositler, böbrek ve gözde eksprese olmaktadır (295, 362). İmmünohistokimyasal yöntemler ile Myh9'un sıçan kokleasında DSH, Reissner membranı ve spiral ligamentte (295), fare kokleasında ise saç hücreleri, pillar hücreler, spiral ligament ve spiral limbusta eksprese olduğu gösterilmiştir (361). Poli-klonal antikorlar ile yapılan çalışmalar, NMHC-IIA'nın stereosillerin uzunluğu boyunca lokalize olduğu ortaya koymuştur (362).

DFNA17'den etkilenmiş bir bireyde temporal kemiğe yönelik olarak yapılan post-mortem histopatolojik incelemede Korti organı, sakküler epitelyum ile stria vaskulariste dejenerasyon ve Reissner membranının çökmesi ile karakterize kokleosakküler displazi saptanmıştır (296). Bunun altında yatan neden olarak spiral ligamentte meydana gelen değişimler sonucunda stria vaskularisin sürdürdüğü iyon homeostazının ve takiben endokoklear iyon kompozisyonunun bozulması ve sonuçta Reissner membranının çökmesi ya da alternatif olarak spiral ligamentte yer alan, aktin ve diğer kontraktıl proteinlerden zengin fibrosit hücrelerinin baziler membran-spiral ligament kompleksindeki gerilimi oluşturamaması gösterilmektedir (295, 431). Ancak Myh9'un stereosillerdeki yaygın yerleşimine dayanılarak DFNA17'deki temel defektin stereosillerin yapı veya işlevinin bozulması olabileceği de ileri sürülmektedir (362).

2.4.1.4.1.2. MYH14 (DFNA4)

DFNA4 lokusunda yer alan iki farklı ODNSDK geninden biri olan MYH14 geni, NMHC-IIC'yi kodlamaktadır (132, 644). 1.-2. dekatta hafif-orta düzeydeki duyma kaybı ile kendini gösteren MYH14 mutasyonlarından yanlış anlamlı olanların progresyon göstermediği halde anlamsız mutasyonların progresif tipte olup 4.dekatta çok ağır şiddetteki duyma kaybı ile sonuçlandığı bildirilmektedir (132, 367). İnsanda NMHC-IIC0 ve NMHC-IIC1 olmak üzere iki farklı transkript kodlayan MYH14 geni, en yüksek düzeyde iskelet kası, kalp, kalın bağırsak ve beyinde eksprese olmaktadır (187, 301). Kokleada, MYH14 geni transkriptlerine Reissner membranı hariç tüm skala

media çeperinde ve özellikle de Korti organı ile stria vaskulariste rastlanmaktadır (132, 187).

İşitme ile ilgili işlevini aktin hücre-iskeleti üzerinden yerine getirdiği düşünülen NMHC-IIC'nin kokleadaki fonksiyonunun ne olduğu ve hangi patogenetik mekanizma ile duyma kaybına yol açtığı bilinmemektedir (132).

2.4.1.4.2. Konvansiyonel Olmayan Miyozinleri Kodlayan Genler

Monomerik motor proteinler olan konvansiyonel olmayan miyozinlerin kuyruk kısımları oldukça büyük çeşitlilik göstermekte ve bu kısmın domain organizasyonuna göre 16 farklı sınıf ayırt edilmektedir (44, 259). Boyun kısmında yer alan IQ motiflerinden itibaren CC domaini ve bunu izleyen MyTH4 (myosin tail homology 4), FERM (4.1, ezrin, radixin, moesin) ve SH3 domainleri konvansiyonel olmayan miyozinlerin genel domain organizasyonunu oluşturmaktadır (170, 431). Konvansiyonel olmayan miyozinlerin CC domainleri dimerizasyon gösterebilir de miyozin-II'lerin CC domainlerinden farklı olarak filament oluşturamamaktadır (170). MyTH4 domainlerinin diğer miyozin, kinesin ve hücresel kargolara bağlanmada rol oynadığı sanılmaktadır. FERM domainleri hücre-iskelet proteinlerinin hücre membranına bağlanmasını sağlamaktadır. SH3 domainleri ise PR motiflere bağlanan bir sinyal domaini oluşturmaktadır (130, 170, 375, 431).

Konvansiyonel olmayan miyozinler sitoplazmik uzantıların oluşumu, sinyal iletimi, endositoz, iyon kanallarının regülasyonu, veziküller gibi sitoplazmik kargoların taşınması vb. gibi çok sayıda hücresel olayda görev almaktadır (170, 360, 431).

2.4.1.4.2.1. MYO1A (DFNA48)

En yüksek düzeyde ince ve kalın bağırsakta eksprese olan MYO1A geninin kodladığı miyozin IA, intestinal epitel hücrelerin BB yüzeyindeki aktinden zengin hücre iskeletinin majör bileşenlerinden birini oluşturmaktadır (516). Ütrikül ve kokleada eksprese olan Myo1a'nın sub-koklear ekspresyon paterni bilinmemektedir (131, 140).

Miyozin IA molekülleri, bağırsaktaki epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde yer alan mikrovilluslarda, hücre membranını polarize olmuş destekleyici aktin demetlerine bağlayan spiral köprüleri oluşturmaktadır (558). Kuyruk kısmında bulundurduğu bazik TH1 (tail homology 1) domaini aracılığıyla hücre membranı ile etkileşen miyozin IA'nın bu hücrelerdeki membran trafiğinin yürütülmesinde rol oynadığı

düşünülmektedir (375, 517, 558). Mikroviluslara sahip intestinal hücreler ile iç kulakta yer alan saç hücrelerinin aktin hücre-iskeletlerinin oldukça yüksek düzeyde benzerlik göstermesine dayanılarak miyozin IA'nın stereosillerde mikrovilluslardakine benzer bir rol üstlenmiş olabileceği ileri sürülmektedir (131, 557).

Myo1a knock-out (KO) fare modellerinde (*Myo1a^{-/-}*) duyma kaybı bulunmamaktadır. Ancak intestinal sistemde yapılan detaylı histolojik incelemelerde *Myo1a^{-/-}* farelerin mukozal strese karşı hassasiyet gösterdikleri ve kimyasal ajanlar ile indüklenen mukozal stres sonucunda intestinal epitel hücrelerde mikrovillusların boylarında kısalma ve apoptoz düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır (558). Elde edilen bulgular, oldukça çeşitli odyolojik fenotipler ve bazı olgularda penetrans yokluğu ile karakterize DFNA48 (131) ile ilişkili MYO1A geni mutasyonlarının koklear stres oluşturan çevresel faktörler (yüksek ses maruziyeti, hipoksi v.b. gibi) tarafından modifiye ediliyor olabileceğini düşündürmektedir.

2.4.1.4.2. MYO3A (DFNB30)

İkinci dekatta yüksek frekans duyma kaybı ile kendini gösteren ve ilerleyerek 6. dekatta yüksek ve orta frekanslarda ağır, düşük frekanslarda ise orta düzeyde duyma kaybı ile sonuçlanan DFNB30'dan sorumlu MYO3A geni, miyozin IIIA'yı kodlamaktadır (429, 596). MYO3A geni yüksek düzeyde retinal fotoreseptör hücreler ile koklear saç hücrelerinde eksprese olmaktadır (134, 135). Miyozin IIIa, stereosillerin apikal yüzeyinde yer alan uç bağlantısı alt insersiyon alanındaki stereosil membranı ile bunun altında kalan aktin gövde arasında bulunan ve uç yoğunluğu olarak isimlendirilen bölgeyi çevrelemekte ve stereosilin tepesinden aşağı doğru uzanmaktadır (480).

Miyozin IIIA, *Drosophila*'da retinal dejenerasyondan sorumlu olan *ninaC* ile belirgin homoloji göstermektedir. NINAC, fotoreseptör hücrelerde aktin filamentler ve PDZ (postsynaptic density-95/Discs large/zona occludens-1) domain içeren ve fototrandüksiyon sinyal kompleksinde yer alan proteinlerin bağlanması ve translokasyonunu sağladığı düşünülen INAD ile etkileşim göstermektedir (480). NINAC ve miyozin IIIA sahip oldukları N-terminal kinaz domainleri ve otoposforilasyon yetenekleri ile diğer konvansiyonel olmayan miyozinlerden ayrılmaktadır (44, 399). Fototrandüksiyonun gerçekleşmesi için NINAC'deki kinaz aktivitesinin gerekli olduğu gösterilmiş bulunmaktadır (437). Miyozin IIIa'nın kuyruk kısmında iki adet TH3 (tail homology 3) domaini (TH3-I ve TH3-II) yer almaktadır

(136). Bunlardan distalde lokalize olan TH3-II, miyozin IIIa'nın F-aktine bağlanmasını ve (+) ucuna doğru hareket etmesini sağlamaktadır (247, 308). Motor domaininde gerçekleşen otoposforilasyonun, miyozin IIIa'nın F-aktin üzerindeki hareketlerinin düzenlenmesi için gerekli olduğu ileri sürülmüştür (247). *In vitro* çalışmalar, kinaz domaini bulunmayan miyozin IIIa moleküllerinin aktivitesinin arttığını ve F-aktinin (+) ucunda aşırı bir miyozin IIIa birikimi meydana geldiğini göstermiştir (308). Kinaz ya da motor domaini bulunmayan miyozin IIIa'ları eksprese eden transfekte saç hücrelerindeki stereosillerin uç kısımlarının sürekli olarak uzayıp şişkinleştiği ve sonuçta dayanıklılıklarını kaybettikleri bildirilmektedir. Bu bulguya dayanılarak miyozin IIIa'nın aktin demetinin süreklilik ve kararlılığının sağlanmasında rol oynadığını ileri sürülmektedir (480).

Miyozin IIIa'nın homologu NINAC, aralarında ışığa duyarlı TRP ve TRPL kanal alt-ünitelerinin de bulunduğu, PDZ domaini içeren iskele proteini INAD'a bağlı çok sayıda molekülden oluşan fototrandüksiyon sinyal kompleksi ile etkileşime girmekte ve fotoreseptörlerde ışığa verilen yanıtın hızla sonlanmasını sağlamaktadır (313, 617). Saç hücrelerinin bükülmesi sonucunda uç bağlantılarında meydana gelen gerilime yanıt olarak açılan ve saç hücrelerinin depolarizasyonunu sağlayan MED kanallarının, *Drosophila*'daki TRP'ye yapısal benzerlik gösteren vertebrat TRP protein ailesinin bir üyesi olabileceği bildirilmiştir (98, 184, 374). Buna göre, stereosillerin apeksindeki uç bağlantısı alt insersiyon bölgesinde lokalize olan miyozin IIIa'nın, MED kanalının açılıp-kapanmasında rol oynuyor olabileceği düşünülmektedir (480).

2.4.1.4.2.3. MYO6 (DFNA22 ve DFNB37)

İlk dekatta yüksek frekanslarda duyma kaybı ile kendini gösteren ancak ilerleyerek 50 yaş civarında tüm frekanslarda çok ağır düzeyde duyma kaybı ile sonuçlanan DFNA22 ile konjenital çok ağır duyma kaybı ile karakterize DFNB37'den sorumlu olan MYO6 geni, miyozin VI'yı kodlamaktadır (12, 358). Farelerde yapılan immünofloresans çalışmaları, Myo6'nın saç hücrelerinde stereosillerin bazaline yakın bölgeler ile kutiküler plak ve bunu çevreleyen alanda (peri-kutiküler gerdanlık) eksprese olduğunu göstermiştir (31, 203).

Miyozin VI, motor ve IQ domainleri arasında yer alan “*reverse gear*” domaini sayesinde -diğer bütün miyozinlerin aksine- aktin filamentlerinin (-) uçlarına doğru hareket etmektedir (259, 616). Miyozin VI'nın kuyruk kısmı bir CC domaini ile Golgi

aparatusunun hedeflenmesinde rol oynayan bir globüler domain (GD) taşımaktadır (73, 259). İnsan ve sıçanlarda kuyruk kısımlarında *insert* bulundurmayan, CC ve GD domainleri arasında “büyük” ya da GD domaini içinde “küçük” *insert* bulunduran olmak üzere üç farklı miyozin VI izoformuna rastlanmıştır. Büyük *insert* taşıyan miyozin VI izoformları, apikal yüzeylerinde mikrovillus ya da türevi uzantılar bulunan, polarize olmuş hücrelerde (örneğin koklear saç hücreleri ve BB mikrovillus yüzeyine sahip intestinal enterositler ile renal proksimal tübüler hücreler) bulunmaktadır. Buna karşılık, polarize olmamış ya da sınırlı polarizasyon gösteren hücreler *insert* taşımayan ya da küçük *insert* taşıyan miyozin VI izoformlarına sahiptir (73, 202). Büyük *insert* taşıyan miyozin VI, kltrin adaptör proteini AP-2 ile etkileşerek polarize hücrelerin apikal yüzeylerindeki kltrin-kaplı vezikülleri hedeflemektedir (73). Bu nedenle, miyozin VI'nın kltrin-kaplı veziküllerin endositoz ile hücre içine alınması ve/veya – miyozin VI'nın F-aktin üzerindeki hareket yönü dikkate alındığında- apikal membrandan uzaklaştırılmasında rol oynadığı ileri sürülmektedir (73, 103, 202). Ayrıca, küçük *insert* taşıyan miyozin VI izoformunun da, kaplı olmayan veziküllerin hücre içine doğru harekete engel oluşturan aktin bariyerinden geçmesini sağlayarak membran trafiğinin düzenlenmesinde görev aldığı gösterilmiştir (27, 28).

Myo6 için *null* mutant olan *Snell's waltzer* (sv) farelerinde (Myo6^{sv/sv}; 32), doğumda normal olan stereosillerin zamanla kısaldığı, bazal kısımlardan itibaren komşu stereosillerin birbirleri ile kaynaşarak dev stereosiller oluşturduğu ve sonuçta deforme saç hücrelerinin dejenerasyona uğrayarak ortadan kalktığı gözlemlenmiştir (498). MYO6/Myo6 geninin zebra balıklarındaki ortologu Myo6b'deki mutasyonlar ile ilişkili olan *satellite* (sai)'lerde (Myo6b^{sai/sai}) saç hücrelerinin Myo6^{sv/sv}'de gözlemlenen organizasyon bozukluklarını anımsatan defektlere sahip olduğu ve ayrıca kutiküler plak ve çevresinde büyük veziküllerin biriktiği saptanmıştır (488).

Saç hücrelerinde endositoz, miyozin VI'nın da lokalize olduğu, peri-kutiküler gerdanlıkta gerçekleşmektedir (203). Myo6b^{sai/sai} saç hücrelerinin apikal membranında gözlemlenen vezikül birikimi, miyozin VI'nın saç hücrelerindeki görevinin endositoz veya membran trafiğinin düzenlenmesi ile ilişkili olduğuna yönelik görüşleri desteklemektedir (28, 73, 202, 253, 488). Ancak Myo6^{sv/sv} saç hücrelerinde endositozun normal olarak gerçekleştiği bildirilmiştir (498). Myo6^{sv/sv} ve Myo6b^{sai/sai} saç hücrelerinin ortak bulgusunu oluşturan stereosiller arasındaki yükselmiş apikal

membran varlığına dayanılarak miyozin VI'nın saç hücrelerinin apikal membranlarının aktinden zengin kutiküler plağa tutturulmasında rol oynadığı düşünülmektedir (253, 488, 498). Diğer taraftan, miyozin VI'nın az yüke sahip olduğunda hareket ettiği ve taşıyıcı bir molekül gibi davrandığı, çok yüke sahip olduğunda ise durduğu ve tutturucu bir protein özelliği kazandığı ileri sürülmektedir. Bu bağlamda geliştirilen bir modele göre, stereosiller arasındaki membran ya da membran proteinlerine GD domaini ile tutunan miyozin VI molekülleri, kutiküler plakta yer alan aktin filamentlerin (-) ucuna doğru hareket etmekte ve membran ile miyozin VI arasında gittikçe artan bir gerilim oluşmaktadır. Gerilimin meydana getirdiği yük nedeni ile miyozin VI aktin filament üzerinde bir noktada sabitlenmekte ve bu sayede stereosiller arasındaki membran gergin bir şekilde aktin filamente tutturulmaktadır (21). Miyozin VI'nın yokluğunda ise komşu stereosiller arasında kalan apikal membran yukarıya doğru hareket etmekte ve stereosillerin kaynaşmasına neden olmaktadır (253, 498).

2.4.1.4.2.4. MYO7A (DFNA11 ve DFNB2)

Mutasyonları postlingual, progresif, orta derece duyma kaybı ile ilişkili olan DFNA11 ile çok ağır derecede duyma kaybı ile karakterize DFNB2'ye yol açan MYO7A geni, miyozin VIIA'yı kodlamaktadır (323, 537, 615). Farelerde yapılan antikör çalışmaları, miyozin VIIa'nın saç hücrelerinde stereosiller, yatay bağlantılar, bazal bilek bağlantıları, kutiküler plak ve peri-kutiküler gerdanlıkta lokalize olduğunu göstermiştir (203).

Myo7a geninde homozigot mutasyon taşıyan *Shaker-1* (sh1) farelerinde (Myo7a^{sh1/sh1}; 182, 353) yapılan histolojik çalışmalarda saç demetlerinin normalde "V" veya "W" şeklindeki organizasyonlarının kaybolduğu, bunun yerine saç hücrelerinde düzensiz kısa stereosil kümelerinin bulunduğu, kinosilyumun yerleşiminin düzgün olmadığı ve zamanla mutant saç hücrelerinin dejenerasyona uğrayarak ortadan kalktığı saptanmıştır. Ayrıca Myo7a^{sh1/sh1}lerde MED'in gerçekleşmediği ya da yeterli düzeyde meydana gelmediği bildirilmiştir (283, 497). Myo7a gen mutasyonları için homozigot olan *mariner* zebra balıklarında da, saç demetlerinin bütünlüklerini kaybedip yayvanlaştıkları ve MED'in ortadan kalktığı bildirilmiştir (146, 400).

Miyozin VIIa'nın, FERM domainleri aracılığı ile, stereosiller arasındaki kohezyonun sağlanmasından sorumlu vezatin, harmonin ve bunlar ile ilişkili proteinlerin (örneğin, protokaderin-15) aktin filamentler üzerinde taşınmasından rol

oynadığı ve bu sayede stereosillerin bükülmesini takiben MED kanallarının açılmasına dolaylı yoldan katkıda bulunduğu bildirilmektedir (59, 292, 363, 501; bk. 2.4.1.5.1. ve 2.4.1.5.2.).

2.4.1.4.2.5. MYO15A (DFNB3)

Konjenital, çok ağır derecede duyma kaybı ile karakterize DFNB3'ten sorumlu olan MYO15A geni miyozin XVA'yı kodlamaktadır (59, 597). Fare Myo15 geni, iç kulakta sadece koklear ve vestibüler saç hücrelerinde eksprese olmaktadır (24, 318). Koklear saç hücrelerinde antikolar kullanılarak yapılan çalışmalarda miyozin XVA'nın kutiküler plak ve stereosillerde yerleşik olduğu saptanmıştır (40, 318).

MYO15A geninin transkriptlerinin alternatif kırılması sonucunda bir kısmı motor domaininin önünde N-terminal segment bulduran diğerleri buldurmeyen çok sayıda farklı miyozin XVA izoformu ortaya çıkmaktadır (318). Evrimsel olarak korunmuş N-terminal segment, prolin ve tirozinden zengin olup elastomerik domainleri andırmaktadır (169, 539). Elastomerik domainler, buldukları moleküllere esneklik kazandırarak gerilim vb. gibi zorlanmalara karşı dayanıklılık sağlamaktadır (539).

Myo15 geni mutasyonları için homozigot olan *Shaker-2* (sh2) farelerinde (Myo15^{sh2/sh2}) yapılan incelemelerde stereosillerin gelişimlerinin normal olmasına karşın boylarının normalden çok daha kısa olduğu, aktin filamentlerin yerleşimlerinin düzgün olmadığı, uç bağlantılarının bulunmadığı ve stereosillerin basamak şeklindeki organizasyonunun kaybolmuş olduğu gözlemlenmiştir (24, 40, 439).

Whirlini kodlayan Whrn geninde homozigot mutasyon taşıyan *whirler* (wi) farelerinde (Whrn^{wi/wi}) yapılan histolojik çalışmalarda da Myo15^{sh2/sh2}lerde elde edilen bulgulara benzer şekilde stereosillerin boylarında kısalma olduğu gözlemlenmiştir (216, 354). Bu ortak fenotipe dayanılarak miyozin XVA ve whirlinin stereosillerin uzamasında birbirleri ile etkileştikleri ileri sürülmüştür (42, 179). İmmünofloresans çalışmaları, whirlin ve miyozin XVA'nın stereosillerin apikal kısımlarında birlikte lokalize olduklarını göstermiştir (125). Antikolarla yapılan çalışmalar, Myo15^{sh2/sh2}lerde whirlinin stereosillerin uç kısımlarındaki ekspresyonunun ortadan kalktığını, Whrn^{wi/wi}lerde ise miyozin XVA'nın stereosillerin apikal uçlarını hedeflediğini ancak düzgün yerleşim göstermediğini ortaya koymuştur (41, 269).

Miyozin XVa'nın, MyTH4-FERM domain segmenti ile bir PR ve üç PDZ (PDZ1-3) domaininden oluşan uzun whirlin izoformuna, C-terminal SH3-MyTH4 domain segmenti ile de PR ve PDZ3'ten oluşan kısa whirlin izoformuna (125) ve yine C-terminalinde yer alan sınıf I PDZ-ligand motifi (PLM) ile de whirlinin PDZ3 domainine bağlandığı bildirilmektedir (41). Elde edilen bu bulgulara dayanılarak miyozin XVa'nın fonksiyonunun, saç demetlerinin basamak şeklindeki organizasyonu için stereosil boylarının düzenlenmesinden sorumlu olan whirlinin –ve olası ilişkili proteinlerin- stereosillerin apikal uçlarına taşınması olduğu ileri sürülmektedir (41, 269; bk. 2.4.1.5.2.).

2.4.1.5. PDZ Domain İçeren İskele Proteinleri

PDZ domainlerinin altı zincirli bir sandviç şeklinde katlanan, altı β -zinciri ve iki α -heliksten oluşan üç boyutlu yapıları büyük benzerlik göstermektedir (570). PDZ domainleri daha çok bağlandıkları proteinlerin C-terminallerinde bulunan PLM'leri tanımaktadır. Bunun dışında PLM-dışı ve PDZ-PDZ bağlanmalar da tanımlanmış bulunmaktadır (404).

PDZ domaini içeren proteinler, plazma membranının özel kısımlarında multiprotein komplekslerinin oluşumunu organize eden iskele proteinleri olarak işlev görmektedir. Homo- ve heteromerik yapılar oluşturabilen bu proteinler; reseptörler, iyon kanalları, sinyal molekülleri, transmembran proteinler, aktin ve aktine-bağlanan moleküller gibi birbirleri ile etkileşim gösteren çeşitli proteinleri bağlanma yolu ile bir araya getirmektedir. Bu görevlerine ek olarak, doğrudan veya dolaylı olarak hücre iskeletine de bağlanabilmektedirler (175, 431, 508).

2.4.1.5.1. USH1C (DFNB18)

Konjental çok ağır derecede duyma kaybı ile karakterize DFNB18'den sorumlu olan USH1C geni, harmonini kodlamaktadır (15, 234). Farelerde sekiz farklı harmonin izoformu bulunmaktadır. Sahip oldukları domain organizasyonlarına göre bu izoformlar, harmonin-a, -b ve -c olmak üzere üç farklı izoform grubuna ayrılmaktadır. En uzun izoformu oluşturan harmonin-b'de üç PDZ (PDZ1-3), iki CC (CC1 ve CC2) ve bir PST (prolin-serin-treonin) domaini yer almaktadır. PDZ1, PDZ2, CC1 domainleri harmonin-a ve -c'nin her ikisinde de yer almakta iken harmonin-a, ek olarak PDZ3 domainini de içermektedir. Harmonin-a ve -c izoformları hücre iskeletine bağlanmada rol oynayan PST domaininden yoksun bulunmaktadır. Sekiz farklı harmonin

izoformundan yedisinin iç kulakta eksprese olurken gözde sadece harmonin-a1'e ait transkriptlerin bulunduğu gösterilmiştir. Antikor kullanılarak yapılan çalışmalarda, harmoninin kokleadaki lokalizasyonunun saç hücreleri ile sınırlı olduğu görülmüştür (588). Harmonin-b'nin stereosiller ve kutiküler plakta lokalize olurken diğer harmonin izoformlarının saç hücrelerinin lateral plazma membranı ile ribon sinapslarında bulunduğu bildirilmektedir (59, 449).

Ush1c geninde homozigot mutasyon taşıyan *deaf circler* (dfcr) farelerinde (Ush1c^{dfcr/dfcr}) yapılan histolojik çalışmalar, saç demetlerinin organizasyonlarını kaybetmiş ve yayvanlaşmış olduğunu, izleyen süreçte dejenere saç hücrelerinin ortadan kalktığını ve sekonder olarak spiral ganglion hücrelerinin kaybolduğunu göstermiştir (237). Ush1c^{dfcr/dfcr}lerden elde edilen histolojik bulgular; sh1, *waltzer*, *Ames waltzer* ve *Jakson shaker* (Js) farelerinde (*Sans*^{Js/Js}) gözlemlenen patolojik saç demeti yapıları ile büyük benzerlik göstermektedir (16, 128, 237, 270, 497). Bu benzerliğe dayanılarak saç hücrelerindeki partnerlerinin saptanması için yapılan çalışmalar, harmoninin miyozin VIIa, kaderin-23, protokaderin-15, SANS, usherin izoform b, VLGR1b, NBC3, USHBP1, harp, DOCK4 ve F-aktine bağlandığını göstermiştir (59, 231, 238, 282, 447, 448, 449, 510, 614, 637). Her bir üyesinin Usher sendromundan sorumlu olması nedeni ile, harmonin ve bir diğer PDZ içeren iskele proteini olan whirlin (bk. 2.4.1.5.2.) ile bu iki proteine bağlı diğer proteinlerden oluşan komplekse Usher protein interaktomu (UPI) adı verilmektedir (580).

Harmonin ve ona bağlı proteinlerin aktin filamentler üzerinde taşınarak stereosillerdeki görev bölgelerine ulaştırılmaları miyozin VIIa tarafından sağlanmaktadır (59, 363). Embriyonik dönemde harmonin, usherin izoform b, VLGR1b, kaderin-23 ve protokaderin-15'ten oluşan UPI'nin, miyozin VIIa ve vezatin üzerinden aktin omurgaya bağlanıp stereosiller arasındaki geçici bağlantıları oluşturduğu bildirilmektedir (4, 282). Postnatal dönemde ise harmonin ile ona bağlanan kaderin-23'ün katıldığı başka bir UPI'nin yatay bağlantıları meydana getirdiği tahmin edilmektedir (4, 145). *Sans*^{Js/Js}lerde yapılan çalışmalara dayanılarak SANS'nin, miyozin VIIa ve harmonin-b moleküllerini mikrotübüller üzerinde taşıyarak kutiküler plaktan stereosillere geçirdiği ileri sürülmüştür (5, 145, 448). Harmonin-b ile DOCK4 arasındaki etkileşimin F-aktin dinamiklerini düzenleyen sinyal iletim yolları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (637). Saç hücrelerinin sinapslarında lokalize olan harmonin-

al'in ise sinaptik uzantıların yapı, kompozisyon ve fonksiyonunu kontrol eden bir UPI'nin yapısında yer aldığı bildirilmektedir (449; bk. 2.4.1.5.2.).

2.4.1.5.2. WHRN (DFNB31)

Çok ağır düzeyde prelingual duyma kaybı ile karakterize DFNB31 ile ilişkili olan WHRN geni, whirlini kodlamaktadır (354, 386). Koklear ve vestibüler saç hücrelerinde eksprese olan whirlinin, stereosillerin apikal uçları ile bazal bilek bağlantılarında ve DSH'lerin ribon sinapslarında lokalize olduğu saptanmıştır (41, 125, 269, 354, 580).

WHRN/Whrn geni, biri üç PDZ (PDZ1-3) ve bir PR domaini içeren uzun ve diğeri PR domaini ile birlikte sadece PDZ3 domainini içeren kısa olmak üzere iki farklı whirlin izoformu kodlamaktadır (354).

Whrn^{wi/wi}lerde yapılan histolojik incelemelerde DSH'lerin "V/W" yerine "U" şeklinde bir organize olduğu, stereosillerin kısaldığı ve basamak şeklindeki organizasyonlarının kaybolduğu görülmüştür (216). Benzer stereosil yapı ve organizasyon defektlerinin Myo15^{sh2/sh2}lerde de gözlemlenmiş olmasına dayanılarak yapılan çalışmalar, whirlinin stereosillerin uç kısımlarına miyozin XVa tarafından taşındığını ortaya koymuştur (41, 125, 269; bk. 2.4.1.4.2.5.).

Whirlinin saç hücrelerinde etkileşime girdiği saptanan diğer proteinler arasında miyozin VIIa, netrin-G1 ligandı, usherin izoform b, VLGR1b, p55/4.1R ve CASK/4.1N yer almaktadır (4, 125, 580, 352). Postnatal evrede whirlinin miyozin VIIa, USH2A-b ve VLGR1b gibi UPI üyeleri ve ekstrasellüler domainleri Ca⁺² varlığında homofilik etkileşim gösteren netrin-G1 ligandı ile etkileşerek bilek bağlantılarının yapısına katıldığı bildirilmektedir (4, 125, 363). Whirlinin stereosillerin uzaması ve saç demetlerinin basamak şeklinde organize olmasındaki işlevini p55/4.1R kompleksi ile etkileşerek gerçekleştirdiği ileri sürülmektedir (352). DSH'lerin ribon sinapslarında whirlin, usherin izoform b, VLGR1b ve CASK/4.1N'den oluşan UPI'nin SANS aracılığı ile harmonin-a1, miyozin VIIa, kaderin-23, protokaderin-15 ve NBC3'ten oluşan başka bir UPI ile etkileşerek sinaptik uzantıların organizasyonuna katıldığı bildirilmektedir (282, 580).

2.4.1.6. RDX (DFNB24)

Prelingual çok ağır derecede duyma kaybı ile karakterize DFNB24'ten sorumlu olan RDX geni, radiksin kodlamaktadır (264). Radiksin, ezrin ve moesin ile birlikte, ERM (ezrin-radixin-moesin) protein ailesini oluşturmaktadır. ERM ailesi üyelerinin domain organizasyonları N-terminal FERM ve C-terminal domaini (CTD) ile bunların arasında yer alan α -heliks ve PR domainlerinden oluşmaktadır (401). FERM domaini sitoplazmik proteinlerin plazma membranına yerleşimini sağlamaktadır (88). α -heliks domaini ise radiksinin aktivasyonunda rol oynamaktadır (230). CTD domaini aktine bağlanma motifini içermektedir (556). Radiksin molekülleri başlangıçta FERM ve CTD domainleri birbirlerine bağlı olduğu için inaktif halde bulunmaktadır. PIP₂'nin FERM domainine bağlanması ile aktifleşen radiksinler, aktin filamentlerin plazma membranındaki adezyon proteinlerine bağlanmasına aracılık etmektedir (68).

Farelerde yapılan analizler, koklear saç hücrelerinin ERM ailesi üyelerinden ezrin ve radiksin ekspresyonunu göstermiştir (264, 275). İşitmenin gerçekleştiği P14'e kadar olan gelişimsel evrede saç hücrelerinde yüksek miktarda radiksin ve az miktarda ezrine rastlanmaktadır. P14'ten itibaren ezrin ekspresyonu azalarak kaybolmakta ve erişkin dönemde stereosillerde sadece radiksin bulunmaktadır (275).

Rdx KO (Rdx^{-/-}) farelerde duyma kaybı erişkin dönemde kendini göstermektedir. Histolojik incelemeler, P14'e kadar gelişimleri normal olan saç hücrelerinin izleyen süreçte dejenere olmaya başladıklarını ve P40 civarında tamamen ortadan kalktıklarını göstermiştir. Bu durumun, ezrinin Rdx^{-/-} farelerdeki radiksin yokluğunu P14'e kadar kompanse etmesi ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Stereosillerin devamlılığına katkıda bulunan radiksinin gelişimsel süreçte rol oynayıp oynamadığı, ezrinin kompanse edici aktivitesi nedeni ile saptanamamıştır (275).

2.4.1.7. TRIOBP (DFNB28)

TRIOBP geni mutasyonları, prelingual çok ağır düzeyde duyma kaybı ile karakterize DFNB28'den sorumlu bulunmaktadır (454, 506). TRIOBP/Triobp geni transkriptlerinin alternatif olarak kırılması sonucunda uzun, kısa-N ve kısa-C olmak üzere üç farklı varyant grubu ortaya çıkmaktadır (454, 491, 506). Uzun TRIOBP'lerde çok sayıda N-terminal tekrar dizisini takiben PXXP tekrarlarından oluşan PR domaini, PH (pleckstrin homology) domaini ve C-terminal CC domaini yer almaktadır. Kısa-N varyantlarında sadece N-terminal tekrar dizileri ile PR domaini, kısa-C izoformlarında

ise PH ve CC domainleri bulunmaktadır (454, 506). PR domainleri SH3 domainlerinin bağlanması için hedef teşkil etmektedir (291). PH domainlerinin fosfolipid, F-aktin ve aktin ile ilişkili proteinlere bağlanmayı sağladığı bildirilmektedir (491, 507). Dimerizasyondan sorumlu CC domainlerinin çubuk benzeri yapılar oluşturarak –aktinin de aralarında yer aldığı- çeşitli proteinlere bağlanmada rol oynadığı bildirilmektedir (334, 491).

Ekspresyon çalışmaları, kısa-C varyantlarının çok sayıda dokuda eksprese olurken uzun izoformların ekspresyonlarının iç kulak, retina ve beyin ile sınırlı kaldığını, kısa-N izoformlarının ise yüksek düzeyde retinada ve az miktarda iç kulakta bulunduğunu göstermiştir (454, 506). Antikorlar çalışmaları, Triobp'nin stereosillerde aktin filamentleri boyunca lokalize olduğunu ortaya koymuştur (506).

Maya iki-hibrid taramasında Triobp'nin Trio ile etkileştiği saptanmıştır (491). Rho GTPazları aktive eden Dbl-*homology* GEF ailesinin bir üyesi olan Trio'nun hücre gereksinimlerine (örneğin, hücre büyümesi ya da göçü) göre aktinin organizasyonunun yeniden düzenlenmesinde rol oynadığı bildirilmektedir (54, 490). Ektopik olarak eksprese edildiğinde doğrudan F-aktine bağlandığı saptanan Triobp'nin, aktin stabilizasyonu ve hücre-iskeletinin regülasyonunda rol oynadığı ileri sürülmektedir (491).

2.4.2. Hücre Adezyon Moleküllerini Kodlayan Genler

2.4.2.1. CDH23 (DFNB12)

Prelingual dönemde ortaya çıkan ağır-çok ağır düzeydeki duyma kaybı ile ilişkili DFNB12'den sorumlu CDH23 geni, kaderin-23 (otokaderin)'ü kodlamaktadır (65, 81). Kaderinler hücre-hücre adezyonu oluşturan transmembran proteinlerdir. Kaderinlerin ekstrasellüler domainlerinde ektodomain adı verilen tandem kaderin motifleri (ekstrasellüler kaderin [EK] tekrarları) bulunmaktadır. Karşılıklı hücrelerin membranlarında yerleşik kaderinlerin EK tekrarları Ca^{+2} varlığında birbirleri ile homofilik etkileşimler göstermekte ve dayanıklı intersellüler yapılar oluşturmaktadır (402, 425). Kaderin-23'ün ekstrasellüler N-terminal sinyal peptidi ve 27 EK tekrarını bir transmembran (TM) domain ve sitoplazmik C-terminalde yer alan PLM (distal PLM, dPLM) izlemektedir (59, 62, 431). CDH23/Cdh23 transkriptinin sitoplazmik domaininin iç kısmında ilave PLM (proksimal PLM, pPLM) kodlayan bir *insert* taşıyan 68. eksonunun alternatif olarak kırılması sonucunda kaderin-23A (+68) ve -23B (-68)

izoformları ortaya çıkmaktadır (59, 65, 129, 510). Kaderin-23A iç kulakta eksprese olurken kaderin-23B'yi kodlayan mRNA'lara aralarında koklea, beyin ve nöronal retinanın da bulunduğu çok sayıda dokuda rastlanmaktadır (510). Kaderin-23A sahip olduğu pPLM ile harmoninin PDZ1 domainine ve dPLM ile de PDZ2 domainine bağlanmaktadır (59, 510). Hücre içi sinyal iletiminin düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülen kaderin-23C izoformu ise sadece C-terminal sitoplazmik bölgeden oluşmakta ve sentrozomlarda lokalize olmaktadır (294).

Cdh23 geninin endokoklear ekspresyonu, saç hücreleri ve Reissner membranı ile sınırlı kalmaktadır (59, 61, 128, 624). Saç hücrelerinin gelişimi sırasında kaderin-23A stereosiller arasında geçici bağlantılarda lokalize olmaktadır (59, 364, 510). Gelişimi tamamlayan saç hücrelerinde kaderin-23A peri-kutiküler alanda, kaderin-23B ise kinosilyum ile en uzun stereosil arasında yer almaktadır (294, 364).

Cdh23 geninde homozigot mutasyon taşıyan waltzer (*v*) farelerinde (Cdh23^{v/v}) yapılan histolojik çalışmalarda, embriyonik dönemde stereosiller arasındaki mesafelerin arttığı ve DSH'lerdeki saç demetlerinin "V/W" şeklindeki organizasyonlarının bozulmuş olduğu görülmüştür. Postnatal dönemde DSH'lerde stereosil sayısının azaldığı, İSH'lerde ise saç demetlerinin "U" şeklindeki organizasyonlarının defektif olduğu ve kinosilyumların normal yerleşimlerini kaybettiği gözlemlenmiştir (128, 217, 594, 624). Cdh23^{v/v}'lerden elde edilen bulgular ile saç hücrelerindeki lokalizasyonu birlikte değerlendirildiğinde, kaderin-23'ün gelişimsel dönemde stereosiller arası geçici bağlantıların oluşturulmasından ve saç demetlerinin devamlılığında sorumlu olduğu bildirilmektedir (128, 294, 364, 624).

2.4.2.2. PCDH15 (DFNB23)

Prelingual duyma kaybı ailelerinde kritik bölge analizi ve aday gen yaklaşımı ile tanımlanan PCDH15 geni, protokaderin-15'i kodlamaktadır (13). Protokaderinler, Ca⁺² a bağlı hücre-hücre adezyon moleküllerinden kaderin gen ailesinin en büyük alt-ailesini oluşturmaktadır. Protokaderinleri klasik kaderinlerden ayıran özellik ektodomainleri kodlayan farklı dizilere sahip olmalarıdır (166, 474). Kaderinlere kıyasla protokaderinler zayıf homofilik etkileşimler göstermektedir (166). Buna karşılık heterofilik etkileşim yetenekleri bulunmaktadır (533).

PCDH15 geni, üçü uzun diğer ikisi kısa olmak üzere beş farklı protokaderin-15 izoformu kodlamaktadır. Uzun protokaderin-15 izoformlarında (protokaderin-15-CD1, -

CD2 ve -CD3) 11 EK tekrarı, bir TM domaini ve intrasellüler kısımda ise iki PR domaini ve bir PLM yer almaktadır (10, 14, 16). Uzun protokaderin-15 izoformları birbirlerinden farklı uzunluktaki sitoplazmik kısımları ve bunlarda yer alan farklı PLM'ler ile ayrılmaktadır (10). Kısa izoformlardan protokaderin-15- Δ EC1-8'de bir N-terminal sinyal peptidi ve üç EK tekrarı bulunmaktadır. Protokaderin-15- Δ EC1-8 ile uzun protokaderin-15 izoformları arasında EK tekrarlarından C-terminale kadar olan kısımdaki genel domain organizasyonu açısından farklılık bulunmamaktadır (13). Bir diğer kısa izoform olan protokaderin-15-SI'de C-terminal sitoplazmik domain bulunmamaktadır. Uzun izoformlardaki ilk 10 EK tekrarından oluşan bu izoformun hücreden salındığı ileri sürülmektedir (10).

Farede *Pcdh15* geni, -özellikle embriyonel dönemde- polarize olmuş epitelyal yapılara sahip, silli hücrelerden oluşan dokularda eksprese olmaktadır (16, 384). Fetal kokleada destek hücreleri ile dış sulkus ve spiral ganglion hücrelerinde eksprese olan protokaderin-15'in, mikrovilluslardan farklılaşan stereosiller boyunca yerleşik olduğu ve ayrıca kutiküler plakta bulunduğu bildirilmektedir (13, 17, 448).

Pcdh15 geni mutasyonları için homozigot olan *Ames waltzer* (*av*) farelerinde (*Pcdh15^{av/av}*) yapılan histolojik çalışmalar, erken postnatal dönemde DSH ve İSH'lerdeki saç demeti organizasyonlarının kokleanın bazal kısımlarından başlayarak bozulduğunu, izleyen süreçte saç hücreleri, spiral ganglion hücreleri ve destek hücrelerin ortadan kalktığını ve sonuçta Korti organının çöktüğünü göstermiştir (16, 199). *PCDH15/Pcdh15* geninin zebra balıklarındaki iki paralogundan iç kulağa spesifik olan *Pcdh15a* geninde mutasyon taşıyan *orbiter* (*orb*) larvalarında (*Pcdh15a^{orb/orb}*) yapılan çalışmalarda da saç demeti organizasyonlarının ilerleyici bozulma gösterdiği saptanmıştır (489). *Pcdh15^{av/av}* ve *Pcdh15a^{orb/orb}* lardan elde edilen bulgulara dayanılarak, protokaderin-15'in postnatal saç hücrelerinde stereosiller arasındaki yatay bağlantıların oluşturulmasında görev aldığı ileri sürülmüştür (13, 145, 448).

Protokaderin-15, PLM domaini aracılığı ile harmoninin PDZ2 domainine ve sitoplazmik domaini ile de miyozin VIIa'nın SH3-MyTH4 domain segmentine bağlamaktadır (5, 447, 501). Protokaderin-15'in PDZ-PLM etkileşimi aracılığı ile bağlandığı harmonin-b üzerinden aktin hücre-iskeletine tutunduğu bildirilmektedir (5). *Myo7a^{sh1/sh1}* ile *Pcdh15^{av/av}* larda yapılan çalışmalar, protokaderin-15'in stereosillere miyozin VIIa tarafından taşındığını ve miyozin VIIa'nın stereosillerde fonksiyon

gördüğü spesifik lokalizasyonlara protokaderin-15 aracılığı ile yerleştiğini göstermiştir (501). Diğer taraftan, *Pcdh15^{av/av}* saç hücrelerinde MED'in gerçekleşmediği gözlemlenmiştir (501). Uç bağlantılarına spesifik olarak bağlanan antijenin protokaderin-15 olduğu ve protokaderin-15-CD2 ve -CD3 izoformlarının stereosillerin apikal uçlarında MED kanal kompleksi ile ko-lokalizasyon gösterdiği ortaya konmuştur (10). *Myo7a^{sh1/sh1}*, lerde de MED'in gerçekleşmediği (497) ve harmoninin MED kanal kompleksinin yer aldığı stereosillerin apikal uçlarında lokalize olduğu gösterilmiştir (5, 59). Bu veriler, stereosillerde harmonin-b, miyozin VIIa ve protokaderin-15'in katıldığı fonksiyonel bir UPI'nin uç bağlantılarının yapısını oluşturarak ya da ses kaynaklı titreşimlerin meydana getirdiği uç bağlantısı gerilimlerine karşı güç oluşturarak MED kanallarının açılıp kapanmasında rol oynadığını düşündürmektedir. Ayrıca, protokaderin-15'in saç hücrelerinin sinapslarında harmonin-a1'in organizatörlüğündeki bir UPI'nin bileşeni olduğu ileri sürülmektedir (448; bk. 2.4.1.5.1.).

2.4.3. Yapısal Proteinleri Kodlayan Genler

2.4.3.1. COCH (DFNA9)

Yaşamın 2.-3. dekadında yüksek frekansların tutulumu ile kendini gösterip 5.-6. dekadlarda anaküsis ile sonuçlanan progresif sensorinöral duyma kaybı ile ilişkili DFNA9'dan sorumlu olan COCH geni, koklini kodlamaktadır (343, 460). Koklinin dört farklı izoformu (koklin-16, -40, -44 ve -60) bulunmaktadır (50, 281, 459). En uzun izoform olan koklin-60, N-terminalde yer alan kısa sinyal peptidini takip eden bir *Limulus* faktör C-homolog (FCH/LCCL) domain ve iki von Willebrand faktör A (*vWFA1* ve *vWFA2*) domaini içermektedir. Koklin-40 ve -44'te FCH/LCCL domainleri bulunmamakta iken koklin-16 (koklin-tomoprotein, KTM) sadece FCH/LCCL domaininden oluşmaktadır (50, 227, 228, 431, 459). FCH/LCCL domaini otonom katlanma özelliğine sahiptir (321). *vWFA* domainleri ise daha çok ekstrasellüler matriks (ESM) proteinlerinde yer almaktadır (50, 555).

Koklin iç kulaktaki ESM'nin kollajen olmayan majör bileşenini oluşturmaktadır (227, 459). KTM dışındaki koklin izoformları spiral ligament, spiral lumbus ve spiral laminada eksprese olmaktadır (341, 458, 461). Koklin eksprese eden endokoklear dokular mezoderm kökenlidir (458). Koklin-60'ın proteolitik kesiminden oluşan KTM'nin perilenfe salındığı bildirilmektedir (228).

DFNA9 olgularının temporal kemiklerinde yapılan histopatolojik incelemeler, spiral limbus, spiral lamina ve spiral ligamentte asidofilik/eozinofilik atıkların biriktiğini ve izleyen süreçte fibrositlerde atrofi meydana geldiğini göstermiştir (268, 359). HeLa hücrelerinde yapılan çalışmalarda ise mutant koklin-60 moleküllerinin ESM'de biriktiği gözlemlenmiştir (189). Bu bulgulara dayanılarak DFNA9'un, mutant protein toksisitesi nedeni ile fibrositlerin ortadan kalkması sonucunda endokoklear iyon homeostazının bozulması ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (458).

FCH/LDDL domaininin, gram-negatif bakterilerin yüzeylerindeki majör komponent olan LPS'ye bağlanabilme özelliğinde olduğu bildirilmektedir (551). Buna göre özellikle oval pencere aracılığıyla kulağın dış kısımları ile ilişkide olan perilenfe salınan KTM'nin enfeksiyonlara karşı savunmada rol oynadığı ileri sürülmektedir (228).

2.4.3.2. COL11A2 (DFNA13 ve DFNB53)

Daha çok postlingual dönemde orta frekansların tutulumu kendini gösteren ve ilerleyerek tüm frekanslarda ağır-çok ağır duyma kaybı ile sonuçlanan DFNA13 ile prelingual çok ağır duyma kaybı ile karakterize DFNB53'ten sorumlu olan COL11A2 geni, kollajen $\alpha 2(XI)$ zincirini kodlamaktadır (52, 71, 85).

Kollajenler, her biri Gly-X-Y tripeptid dizileri içeren üç α zincirinden oluşmaktadır. Bir araya gelen α zincirleri birbirlerine sarılarak ve birbirleri etrafında dönerek kollajen fibrilini meydana getirmektedir. Gly-X-Y tripeptidleri α zincirleri arasındaki etkileşim açısından oldukça önemlidir. Tripeptid dizisinin birinci pozisyonunda bulunan glisin doğadaki en küçük aa olup üç α zincirinin bir araya gelebilmesi için büyük öneme sahiptir. X pozisyonunda genellikle prolin, Y pozisyonunda ise hidroksiprolin bulunmaktadır. Prolin ve hidroksiprolinin, α zincirlerinden oluşan üçlü sarmalın stabilitesinin sağlanması için gerekli olduğu bildirilmektedir. Fibril oluşturan kollajenler sınıfında yer alan kollajen XI, fibrilogeneizde kollajen fibrillerinin lateral gelişiminde rol oynamaktadır (277, 388, 431).

Col11a2 geninin ekspresyonu, P1-5'te iç sulkusun köken aldığı büyük epitelyal sağrı ve tektoryal membranın oluşumuna katılan yan duvarda izlenmekte iken P13 civarında iç sulkus ile Cladius ve Boettcher hücrelerine doğru kaymaktadır (355, 509).

Transjenik Col11a2^{-/-} fare modellerinde elektron mikroskobu ile yapılan incelemeler, tektoryal membrandaki kollajen fibrillerinin organizasyonunun bozulmuş olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, Col11a2 geninin kokleadaki erken postnatal ekspresyon paterni ile birlikte ele alındığında, XI kollajenin tektoryal membranın önemli bir komponenti olduğunu ortaya koymaktadır (355).

2.4.3.3. OTOA (DFNB22)

Orta-ağır düzeydeki prelingual duyma kaybı ile karakterize DFNB22'den sorulu olan OTOA geni, iç kulağa spesifik bir protein olan otoankorini kodlamaktadır (670). Otoankorinin aminoasit dizisi mezotelin ve başka bir koklear protein olan stereosilin ile zayıf homoloji göstermektedir (240, 670). Otoankorinin, substrat adezyonunda rol oynayan mezotelin gibi glikosilfosfatidilinositol (GPI) ile ilişkili bir membran proteini olabileceği ileri sürülmektedir (670). Diğer taraftan, C-terminal kısımları arasında homoloji saptanan otoankorin ve stereosilinin birbirleri ile etkileşiyor olabilecekleri düşünülmektedir (240).

Otoankorinin fare kokleasındaki ekspresyonu tektoryal membranın iki tutunma bölgesinde saptanmıştır. Kalıcı ekspresyonun görüldüğü ilk bölge spiral limbusun üst yüzeyi olup otoankorinin buradaki ekspresyonu, tektoryal membranın limbal bölgesi spiral limbusa tamamen tutunana kadar izlenebilmektedir. Otoankorin ekspresyonunun geçici olarak saptanabildiği ikinci bölge ise tektoryal membranın altında homojen bir şerit halinde uzanan ve gelişmekteki duysal epitelyum ile ilişkide olan bölgedir. Kokleadaki esas yerleşimi dolayısıyla otoankorinin rolünün tektoryal membranın spiral limbusa bağlı kalmasını sağlamak olduğu düşünülmektedir (670). Diğer bir modelde, MED'in oluşumu için saç demetleri ile bunların üzerlerinde uzanan asellüler jel yapıları arasında olması gereken etkileşimin otoankorin-stereosilin sistemi ile gerçekleştiği ileri sürülmektedir (240; bk. 2.4.3.4.).

2.4.3.4. STRC (DFNB16)

Düşük ve orta frekanslarda orta, yüksek frekanslarda ağır düzeyde duyma kaybı ile ilişkili olan DFNB16'dan sorumlu STRC geni stereosilini kodlamaktadır (589, 592). Fonksiyonu bilinmeyen stereosilinin stereosillerde lokalize olduğu bildirilmektedir (589). N-terminalinde bir sinyal peptidi yer alan stereosilinin hidrofobik rezidülere sahip C-terminali DFNB22'den sorumlu OTOA'nın kodladığı otoankorinin C-terminali ile homoloji göstermektedir (240, 589). Bu homolojiye dayanılarak geliştirilen bir

modele göre, MED kanallarının açılması için gerekli olan saç demetlerinin bükülmesi sırasında meydana geldiği düşünülen saç demeti-asellüler jel etkileşiminde otoankorin-stereosil bağlanması rol oynamaktadır. Bu modelde, otoankorin asellüler jel yapısı, stereosilin ise saç demeti tarafındaki partner olarak tanımlanmaktadır (240; bk. 2.4.3.3.).

2.4.3.5. TECTA (DFNA8/12 ve DFNB21)

Prelingual, non-progresif, orta frekans duyma kaybı formu DFNA8, pre-/postlingual, progresif, orta-yüksek frekans duyma kaybı formu DFNA12 ve tüm frekanslarda prelingual duyma kaybı formu DFNB21'den sorumlu olan TECTA geni, α -tektorini kodlamaktadır (52, 188, 274, 387, 396, 586, 587).

α -tektorinin domain organizasyonu, N-terminalde bir sinyal peptidi, bir entaktin G1 (ENT) domaini, dört von Willebrand faktör D (vWFD1-4) tekrarından oluşan bir zonadesin (ZA) domaini, bir zona pellusida (ZP) domaini ve C-terminalde hidrofobik bir bölgeden oluşmaktadır (305). ZP, memelilerde yumurtayı saran ekstrasellüler bir örtü proteindir ve ZP domaini filament oluşumunda görev almaktadır (241, 305). ZA ise spermin dış kısmında bulunan başka bir örtü proteindir ve ZP'ye bağlanabilme yeteneğindedir (305, 548). vWFD1-4 tekrarları protein multimerizasyonunu sağlayarak filament/jel oluşumunda rol oynamaktadır (305).

Tecta geninin ekspresyonu iç kulağa özgüdür. Embriyonal dönemde büyük ve küçük epitelyal sağrı ile Hensen hücrelerinde eksprese olan Tecta, postnatal dönemde tektoryal membranın oluşumunda yer alan spiral limbusta ekspresyon göstermektedir (305, 445). α -tektorin prekürsörü GPI ile bağlı olduğu hücre membranından proteolitik kesim ile salınmaktadır. α - ve -sadece ZP domaini bulunan- β -tektorinler, ZP-ZP ya da ZA-ZP domain etkileşimleri ile homomerik veya heteromerik filament oluşturmakta ve tektoryal membranın kollajen olmayan matriksinin oluşumunu sağlamaktadır (305, 431).

Hedeflenmiş mutasyon tekniği kullanılarak α -tektorinin ENT domaininin delesyona uğratılması sonucunda elde edilen fareler (Tecta ^{Δ ENT/ Δ ENT}) ile insanda 50-80 dB duyma kaybı ile ilişkili olan TECTA genindeki p.Y1870C mutasyonu için *knock-in* (KI) fare modellerinde (Tecta^{Y1870C/Y1870C}) yapılan incelemeler, kollajenlerin tektoryal membranda bulduklarını ancak kendi aralarında organize olamadıklarını, kollajen olmayan matrikste yer alan β -tektorin ve otojelin gibi glikoproteinlerin tektoryal membranda yer almadığını göstermiştir. Erişkin Tecta ^{Δ ENT/ Δ ENT} ve

Tecta^{Y1870C/Y1870C},lerde yapılan histolojik incelemelerde ise tektoryal membranın spiral limbustan ayrılmış ve Korti organı ile ilişkisinin kesilmiş olduğu saptanmıştır. Elde edilen bulgulara dayanılarak α -tektorinin, tektoryal membrandaki kollajenlerin organizasyonu ile kollajen olmayan matriksin ve tektoryal membran ile spiral limbus arasındaki bağlantının stabilitesi için gerekli olduğu ileri sürülmektedir (303, 304).

Tecta ^{Δ ENT/ Δ ENT},lerden elde edilen fizyolojik veriler tektoryal membranın DSH'lerin baziler membrandaki vibrasyonlara doğru kazanım ve zamanlama ile geribeslemede bulunduğunu ve bu sayede “koklear çoğaltıcı”ya katkı sağladığını ortaya koymuştur (303). Tektoryal membran ile nöroepitelyal yüzeyin irtibatının kesilmediğini ancak aradaki mesafenin artmış olduğu Tecta^{Y1870C/wt},lerde yapılan çalışmalar ise tektoryal membranın Hensen hücreleri üzerinde uzanan retiküler lamina ile etkileşerek de “koklear çoğaltıcı”ya katkı sağladığını göstermiştir (304).

2.4.4. İyon Homeostazında Rol Oynayan Proteinleri Kodlayan Genler

2.4.4.1. CRYM

cDNA mikroçip analizleri ile iç kulakta yüksek düzeyde ekspresyon gösterdiği saptanan CRYM geninin, aday gen yaklaşımı ile duyma kaybı popülasyonunda taranması sonucunda orta-ağır düzeydeki ODNSDK ile ilişkili olduğu saptanmıştır (1).

CRYM geni, tiroid hormonuna bağlanan sitosolik bir protein olan μ -kristalini kodlamaktadır (1). Tiroid hormonuna bağlanan proteinler, T3 ve T4'e sitoplazmada yüksek afinite ile bağlanmakta ve intrasellüler tiroid hormonlarının homeostazında rol oynamaktadır (591).

Ekspresyon analizleri, Crym geninin fare kokleasında spiral ligamentin lateral fibrositleri ile spiral limbus fibrositlerinde eksprese olduğunu göstermiştir (1). Spiral ligament ve spiral limbus fibrositlerinin endokoklear potansiyel oluşumu ve K⁺ homeostazına katılmaktadır (604). T3, çeşitli dokularda Na, K-ATPaz alt-ünitelerinden α 1 (Atp1a1) ve β 1 (Atp1b1)'in ekspresyonunu sağlamaktadır (158, 408). Bu verilere dayanılarak yapılan çalışmalar, μ -kristalin ve Na, K-ATPaz ekspresyonlarının spiral ligamentin lateral duvarında yer alan tip II fibrositlerde örtüştüğünü göstermiştir (414). Fonksiyonel analizlerde, mutant μ -kristalin moleküllerinin T3'leri hücre nükleusuna taşıyamadıkları görülmüştür (414). Diğer taraftan, hipotiroidi kaynaklı duyma kaybı olan hayvanların koklealarında Atp1a1 ve Atp1b1'lerin ekspresyon düzeylerinin

azaldığı bildirilmiştir (669). Elde edilen veriler ışığında, μ -kristalinin T3'leri spiral ligamentin tip II fibrositlerinin nükleuslarına taşıyarak Na, K-ATPaz ekspresyonunu sağladığı ve dolayısıyla endokoklear K^+ homeostazına katıldığı ileri sürülmüştür (414).

2.4.4.2. Gap Junction Proteinleri

GJ protein (konnesin [Cx]) ailesi moleküler ağırlıkları 26-60 kDa arasında değişen en az yirmi üyeden oluşmaktadır. İnsanda α -, β -, γ - ve ϵ -Cx'ler olmak üzere en az dört sınıf tanımlanmıştır. α -Cx sınıfı yüksek (>37 kDa), β -Cx sınıfı ise düşük (<32 kDa) moleküler ağırlığına sahip üyelerden oluşurken diğer sınıflardaki Cx'lerin moleküler ağırlıkları 31-47 kDa arasında değişmektedir. İntrasellüler N- ve C-terminallere sahip olan Cx'lerin domain organizasyonu dört transmembran (M1-M4), iki ekstrasellüler ve bir intrasellüler domainden oluşmaktadır (149, 623).

Altı Cx bir araya gelerek konekson adı verilen homomerik ya da heteromerik bir yarı kanal meydana getirmektedir. Komşu hücrelerde karşılıklı olarak lokalize aynı ya da farklı iki konekson birleşerek homotipik ya da heterotipik bir GJ oluşturmaktadır. Formasyonlarında görülen bu çeşitli kombinasyonlar, GJ'lere fonksiyonlarında, boyutlarında ve açılıp kapanmalarında farklı özellikler kazandırmaktadır. GJ'ler, boyutları 1 kDa'na kadar olan iyon, metabolit ve ikinci haberci gibi küçük moleküllerin difüzyonuna izin vererek komşu hücreler arasında iletişim sağlamaktadır (149, 512).

Korti organının destek hücreleri ile spiral limbus ve stria vaskularis arasında lokalize olan GJ sistemi kokleadaki K^+ homeostazı, endokoklear potansiyel oluşumu ve destek hücreleri arasında madde geçişinde rol oynamaktadır (271, 604, 659).

2.4.4.2.1. GJB2 (DFNA3 ve DFNB1)

Prelingual dönemde çok değişken odyolojik fenotipler ile kendini gösteren DFNA3 ve DFNB1 ile ilişkili olan GJB2 geni, Cx26'yı kodlamaktadır (346). Cx26'nın erişkin kokleada duyuşal olmayan epitelyal hücreler, stria vaskularisin bazal hücreleri, spiral ligamentin tip I ve II fibrositleri, spiral limbus, destek hücreleri ve mezenşimal hücrelerde bulunduğu (249, 298, 299, 628) ve bu ekspresyon paterninin endokoklear K^+ sirkülasyonu ile örtüştüğü bildirilmektedir (272).

İnsandaki dominant negatif p.R75W mutasyonu için transjenik fareler (Gjb2^{R75W/wt}) ile kokleanın destek hücrelerine spesifik olan Otog geninin promotörünün kontrolü altındaki Cre rekombinaz kullanılarak Cx26 ekspresyonunun sadece destek

hücrelerinde hedeflendiği farelerde ($Gjb2^{OtogCre/OtogCre}$) yapılan histolojik çalışmalarda, DSH ile destek hücrelerinde kayıp, İSH'lerde dejenerasyon, ribon sinapslarının yapısında bozulma ve Korti organında deformasyon olduğu gözlemlenmiş ancak endokoklear K^+ iyon homeostazının bozulmadığı saptanmıştır (93, 285). $Gjb2^{OtogCre/OtogCre}$ lerde gerçekleştirilen çalışmalar, İSH ve DSH'ler ile bunların destek hücrelerinde apoptozun meydana geldiğini göstermiştir (93).

Fonksiyonel çalışmalar, mutant Cx26'ların oluşturduğu kanalların iyonlardan daha büyük moleküllere karşı geçirgenliklerinin değişmiş olduğu göstermiştir (656). Bu bulguya dayanılarak Cx26'nın, koklear hücreler arasındaki iyonlar, sinyal molekülleri, metabolitler vb. gibi yaşamsal maddelerin karşılıklı geçişine dayanan hücre-hücre iletişiminde rol oynadığı düşünülmektedir (658).

Bugüne kadar NSDK'ya yol açan 100'ün üzerinde GJB2 mutasyonu tanımlanmış bulunmaktadır (34). GJB2 mutasyonlarının ORNSDK'ların yaklaşık yarısından sorumlu olduğu bildirilmektedir (261, 520). Bunlardan 35delG mutasyonu tek başına ORNSDK'nın en yaygın nedenini oluşturmaktadır (169, 429, 431). Örneğin, 35delG mutasyonunun tüm GJB2 mutasyonlarına oranı Avrupa genelinde %72 ve Akdeniz toplumlarında %85'e kadar ulaşmaktadır (111, 127, 162, 429, 520, 655). 35delG mutasyonu için taşıyıcı sıklığı %2-4 olarak verilmektedir (176, 431). Ancak ülkeler arasında taşıyıcı sıklığı açısından büyük farklılıklar bulunmaktadır: İtalya'da %4, Yunanistan'da %3.5, İspanya'da %2.5, Tunus'ta %1.3 ve İran'da %1 (25, 147, 176, 349, 389). Güney- ve Uzak-Doğu Asya ülkeleri ile Orta Afrika ülkelerinde yapılan çalışmalarda ise 35delG mutasyonuna rastlanmamıştır (3, 198, 324, 422, 444, 477, 601, 608). Diğer taraftan Eşkenazi Yahudileri'nde 167delT, Japonya'da 235delC ve Afrika'da p.R143W mutasyonlarına sıklıkla rastlanmaktadır (70, 174, 376). Taşıyıcı sıklığının oldukça yüksek olması nedeni ile 35delG mutasyonun bulunduğu bölgenin mutasyonel *hot spot* olduğu öne sürülmüştür (127, 431). Ancak 35delG homozigot bireylerin küçük bir aralıkta aynı haplotip yapısını göstermesi, olası kurucu etkisine bağlanmakta ve bu mutasyonun ortak atanın gametlerinde ortaya çıkışı yaklaşık 10000 yıl öncesine tarihlenmektedir (574).

Moleküler genetik çalışmalar ülkemizdeki prelingual NSDK'ların yaklaşık %25'inin GJB2 genindeki mutasyonlardan kaynaklandığını ve 35delG mutasyonunun saptanan GJB2 mutasyonlarına oranının ~%75 olduğunu göstermiştir (35, 561, 543).

35delG mutasyonu için Türk toplumundaki taşıyıcı sıklığının %1.2-1.8 olduğu hesaplanmıştır (540, 561). 120delE ve IVS1+1G>A mutasyonları, 35delG'den sonra Türk toplumunda en sık görülen GJB2 mutasyonlarıdır (515, 540, 543).

2.4.4.2.2. GJB3 (DFNA2)

KCNQ4 ve henüz tanımlanmamış üçüncü bir gen ile birlikte, postlingual dönemde yüksek frekansların tutulumu ile ortaya çıkan progresif tipteki duyma kaybı formu DFNA2'den sorumlu olan ve ORNSDK ile de ilişkili olduğu bildirilen GJB3 geni, Cx31'i kodlamaktadır (186, 325, 631). Cx31, embriyonel dönemde kokleada mezenşimal orijinli hücrelerde, erişkin dönemde ise bazal kısımlarda spiral ligament ve spiral limbusun fibrositlerinde ve apikal kısımlarda Deiter ve Hensen hücrelerinde eksprese olmaktadır. Ayrıca spiral ganglion hücrelerinde de GJB3 geni transkriptlerine rastlandığı bildirilmektedir (330, 331, 629).

X'e bağlı, geç ortaya çıkışlı duyma kaybı formu olan DFN3'ten sorumlu POU3F4 geninin ortologu için *null* mutant olan farelerde (*Pou3f4^{-/-}*) yapılan çalışmalarda Na, K-ATPaz ve Na-K-Cl kotransportörü ile birlikte Cx31'in spiral ligament fibrositlerindeki ekspresyonunun azalmış olduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgular ışığında, Cx31'in spiral ligament ile spiral limbus aracılığı ile K⁺ iyon sirkülasyonu ve/veya endokoklear potansiyel oluşumunda rol oynadığı ileri sürülmektedir (630).

2.4.4.2.3. GJB6 (DFNA3 ve DFNB1)

GJB2 ile birlikte DFNA3 ve DFNB1'den sorumlu olan GJB6 geni, Cx30'u kodlamaktadır (122, 123, 191, 307, 421). Cx30, embriyonel dönemde sadece Korti organında, postnatal dönemde ise destek hücreleri, stria vaskularisin bazal hücreleri, interdental hücreler ile spiral ligament ve spiral limbusun fibrositlerinde eksprese olmaktadır (298, 299, 627).

Gjb6 geni için *null* mutant farelerde (*Gjb6^{-/-}*) yapılan incelemelerde Korti organındaki saç ve destek hücrelerinin apoptoza uğradığı, endokoklear potansiyelin ortadan kalktığı ve endolenfteki K⁺ konsantrasyonunun azaldığı saptanmıştır (546).

Aynı koklear yapılarda eksprese olan Cx30 ve Cx26'ların heteromerik GJ'ler meydana getirdikleri gösterilmiştir (8, 164). GJB6 genini etkileyen delesyonların (Δ GJB6), resesif GJB2 mutasyonları ile trans olarak digenik duyma kaybına neden olduğu bildirilmektedir (122, 123, 421). Gjb2 geninin bir kopyasını taşıyan BAC

(bacterial artificial chromosome) klonu için transjenik $Gjb6^{-/-}$ fare modellerinde (BAC^{Gjb2}/ $Gjb6^{-/-}$) yapılan analizler, artmış Cx26 ekspresyonunun $Gjb6^{-/-}$ farelerdeki duyma kaybı ile ilişkili koklear fenotipleri tamamen kurtardığını göstermiştir. $Gjb6^{-/-}$ farelerde yapılan ileri çalışmalarda, Cx30 ekspresyonunun yokluğunun Cx26'nın protein miktarında azalma ile ilişkili olduğu saptanmıştır (9). Bu veriler ışığında, resesif GJB6/ $Gjb6$ mutasyonlarından kaynaklanan duyma kayıplarının Cx26 düzeylerinin azalması ile ilişkili olduğu ve bu nedenle digenik DFNB1'in ortaya çıkışında Δ GJB6'nın bir nevi GJB2 *null* allel gibi davrandığı ileri sürülmüştür (532).

2.4.4.3. KCNQ4 (DFNA2)

GJB3 ve henüz tanımlanmamış üçüncü bir gen ile birlikte postlingual progresif yüksek frekans duyma kaybı formu DFNA2'den sorumlu olan KCNQ4 geni, voltaj kapılı bir K^+ kanal alt-ünitesi kodlamaktadır (186, 284). KCNQ ailesinin üyelerinde altı TM domaini (S1-S6) bulunmaktadır. S4 domaininde voltaj-algılayıcı motif, S5 ve S6 domainleri arasında yer alan bölgede ise bir *P-loop*'u ve K^+ iyonlarının seçilimi ile ilişkili GYGD (glisin-tirozin-glisin-aspartik asit) motifi yer almaktadır (457). *Kcnq4* kanallarına DSH'lerin bazal kısımlarında ve İSH'lerin hücre membranlarında rastlanmaktadır (267, 284, 410). KCNQ4 geni kokleada bazalden apeksine doğru azalan bir ekspresyon paterni göstermektedir (39).

KCNQ4 geni için *null* mutant fareler ($Kcnq4^{-/-}$) ile GYGD motifindeki ilk glisini değiştiren dominant negatif p.G286S mutasyonu için KI farelerde ($Kcnq4^{do.neg./wt}$) yapılan histolojik incelemeler, postnatal dönemde dejenere olmaya başlayan kokleanın bazalinde lokalize DSH'lerin 1 yaş civarında tamamen ortadan kalktığını göstermiştir. Daha yaşlı $Kcnq4^{-/-}$ ve $Kcnq4^{do.neg./wt}$ lerde kokleanın bazalinde yer alan İSH ve spiral ganglion hücrelerinin de dejenerasyona uğradığı saptanmıştır. Elektrofizyolojik çalışmalar ise, KCNQ4/ $Kcnq4$ ile ilişkili, DSH'lere özgü $I_{K,neo}$ akımının ortadan kalktığını göstermiştir (266, 267, 284, 344).

$Kcnq4^{-/-}$ ve $Kcnq4^{do.neg./wt}$ lerdeki DSH dejenerasyonu endolenften hücreye girmiş K^+ iyonlarının uzaklaştırılmasında rol oynayan $I_{K,neo}$ akımının yokluğu sonucunda meydana gelen kronik depolarizasyon ile ilişkilendirilmektedir (266, 267, 284). İSH'lerdeki dejenerasyon ise dinlenme fazındaki sub-membran Ca^{+2} konsantrasyonlarının kontrolünde rol oynayan KCNQ4/ $Kcnq4$ ilişkili $I_{K,slow}$ 'nın kaybına bağlı olarak membran potansiyellerinin değişmesine ya da intrasellüler Ca^{+2}

konsantrasyonlarının aşırı derecede artmasına bağlanmaktadır (410). KCNQ4/Kcnq4'ün kokleadaki asıl fonksiyonunun endolenften saç hücrelerine giren K^+ iyonlarının uzaklaştırılması olduğu düşünülmektedir (603, 604).

2.4.4.4. SLC26 Anyon Transportörleri

SLC26 anyon transportör ailesinin üyeleri, 22 rezidüden oluşan sülfat transportör konsensüs dizisini taşımaktadır. N- ve C-terminalleri sitoplazmik olan SLC26 anyon transportörlerinin genel domain organizasyonunu hidrofobik iç kısmı kapsayan 10-14 TM domaini, sülfat transport motifi, Saier motifi ve STAS (sulfate transporter and anti-sigma) domaini oluşturmaktadır (381). SLC26 transportörleri ile bakteriyel anti-sigma faktör antagonistleri arasındaki homolojiden yararlanılarak tanımlanan STAS domainini etkileyen mutasyonların proteinin hücre membranını hedeflemesini ve transport fonksiyonunu engellediği bildirilmiştir (26, 256, 660). Hidrofobik iç kısmının C-terminalinde yer alan ve NQE(D) konsensüs dizisinden oluşan Saier motifinin ise anyon transport fonksiyonu için kritik olduğu ileri sürülmektedir (471). C-terminalleri yüksek derecede değişkenlik gösteren aile üyelerinin bir kısmında PDZ domaini bulunmaktadır (381, 523).

SLC26 transportörleri çok sayıda mono- ve divalent anyonun transportunu sağlamaktadır. SLC26 substratları arasında SO_4^{2-} , Cl^- , I^- , HCO_3^- v.b. gibi anyonlar yer almaktadır (381). Bazı transportörler (örneğin, SLC26A6) hem monovalent hem de divalent anyonları transport edebilirken bazıları (örneğin, SLC26A4) sadece monovalent anyon transportunda rol oynamaktadır (235, 484, 523). Birçok SLC26 transportörü transport fonksiyonunun yanı sıra Cl^-/HCO_3^- değişimini de gerçekleştirmektedir (602). Yine bazı transportörlerin şeker gibi anyon özelliği gösteren moleküllerin transportunu da yaptıkları bildirilmektedir (82).

2.4.4.4.1. SLC26A4/PDS (DFNB4)

GVAD ve Mondini displazisinin eşlik edebildiği, prelingual çok-ağır derecede veya yüksek frekansları tutan, inişli-çıkışlı, progresif tipte duyma kaybı ile karakterize DFNB4'ten sorumlu olan SLC26A4/PDS geni sülfat transportör ailesinden pendrini kodlamaktadır (2, 78, 316, 485, 560). Diğer SLC26 transportörleri gibi sitoplazmik N- ve C-terminaller arasında yer alan 12 TM domaini ve STAS domaininden oluşan pendrinin, Cl^- ve I^- transport ettiği ve $Cl^-/format$, Cl^-/OH^- ve Cl^-/HCO_3^- değişimi yaptığı saptanmıştır (151, 484, 486, 522).

Farede yapılan çalışmalar, pendrinin İSH'ler, destek hücreleri, dış sulkus hücreleri, stria vaskularisin iç şeklindeki hücreleri, spiral *prominence*, spiral ligament, spirial ganglion, endolenfatik kanal ve kese ile utrikül ve sakkülün duysal epitelyumunda eksprese olduğunu göstermiştir (152, 466, 605, 649, 650).

Slc26a4/Pds geni için *null* mutant farelerde ($Pds^{-/-}$) yapılan histolojik incelemelerde, E15'ten itibaren endolenfatik yapıların genişlemeye başladığı, P1'de endolenfatik kanal ve kesenin genişlediği ve yine skala media'nın genişlemesinin bir sonucu olarak Reissner membranının kubbeleştiği saptanmıştır. $Pds^{-/-}$ farelerde tarayıcı elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda ise, koklear ve vestibüler saç hücrelerinin erişkinlikle birlikte dejenere olduğu, vestibüler organda saç hücrelerinin üzerinde uzanan otokoniyal membranın yapısının bozulduğu ve bunların üzerinde az sayıda olmakla beraber aşırı büyüklükte otokonilerin olduğu gözlemlenmiştir (150).

Duyuma ve denge kaybı olan, *Foxi1 null* mutant farelerde ($Foxi1^{-/-}$) yapılan kokleaya yönelik histolojik ve morfolojik çalışmalarda da $Pds^{-/-}$ farelerde gözlemlenenlere benzer değişimler saptanmıştır (222, 223). Fizyolojik ölçümler, endokoklear potansiyelin kaybolduğunu göstermiştir. Ekspresyon çalışmalarında ise Slc26a4/Pds ile *Foxi1*'in ekspresyon paternlerinin otik epitelyumda örtüştüğü, $Foxi1^{-/-}$ farelerde Slc26a4/Pds'nin otik epitelyumdaki ekspresyonunun ortadan kalktığı ancak kokleadaki varlığını sürdürdüğü görülmüştür (222).

$Pds^{-/-}$ ve $Foxi1^{-/-}$ farelerden elde edilen bulgulara dayanılarak pendrinin endolenfatik kanal ve kesede endolenfin emiliminden sorumlu olduğu ve dolayısıyla endolenfteki iyon homeostazına katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür. Buna göre, pendrin yokluğunda anyon transportunun gerçekleşmemesinin endolenfte osmotik değişimlere ve endolenfatik kanalda genişlemeye yol açtığı ve sonuçta oluşan ortamın saç hücrelerine toksik etki yaparak progresif dejenerasyona neden olduğu düşünülmektedir (150, 152, 431, 560).

2.4.4.4.2. SLC26A5/PRES

Düşük ve orta frekanslarda orta-ağır, yüksek frekanslarda ise çok ağır derecede duyma kaybı ile ilişkili olan SLC26A5/PRES geni prestini kodlamaktadır (322). Prestin sitoplazmik N- ve C-terminalleri arasına dağılmış 12 TM domaini, sülfat transport motifi ve STAS domaininden oluşmaktadır (661, 662). Prestinin, bağlandığı

intraselülere Cl⁻ iyonlarını voltaj sensörü olarak kullanarak voltajı mekanik enerjiye dönüştürdüğü ileri sürülmektedir (409).

Ekspresyon analizleri, prestinin koklear DSH'lere özgü olduğunu göstermiştir (7, 661, 663). İSH'ler ve DSH'ler arasında diferansiyel olarak eksprese olan prestin, anyon transportörü olduğu ve heterolojik ekspresyon sistemlerinde elektromotilite oluşturabildiği için koklear çoğaltıcı ile ilişkilendirilmektedir (109, 110, 178, 409, 663).

Slc26a5/Pres geni için *null* mutant farelerden (Pres^{-/-}) izole edilen DSH'ler üzerinde yapılan çalışmalar elektromotilitenin kaybolduğunu ortaya koymuştur (319). Histolojik çalışmalarda ise DSH'lerin boylarında normale göre %40 oranında bir azalma olduğu ve kokleanın bazalinde lokalize olan saç hücrelerinin progresif olarak ortadan kalktığı gözlemlenmiştir (322).

2.4.4.5. Tight Junction Proteinleri

Okludin, kaludinler ve JAM ailesi üyelerinden oluşan TJ'ler, ekstraselüler kompartmanlar arasındaki parasellüler geçirgenliği seçici olarak modüle eden ve epitelyal hücre polaritesinin kurulmasına/sürdürülmesine katkıda bulunan bağlantılardır (33). Çeşitli dokulardaki TJ'lerin arasında görülen farklı geçirgenlikler bu proteinler ve bunlar ile etkileşen diğer proteinlerin fonksiyonlarına bağlı bulunmaktadır (33, 554).

Komşu hücrelerin arasında yer alan TJ proteinleri kendi aralarında fibriller oluşturarak interselüler bir bariyer meydana getirmekte ve böylece parasellüler difüzyonu azaltmakta/engellemektedir (339). TJ'ler, ayrıca membran-ıçer bariyerler oluşturup komşu epitelyal hücrelerin apikal ve bazolateral hücre membran komponentlerinin lateral difüzyonunu sınırlayarak epitelyal hücre polaritesini sağlamaktadır (80). TJ'lerin yapısını oluşturan transmembran proteinlerin aktin hücre-iskeleti ve diğer membran proteinleri ile etkileşimleri, sinyal iletiminin kontrolünde de rol oynamaktadır (351).

İç kulakta retiküler laminadaki TJ sistemi, farklı iyon kompozisyonlarına sahip endolenf ve perilenf arasındaki kompartmanlaşmayı sağlamaktadır. Saç hücreleri ile bunların destek hücrelerinin apikal membranları, kompleks bir TJ sistemi aracılığı ile birbirlerine bağlanmış bulunmaktadır (276, 452).

2.4.4.5.1. CLDN14 (DFNB29)

Konjenital çok ağır derecede duyma kaybı ile karakterize DFNB29'dan sorumlu olan CLDN14 geni, klaudin-14'ü kodlamaktadır (620). Klaudin-14 ile birlikte 24 üyeden oluşan klaudin gen ailesinin üyeleri, TJ'ler arasındaki fibrillerin majör bileşenleri olup parasellüler bariyerlerin şarj ve büyüklüğüne bağlı geçirgenliklerinin belirlenmesine katkıda bulunmaktadır (554, 572). Klaudinler, dört TM domainine ve ZO proteinlerinin PDZ domainleri tarafından tanınan CTD'lere sahip bulunmaktadır (553).

Farelerde yapılan çalışmalar, klaudin-14'ün Korti organındaki saç ve destek hücrelerinde eksprese olduğunu göstermiştir (43, 620).

Cldn14 geni için KO fare modellerinde (Cldn14^{-/-}) yapılan histolojik incelemelerde, P10-13'ten itibaren saç hücrelerinin dejenere olmaya başladığı ve sonuçta tamamen ortadan kalktığı saptanmıştır (43).

Klaudin-14'ün, ekstrasellüler bölgesindeki sekiz bazik rezidüsü sayesinde Na⁺ ve K⁺ iyonlarına karşı negatif seçicilik gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgu ve Cldn14^{-/-} saç hücrelerindeki dejenerasyonunun zamanlamasına dayanılarak klaudin-14'ün endolenf ile kortilenf arasında bariyer oluşturan retiküler laminadaki TJ'lerin yapısına katıldığı ve K⁺ iyonlarına karşı negatif seçicilik oluşturduğu ileri sürülmüştür (43).

2.4.4.5.2. TRIC (DFNB49)

Orta-çok ağır derecede duyma kaybı ile karakterize olan DFNB49'un altında yatan TRIC geni, trisellülini kodlamaktadır. İnsanda TRIC geni transkriptlerinden a, a1, b ve c olmak üzere dört farklı trisellülin izoformu sentezlenmektedir (452). Bütün izoformların N- ve C-terminal kısımları sitoplazmik özellik göstermektedir (226, 452). En uzun izoform olan trisellülin-a dört TM domainine ve C-terminal ELL domainine sahip bulunmaktadır. Trisellülin-a1'de farklı olarak TRIC geninin 3. eksonu tarafından kodlanan dizi yer almamaktadır. Trisellülin-b'de C-terminal ELL domaini bulunmazken trisellülin-c'de sadece iki TM domaini bulunmaktadır. Trisellülinin ELL domaininin doğrudan ZO-1'e bağlandığı gösterilmiştir (452).

Ekspresyon analizleri, trisellülinin büyük oranda epitel dokudan köken alan hücrelerde eksprese olduğunu göstermiştir (226). Trisellülin izoformlarından sadece trisellülin-a'nın iç kulakta bulunduğu ve DSH'ler ile bunların ilişkide olduğu destek

hücreler arasında, retiküler laminada ve saç hücrelerindeki kutiküler plakta lokalize olduğu bildirilmiştir (452).

Trisellülinin, üç epitel hücrenin birbirleri ile kurdukları bölgelerde bulunan trisellüler TJ'lerin majör komponenti olduğu saptanmıştır (226). Bu bulgu ışığında, normalde saç hücrelerindeki trisellüler TJ'lerin kutiküler plaktaki aktin moleküllerine bağlandığı ancak trisellülin ile okludin ve klaudinler gibi transmembran proteinleri aktine bağlayan ZO-1 (154) arasındaki etkileşimin gerçekleşmemesi durumunda retiküler laminanın dayanıklılığının azalacağı ve DSH elektromotilitesinin meydana getireceği strese dayanamayacağı ileri sürülmüştür (452).

2.4.4.6. TMC1 (DFNA36 ve DFNB7/11)

Postlingual, progresif duyma kaybı formu DFNA36 ile prelingual çok ağır düzeyde duyma kaybı ile ilişkili DFNB7/11'den sormunlu olan TMC1 geni, TMC (transmembrane channel-like) gen ailesinin üyesidir (262, 289, 593). Altı TM domaini olan TMC ailesi üyelerinin N- ve C-terminalleri intrasitoplazmikdir (262). Aralarında TMC1'in de yer aldığı bazı TMC üyelerinin N- ve C-terminallerine yakın bölgelerinde çok sayıda şarj rezidüsü ve C-terminallerinde PLM'ler bulunduğu ve TMC üyelerinin birçoğunun glikosilasyon, amidasyon, fosforilasyon, miristoyilasyon vb. gibi sekonder protein modifikasyonlarına hedef olabilecek çok sayıda motif/rezidü içerdiği bildirilmektedir (290). Bu yapıları dolayısıyla TMC'lerin iyon kanal genleri ya da regülatörleri oldukları düşünülmektedir (262, 290).

TMC1/Tmc1 geni koklear ve vestibüler saç hücrelerinde eksprese olmaktadır (289, 593). DFNA36 ve DFNB7/11 için model olan semi-dominant *Beethoven* (Bth; Tmc1^{Bth/wt} ve Tmc1^{Bth/Bth}) ve resesif *deafness* (dn; Tmc1^{dn/dn}) farelerinde yapılan histopatolojik incelemelerde, embriyonel dönemde gelişimleri normal olan DSH'lerin Tmc1^{dn/dn} ve Tmc1^{Bth/Bth} de erken postnatal dönemde, Tmc1^{Bth/wt} de ise P20'den itibaren progresif dejenerasyon gösterdiği, izleyen süreçte İSH'lerde patolojik değişimlerin başladığı ve P30 civarında saç hücrelerinin tamamen ortadan kalktığı gözlemlenmiştir (289, 593). Tmc1^{dn/dn} lerde saç hücrelerinin dejenerasyonundan önce yapılan elektrofizyolojik çalışmalar, MED'in gerçekleşmediğini ancak endokoklear potansiyelin normal olduğunu göstermiştir (58, 289, 524). Tmc1^{Bth/Bth} lerde ise I_{K,neo} ve I_{K,fast} akımlarının tamamen baskılanmış olduğu bildirilmiştir (262, 525). Bu bulguya

dayanılarak TMC1'in saç hücrelerinde -KCNQ4/Kcnq4 ve Kcnma1 başta olmak üzere-iyon kanallarının regülasyonunda rol oynadığı ileri sürülmektedir (262).

2.4.4.7. TMPRSS3 (DFNB8/10)

Prelingual duyma kaybı ile ilişkili olan DFNB10 ve postlingual duyma kaybı ile karakterize DFNB8'e neden olan TMPRSS3 geni, tip II transmembran serin proteaz (TTSP) ailesinden transmembran serin proteaz 3'ü kodlamaktadır (11, 487, 610, 609). N-terminalleri intrasellüler, C-terminalleri ise ekstrasellüler lokalizasyon gösteren TTSP'lerin karakteristik domain organizasyonunu bir TM domaini ve C-terminalde lokalize bir serin proteaz domaini oluşturmaktadır. TTSP'ler tek zincirli zimojenler olarak sentezlenmekte ve daha sonra aktivasyon motiflerinden kesilerek aktif hale geçmektedir (219). TMPRSS3'ün endoplazmik retikulum (ER)'da lokalize olduğu ve oto-katalitik aktivite gösterdiği bildirilmiştir (196).

Beş farklı TMPRSS3 izoformu (TMPRSS3a-e) bulunmaktadır. Koklea dahil birçok dokuda eksprese olan TMPRSS3a, genel TTSP domainlerine ek olarak bir LDLRA (low-density-lipoprotein receptor A) domaini ve bir SRCR (scavenger-receptor cysteine-rich) domaini içermektedir. LDLRA ve SRCR domainlerinin ekstrasellüler proteinler ile etkileşimde rol oynadığı ileri sürülmektedir. Kısa izoformlar olan TMPRSS3b ve TMPRSS3c'de TM ve LDLRA domainlerinin tamamı ile SRCR domaininin bir kısmı bulunmamaktadır. Diğer bir kısa izoform olan TMPRSS3d'de ise serin proteaz domaininin bir kısmı yer almamaktadır. En uzun izoform olan TMPRSS3e, TMPRSS3a'dan farklı olarak N-terminalde bir sinyal peptidi taşımaktadır (11, 487).

Fare ve sıçanlarda yapılan ekspresyon analizleri, Tmprss3'ün spiral ganglion, Korti organındaki destek hücreleri ve stria vaskulariste eksprese olduğunu göstermiştir (196).

Tmprss3'ün, endolenfin düşük Na^+ konsantrasyonunun sağlanması ve/veya sürdürülmesinde rol oynadığı bildirilen EnaC (101, 193) ile ko-lokalizasyon gösterdiği ve daha önce tanımlanmış TMPRSS3 mutantlarının ENaC'yi aktive edemediği gösterilmiştir. Bu bulguya dayanılarak ENaC'nin TMPRSS3/Tmprss3'ün substratı olduğu ileri sürülmüştür (196).

2.4.5. Transkripsiyon Faktörlerini Kodlayan Genler

2.4.5.1. EYA4 (DFNA10)

5.-6. dekada ortaya çıkan, orta ve yüksek frekansları etkileyen hafif-orta derecede progresif duyma kaybı ile karakterize DFNA10'dan sorumlu olan EYA4, *Drosophila* homologu eye absent (eya) transkripsiyon faktörü ailesinin üyesidir (432, 611). N-terminalde yer alan PST domaini ile C-terminaldeki eyaHR (eya-homolgy region) domaini EYA4'ün domain organizasyonunu oluşturmaktadır (66). PST domaini hedef genlerin transkripsiyonunu aktive ederken eyaHR domaininin EYA1-3'ün SIX ve DACH transkripsiyon faktörleri ile etkileşimini sağladığı ve muhtemelen EYA4'te de benzer bir rol oynadığı bildirilmektedir (63, 64, 611). İnsanda EYA4, biri 19. diğeri 20. eksonu içeren iki farklı izoform (EYA4-ex19 ve -ex20) kodlamaktadır (611).

İnsan ve kemirgen iç kulağına spesifik izoform EYA4/Eya4-ex20 olup gelişimsel süreçte önce otik vezikülde ve daha sonra koklea ve vestibüler organda eksprese olmaktadır (66, 611). Sıçanlarda Eya4 geni transkriptlerine E14.5-16.5'te stria vaskülaris ve Reissner membranını oluşturacak kısımlarda, E18.5'te ise spiral limbus, Korti organı ve spiral *prominence*'in köken alacağı kısımlarda rastlanmaktadır (611).

Eya transkripsiyon faktörleri ailesinin apoptozda rol oynadığı bildirilmiştir (91). DFNA10'nun kendini ancak 5.-6. dekadlarda gösterbilmesinin, EYA4'ün olası apoptotik (veya anti-apoptotik) rolü ile ilişkili olduğu öne sürülmektedir (432).

2.4.5.2. POU-Domain Genleri

POU-transkripsiyon faktörleri ailesi, POU-spesifik domain (POU_S) ve POU homeodomain (POU_H) olmak üzere iki parçadan oluşan POU-domain motifine sahip proteinlerden oluşmaktadır. POU_H, HOX ailesi üyeleri ile benzerlik göstermekte ve DNA'ya bağlanmayı sağlamaktadır. Ancak diğer HOX domainlerinin aksine POU_H'nin DNA'ya bağlanması yeteri kadar güçlü değildir. DNA'daki ATAATTAAT konsensüs dizisini tanıyan POU_S, POU_H'nin DNA'ya bağlanma afinite ve spesifitesini artırmaktadır (192, 431, 612).

2.4.5.2.1. POU3F4 (DFN3)

POU3F4 geni, üzengi fiksasyonu, koklea ve işitme kanalının dilatasyonu gibi orta ve iç kulak anomaliler ile üzengi ablasyonu sırasında perilenfin taşması gibi olaylar ile birliktelik gösteren, sensorinöral komponenti genç yaşta ortaya çıkan ve hızla

ilerleyerek ağır-çok ağır derecede duyma kaybı ile sonuçlanan, X'e bağlı karma tip duyma kaybı formu DFN3'ten sorumlu bulunmaktadır (72, 119, 393, 431). DFN3 ile ilişkili mutasyonların yaklaşık %67'sinin POU_S ve POU_H domainlerini, geriye kalan kısmının ise genin ~900 Kb yukarısında yer alan ~8 Kb'lık transkripsiyonel regülatör bölgeyi etkilediği bildirilmektedir (53, 120, 431).

Pou3f4 geni, gelişimsel süreçte ilk olarak E10.5'te otik kapsülün oluşumunu sağlayacak mezenşimal kondenzasyonda ve daha sonra kokleanın skala vestibüli ve skala timpani kısımları ile işitme kanalının iç kısmının köken aldığı otik kapsülün ventral kısmında eksprese olmaktadır (433). Pou3f4 transkriptlerine postnatal dönemde yüksek düzeyde spiral ligament fibrositlerinde ve daha az miktarlarda Reissner membranı, spiral limbusun köşesi ve spiral limbus ile spiral ganglion arasında kalan kısım olmak üzere mezenşimal orijinli koklear yapılarda rastlanmaktadır (366).

Pou3f4 geni için KO fare modellerinde (Pou3f4^{KO}) yapılan incelemelerde orta kulakta ve spiral ligament ile skala timpani başta olmak üzere koklear yapılarda patolojik değişimler bulunduğu ve endokoklear potansiyelin azaldığı saptanmıştır (366, 434).

Pou3f4^{KO}larda yapılan immünoaktivite çalışmalarında Na, K-ATPaz, Na-K-Cl kotransportörü ve Cx31'in spiral ligamentin tip II fibrositlerindeki ekspresyonlarının azaldığı gözlemlenmiştir (630). Elde edilen bulgulara dayanılarak, POU3F4/Pou3f4'ün endokoklear potansiyel oluşumu ve K⁺ homeostazında rol oynayan mezenşimal kökenli koklear yapılarda K⁺ transportundan sorumlu genlerin transkripsiyonunu sağladığı ileri sürülmüştür (366, 630).

2.4.5.2.2. POU4F3 (DFNA15)

2.-4. dekadlar arasında başlayıp ilerleyerek 5. dekatta tüm frekanslarda ortalama 70 dB'lik duyma kaybı ile sonuçlanan DFNA15'ten sorumlu olan POU4F3, E12.5'ten itibaren yüksek derecede koklear saç hücrelerinde eksprese olmaktadır (563, 632).

Pou4f3 KO ve spontan *dreidel* (ddl) fare modellerinde (Pou4f3^{-/-} ve Pou4f3^{ddl/ddl}) yapılan histolojik incelemeler, başlangıçta gelişimleri normal olan saç ve destek hücrelerinin işitmenin başladığı P14'e kadar ortadan kalktığını ve spiral gangliondaki nöronların dejener olmaya başladığını göstermiştir (212, 257).

Pou4f3^{-/-} farelerde, normalde spiral gangliondaki aferent sinirlerin gelişimi, şekillenmesi ve sürvilansını sağlayan nörotrofik faktörlerden BDNF ve NT-3'ün ekspresyonlarının azalmış olduğu saptanmıştır (155, 436, 633). Heterolojik ekspresyon sistemlerinde yapılan analizlerde, POU4F3/Pou4f3'ün BDNF ve NT-3'ün spesifik izoformlarının promotörlerine doğrudan bağlandığı belirlenmiştir (92). Pou4f3^{ddl/ddl¹}lerde ekspresyon mikroçipi kullanılarak yapılan çalışmalarda ise iç kulaktaki saç hücrelerinin oluşumu için gerekli olan Math1'in hedeflediği genlerden biri olan Gfi1 ve iç kulaktaki terminal mitozları takiben spesifik olarak saç hücrelerinde eksprese olan Lhx3'ün Pou4f3 tarafından hedeflenen genler arasında olduğu saptanmıştır (45, 211, 212, 224). Substraktif hibridizasyon tekniği kullanılarak yapılan çalışmalarda ise, Gata3 (567), p27^{Kip1} (252), Foxi1 (223), Eya1 (668), Fgfr3 (204) vb. gibi iç kulağın gelişiminde rol oynayan çok sayıda genin Pou4f3^{+/+} ve Pou4f3^{-/-} iç kulak hücre hatlarında farklı düzeyde eksprese olduğu görülmüştür (666).

2.4.5.3. TFCP2L3 (DFNA28)

Yaşamın 1.-2. dekadında tüm frekanslarda hafif-orta derecede duyma kaybı ile başlayan ancak ilerleyerek 5. dekad civarında yüksek frekanslarda ağır duyma kaybı ile sonuçlanan DFNA28'in altında yatan TFCP2L3 geni, *Drosophila granyhead* geninin memelilerdeki homologu TFCP2 gen ailesinin üyesidir (427).

TFCP2L3/Tfcp2l3'ün embriyonel dönemde yüksek, erişkin dönemde ise düşük düzeyde olmak üzere epitelyal dokularda eksprese olduğu bildirilmiştir (619). Farede yapılan *in situ* hibridizasyon çalışmaları, Tfcp2l3'ün E11.5'te otositlerde, E18.5'te koklear kanalın otik plakoddan köken alan epitelyal kısımlarında ve P5'te endolenfi içeren skala media'yı çevreleyen epitel hücrelerde eksprese olduğunu göstermiştir (427).

2.4.6. Vezikül Trafikinde Rol Oynayan Genler

2.4.6.1. OTOF (DFNB9)

Non-sendromik resesif işitsel nöropati (NSRİN) ile karakterize olan DFNB9 (NSRİN1)'dan sorumlu OTOF geni, otoferlini kodlamaktadır (462, 582). Otoferlin, disferlin ve miyoferlin ile birlikte FER1L protein ailesini oluşturmaktadır. Bu ailenin üyeleri *Caenorhabditis elegans* spermatogenez faktörü fer-1 ile oldukça yüksek derecede homoloji göstermektedir. FER1L ailesi üyeleri altı sitoplazmik C2 domaini

(C2A-F) ve C-terminalde lokalize bir TM domaininden oluşan ortak bir domain organizasyonuna sahiptir (69, 115, 646, 647). Domain organizasyonları, FER1L üyelerinin TM domainleri ile bağlandıkları plazma membranından baş aşağı sarkan sitosolik proteinler olduklarını düşündürmektedir (647). C2 domainlerinin Ca^{+2} sensörü olarak işlev gördüğü ya da Ca^{+2} 'a bağlı fosfolipid bağlanmasında rol oynadığı ileri sürülmektedir (116, 159).

İnsanda OTOF geni, biri uzun (otoferlin-U), üçü kısa (otoferlin-K) olmak üzere dört farklı otoferlin izoformu kodlamaktadır. Otoferlin-K'lar, otoferlin-U'dan farklı olarak sadece üç C2 domainine sahip bulunmaktadır (646). Embriyonel gelişimde ve erken postnatal dönemde Otof geni transkriptlerine koklear ve vestibüler saç hücrelerinde rastlanmakta iken erişkin farelerde otoferlin ekspresyonu İSH ve vestibüler tip I saç hücreleri ile sınırlı kalmaktadır (465, 646, 647).

Otof geni için KO fare modellerinde (Otof^{-/-}) yapılan detaylı odyolojik analizler bu farelerin çok ağır derecede duyma kaybı ile ilişkili işitsel nöropatiye sahip olduğunu göstermiştir. Histolojik incelemelerde Otof^{-/-} farelerin İSH'leri ile aferent sinirler arasındaki ribon sinapsı sayısında azalma olduğu gözlemlenmiştir (465). OTOF geninde homozigot/birleşik heterozigot mutasyon taşıyan olguların koklear implanttan yarar sağlaması (333, 464), OTOF mutasyonlarının endokoklear duyma kaybı ile ilişkili olduğunu ve otoferlinin İSH'lerde işlev gördüğünü düşündürmüştür (333).

Otoferlinin, İSH'lerde olgun sinaptik veziküller ile plazma membranı arasındaki etkileşimleri sağlayan SNARE kompleksi komponentlerinden sintaksin-1 ve SNAP25 ile ilişkili olduğu saptanmıştır (465, 531). Bu bulguya dayanılarak, otoferlinin ribon sinapslarına nörotransmitter salınımında Ca^{+2} sensörü olarak işlev gördüğü ileri sürülmüştür (465).

2.4.7. Fonksiyonu Bilinmeyen/Sınıflandırılmayan Proteinleri Kodlayan Genler

2.4.7.1. CCDC50 (DFNA44)

Yaşamın ilk dekadında düşük ve orta frekanslarda orta derecede duyma kaybı ile ortaya çıkan ancak ilerleyerek 6. dekada tüm frekanslarda çok-ağır derecede duyma kaybı ile sonuçlanan DFNA44 ile ilişkili olan CCDC50 geni, EGF (epidermal growth factor) sinyal yolunun efektörü olan Ymer'i kodlamaktadır (370, 371). CCDC50 transkriptlerinin alternatif kırılması sonucunda oluşan biri uzun diğeri kısa olmak

üzere iki farklı Ymer izoformu (Ymer-U ve -K) bulunmaktadır (538, 584). Bir CC domaini ve iki MIU (motif interacting with ubiquitin) domaini bulunan Ymer, EGF uyarımını takiben ubikuitinasyon ve fosforilasyona uğramaktadır (538). MIU domainleri ubikuitine bağlanma özelliği göstermektedir (426).

Farede, Ymer'in gelişimsel dönemdeki ekspresyonunun mikrotübül hücre-iskeleti ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Erişkin kokleadaki ekspresyon paterninin ise pillar hücreler ve stria vaskularis ile sınırlı olduğu bildirilmektedir (370).

Fonksiyonel analizlerde, fosforilasyon ve multi-ubikuitinasyona uğrayan Ymer'in EGF bağlanması ile uyarılan EGF reseptörü (EGFR)'ne bağlandığı gösterilmiştir. Subsellüler lokalizasyonun plazma membranı olduğu bildirilen Ymer-K'nın, EGFR'ye bağlanarak uyarılmış reseptörün tirozin fosforilasyonu ve poli-ubikuitinasyona uğramasını kısmen inhibe etmek ve böylece EGFR'nin internalize edilip degrade edilmesini engellemek olduğu ileri sürülmüştür. Diğer taraftan, aktinin Ymer'in plazma membranını hedeflemesini tetiklediği ve fosforilasyona uğramış Ymer'in hücre-hücre kontak noktalarında TJ'ler ile ko-lokalizasyon gösterdiği gösterilmiştir. Bu verilere dayanılarak Ymer'in plazma membranında aktin ile ilişkili hücre-iskelet proteinlerinininkilere benzer bir işlev gördüğü düşünülmektedir (538).

2.4.7.2. DFNA5

Etkilenmiş bireylerde 1.-5. dekad arasında yüksek frekans tutulumu ile başlayıp ilerleyerek 6. dekattan sonra tüm frekanslarda ağır-çok ağır düzeyde duyma kaybı ile sonuçlanan DFNA5'ten sorumlu olan ancak fonksiyonu bilinmeyen gen, lokusun ismi ile isimlendirilmiştir (51, 565, 575, 653). Kokleada DFNA5 geni transkriptlerine stria vaskulariste rastlanmıştır (575).

DFNA5'ten sorumlu olduğu bildirilen üç mutasyon da kırılma hatasına neden olarak DFNA5 geninin 8. eksonunun atlanmasına ve sonuçta C-terminali değişik bir proteinin (DFNA5^{DFNA5}) oluşumuna yol açmaktadır (51, 575, 653). Maya ve memeli hücrelerinde heterolojik olarak eksprese edilen DFNA5^{DFNA5} proteinlerinin apoptoza neden olduğu bildirilmiştir (190, 578).

2.4.7.3. PJVK (DFNB59)

Ağır duyma kaybı ile sonuçlanan işitsel nöropatinin yanı sıra koklear duyma kaybı ve merkezi vestibüler fonksiyon bozukluğu ile de ilişkili olabilen DFNB59

(NSRİN2)'dan sorumlu olan PJVK geni pejvakini kodlamaktadır (95, 124, 142, 201). Kompütasyonel analizler, pejvakinin nükleer lokalizasyon sinyal peptidi ile Zn⁺- ve DNA-bağlanma motifleri bulundurduğunu göstermiştir. Antikor çalışmaları, Pjvk'nin kokleada Korti organı ve spiral ganglionda, vestibüler organın duyuşal bölgelerinde ve aferent işitsel yolakta eksprese olduğunu göstermiştir (124).

PJVK geninde saptanan p.R183W mutasyonu için geliştirilen KI fare modellerinde (Pjvk^{R183W/R183W}) yapılan odyolojik çalışmalar bu farelerin de işitsel nöropatiye sahip olduğunu göstermiştir (124). PJVK geninde homozigot mutasyon taşıyan *Sirtaki* (Sti) farelerinde (Pjvk^{Sti/Sti}) yapılan odyolojik ve histolojik çalışmalar ise, işitsel nöropati ve koklear histopatoloji bulunmamasına karşın DSH fonksiyonlarının progresif olarak bozulduğunu ortaya koymuştur (483). Pjvk^{R183W/R183W} ve Pjvk^{Sti/Sti} lerden elde edilen bulgular, pejvakinin hem koklear saç hücrelerinde hem de aferent sinir yolağında işlev gördüğünü göstermektedir (483).

2.4.7.4. TMHS (DFNB66/67)

Tüm frekanslarda konjenital çok ağır derecede duyma kaybı ile karakterize olan DFNB66/67'den sorumlu olan TMHS/LHFPL5 geni, dört TM domainine sahip bir protein kodlamaktadır (245, 327, 504).

İmmünohistokimyasal yöntemler ile yapılan çalışmalar, Tmhs'nin E15 ile P8 arasında saç hücrelerinin stereosillerinde eksprese olduğunu göstermiştir. Tmhs'nin ekspresyon zamanının saç hücrelerinin gelişim süreci ile örtüştüğü bildirilmektedir (327, 504).

Tmhs geni için *null* mutant olan *hurry-scurry* (hscy) farelerinde (Tmhs^{hscy/hscy}) yapılan histolojik incelemeler, stereosillerin dejenerasyona uğradığını ve saç demeti organizasyonunun bozulduğunu göstermiştir (327). Tmhs^{hscy/hscy} lerdeki saç demeti defektlerinin Cdh23^{v/v} ve Pcdh15^{av/av} lerde gözlemlenenler ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır (16, 128; bk. 2.4.2.1. ve 2.4.2.2.). Bu nedenle, TMHS/LHFPL5'in saç demetlerinin organizasyonundaki işlevinin, kaderin-23 ve protokaderin-15'inki gibi, stereosiller arasında adezyon sağlamak olabileceği ileri sürülmüştür (327).

2.4.7.5. TMIE (DFNB6)

Prelingual ağır-çok ağır derecede duyma kaybı ile ilişkili DFNB6'ya neden olan TMIE geni bilinen hiç bir gen ile homoloji göstermemektedir (397). Kompütasyonel

analizler, TMIE geni ürününün, N- ve C-terminalleri intrasellüler lokalizasyon gösteren, iki TM domaini ve bunların arasında ekstrasellüler bir *loop* ile bunun içerisinde yerleşik proteolitik kesim sinyali içeren bir protein olduğunu göstermiştir. Kesimden sonra ekstrasellüler N-terminal ile sitoplazmik C-terminal arasında tek TM domainine sahip bir transmembran proteinin oluşacağı belirlenmiştir. TMIE'nin C-terminalinde çok sayıda şarj rezidüsü ve üç adet potansiyel protein kinaz fosforilasyon bölgesi bulunduğu bildirilmiştir (397).

Kokleadaki ekspresyonu gösterilmiş olan *Tmie* geninin endokoklear lokalizasyonunun belirlenmesine yönelik yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır (90, 369, 397).

Tmie geni için *null* mutant olan *spinner* (*sr*) ve *circling* (*cir*) farelerinde ($Tmie^{sr/sr}$ ve $Tmie^{cir/cir}$) yapılan histolojik incelemelerde, saç demeti organizasyonlarının defektif olduğu, DSH ve İSH'lerde normalden fazla sayıda sterofil bulunduğu, DSH'lerdeki stereosillerin boylarının kısa olduğu ve ilerleyen dönemde spiral ganglion hücrelerinin dejenerasyon gösterdiği saptanmıştır (90, 369).

2.4.7.6. WFS1 (DFNA6/14/38)

Ağır derecede düşük frekans duyma kaybı ile karakterize DFNA6/14/38 (DFSNDK2)'den sorumlu olan WFS1 geni, wolframini kodlamaktadır (47, 52, 651). Sekiz eksona sahip WFS1 geninin 5. ve 8. eksonundaki inaktive edici olmayan fonksiyon kaybı mutasyonları DFNA6/14/38'den sorumlu iken genin bütününe dağılmış inaktive edici mutasyonların diabetes insipidus, diabetes mellitus, optik atrofi, yüksek frekans duyma kaybı ve ileri yaşta psikiyatrik bozukluk ile karakterize olan otozomal resesif Wolfram sendromu tip I (WS-I)'e yol açtığı bildirilmektedir (106, 229, 356).

Bilinen hiçbir protein ile benzerlik göstermeyen wolframinin N-terminalinin sitoplazmada, C-terminalinin ER lümeninde bulunduğu ve TM domainlerinin ER membranına entegre olduğu bildirilmektedir (215, 534). Wolframinin çok sayıda koklear yapıda -özel bir ER çeşidi olan ve daha çok iyon transportunda rol oynayan epitelyal hücrelerde yer alan- kanaliküler retikulumda eksprese olduğu bildirilmiştir (107). Fonksiyonel çalışmalardan elde edilen sonuçlar, wolframinin ER'de Ca^{+2} homeostazı ile ilişkili bir rol oynadığını düşündürmüştür (416). Ancak, wolframinin Ca^{+2} homeostazına Ca^{+2} kanalı ya da kanal regülatörü olarak doğrudan mı (535) yoksa

protein sentezi veya katlanması, membran trafiği ya da apoptotik süreçler üzerinden dolaylı olarak mı katıldığı bilinmemektedir (215, 254, 534).

2.4.8. Mitokondriyal Genler

Mitokondriyal genlerde meydana gelen mutasyonların mitokondrilerdeki protein sentezini defekte uğrattığı ve bunun sonucunda hücrenin yaşamsal aktiviteleri için gerekli enerji üretiminden sorumlu oksidatif fosforilasyon reaksiyonlarının azaldığı bildirilmektedir (233). Oksidatif fosforilasyonun azalması, hücrelerin alternatif ATP üretim yolu olarak glikolizi kullanmaya mecbur kalmasına neden olmaktadır. Artan glikoliz reaksiyonları sonucunda aşırı laktat ve ROT üretimi meydana gelmektedir (595). ROT düzeylerindeki artışın iç kulakta apoptotik mekanizmaların tetiklenmesine ve sonuçta koklear yapıların geri dönüşümsüz kaybına neden olduğu bildirilmektedir (194, 635).

2.4.8.1. MTRNR1

Maternal kalıtım gösteren NSDK ve AGKDK'dan sorumlu MTRNR1 geni mitokondriyal 12S rRNA'yı kodlamaktadır. MTRNR1 geninde tanımlanan A1555G, C1494T, A827G, DT961Cn ve T1095C mutasyonlarının hem NSDK hem de AGKDK ile ilişkili oldukları bildirilmektedir. Bu mutasyonları taşıyan 12S rRNA moleküllerinin *E. coli* 16S rRNA'yı andırmasından dolayı aminoglikozidlerin hedefi haline geldiği ileri sürülmektedir (438, 536, 635, 657).

Aminoglikozid kullanımının söz konusu olmadığı NSDK olgularının varlığı, mutasyon taşımaya rağmen etkilenmeyen bireylerin bulunması ve maternal duyma kaybindan etkilenmiş ailelerde NSDK ve AGKDK'nın birlikte segregasyon göstermesi MTRNR1 mutasyonlarının fenotipik etkisini ve ekspresivitesini modifiye eden çeşitli faktörlerin bulunduğunu düşündürmüştür (74, 194). NSDK ve negatif aminoglikozid kullanım öyküsüne sahip çok sayıda ailede yapılan moleküler genetik çalışmalar sonucunda A1555G mutasyonunu modifiye eden lokus (DFNM2) 8p23 kromozomal bölgesine haritalanmıştır (74, 77). Biyokimyasal ve moleküler genetik çalışmalar, nükleer genlerden MTO1, GTPBP3 ve TFB1M genlerinin de A1555G mutasyonunun klinik sonuçlarını modifiye ettiğini göstermiştir (75, 76, 314, 315). MTO2 ve TRMU genlerinin ise bütün MTRNR1 mutasyonlarının ekspresiviteyi üzerinde modifiye edici etki gösterdiği bildirilmektedir (195, 638, 639). mtDNA'daki diğer varyasyonların da

A1555G ve C1494T mutasyonlarının ekspresivitelerinin modüle ettiği bildirilmiştir (200, 236, 652).

Maternal geçişli NSDK/AGKDK'nın en sık nedeni olan A1555G mutasyonunun prevalansı Uzak- ve Güneydoğu Asya populasyonlarında ~%3-9, Avrupa'da ise %0.5-2.4 olarak hesaplanmıştır (287, 317, 342, 415, 417). A1555G mutasyonunun ülkemizdeki sıklığının %1.8 olduğu bildirilmektedir (544). C1494T mutasyonuna ise sadece Çin populasyonunda rastlanmaktadır (317, 657).

2.4.8.2. MTTS1

Hem SDK hem de NSDK'dan sorumlu olan mitokondriyal MTTS1 geni tRNASer(UCN)'yi kodlamaktadır (225, 233, 413, 502). MTTS1 geninde tanımlanmış olan mutasyonlar arasında sıklığı en yüksek olan A7445G mutasyonuna Türk toplumunda rastlanmadığı bildirilmiştir (544).

2.5. Kalıtsal Duyma Kayıplarının Tedavisi

Duyma kaybı, zihinsel, sosyal ve ruhsal gelişimi etkilemektedir (357). Yapılan çalışmalar, duyma kaybında erken teşhis ve tedavinin uygun eğitim ile kombine edildiğinde bu sorunların aşılabildiğini göstermektedir. Ancak, gelişmiş ülkelerde bile duyma kaybının fark edilmesinin 2.5, hatta hafif duyma kaybında 5-6 yaşlarına kadar gecikebilmektedir. Bu nedenle birçok ülkede duyma kaybı için yenidoğan taraması programları başlatılmıştır (260, 420). Ülkemizde, 2000 yılında T.C. Sağlık Bakanlığı ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin yenidoğan işitme tarama projesi, Ankara Zübeyde Hanım Doğum ve Çocuk Bakımevi'nde başlatılmış olup bugün çok sayıda Devlet ve Üniversite hastanesinde sürdürülmektedir (420).

Duyma kaybindan etkilenmiş çocuklara öncelikle dudak okuma veya işaret dili ile iletişim kurabilmeleri öğretilmekte ve konuşma yeteneklerinin geliştirilmesine çalışılmaktadır. Duyma kayıplarının tedavisinde ise işitsel problemin tipine göre yaklaşım uygulanmaktadır. Buna göre, duyma yeteneğinin kalan kısmının iyileştirilmesi için işitme cihazları, ağır-çok ağır düzeyde duyma kaybına sahip olan bireylerde koklear implantlar ve işitsel nöropatiye sahip olan kişilerde beyin sapı implantları öncelikli tedavi şekillerini oluşturmaktadır (625).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, kalıtsal duyma kayıplarında moleküler tanının tedaviyi yönlendirici olduğunu göstermiştir. Örneğin, işitsel nöropati olgularından

OTOF gen mutasyonlu bireylerde koklear implantasyon ile işitme yetisi restore edilebilirken (464) PJVK gen mutasyonu bulunan bireylerde koklear implantasyondan yarar sağlanamadığı gösterilmiş ve bu olgularda işitsel beyin-sapı implantı önerilmiştir (124). GJB2 mutasyonları saptanan olgular karşılaştırıldığında, 35delG mutasyonu için homozigot olan olguların koklear implantasyona ve izleyen eğitim sürecine daha iyi yanıt verdiği ve dil becerilerini daha kısa sürede edinebildiği bildirilmektedir (96).

Duyma ve denge kaybı olan $Myo15^{sh2/sh2}$ ve $Gjb6^{-/-}$ fare zigotlarına $Myo15a$ ve $Gjb2$ geni insertleri taşıyan BAC'ların verilmesi ile elde edilen farelerde iç kulak fonksiyonlarının normale olduğu saptanmış ve yakın bir gelecekte insanlarda kalıtsal duyma kayıplarının genotipe göre gen tedavileri uygulanarak düzeltilebileceği öne sürülmüştür (9, 251). Kalıtsal duyma kayıplarının yanı sıra edinsel/çevresel duyma kaybı formları için de gen tedavi yöntemleri de geliştirilmeye çalışılmaktadır. 2005 yılında yapılan bir çalışmada (232), ototoksik ilaç kullanımı ile koklear saç hücreleri ağır hasara uğratılan farelerin skala media'sına saç hücrelerinin yeniden oluşumunu sağlayan $Atoh1/Math1$ genini (664) içeren adenovirüslerin verilmesi ile uygulanan gen tedavisinin, hayvanların %50-80'inde işitme fonksiyonunu geri kazandırdığı bildirilmiştir. Diğer taraftan, model organizmalarda duyma kaybı için kök-hücre tedavisi çalışmaları da sürdürülmektedir (248, 347, 423).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı ile Burçin-Engin İnan Ağır İşiten Çocuklar Merkezi tarafından ortak yürütülen proje kapsamında belirlenen 14 duyma kaybı ailesinden 56'sı etkilenmiş 99'u etkilenmemiş olmak üzere toplam 155 birey bu çalışma kapsamında incelendi. Klinik açıdan 14 aileden 2'sinde SDK, 9'unda NSDK ve 3'ünde KOSDK tanısı konulmuştu. Duyma kaybının, 2 NSDK ailesinde otozomal dominant, 7 NSDK, 2 SDK ile 3 KOSDK ailesinde ise otozomal resesif kalıtım gösterdiği görüldü.

İşitme kaybı olmayan 200 birey çalışmanın kontrol grubunu oluşturdu.

Çalışmanın etik açıdan uygunluğu, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı. Çalışmaya katılan tüm aile üyeleri ve sağlıklı bireylerden bilgilendirilmiş onam alındı.

3.2. Klinik Değerlendirmeler

Çalışma grubunu oluşturan indeks olgu ve ailelerinde ileti ve karma tip duyma kayıplarının otolojik muayene ve vestibüler fonksiyon bozukluğunun Romberg testi ile dışlanmasını takiben odyolojik değerlendirmeler *pure-tone* ve *Auditory Brainstem Response* (ABR) odyometri testleri ile yapıldı. İki etkilenmiş bireyde *Distortion Product Otoacoustic Emissions* (DPOAE) tetkiki ile otoakustik emisyon ölçümü gerçekleştirildi. Beş etkilenmiş bireyde bilgisayarlı tomografi ile iç kulak yapılarına yönelik radyolojik değerlendirme yapıldı. Test sonuçları klinisyenler tarafından değerlendirildi.

3.3. Moleküler Analizler

Çalışma grubundaki 9 NSDK ailesinden 4'ünde genom-boyu bağlantı analizi ile gen haritalaması yapılmıştı (562). Diğer 5 NSDK ailesinden 4'ünde indeks olgularda GJB2, GJB3, ΔGJB6, CLDN14, FOXI1 ve USH3A genleri dizi analizi ile incelenmiş ve bu genlerde mutasyon bulunmadığı saptanmıştı (561, 562).

3.4. DNA Eldesi

DNA örnekleri periferik kandan ticari bir kit (DNA Isolation Kit For Mammalian Blood, Roche Diagnostics) kullanılarak ve kit protokolüne uygun olarak elde edildi.

3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Hedef genlerin ekson bölgeleri, ekson-intron birleşimlerini içerecek şekilde tasarlanmış primerler kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltıldı. PCR amplifikasyonları için daha önce bildirilmiş ve özgün olarak tarafımızdan tasarlanmış primerlerin dizileri kullanıldı (Tablo 3-1).

Genom-boyu bağlantı ve kritik bölge analizlerinde kullanılan STR (short tandem repeat) markörlerin çoğaltılması için kullanılan primerlerin dizileri “The Genome Database” (www.gdb.org) veri tabanından alındı.

Her PCR reaksiyonunda 200 ng DNA örneği, 1X (NH₄)₂SO₄'lü Buffer (MBI Fermentas), 1.5 mM MgCl₂ (MBI Fermentas), %4 DMSO (Sigma), 200 µM dNTP (MBI Fermentas), 400'er µM ileri-geri primerler (Operon), 0.8 U Taq. polimeraz (MBI Fermentas) kullanıldı. DNA örnekleri termal döngü cihazında (BioRad PTC-200), ilk denatürasyon 94°C'de 4 dk ve ardından 94°C'de 30 sn denatürasyon, 62°C'den 52°C'ye kadar kademeli olarak düşürülen ısılarda 30 sn bağlanma, 70°C'de 70 sn uzama basamaklarından oluşan toplam 40 döngü ve son olarak 70°C'de 10 dk'lık uzama olacak şekilde *Touch-down* PCR yöntemi kullanılarak çoğaltıldı.

3.6. DNA Dizi Analizi

PCR yöntemi ile çoğaltılarak elde edilen DNA ürünleri ABI 3730 XL otomatik kapiler DNA dizileyicisinde (Applied Biosystems, Macrogen Inc., Seul, Kore) dizilendi. Dizileme sonuçları Chromas 2.32 (www.techneysium.com.au/chromas.html) ve NCBI BLAST (Basic Local Alignment Search Tool; www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) programları kullanılarak bilgisayar ortamında analiz edildi.

CDH23 geni dizileme reaksiyonları ve dizi analizleri, Köln Üniversitesi İnsan Genetiği Enstitüsü (Köln, Almanya)'nden Dr. Bernd Wollnik'in Araştırma Grubu tarafından, MYO15A geni dizileme reaksiyonları ve dizi analizleri de Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD (Trabzon, Türkiye)'den Dr. Ersan

Kalay ve Radboud Üniversitesi Nijmegen Tıp Merkezi İnsan Genetiği Departmanı (Nijmegen, Hollanda) tarafından gerçekleştirildi.

3.7. Genom-Boyu Bağlantı Analizi

Genom-boyu bağlantı analizi Max-Delbrück Moleküler Tıp Merkezi Gen Haritalama Merkezi (Berlin, Almanya)'nin imkanları kullanılarak gerçekleştirildi. Genom taramasında üç aileden toplam 28 birey, ~10 cM aralıklı 365 STR markör (Markerset, <http://www.ms.mdc-berlin.de>) için genotiplendi.

STR markörler, Gen Haritalama Merkezi tarafından optimize edilmiş *Touch-down* PCR yöntemi ile BioRad PTC-225 termal döngü cihazlarında çoğaltıldı. Her bir PCR reaksiyonu için 6 ng DNA, 10 mM PCR tamponu, 1.5 mM MgCl₂, 100 µM dNTP, 0.4 U Taq. polimeraz (Invitek), 7'şer pmol FAM, HEX, NED veya TET ile işaretli ileri-geri primer ve son volüm 10 µl olacak şekilde bidistile H₂O karışımı kullanıldı.

PCR ürünleri havuzlanıp ABI 3100 otomatik kapiler DNA dizileyicisinde (Applied Biosystems) yürütüldü. Elde edilen sonuçlar Genotyper programı (Applied Biosystems) ile analiz edildi. Mendel kalıtımına uygunluk PEDCHECK (406) programı ile denetlendi.

3.8. STR Markör Analizleri

İnce haritalama ve kritik bölge/bağlantı analizi için kullanılan STR markörlerin belirlenmesinde "Ensembl Genome Browser" (www.ensembl.org/index.html) ve "UCSC Genome Browser" (www.genome.ucsc.edu)'dan yararlanıldı. İlgili bireylerin genomik DNA örneklerinden *Touch-down* PCR yöntemi kullanılarak çoğaltılan STR markörler, poliakrilamid jel elektroforezinde yürütüldükten sonra genotiplendi.

3.9. LOD Skor Analizleri

ELOD (expected likelihood of odds) skor değerleri SLINK (418), *two-point* LOD (likelihood of odds) skor değerleri MLINK (297) ve SUPERLINK-Online (<http://bioinfo.cs.technion.ac.il/superlink-online>; 511) ve *multi-point* LOD skor değerleri SIMWALK2 (521) programı kullanılarak hesaplandı.

3.10. Poliakrilamid Jel Elektroforezi

PCR ürünleri 2:3 oranında %90'lık formamid (Roche Diagnostics) ile karıştırılarak %10'luk (19:1 akrilamid/bis-akrilamid [Sigma]) poliakrilamid jellerde

gece boyu (>14 sa) 400 V gerilimde yürütüldükten sonra Moleküler Genetik Laboratuvarımızda oturtulan gümüş boyama tekniği (181) ile boyanıp genotiplendi.

3.11. Restriksiyon Enzim Kesimi

İncelenecek DNA değişimlerinin yeni bir enzim kesim bölgesi oluşturup oluşturmadığı ya da var olan enzim kesim bölgesini ortadan kaldırıp kaldırmadığı Webcutter 2.0 (<http://rna.lundberg.gu.se/cutter2>) ve NEBcutter V2.0 (<http://tools.neb.com/NEBcutter2>) programları kullanılarak belirlendi. Her iki olasılığında söz konusu olmadığı durumlarda modifiye primerler kullanılarak restriksiyon enzim kesim bölgeleri oluşturuldu.

Restriksiyon enzim analizi ile taranacak gen bölgeleri ilgili eksone ait veya enzim kesim bölgesi oluşturacak şekilde modifiye edilmiş ileri/geri primer çiftleri kullanılarak *Touch-down* PCR yöntemi ile çoğaltıldı. PCR ürünleri, ilgili restriksiyon enzimi ile üretici firmanın (MBI Fermentas) protokolüne uygun olarak 16-18 saat süre ile kesime bırakıldı. Enzim kesimi ürünleri %2.5'lük yüksek çözünürlüklü agaroz jelde (Roche Diagnostics) 100 V gerilimde 45 dk yürütüldükten sonra genotiplendi. Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen restriksiyon enzim kesim analizleri ile ilgili bilgiler Tablo 3-2'de verildi.

3.12. Kompütasyonel Analizler

Dizi analizi sonucunda saptanan değişimlerin; bilinen mutasyon olup olmadıkları “The Human Genome Mutation Database (www.hgmd.cf.ac.uk), tanımlanmış SNP (single nucleotide polymorphism) olup olmadıkları “NCBI Entrez SNP” (www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP), kırılma hatasına yol açıp açmadıkları “BDGP: Splice Site Prediction by Neural Network” (www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html), kırılma hatası ve çerçeve kayması tipindeki mutasyonların protein düzeyindeki etkileri “CGPDB DNA Sequence Translation in Six Frames” (<http://cgpdb.ucdavis.edu/database/sms/translation.php>) ve evrimsel süreçte korunmuş bir rezidüyü değiştirip değiştirmedikleri “Ensembl Genome Browser” (www.ensembl.org/index.html), “UCSC Genome Browser” (www.genome.ucsc.edu) ve “EBI Tools: ClustalW” (www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw) program ve veri tabanları kullanılarak değerlendirildi.

Tablo 3-1: Hedef genlerin amplifikasyonu için kullanılan ileri-geri primerler

Gen	Ekson	İleri primer (5'→3')	Geri primer (5'→3')
ATF7IP	1	CTAAGCCTCATAGAGGG	CAGGCGCAGACACAAC
	2	CTGGACTGAAATGGAGGC	CCAAGCTCTAAGTTCACC
	3.1	GTATAACAACAGCAGTAGGT	GGTTGATTCAGAAGTCAGC
	3.2	CAGCCTCTGATGATCTGG	GCTACTCACAGAGTACACA
	4	CAGTTGAATGTGGACGTG	CCTTCAGTTAGCCATCAAC
	5	GCATTGCTTGACCATTAGG	CCACCACATCTGGCCAG
	6	CACTGCACTCCAGCCTG	CAGCAGCCCTGGCAAC
	7	CTCAGTATCTTCTGAGGA	GAGTACACAGTATGAAAGCA
	8	GAACAAGTGATAATGCCAAG	CAGTACTTAACTGAATACC
	9	GGTATTCAGTTAAGTACTG	GTACTTAGACCAATGTGCC
	10	GACTTTACAGTCTTTGCAATG	GTAATTCCAATAACGCTAGC
	11	GCAGTGGTCTGTGAATTTG	CAGAGAAGCTGTGAGACAA
	12	GAACCAGGTTACTCATTAGT	GTGTGAGACACTGCACCT
	13	CTCTTAGAGGTAATGTGAC	GACATGCACTGTAGTCTCT
	14	GGTCAAACAGAGTGGGA	CTCTTGAACCTATAACAATAC
	15	CTGAATACGAACAGGACCT	CACCACAAGCAAACCTCAATG
16	GTTTGTAGCATGATTCATTAC	GTTGTGCTATATTTGGTAGAG	
ATP6V1B1	1	CCAGACCTGCACAGCTTG	CCACTGCGTCACTCTGCT
	2	CCCTGTACAGCTAATGAC	CCGTGTGTGGTCCAGC
	3/4	CCTCCAAACAGAATTCAAAC	GCTACCTACTGTGTCTCTAG
	5/6	GGAGTGGGTGGGAGCTG	GTGCAGGGATGGTGGTAG
	7/8	GCAGCCCACAATAACTCC	CCTGGAGCCCTGGTAC
	9/10/11 12/13/14	CCTCTGCCACTATGCACA GGGAGATAAGAGAGGGTG	GCAGTGAACATCTGGTCC GGGAAAGGGATGGAGCGT
CDKN1B	1	CAACCAATGGATCTCCTCC	CTCTCCAAAGCTAAATCAG
	2	CCAACCTTGCCAGCC	CCAGCAACCAGTAAGATCAG
	3	CCCATCAAGTATTTCAA	CTACCCAACACAGCATT
EMP1	1	GCTCACTCCAGCCACT	CTCTGCTTCTCTGACCTC
	2	GGCACTTAGGCAAATCAGAAC	TCCAGCCCTTAAACCCTAC
	3/4	GCCCACAGATAAGCTGCATAG	AGCAGCAATCCAAGTCTCT
GJB2	5	AGGGACATCCATCAGAATC	AACAGCTGGAGGCCAAGTC
	1*	GTGCGGTTAAAAGGCGCCA	GGCAACCCTCTGGGTC
MGP	2*	TCTTTCCAGAGCAAACCGCC	TGAGCACGGGTTGCTCATC
	1	CCTCACAGCCTTCCACTAAC	CAGTTTCTGCGGAGACTGG
MGST1	2	CCACAGCAAGGCCAGAGC	GTGCAGTTGACGTGGTGCC
	3	GTGTCAAGGAATATTCACGGA	CAGATCTGTGATCTACACTGG
	4	CAGGCCTGAGCCACCGC	GGGTAAGGTGGGCCATGATT
	1	CCAGCTCTCTCCACTG	CCACTGAACGGGTTTGC
GRIN2B	2	GGGACTACAGGCGTGA	GCATAAAACAGTGTGCTATTG
	3	GGAATTACAGGTGTGAGCTAT	CATGTGAGTAGGTAAGAGGT
	4	GATCCATAGTGCTCAGATTTAG	ATGTCTGTTTCAGCAGTATTG
	1	CCACTAACCTCACATGCACA	CCACTTGAGGGACTCGAAG
OTOF	2	GGTCCTGAATTGCAGTATC	CGCTGTCAATGCAATCTGG
	3	GAACACAAATCTTTGTACCCA	CCTGCAGTTTCTGAACCTC
	4	GTCTGTCTCCAGCCAGCT	CCAAAGGACTACTTTCCTTC
	5	GTTCAACTGCTTCTGGGA	GGTCTCAGGCCAGCCAAG
	6/7	GCCTGCTTGGGATTGGAG	GGCTGAGTTGAGTCTCTAG
	8	GGCAGACAACACATTGTGGT	GCAGATAACAAATGAGGA
	9	GAGCAGGGACTCACCCCTG	CTCCATGTTCCAATACAAG
	10	GAGGGCTAATGTATTCGGTG	CCAAGCATGGTATACCTAGT
	11	GGCTTTAGATTCTGGCAGAG	GGCACTCAGTGCATGGCA
	12	GCTCAATACTCCTCTTCTCC	GTCTCTTGGTTCTCTCTGC
	13.1	CCAGTTGGAGCAATTATTGGT	CTCACACCGGATGCACGC
	13.2	CGTGGTCAGCGGGGTAC	GGTGCTGGTACCAGGGT
	1	GAGTCGCTGCAGGAGCAGC	CTCCAGCCCTGTCTATC
2	CACGAGGTCCCATGTTGCA	GGCCAGTGCCTGGGATTG	
3	GGGGAGCACTGGGCCCA	CAGGTTGGGAGTGTAGGTCC	
4**	CCAAGCAGTCCAAGCCCTT	ACCTCGCCATGCATGAGAG	
5**	TCCAGTGAGGCAAGGGTGT	CTTGGATGTCTCTCCAGAAG	
6	CGATCTGTCTCGGGACCAG	CATCACTGGGTGGGGCCTG	
7	GGTCACTATCTCACCATCAGT	GCAAGCCAGGTCCTGCCTG	
8**	TAACTCTCAGCTTCTGGATG	TACCAAATTCACATGAGG	
9**	GTGCTTGAGTGTAAAGACC	AGTATAGTAGATAATGCACATC	
10/11	GCCTGGGCTGTGCTGCTG	CTGTGGTCTTGGCAGCCT	
12	CCTGAGCACTGGGAGACGC	CTGGTCTGCCAGCATCGAC	
13	GAGACTGTGCCAGGACCC	GCCTGCCCTTGTGATACC	
14	GCCACGCCCTCACCTGTG	CTGAGCCGACCTGAGCCTC	
15	CATCCCACGCCCTCACCTGT	GGCATCTCACATATTCCTTCCCTTCA	

Tablo3-1 (devam)

Gen	Ekson	İleri primer (5'→3')	Geri primer (5'→3')		
OTOF	16	GGCCTGTCTGTGAGACGG	CCTGCAGCCTAGGCCTGA		
	17/18	GCAGCACCGGATTGGACG	GGGAACAGAGGTCTCTGCTG		
	19/20/21	CATGATGACCGATACTCAGG	GTCTAGCCTCCTGATTGAG		
	22	GCCTGGTTGTGAGAAGGTG	GGGTCTAGCCTCCTGATTG		
	23/24	GGCAGCCGTCAGGCTCC	CTGACCTGTGGCTCCAGG		
	25	CCGTGGAAGCTGAGTGAGTA	GGCCAAGGAGCTCTGCAG		
	26/27	CAGGTGTGGACAGCAAGCAC	GTCAAGGGAGCCAGCCATG		
	28/29	CATGGCTGGCTCCCTTGAC	CTTCTCCATCAACCAGCGC		
	30	GCGCTGGTTGATGGAGAAG	GCATGTTCCCAGCCAGCTG		
	31/32	GTGGAAGTGGCGTACAAGC	GGAAAGGTGAGTTCGTGAGCTAG		
	33	GCAGAGCACATGGTGGACT	GCCTGCCAGTACTGCCC		
	34/35/36	CTCGAATCCAGGCCTTCCTG	CACCTGGCCAGTATGCAGC		
	37/38	GCCCTTCACTGTGCATAGGAC	GGCAAAGCAGGCACACTGC		
	39	GAGAAGTGGCCACGACCAG	CCAGGCTAGGCTGTGAGG		
	40/41	GGAGGTGGGTAGACAGG	GCCAAGGCCATCTGGACCT		
	42/43	GCCTGGCCCAGGCCCTG	CCTGGCTCTGATGGACTGG		
	44/45	GCATTGAGGCCAGTTGCTGG	CCCTGTAATGAGGCTGT		
	46	GCAGAAGAGCCAGCTCCAG	CCTGCCTAGCCCTTGGTCC		
	47	GTCCAGAAGGACAGAGGATG	GTGGGAGGACAGGGTGT		
	SLC26A4	1/2	CCTGACCTCGAACCCCT	CCACCCTCCCACCAGAA	
		3	GGCAAAAAGCATGGTAAGCA	GGCTCTACAGGAAAAGATAC	
		4	GGAGACCAACTCAGGACA	GCAGGCAAAACACTGAAATC	
		5/6	CCCTATGCAGACACATTGAA	CAGACTCAGAGAATGAATAC	
		7/8	GAGTGTGTTTGTGCTGAT	CTGTTGTCTTATGGTTGTTTC	
		9/10	GTGAGAGATAGAGAAGAGTC	GAGGGAGTGGAAACAAGAG	
		11/12	GGAGACAGGGAAGTATGAA	GTGATATGGCAGGAAGCAT	
		13	GGTAGTTATCACATGATGGT	GGTATAAGGAAGCTCAGAG	
		14	CCACACAAAACACCAGCTG	CACTCCTGTGGACTAAC	
		15	CTGCTACCCAGCTCCTC	GCAACCCTACCTCCAATAC	
		16	GGCAGGATAGCTCAAGGA	CTGGATACTAAAGAGGATAG	
		17	CTCCTCTGTTCTCCAGT	CCCATGTATTTGCCCTGTT	
		18	GCCACACCCATATCTCTTCT	GCCTTCAGACATAATGTGAC	
		19	GAGGAGCTACAAAACCTTAG	CACAAAATCCCAGATCACAAA	
		20	GACAGATGAGAAGCACCAG	GAGCAGTATGCAGAGGTG	
		21	CACCTAAGATGAGTAGCAG	CCAGGATCAAAGAGATCCT	
		TMHS	1	GTCATCTCGGTTCCAGGAAGG	TCTGGGCTCAGAACCTCATC
			2	GTGAGGAGAATGGCTGAAGG	TGATTCAGGGAGGACAAGG
			3	CCATCTGCCAACCAATAAC	AAAATTAGCCAGGCATGGTG
	4		CCTCCTGCCTCAGCCTCTT	GATCCTATACCCACTCTTCAT	
	TMIE	1	GAGAACTGAGGCCATTG	ACTGGATCTCTCAGGGCAAG	
		2	CAAGGTCTAGGGTGTGGTAG	TTGTGTGGATCAGGAGGTG	
		3	GCTTAGGAAAAGCCACCTTG	CCAATTTCTGTCTCTGGTC	
		4	GAAGGAAGAAAAAGGCAGAG	CAGAAAGGGTGGCTGAAG	
	WFS1	1	CTACACCGGCCACTCAG	CAGCCACCCATCAGCT	
		2	CCAGCAGACACTAAGTGCC	CACCCAGCTATCCCTGAACA	
		3	GAAGACCCTCATGCCTGT	GCATCTCAGGCACCGACA	
		4	GTGGCAATGCCTGGTGTGA	CAGTTAGCAAGCAGCATTACA	
5/6		GCCTAGGCAGGGCACACAA	GGGAGGCACGGGTGAGATA		
7		CCTGAACCCACTCAGCTCCT	GAGGCAGGCTCCGGCCTG		
8.1		CCTGTCCAGCCTCGTTC	CGGAGAGCTCACACCACA		
8.2		GCACAGCTGAGGAATTTCAA	CCAGCAGCTTAAGGCGAC		
8.3	GCAGCCCTGGCAACACCT	CATGGCAACATGCACTGGAA			

* Uyguner ve ark. (2003)'den alındı.

** Yasunaga ve ark. (2000)'den alındı.

Tablo 3-2: Çalışma kapsamında gerçekleştirilen restriksiyon enzim kesim analizleri

Gen	Değişim	İleri/geri primer çifti (5' → 3')	PCR ürünü (bp)	Enzim	T°C	REK sonrası ürün boyutları (bp)			n
						WT	Het	Hom	
ATP6W1B1	c.G539T (p.G180V)	GGAGTGGGTGGGAGCTG GTGCAGGGATGGTGGTAG	1447	CR42I	37°C	1110 337	1447 1110 337	1447	110
SLC26A4	c.T1544G (p.F515C)	CTGTGGTCCTGAGAGTTCAGC* GCTGTGTGATCTTAGGGATGC	284	PvuII	37°C	264 20	284 264 20	284	103
WFS1	c.C2051T (p.A684V)	GCACAGCTGAGGAAATTCAA CATGGCAACATGCACTGGAA	1160	FspAI	37°C	1160	1160 561 499	561 499	106
MYO15A	c.8974.G>C	TCTGGTCCAGTCAGTCAGCTAGG GTTTGGATGGCAGCAAGAAG	281	PstI	37°C	183 98	281 183 98	281	115
TMHS	c.649.deIG	GTGAGGAGAAATGGCTGAAGG TGATTTTCAGGGAGGACAAGG	697	BshTI	37°C	541 156	697 541 156	697	170
OTOF	c.G5367A (p.R1856Q)	GCATTGAGGCCAGTTGCTGG CCCTGTAATGAGGCTGT	657	CR42I	37°C	466 191	657 466 191	657	120
MTRNR1	A1555G	CAAAAAGACTACGAAAGTTGC CGGTAAGCAATTAGGAATGCC	2365	Aha26I	37°C	1103 716 546	1649 1103 716 546	1649 716	10

* Enzim kesim bölgesi oluşturmak için modifiye edilen nükleotid.

Kısaltmalar bç, baz çifti; Het, heterozigot; Hom, homozigot; Hom, homozigot; REK, restriksiyon enzim kesimi; T°C, sıcaklık; WT, wild-type.

4. BULGULAR

4.1. Sendromik Duyma Kayıpları

4.1.1. Renal Tübüler Asidoz ve Duyma Kaybı

Otozomal resesif geçişli renal tübüler asidoz ve duyma kaybı (RTADK) görülen iki aileden (DF#152 ve DF#191) 10 bireyde ATP6V1B1 geninin 14 eksonu dizi analizi ile değerlendirildi.

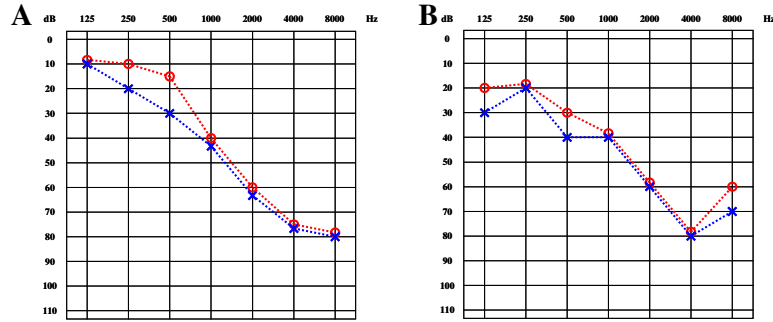
DF#152 Ailesi

DF#152 ailesinde ATP6V1B1 geninin dizi analizi ile incelenmesi, prelingual orta-ağır derecede yüksek frekans duyma kaybından (Şekil 4-1) etkilenmiş bireylerden IV.2.'nin 10. eksondaki bilinen c.C1037G (p.P346R) mutasyonu (Şekil 4-2; The Human Genome Mutation Database) için homozigot, IV.1.'in ise p.P346R mutasyonu ve 6. eksondaki, daha önce tanımlanmamış c.G539T (p.G180V) değişimi (Şekil 4-3; NCBI Entrez SNP) için birleşik heterozigot olduğu saptandı. Etkilenmemiş ebeveynlerden III.2., III.3. ve III.4.'ün p.P346R mutasyonu için ve III.1.'in de p.G180V değişimi için heterozigot taşıyıcı oldukları belirlendi (Şekil 4-4).

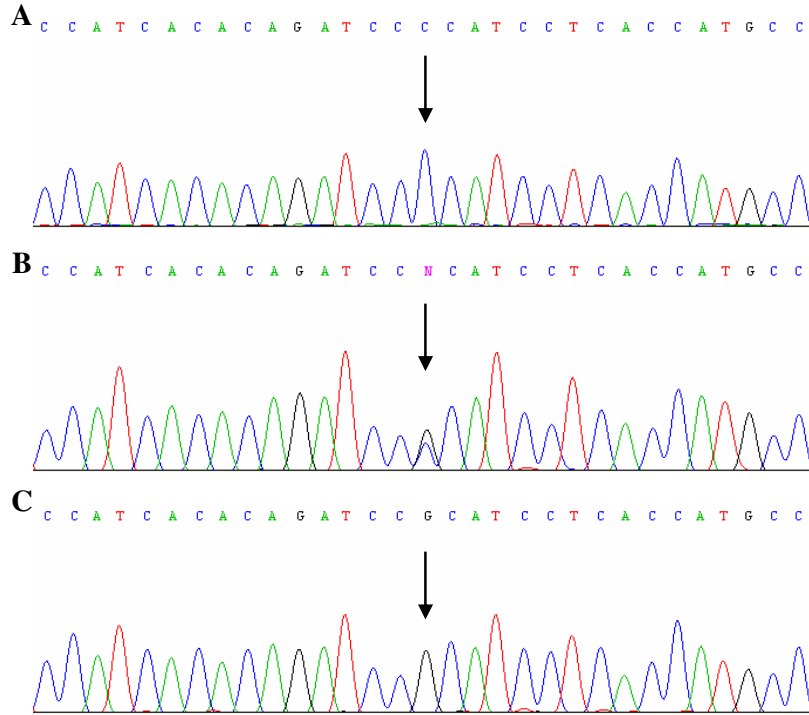
110 sağlıklı bireyde gerçekleştirilen kontrol çalışmasında p.G180V değişimine rastlanmadı. ATP6V1B1 geni ile çeşitli organizmalardaki ortologlarının kodladığı ürünlerin (Ensembl Genome Browser, UCSC Genome Browser) karşılaştırılması, p.G180 rezidüsünün ökaryotik organizmalarda evrimsel süreç boyunca korunduğunu gösterdi (Şekil 4-5; EBI Tools: ClustalW). Bu verilere dayanılarak p.G180V değişiminin ATP6V1B1 geninde ilk kez tanımlanan yeni bir mutasyon olduğu sonucuna varıldı.

DF#191 Ailesi

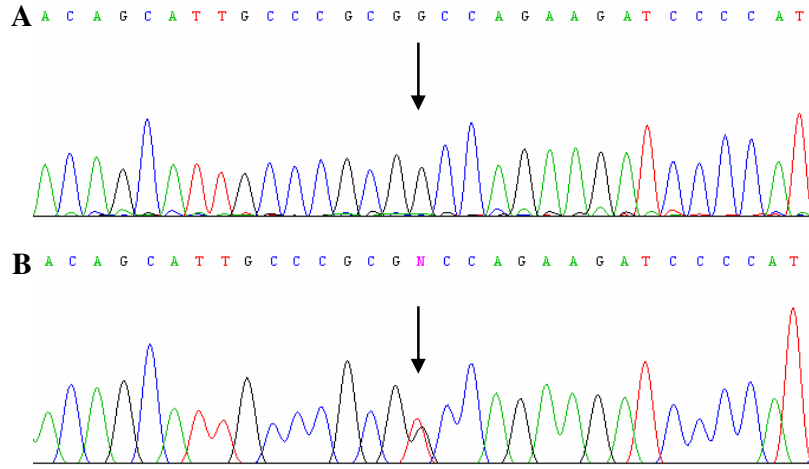
ATP6V1B1 geninin dizi analizi ile incelenmesi sonucunda, DF#191 ailesindeki -birinde (IV.1.) hafif (Şekil 4-6A) ve diğerinde (IV.2.) orta-ağır derecede prelingual duyma kaybı (Şekil 4-6B) olan- iki etkilenmiş bireyin 10. eksondaki bilinen c.C1037G (p.P346R) mutasyonu (The Human Genome Mutation Database) için homozigot ve ebeveynlerinin de heterozigot oldukları saptandı (Şekil 4-7).



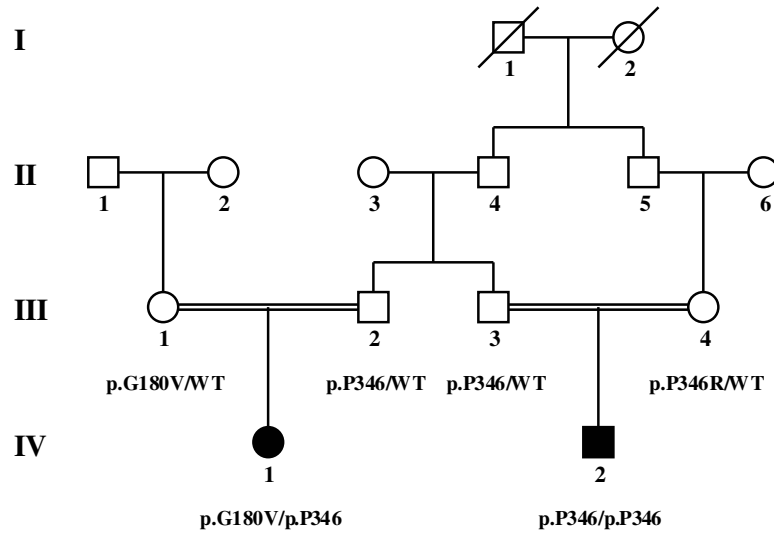
Şekil 4-1: DF#152 ailesindeki etkilenmiş bireyler (A) V.1. ve (B) V.2.'deki odyogram bulguları.



Şekil 4-2: DF#152 ailesinden ATP6V1B1 geninin 10. eksonundaki c.C1037G (p.P346R) mutasyonu için (A) wild-type, (B) heterozigot ve (C) homozigot bireylere ait kromatogramlar.



Şekil 4-3: DF#152 ailesinden ATP6V1B1 geninin 6. eksonundaki c.G539T (p.G180V) mutasyonu için (A) wild-type ve (B) heterozigot bireylere ait kromatogramlar.

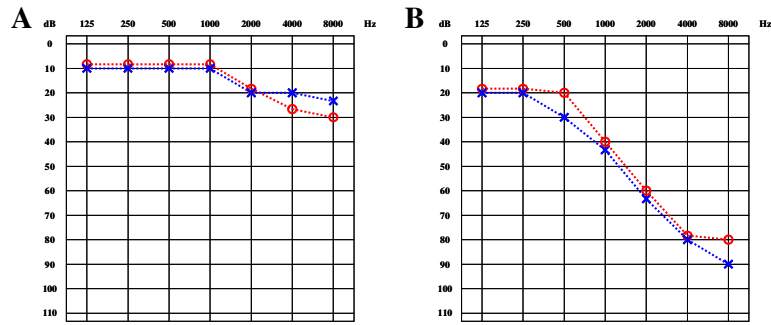


Şekil 4-4: ATP6V1B1 genindeki p.G180V ve p.P346R mutasyonlarının DF#152 ailesindeki segregasyonları.

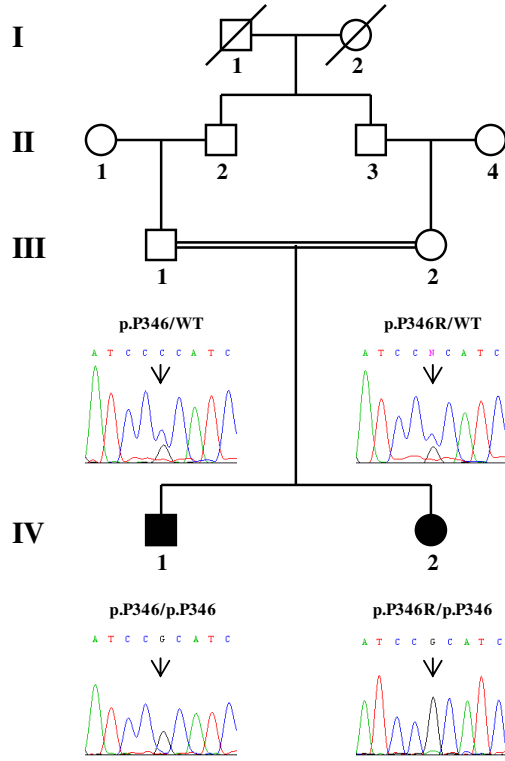
<i>Homo sapiens</i>	AEDFLDINGQPINPHSRIYPEEMIQTGISPIDVMNSIAR	↓	QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	200
<i>Pan troglodytes</i>	AEDFLDINGQPINPHSRIYPEEMIQTGISPIDIMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	200
<i>Macaca mulatta</i>	AEDFLDINGQPINPHSRIYPEEMIQTGISPIDVMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	200
<i>Canis familiaris</i>	AEDFLDINGQPINPHDRIYPEEMIQTGISPIDVMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	200
<i>Felis catus</i>	AEDFLDINGQPINPHDRIYPEEMIQTGISPIDVMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	154
<i>Bos taurus</i>	AEDFLDINGQPINPHDRIYPEEMIETGISPIDVMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	200
<i>Rattus norvegicus</i>	AEDFLDINGQPINPHDRIYPEEMIQTGISPIDVMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	200
<i>Mus musculus</i>	AEEFLDINGQPINPHDRIYPEEMIQTGISPIDVMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	200
<i>Tupaia belangeri</i>	AEDFLDINGQPINPHDRIYPEEMIQTGISPIDVMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	142
<i>Monodelphis domestica</i>	AEDFLDINGQPINPHNRIYPEEMIQTGISPIDVMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	148
<i>Xenopus laevis</i>	AEDYLDINGQPINPYVRTYPEEMIQTGISPIDVMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	182
<i>Danio rerio</i>	AEDYLDIMGQPINPQCRIYPEEMIQTGISAIDGMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	197
<i>Drosophila melanogaster</i>	AEDFLDIQQQPINPWSRIYPEEMIQTGISAIDVMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	185
<i>Aedes aegypti</i>	AEDFLDIQQQPINPWSRIYPEEMIQTGISAIDVMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	191
<i>Caenorhabditis elegans</i>	PEDYLDINGQPINPFNRIYPEEMIQTGISAIDVMNSIAR		QKIPIFSAAGLPHNEIAAQI	200
<i>Ciona savignyi</i>	PEDYLDIQQQPINPESRIYPEEMIQTGISAIDVMNSIAR		QKIPIFSANGLPHNEIAAQI	193
<i>Ciona intestinalis</i>	PEDYLDIQQQPINPESRIYPEEMIQTGISAIDVMNSIAR		QKIPIFSANGLPHNEIAAQI	198
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	AEDYLDINGSPINPYARIYPEEMISTGVSVIDTMSIAR		QKIPIFSASGLPHNEIAAQI	187
<i>Candida albicans</i>	AEDYLDINGSPINPYARIYPEEMISTGVSVIDTMSIAR		QKIPIFSASGLPHNEIAAQI	187

Şekil 4-5: İnsan ATP6V1B1 geni ile çeşitli organizmalardaki ortologlarının kodladığı proteinlerin dizilerinin karşılaştırılması.

p.G180 rezidüsü okla gösterilmiştir. Yeşil kutu, p.G180 rezidüsünün evrimsel süreçteki korunumunu göstermektedir.



Şekil 4-6: DF#191 ailesindeki etkilenmiş bireyler (A) IV.1. ve (B) IV.2.'deki odyogram bulguları.



Şekil 4-7: ATP6V1B1 genindeki p.P346R mutasyonunun DF#191 ailesindeki segregasyonu.

4.2. Özgün Oto-/odyolojik Fenotipler

Özgün oto-/odyolojik fenotiplere sahip üç olgu ve ailelerinde (DF#39, DF#43 ve DF#181) genetik bağlantı analizini takiben veya doğrudan DNA dizi analizi ile ilişkili genlerde mutasyon taraması yapıldı.

4.2.1. Geniş Vestibüler Akvaduktus

DF#39 Ailesi

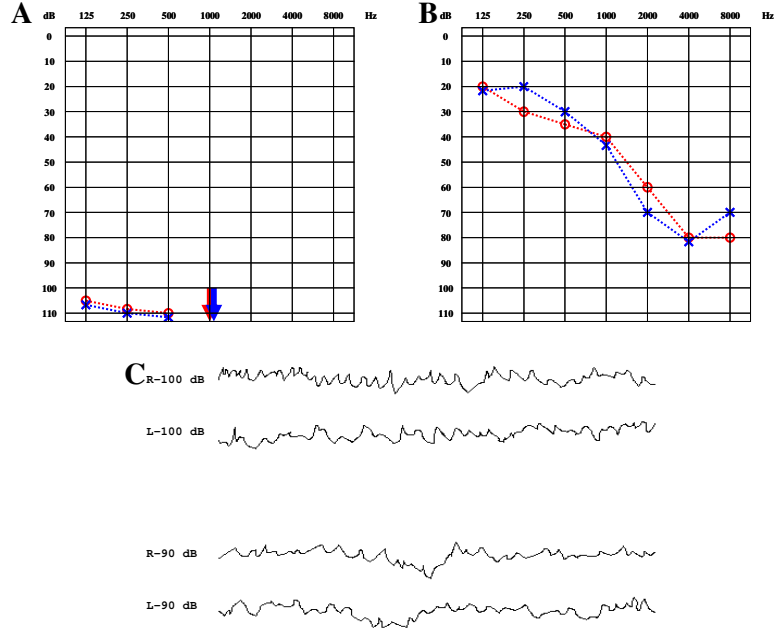
DF#39 ailesindeki, ikisi (III.1. ve III.7.) tüm frekanslarda çok ağır derecede ve biri (III.4.) yüksek frekanslarda orta-ağır düzeyde sensorinöral duyma kaybından etkilenmiş üç bireyde (Şekil 4-8) yapılan radyolojik incelemelerde geniş vestibüler akvaduktus (GVAD) saptandı (Şekil 4-9). Pedigri analizine göre, etkilenmiş bireylerdeki bu fenotipin otozomal resesif kalıtım gösterdiği belirlendi (Şekil 4-10).

Bu fenotip ile ilişkilendirilmiş, 7q22.3 kormozomal bandında lokalize olan SLC26A4 gen bölgesi D7S2459, D7S2420 ve D7S2456 markörleri kullanılarak bağlantı analizi ile değerlendirildi. Bağlantı analizinde, maternal 2-2-1 ve paternal 3-2-1 haplotiplerinin birleşik heterozigot olarak fenotip ile birlikte geçiş gösterdiği saptandı (Şekil 4-10).

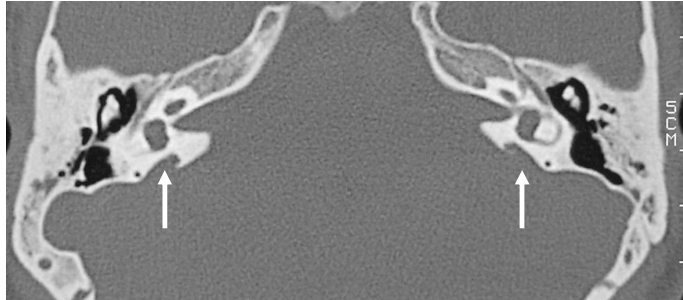
21 eksondan oluşan SLC26A4 geninde yapılan dizi analizi sonucunda indeks olgu III.7.'nin 11. eksondaki bilinen c.T1334G (p.L445W) mutasyonu (Şekil 4-11; The Human Genome Mutation Database) ile 13. eksonun kırılma bölgesinin hemen önündeki son nükleotidi etkileyen, daha önce tanımlanmamış c.T1544G değişimini (Şekil 4-12; NCBI Entrez SNP) taşıdığı görüldü. Ailenin diğer üyelerinde ilgili eksonlarda yapılan dizi analizleri sonucunda, etkilenmiş bireyler III.1. ve III.4.'ün p.L445W mutasyonu ve c.T1544G değişimi için birleşik heterozigot, etkilenmemiş bireylerden anne II.1. ile III.2. ve III.5.'in c.T1544G değişimi için ve baba II.2. ile III.3. ve III.6.'nın p.L445W için heterozigot taşıyıcı oldukları saptandı. Segregasyon analizleri, p.L445W mutasyonunun paternal 3-2-1 ve c.T1544G değişiminin de maternal 2-2-1 haplotipleri ile kalıtıldığını gösterdi (Şekil 4-10).

Kırılma için donör bölge analizinde, maksimum kırılma skoru 1.00 için normal c.T1544 alleli ile 0.53'lük ve varyant c.G1544 alleli ile 0.99'lık kırılma skorları elde edildi (BDGP: Splice Site Prediction by Neural Network). Bu sonuç, c.T1544G değişiminin kırılma hatasına yol açmadığını ve dolayısıyla non-sinonim p.F515C alterasyonuna neden olduğunu gösterdi.

103 sağlıklı bireyde post-PCR restriksiyon enzim kesimi yöntemi ile yapılan kontrol çalışması sonucunda p.F515C değişimi saptanmadı. Çeşitli omurgalı hayvanlardaki pendrin homologlarının (Ensembl Genome Browser) karşılaştırılması, p.F515'in evrimsel süreç boyunca türler arasında korunduğunu gösterdi (Şekil 4-13; EBI Tools: ClustalW). Bu verilere dayanılarak p.F515C değişiminin SLC26A4 geninde ilk kez tanımlanan yeni bir mutasyon olduğu sonucuna varıldı.

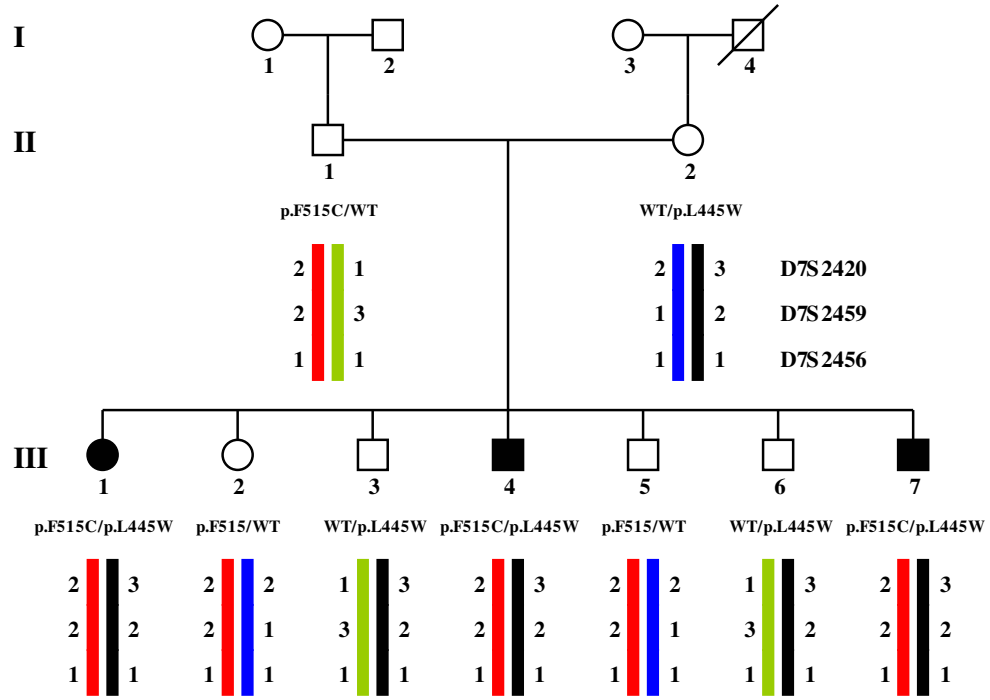


Şekil 4-8: DF#39 ailesindeki etkilenmiş bireylerden (A) III.1. ve (B) III.4.'teki odyogram bulguları ile (C) III.7.'deki ABR testi bulgusu.

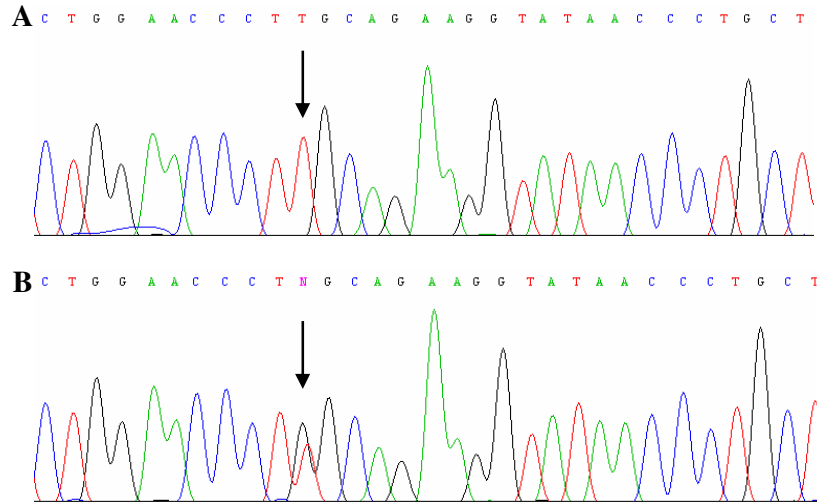


Şekil 4-9: DF#39 ailesinden etkilenmiş birey III.1.'de bilateral geniş vestibüler akuaduktus varlığını gösteren bilgisayarlı tomografi kesiti.

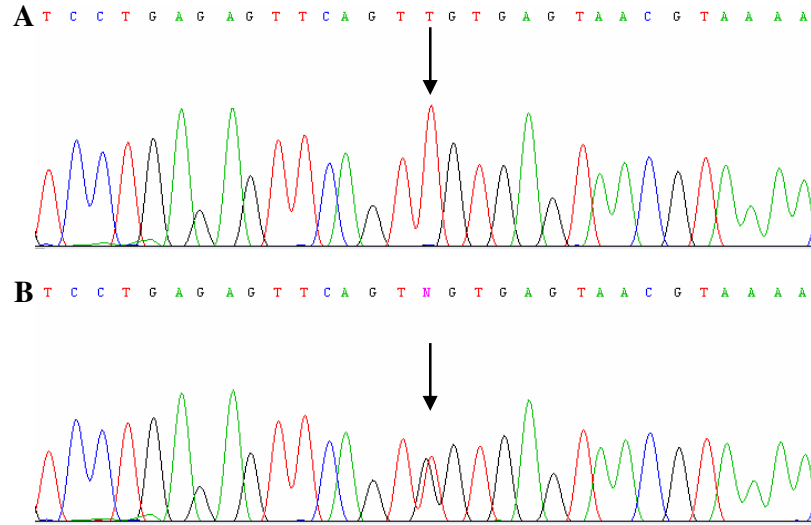
Genişlemiş vestibüler akuaduktlar okla gösterilmiştir.



Şekil 4-10: DF#39 ailesinde 7q22.3'te lokalize STR markörler kullanılarak yapılan bağlantı analizi ve SLC26A4 genindeki p.L445W ve p.F515C mutasyonlarının segregasyonları.



Şekil 4-11: DF#39 ailesinden SLC26A4 geninin 11. eksonundaki c.T1334G (p.L445W) mutasyonu için (A) wild-type ve (B) heterozigot bireylere ait kromatogramlar.



Şekil 4-12: DF#39 ailesinden SLC26A4 geninin 13. eksonundaki c.T1544G (p.F515C) mutasyonu için (A) wild-type ve (B) heterozigot bireylere ait kromatogramlar.

<i>Homo sapiens</i>	DAVIWVFTCI VSI I L G L D L G L L A G L I F G L L T V V L R V Q P S W N G L G S I P S T D I Y K S T K N Y K 537
<i>Pan troglodytes</i>	DAVIWVFTCI VSI I L G L D L G L L A G L I F G L L T V V L R V Q P S W N G L G S I P S T D I Y K S T K N Y K 537
<i>Macaca mulatta</i>	DAVIWVFTCI VSI I L G L D L G L L A G L V F G L L T V V L R V Q P S W N G L G S I P S T D I Y K S T K N Y K 537
<i>Myotis lucifugus</i>	DAVIWVFTCI VSI I L G L D L G L L A G L I F G L L T V V L R I Q P S W N G L G S I P N T D I Y K S T K D Y K 397
<i>Cavia porcellus</i>	XXVIWVFTCI MS I I L G L D L G L L A G L L F G L L T V V L R V Q P S W N D L G N I S T T D I Y K S I K N Y K 438
<i>Tupaia belangeri</i>	DAVIWVFTCI MS I I L G L D L G L L A G L I F G L L T V V L R V Q P S W N G L G S I P S T D I Y K S T K N Y K 530
<i>Rattus norvegicus</i>	DAVIWVFTCI MS I I L G L D L G L L A G L L F G L L T V V L R V Q P S W N G L G S V P S T D I Y K S I T H Y K 537
<i>Mus musculus</i>	DAVIWVFTCI MS I I L G L D L G L L A G L L F A L L T V V L R V Q P S W N G L G S V P S T D I Y K S I T H Y K 537
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	DAVIWVFTCI VSI I L G L D L G L L A G L V F A L T V V L R V Q P S W N S L G S I P S T D I Y K S T K D Y K 537
<i>Sorex araneus</i>	DAI IWVFTCI ASI I L G L D L G L L A G L L F G L L T V V R V Q P S W N G L G S I P S T D I Y K S T K N Y K 537
<i>Bos taurus</i>	DAVIWVFTCI MS I I L G L D L G L L A G L V F G F L T V V L R V Q P S W N S L G S I P S T D I Y K S T K N Y K 537
<i>Loxodonta africana</i>	DAVIWVFTCI ASI I L G L D L G L L A G L M F A L L T V V L R V Q P S W S S L G S F P N T D I Y K S T K V Y K 537
<i>Echinops telfairi</i>	DAVIWVFTCI ASI I L G L D L G L L A G L M F A L L T V V L R V Q P A W S S V G S L P H T D I Y K S T K M Y K 528
<i>Canis familiaris</i>	DAVIWVFTCI ASI I L G L D L G L L A G L M F G L L T V V L R V Q P S W N G L G S I P S T D I Y K S T T N Y K 537
<i>Erinaceus europaeus</i>	DAVIWVFTCI ASI I L G L D L G L L A G I M F G L L T V V L R I Q P S W N G L G S I P S T D I Y K S T K N Y K 478
<i>Monodelphis domestica</i>	DAVIWVFTCI ASI I L G L D L G L L A G L L F G L L T V V L R V Q P S W N D L G N V P G T D I Y K S T K D Y K 534
<i>Dasyurus novemcinctus</i>	XXLIWVFTCI ASI I L G L D F G L L A G L L F G L L T V V L R V Q P S W N G L G S I P T T D I Y K N T K N Y K 536
<i>Gallus gallus</i>	DAI IWVFTCI ASI I L G L D L G L L A G L L F G L L T V V L R V Q P S W G G F G N I P G T D I Y R K V K D Y K 650
<i>Xenopus laevis</i>	DSVIWVFTCI ASI I L G L D L G L L A G L L F G L V T I I L R V Q P S C G A L G N V P G T D I Y K N V K E Y K 527
<i>Danio rerio</i>	DCF I W I A S C L A S V V L G L D V G L L A G L V F E M G T V V V R T Q P S C A T L G N V P N T D I Y K N M K D Y K 534

Şekil 4-13: Çeşitli omurgalı hayvanlardaki pendrin homologlarının protein dizilerinin karşılaştırılması.

p.F515 rezidüsü okla gösterilmiştir. Yeşil kutu, p.F515 rezidüsünün evrimsel süreçteki korunumunu göstermektedir.

4.2.2. Düşük Frekans Sensorinöral Duyma Kaybı

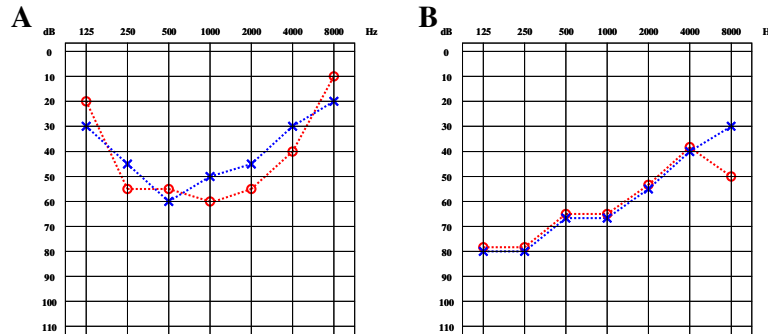
Düşük frekans sensorinöral duyma kaybı (DFSNDK) saptanan iki aileden (DF#43 ve DF#181) 13 bireyde WFS1 geninin 8 eksonu dizi analizi ile incelendi.

DF#43 Ailesi

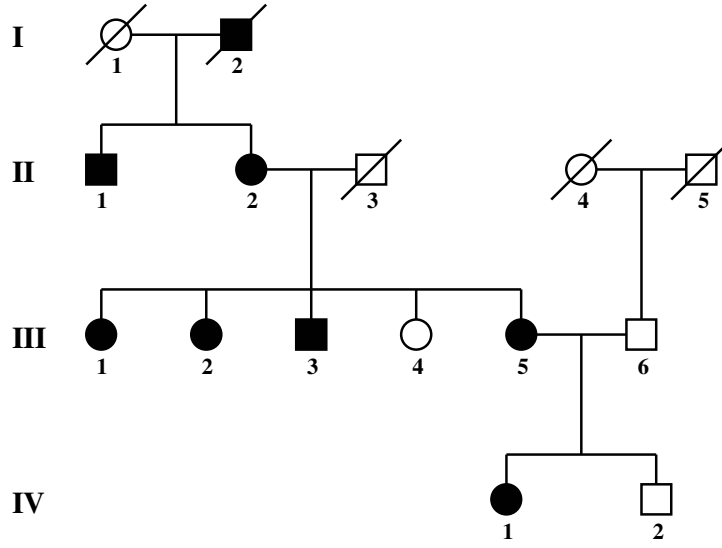
Yedi etkilenmiş ve üç etkilenmemiş bireyden oluşan DF#43 ailesinde DFSNDK'nın (Şekil 4-14) otozomal dominant olarak kalıtıldığı gözlemlendi (Şekil 4-15).

WFS1 geninde yapılan dizi analizleri, indeks olgu IV.1.'in 8. eksondaki c.2498_2506delTGGGCAGCA mutasyonu (Şekil 4-16) için heterozigot olduğunu gösterdi. Diğer aile bireylerinde ilgili gen bölgesinin dizilenmesi sonucunda heterozigot c.2498_2506delTGGGCAGCA mutasyonunun odyolojik fenotip ile birlikte geçiş gösterdiği saptandı. Kompütasyonel analizler, c.2498_2506delTGGGCAGCA mutasyonunun wolframminin 833. ile 836. aa'ler arasındaki "LGSK" dizisinin "Q" rezidüsü ile değişmesine (p.L833_K836delinsQ) neden olduğunu gösterdi (CGPDB DNA Sequence Translation in Six Frames).

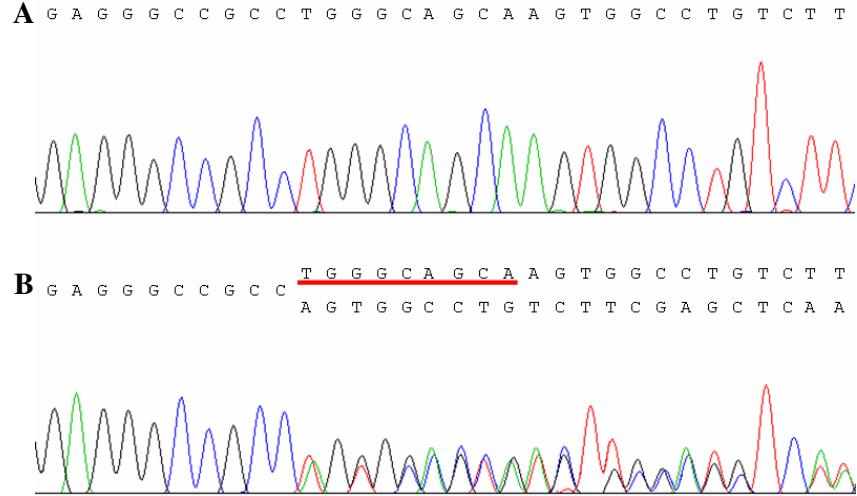
106 sağlıklı bireyde poliakrilamid jel elektroforezi yöntemi ile yapılan kontrol çalışmasında, ilgili gen bölgesinin uzunluğunu etkileyen herhangi bir değişime rastlanmadı. Çeşitli omurgalı hayvanlardaki wolframmin homologlarının (Ensembl Genome Browser) karşılaştırılması sonucunda "LGSK" dizisinin evrimsel süreçte aşağı omurgalılardan insana kadar çok büyük oranda korunduğu saptandı (Şekil 4-21; EBI Tools: ClustalW).



Şekil 4-14: DF#43 ailesindeki etkilenmiş bireylerden (A) IV.1. ve (B) III.5.'teki odyogram bulguları.



Şekil 4-15: DF#43 ailesinin pedigrisi.



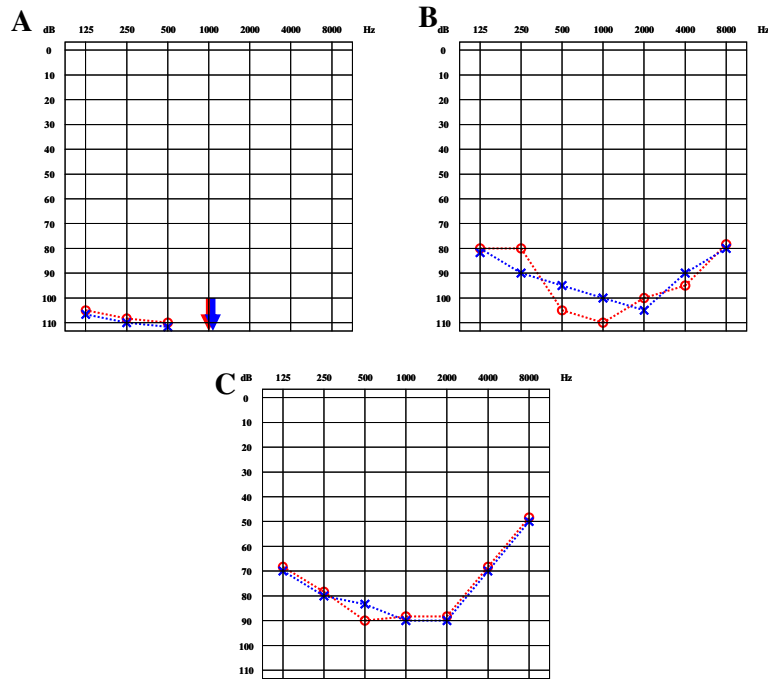
Şekil 4-16: DF#43 ailesinden WFS1 geninin 8. eksonundaki c.2498_2506delTGGGCAGCA (p.L833_K836delinsQ) mutasyonu için (A) wild-type ve (B) heterozigot bireylere ait kromatogramlar.

Kırmızı alt çizgi, heterozigot bireyin normal allelindeki "TGGGCAGCA" dizisini göstermektedir.

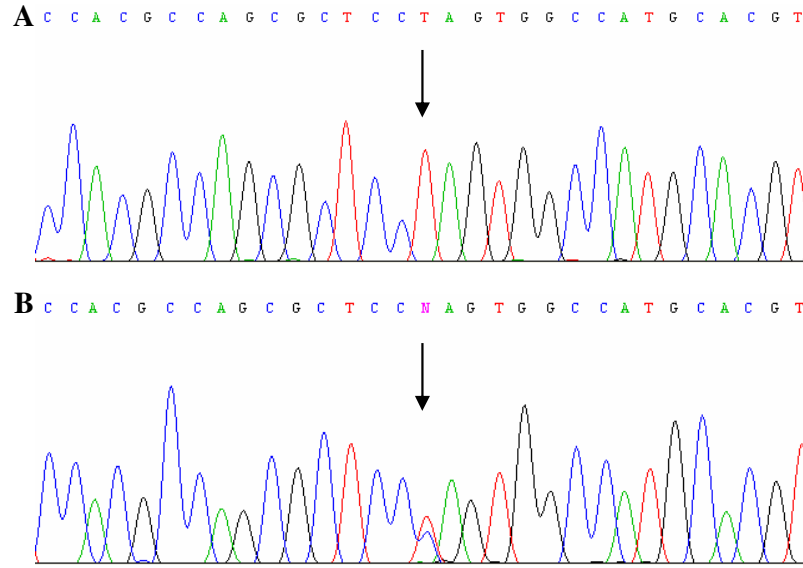
DF#181 Ailesi

Biri (II.1.) tüm frekanslarda çok ağır düzeyde duyma kaybından (Şekil 4-17A), ikisi (II.2. ve III.1.) ise DFSNDK'dan (Şekil 4-17B ve 4-17C) etkilenmiş üç bireyden oluşan DF#181 ailesinde GJB2 geninde yapılan dizi analizleri sonucunda, II.1. ve III.1.'in daha önce tanımlanmış c.T269C (p.L90P) mutasyonu (Şekil 4-18; The Human Genome Mutation Database) için heterozigot oldukları ancak II.2.'nin mutasyon taşımadığı belirlendi. WFS1 geninin dizi analizi ile taranması sonucunda ise, II.2. ve III.1.'in 8. eksondaki c.C2051T (p.A684V) mutasyonu (Şekil 4-19) için heterozigot oldukları ve II.1.'de mutasyon bulunmadığı saptandı (Şekil 4-20).

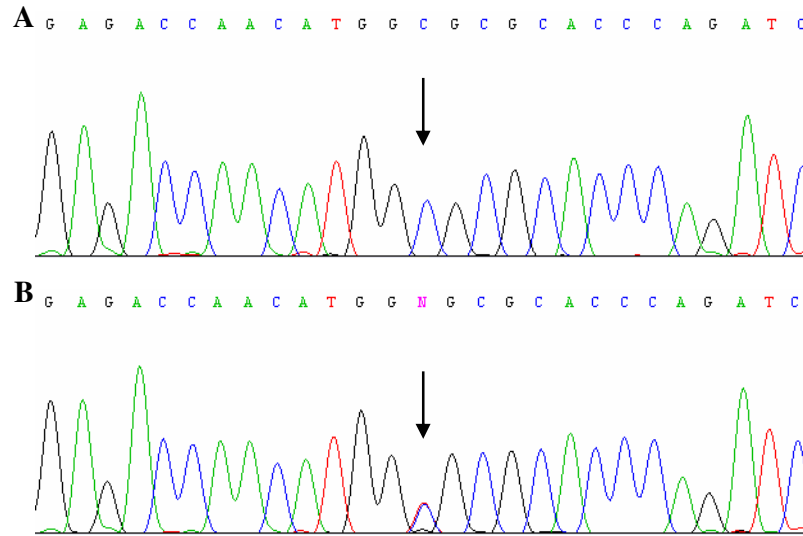
106 sağlıklı bireyde post-PCR restriksiyon enzim kesimi yöntemi ile yapılan kontrol çalışmasında p.A684V mutasyonuna rastlanmadı. Çeşitli omurgalı hayvanlardaki wolframin homologlarının (Ensembl Genome Browser) karşılaştırılması, p.A684 rezidüsünün omurgalıların evrimi boyunca korunmuş olduğunu gösterdi (Şekil 4-21; EBI Tools: ClustalW).



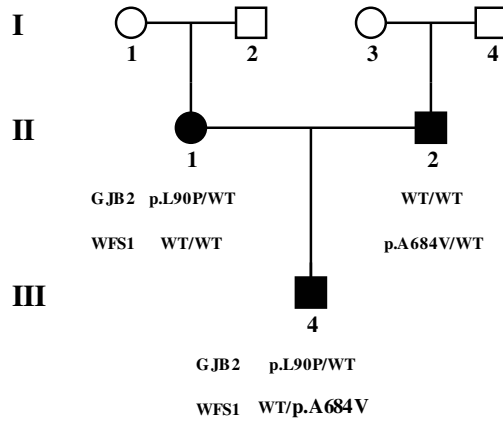
Şekil 4-17: DF#181 ailesindeki etkilenmiş bireyler (A) II.1., (B) II.2. ve (C) III.1.'deki odyogram bulguları.



Şekil 4-18: DF#181 ailesinden GJB2 geninin 2. eksonundaki c.T269C (p.L90P) mutasyonu için (A) wild-type ve (B) heterozigot bireylere ait kromatogramlar.



Şekil 4-19: DF#181 ailesinden WFS1 geninin 8. eksonundaki c.C2051T (p.A684V) mutasyonu için (A) wild-type ve (B) heterozigot bireylere ait kromatogramlar.



Şekil 4-20: DF#181 ailesinde GJB2 genindeki p.L90P ve WFS1 genindeki p.A684V mutasyonlarının segregasyonları.

	↓	
<i>Homo sapiens</i>	GALCGPRAWKETNMARTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTDIDNSAESAINMLPFFIGD	729
<i>Pan troglodytes</i>	GALCGPRAWKETNMARTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTDIDNSAESAINMLPFFIGD	534
<i>Macaca mulatta</i>	GALCGPRAWKETNMARTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTDIDNSAESAINMLPFFIGD	729
<i>Otolemur garnettii</i>	GALCGPRAWKETNMARTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTEIDNSAESAINMLPFFMGD	643
<i>Tupaia belangeri</i>	GFLCGPRAWKETNMARTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTEIDNSAESAINMLPFFIGD	727
<i>Rattus norvegicus</i>	GFLCGPRAWKETNMARTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTEIDNSAESAINMLPFFIGD	731
<i>Mus musculus</i>	GFLCGPRAWKETNMARTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTEIDNSAESAINMLPFFIGD	731
<i>Canis familiaris</i>	GFLCGPRAWKETNMARTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTEIDNSAEAAINMLPFFVGD	728
<i>Felis catus</i>	GFLCGPRAWKETNMARTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTDIDNSAESAVNMLPFFIGD	593
<i>Monodelphis domestica</i>	GFLCGPRAWKETNMARTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTDIDNSAESAINMLPFFIGD	724
<i>Dasyopus novemcinctus</i>	GHLCGPRAWKETNMARTQLLCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTEIDNSAESAINMLPFFVGD	727
<i>Loxodonta africana</i>	STLCGSRGWRETNMARTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTEIDNSAEAAINMLPFAVGD	726
<i>Gallus gallus</i>	AFLCGPRSWKETNMARTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTEIDNSAESAINMLPLFVGD	714
<i>Xenopus laevis</i>	GFICGPRAWKETNMARTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTEIDNSAESAINMLPLLIGN	732
<i>Tetraodon nigroviridis</i>	SSLCGPQCWKEANMAQTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTDIENGPHSVINMLPFFAGN	688
<i>Oryzias latipes</i>	SNLCGPLAWKESNMAQTQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTDIENGAQSVINLLPFFVGD	733
<i>Danio rerio</i>	GTLCPQAWKERGMATQQLCSHLEGHVRTWTGIFRYVRVAEKENGAQSVINMLPFFMGD	651
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	SQVCGPPAWETKGMATQQLFCSHLHGHRVTWAGRFKVRVAETDNGAQSVINMLPFFMGD	648
<i>Takifugu rubripes</i>	SNLCGPQAWKEVNMATQILCSHLEGHVRTWTGRFKYVRVTDIENGPHSVINMLPFFVAGN	679

<i>Homo sapiens</i>	TVGMPFSSGADGSRGREDDVTKDIVLRASSEFKSVLLSLRQGSLEFSTILEGR	837
<i>Pan troglodytes</i>	TVGMPFSSGADGSRGREDDVTKDIVLRASSEFKSVLLSLRQGSLEFSTILEGR	642
<i>Macaca mulatta</i>	TVGMPFSSGANSRGREDDVTKDIVLRASSEFKSVLLSLRQGSVIEFSTILEGR	837
<i>Otolemur garnettii</i>	TVGMPYSSAANSRGREDDVTKDIVLRASSEFKSVLLSLRQGSLEFSTILEGR	751
<i>Tupaia belangeri</i>	TVGMPFSSGNGTRGPEDDITKDIVLRASSEFKSVLLNLRQGSLEFSTILEGR	835
<i>Rattus norvegicus</i>	TVGMPFGTNGN--RGHEDDITKDIVLRASSEFKDVLNLRQGSLEFSTILEGR	837
<i>Mus musculus</i>	TVGMPFGTNGN--RGHEDDITKDIVLRASSEFKDVLNLRQGSLEFSTILEGR	837
<i>Canis familiaris</i>	TVGMPYSGANG--SRGPEDDVTKDIVLRASGEFKDVLGRLHGSLEFSTVLEGR	835
<i>Felis catus</i>	TVGMPYSGANG--SRGPEDDVTKDIVLRASGEFKDVLNLRQGSLEFSTVLEGR	700
<i>Monodelphis domestica</i>	TVGMPYSNIGN--KTIEDDITKDIVLRASSEFKSVLLNLRQGSVIEFSTILEGR	830
<i>Dasyopus novemcinctus</i>	TVGMPYSG--NGSRGPEDDVTKDIVLRASSEFKGVLLHLRQGSLEFSTVLEGR	832
<i>Loxodonta africana</i>	TVGMLPGSP--NGTRGTEDDVTKDIVLRASSEFRVLLSLRQGSLEFSTVLEGR	833
<i>Gallus gallus</i>	TVGMPFSSK--NGTKLVEDDITKDIVLKASNEFKVLLNLRQGSVIEFSTILEGR	821
<i>Xenopus laevis</i>	TVGMPFNQVNSKIP--IEEDDITKDIVLRASNEFKQVLLNLRQGSVIEFSTILEGR	838
<i>Tetraodon nigroviridis</i>	TMGMPLERKTKNGTIVEDEDATKDIVLKASNEFKVLLHLKLGSLVEFSTILEGR	802
<i>Oryzias latipes</i>	TLGMPLEKAKDGTLIEDEDITKDIVLRASNEFKSVLLQNTGSLVEFSTILEGR	853
<i>Danio rerio</i>	TVGMFVGVTK-----VDNPAQDILLMASHEFRQVLLNLRQGSVIEFSTILEGR	755
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	TVGMFRDGG-----LEDATRDVILMASHEFRQVLLNLRQGSVIEFSTILEGR	750
<i>Takifugu rubripes</i>	TVGRIQAGA-----VDDPAMDIVLMASHEFRQVLLNLRQGSVIEFSTILEGR	740

Şekil 4-21: Çeşitli omurgalı hayvanlardaki wolframin homologlarının protein dizilerinin karşılaştırılması.

p.A684 rezidüsü okla, "LGSK" dizisi (****) ile gösterilmiştir. Sarı ve yeşil kutular p.A684 rezidüsü ve "LGSK" dizisinin evrimsel süreçteki korunumlarını göstermektedir.

4.3. Daha Önce Haritalanmış NSDK Ailelerinde Yapılan Çalışmalar

Daha önceki çalışmamızda (562) genom-boyu bağlantı analizi ve ince haritalama çalışmaları ile haritalanmış olan DF#9, DF#19, DF#44 ve DF#51 ailelerindeki NSDK'lardan sorumlu genlerin ve mutasyonların tanımlanması amacı ile ileri moleküler genetik analizler ve odyolojik tetkikler yapıldı.

DF#9 Ailesi

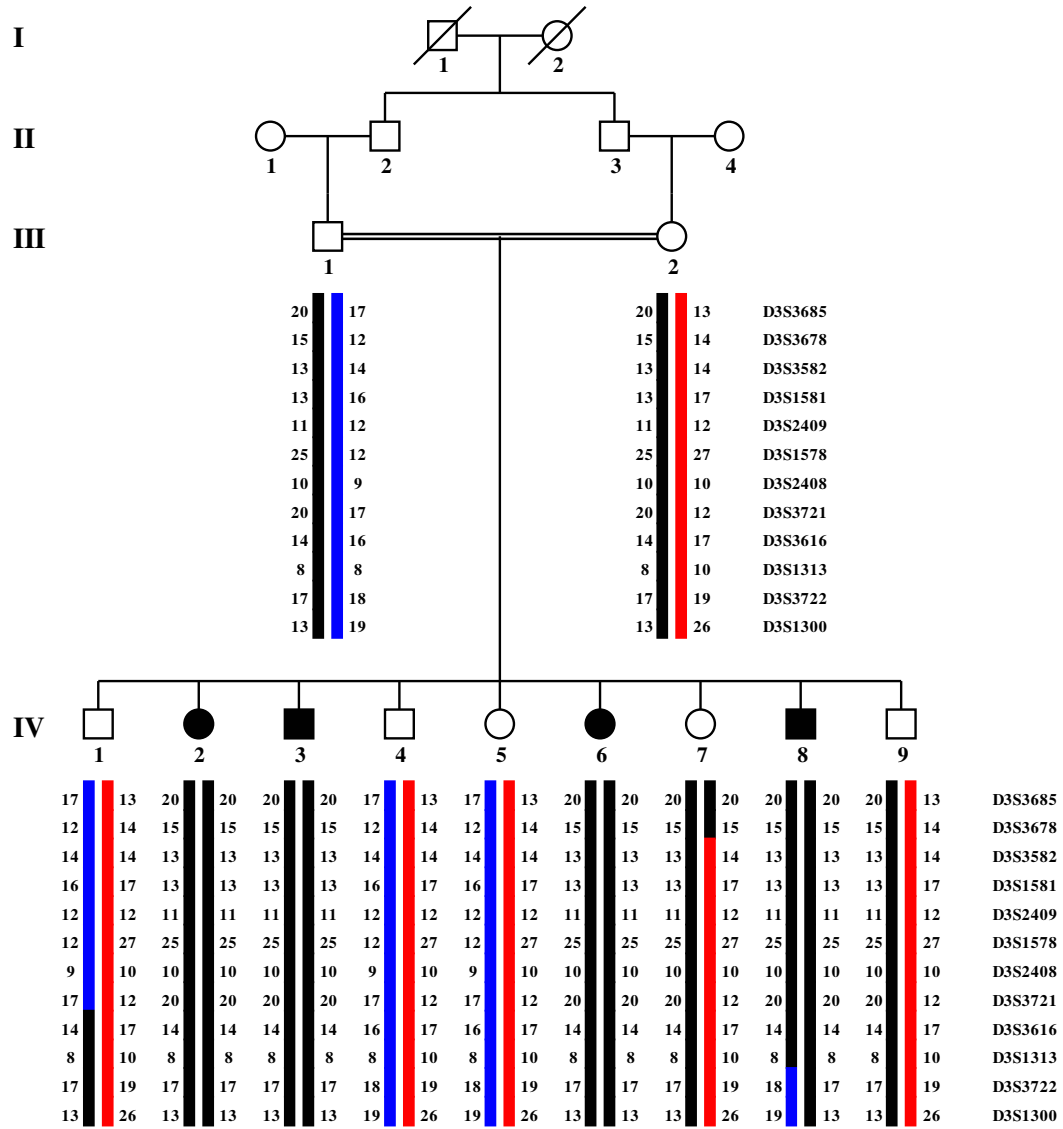
Dört etkilenmiş ve yedi etkilenmemiş bireyden oluşan DF#9 ailesinde, sorumlu genin haritalandığı 3p14.2-p22.1'de D3S3678 ve D3S3722 markörleri arasında kalan (Şekil 4-22; D3S1578 için $Z_{\max}=3.007$, $\theta=0.00$) ~16.1 Mb'lik bölgede (UCSC Genome Browser) lokalize olan ve 4 eksondan oluşan TMIE geninde yapılan dizi analizleri sonucunda, 3. eksonda bilinen c.C250T (p.R84W) mutasyonunun (Şekil 4-24; The Human Genome Mutation Database) fenotip ile birlikte geçiş gösterdiği saptandı.

DF#19 Ailesi

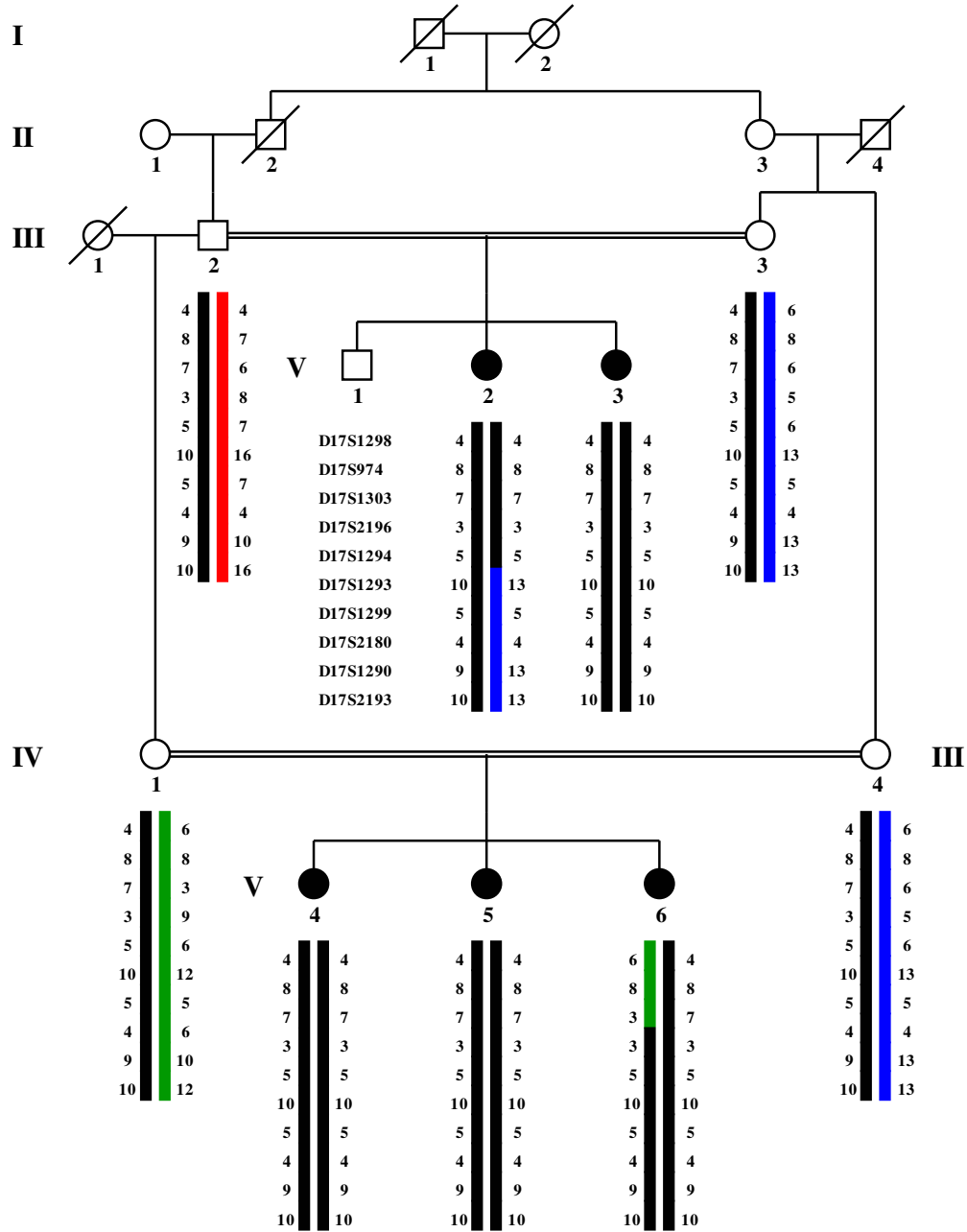
Beş etkilenmiş ve dört etkilenmemiş bireyden oluşan DF#19 ailesinde, sorumlu genin haritalandığı 17p11.2-q11.2'de D17S1303 ve D17S1293 arasında kalan (Şekil 4-23; D17S2196 için $Z_{\max}=3.708$, $\theta=0.00$) ~18.8 Mb'lik bölgede (UCSC Genome Browser) yer alan 65 eksondan oluşan MYO15A geninde gerçekleştirilen dizileme çalışmaları sonucunda, 50. introndaki c.8974-1G>C mutasyonunun (Şekil 4-25) fenotip ile birlikte geçiş gösterdiği saptandı.

Kırılma için akseptör bölge analizinde, maksimum kırılma skoru 1.00 için normal allel ile 0.97'lik kırılma skoru elde edilirken c.8974-1G>C mutasyonunun kırılma akseptör bölgesini ortadan kaldırdığı (BDGP: Splice Site Prediction by Neural Network) ve kırılma sonucunda oluşan mRNA'da MYO15A geninin 51. eksonunun tamamen delesyona uğradığı saptandı. Kompütasyonel analizler, c.8974-1G>C mutasyonunu taşıyan MYO15A geni transkriptinin kırılmasından oluşacak mRNA'nın translasyona uğraması halinde miyozin XV'in C-terminalindeki 540 aa yerine 62 hatalı aa gireceği (p.P2993WfsX63) belirlendi (CGPDB DNA Sequence Translation in Six Frames).

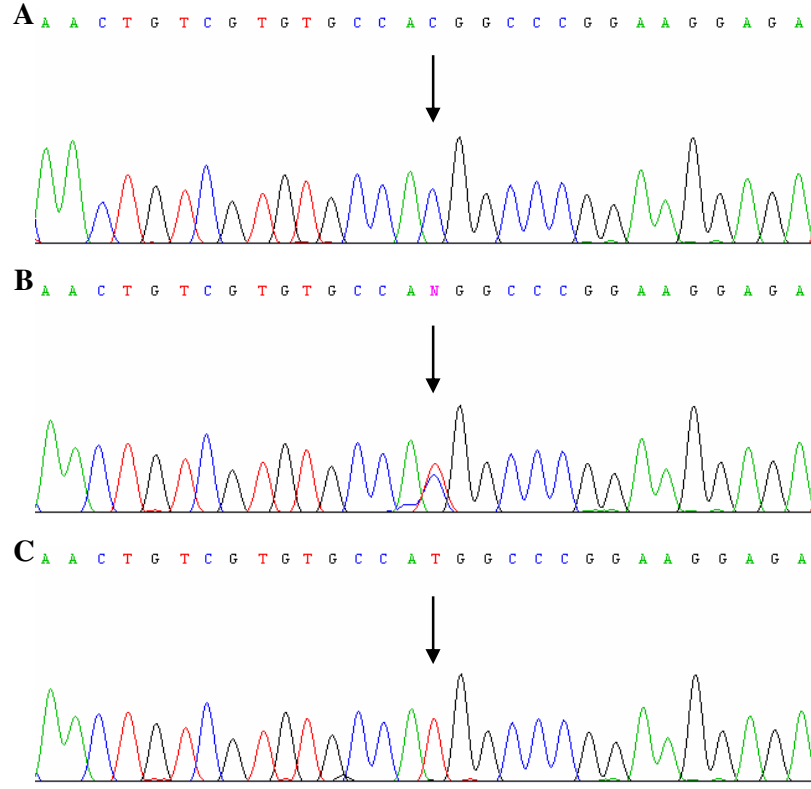
115 sağlıklı bireyde post-PCR restriksiyon enzimi analizi ile yapılan kontrol çalışmasında c.8974-1G>C mutasyonuna rastlanmadı.



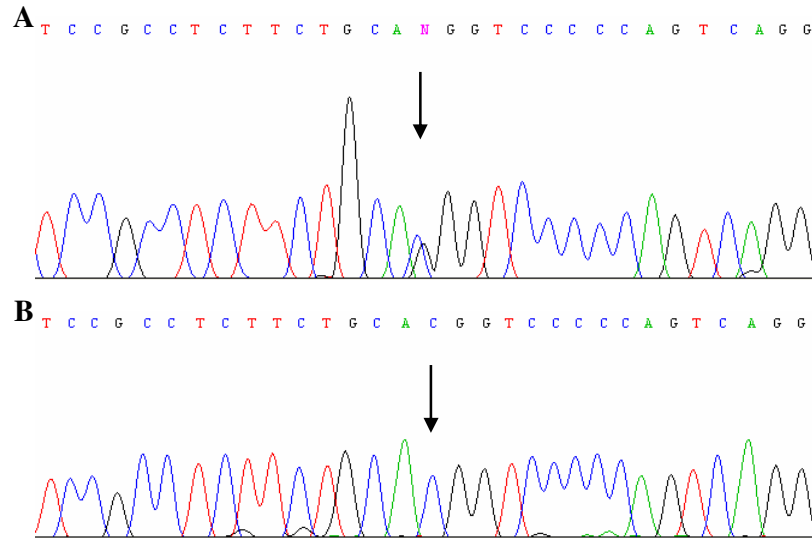
Şekil 4-22: DF#9 ailesinde 3p14.2-p22.1'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler (562).



Şekil 4-23: DF#19 ailesinde 17p13.2-q24.2'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler (562).



Şekil 4-24: DF#9 ailesinden TMIE geninin 3. eksonundaki c.C250T (p.R84W) mutasyonu için (A) wild-type, (B) heterozigot ve (C) homozigot bireylere ait kromatogramlar.



Şekil 4-25: DF#19 ailesinden MYO15A geninin 50. intronundaki c.8974-1G>C mutasyonu için (A) heterozigot ve (B) homozigot bireylere ait kromatogramlar.

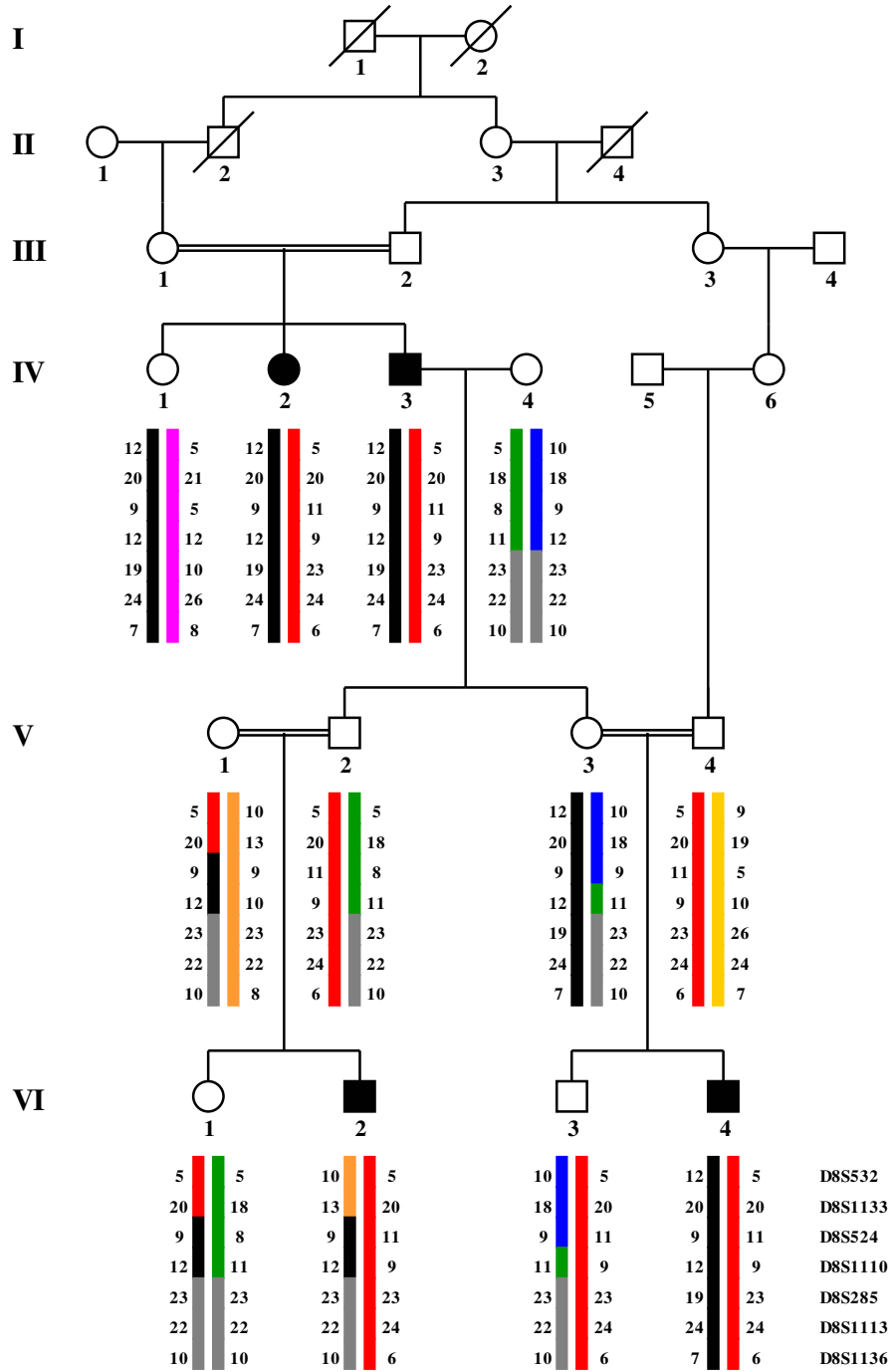
DF#44 Ailesi

NSDK'dan sorumlu genin daha önce birleşik heterozigotluk için genom-boyu haplotip analizi ile 8q11.2-q12.1'e haritalandığı (Şekil 4-26; D8S1133 için $Z_{\max}=2.413$, $\theta=0.00$), dört etkilenmiş ve yedi etkilenmemiş bireyden oluşan DF#44 ailesindeki bireylerin ileri odyolojik tetkikler ile yeniden değerlendirilmesi sonucunda, etkilenmiş bireylerden IV.2., IV.3. ve VI.4.'ün tüm frekanslarda çok ağır derecede duyma kaybına (Şekil 4-27B) sahipken VI.2.'nin sadece yüksek frekansları tutan orta-ağır derecede duyma kaybından (Şekil 4-27A) etkilenmiş olduğu belirlendi. Elde edilen bulgulara dayanılarak VI.2.'deki yüksek frekans duyma kaybı fenokopi olarak değerlendirildi.

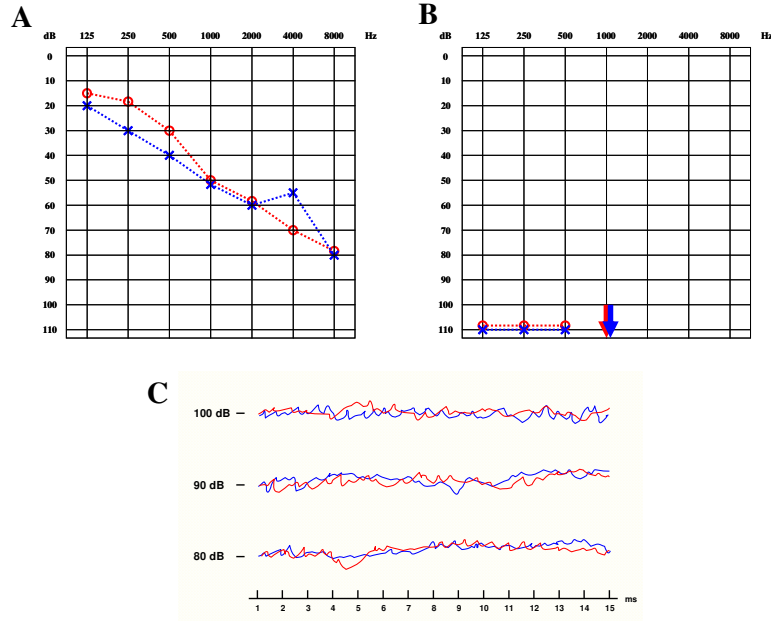
DF#44 ailesinin üyelerinin, düzeltilmiş etkilenmişlik durumlarına göre, önceki genom-boyu bağlantı analizinde belirlenen genotipleri üzerinden MLINK programı kullanılarak yeni *two-point* LOD skor değerleri hesaplandı. Hesaplamalar sonucunda D6S2427 markörü için anlamlı (≥ 3) LOD skor değeri ($Z_{\max}=3.291$, $\theta=0.00$) elde edildi (Tablo 4-1). Yapılan haplotip analizi sonucunda, D6S2427 ve D6S1017 markörleri için 7-7 haplotipinin ailedeki duyma kaybı ile birlikte segregasyon gösterdiği saptandı. Kritik rekombinasyon olayları D6S1959 ile D6S2427 markörleri arasında IV.2., IV.3. ve VI.4.'te ve D6S1017 ile D6S2410 markörleri arasında VI.1., VI.2., V.2. ve VI.1.'de görüldü. Buna göre, DF#44 ailesindeki otozomal resesif duyma kaybından sorumlu gen, 6p12.3-p22.3'te D6S1959 ve D6S2410 markörleri arasında kalan ~30.7 Mb'lik bölgeye (UCSC Genome Browser) haritalandı (Şekil 4-28).

Aile ağacı ve hikayesinin güncellenmesi ile saptanan iki etkilenmiş birey (III.5. ve IV.8.), ABR testi ile tanı konan etkilenmiş bir yenidoğan (VI.5.; Şekil 4-27C) ve etkilenmemiş yedi bireyin katılımı ile DF#44 ailesinde D6S1959 ve D6S2410 markörleri arasında kalan kritik bölgede ilave STR markörler kullanılarak ince haritalama çalışması yapıldı (Şekil 4-29). Saptanan genotipler üzerinden SIMWALK2 programı ile gerçekleştirilen hesaplamalarda maksimum *multi-point* LOD skor değeri D6S2427 markörü için elde edildi (Şekil 4-30; $Z_{\max}=4.44$, $\theta=0.00$). Haplotip analizleri sonucunda D6S2427 markörünün, D6S943, D6S389, D6S426 ve D6S1575 markörleri ile birlikte, hastalıkla tam olarak segregasyon gösterdiği saptandı. Bağlantı gösteren bölgeyi belirleyen rekombinasyon olayları D6S1629 ile D6S291 markörleri arasında IV.8.'de ve D6S1549 ile D6S400 markörleri arasında IV.2., IV.3., VI.4. ve IV.5'te görüldü. Bu bulgulara göre, DF#44'teki NSDK'dan sorumlu gen, 6p21.1-p21.31'de

D6S1629 ile D6S400 markörleri arasında kalan ~8.4 Mb'lık bölgeye (UCSC Genome Browser) haritalandı (Şekil 4-29).



Şekil 4-26: DF#44 ailesinde 8p11.21-q13.1'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler (562).

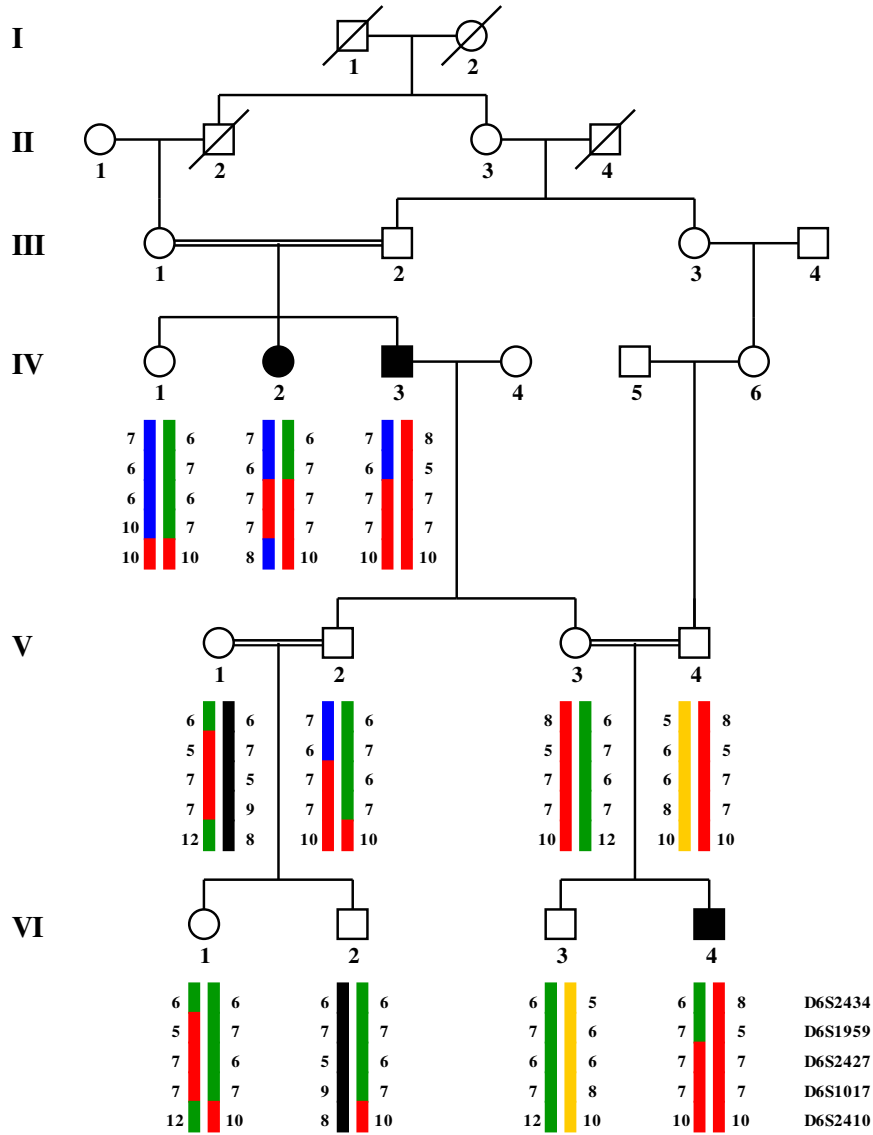


Şekil 4-27: DF#44 ailesinden (A) VI.2. ve (B) VI.4.'deki odyogram bulguları ile (C) III.1.'deki ABR testi bulgusu.

Bağlantılı bölge içinde yer alan ve 4 eksondan oluşan TMHS/LHFPL5 geninde yapılan dizi analizleri sonucunda, 2. eksonun son nükleotidini etkileyen c.649delG mutasyonunun (Şekil 4-31) fenotip ile birlikte geçiş gösterdiği saptandı.

Kırılma için donör bölge analizinde, maksimum kırılma skoru 1.00 için normal allel ile 0.95'lik kırılma skoru elde edilirken c.649delG mutasyonunun kırılma donör bölgesini ortadan kaldırdığı (BDGP: Splice Site Prediction by Neural Network) ve kodlanan mRNA'dan TMHS/LHFPL5 geninin 2. intronun kırılıp çıkarılmadığı saptandı. Kompüsyonel analizler, c.649delG mutasyonunu taşıyan TMHS/LHFPL5 geni transkriptinin kırılmasından oluşacak mRNA'nın translasyona uğraması halinde sentezlenecek peptidin C-terminaline 217. aa'ten itibaren hatalı 61 aa gireceği (p.E217VfsX62) belirlendi (CGPDB DNA Sequence Translation in Six Frames).

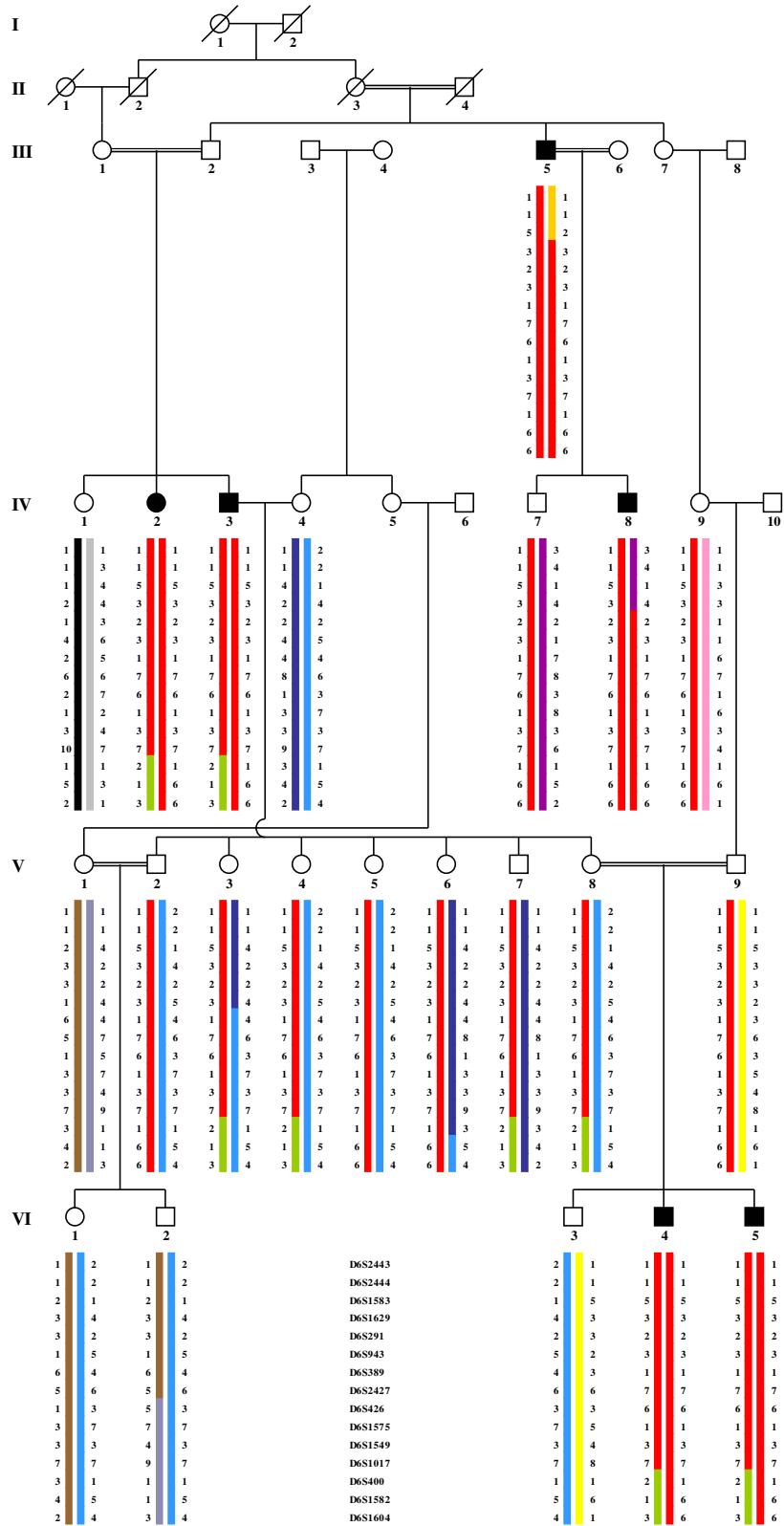
170 sağlıklı bireyde post-PCR restriksiyon enzimi analizi ile yapılan kontrol çalışmasında c.649delG mutasyonuna rastlanmadı.



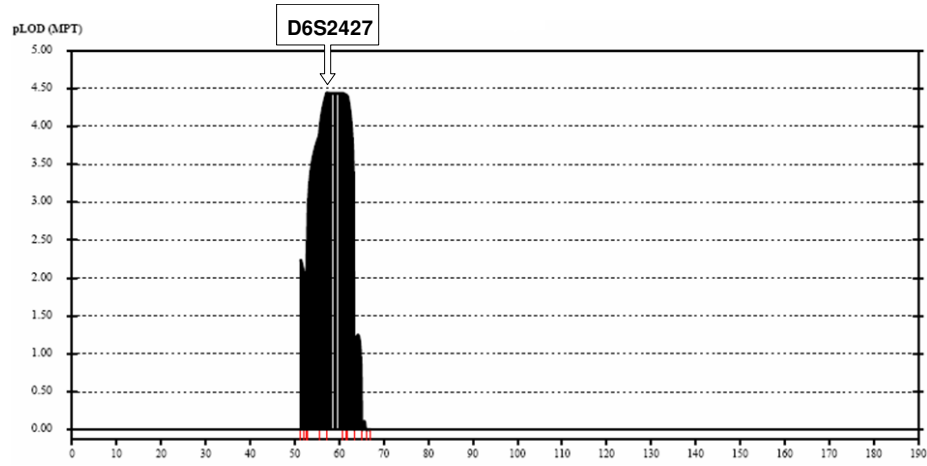
Şekil 4-28: DF#44 ailesinde 6p12.3-p23'teki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.

Tablo 4-1: DF#44 ailesinde 6p12.3-p23'teki STR markörler için elde edilen *two-point* LOD skor değerleri

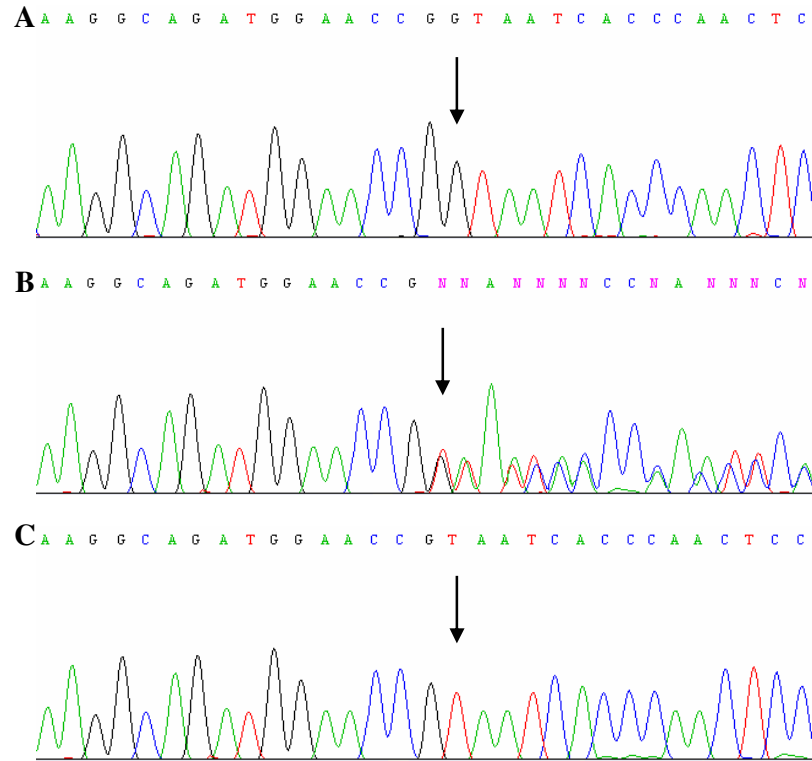
Markör	$\theta =$	0.000	0.001	0.010	0.050	0.100	0.150	0.200	0.300	0.400
D6S2434		−infin	−5.532	−2.675	−0.807	−0.179	0.078	0.186	0.208	0.122
D6S1959		−infin	−2.708	−0.857	0.296	0.601	0.660	0.622	0.431	0.208
D6S2427		3.291	3.285	3.225	2.954	2.610	2.260	1.905	1.199	0.546
D6S1017		1.871	1.866	1.826	1.648	1.423	1.199	0.978	0.564	0.228
D6S2410		−2.969	−2.870	−1.620	−0.400	0.003	0.156	0.208	0.177	0.086



Şekil 4-29: DF#44 ailesinde 6p21.32-p21.1'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.



Şekil 4-30: DF#44 ailesinde 6p21.32-p21.1'deki STR markörler için elde edilen multi-point LOD skor değerleri.



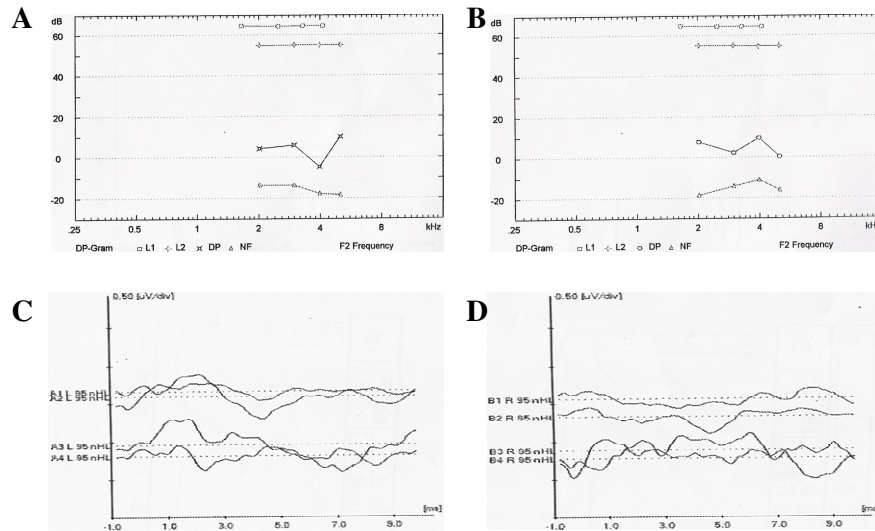
Şekil 4-31: DF#44 ailesinden TMHS/LHFPL5 geninin 2. eksonundaki c.649delG mutasyonu için (A) wild-type, (B) heterozigot ve (C) homozigot bireylere ait kromatogramlar.

DF#51 Ailesi

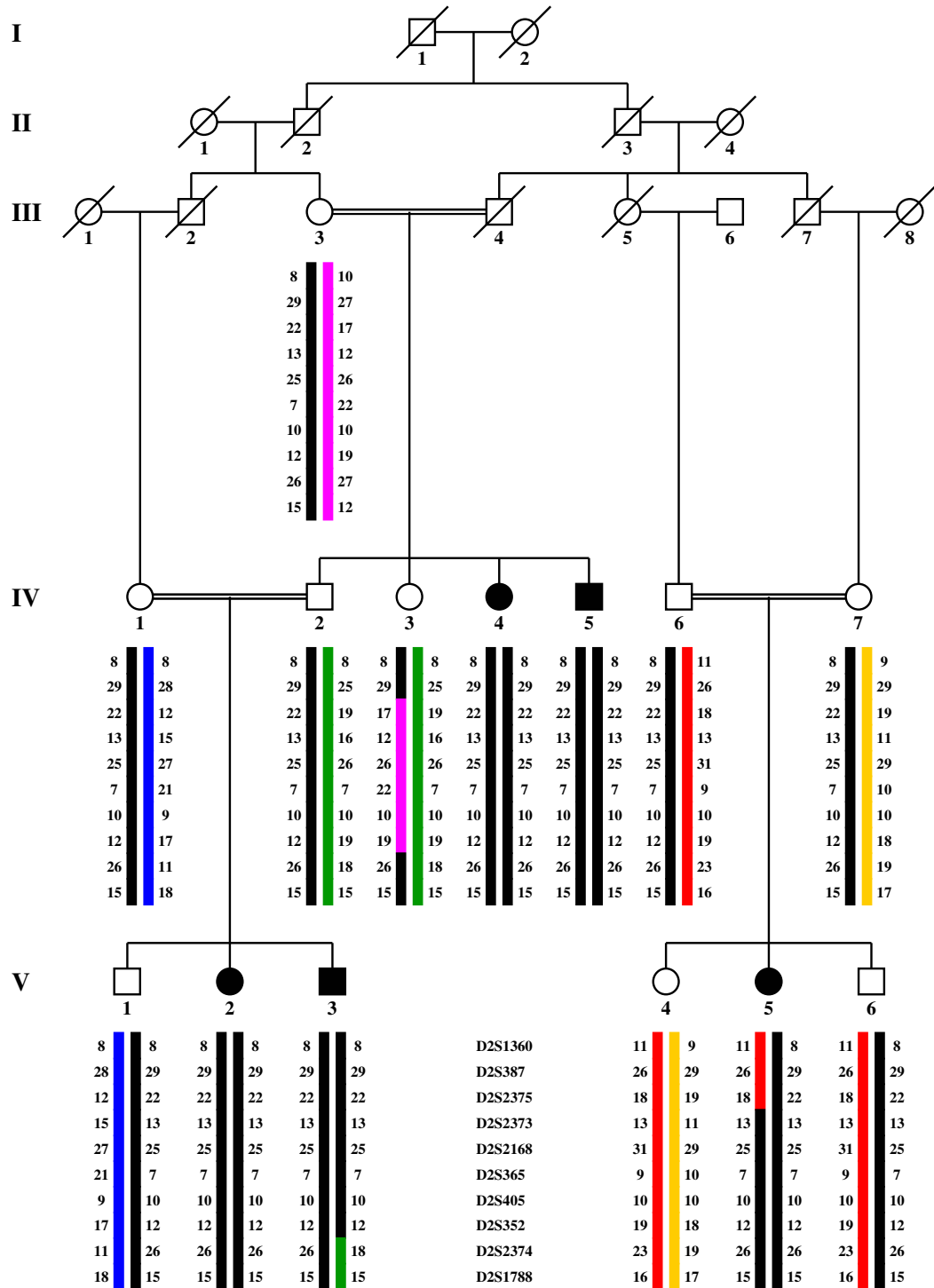
Beş etkilenmiş ve dokuz etkilenmemiş bireyden oluşan DF#51 ailesinde, sorumlu genin haritalandığı 2p22.3-p24.2’te D2S2375 ile D2S2374 markörleri arasında kalan (Şekil 4-33; D2S2168 için $Z_{\max}=4.775$, $\theta=0.00$) ~17 Mb’lik bölgede (UCSC Genome Browser) lokalize olan ve 48 eksondan oluşan OTOF geninde yapılan dizi analizleri sonucunda 44. eksondaki, daha önce tanımlanmamış c.G5567A (p.R1856Q) değişiminin (Şekil 4-34; NCBI Entrez SNP) fenotip ile birlikte geçiş gösterdiği saptandı.

120 sağlıklı bireyde post-PCR restriksiyon enzim analizi ile yapılan kontrol çalışmasında p.R1856Q değişimine rastlanmadı. Çeşitli omurgalı hayvanlardaki otoferlin homologlarının (Ensembl Genome Browser) karşılaştırılması, p.R1856 rezidüsünün evrimsel süreçte korunduğunu gösterdi (Şekil 4-35; EBI Tools: ClustalW). Bu verilere dayanılarak p.R1856Q değişiminin OTOF geninde ilk kez tanımlanan bir mutasyon olduğu sonucuna varıldı. Bilgisayar ortamında gerçekleştirilen analizler, p.R1856Q mutasyonunun OTOF geni tarafından kodlanan dört izoformu (otoferlin-U, -K1, -K2 ve -K3; bk. 2.4.6.1.) da etkilediğini gösterdi (Ensembl Genome Browser).

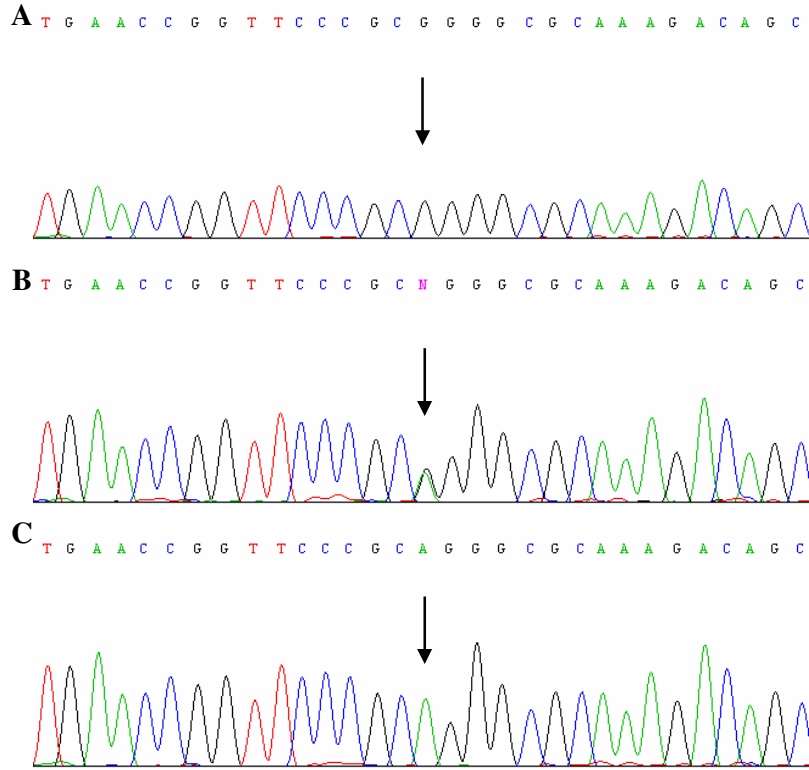
Moleküler bulgular doğrultusunda, V.2. ve V.3. olguları klinik açıdan yeniden değerlendirildi ve fenotipin işitsel nöropati olduğu sonucuna varıldı (Şekil 4-32).



Şekil 4-32: DF#51 ailesinden V.1. (A, C) ve V.3.’te (B, D) yapılan DPOAE (A, B) ve ABR (C, D) testlerinden elde edilen bulgular.



Şekil 4-33: DF#51 ailesinde 2p22.3-p24.2'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler (562).



Şekil 4-34: DF#51 ailesinden OTOF geninin 44. eksonundaki c.G5567A (p.R1856Q) mutasyonu için (A) wild-type, (B) heterozigot ve (C) homozigot bireylere ait kromatogramlar.

		↓	
<i>Homo sapiens</i>	TLQIWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCTMEMATGEVDVPLVSI	FKQKRVKG 1888
<i>Pan troglodytes</i>	TLQIWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCTMEMATGEVDVPLVSI	FKQKRVKG 1792
<i>Macaca mulatta</i>	TLQIWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCTMEMATGEVDVPLVSI	FKQKRVKG 1885
<i>Rattus norvegicus</i>	TLQIWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCTMEMATGEVDVPLVSI	FKQKRVKG 1884
<i>Mus musculus</i>	TLQIWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCTMEMATGEVDVPLVSI	FKQKRVKG 1883
<i>Microcebus murinus</i>	TLQIWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCTMEMATGEVDVPLVSI	FKQKRVKG 1886
<i>Bos taurus</i>	TLQIWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCTMEMATGEVDVPLVSI	FKQKRVKG 1889
<i>Canis familiaris</i>	TLQIWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCTMEMATGEVDVPLVSI	FKQKRVKG 1890
<i>Felis catus</i>	TLQIWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCTMEMATGEVDVPLVSI	FKQKRVKG 1475
<i>Monodelphis domestica</i>	TLQIWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCSMEMATGEMEVPLVSI	FKQKRVKG 1888
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	TLQIWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCSMEMATGEVDVPLVSI	FKQKRVKG 1885
<i>Gallus gallus</i>	TLQVWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTSKQCSLEMVTNEAELPMVSI	FKQKRVKG 1901
<i>Xenopus laevis</i>	TLQVWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCSIEMAEPPVDLPMVSI	FKQKRVKG 1895
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	TLQVWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCSLAMIRNEQELPTIS	FKQKRVKG 1883
<i>Tetraodon nigroviridis</i>	TLQVWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCSLDMIRHEQELPTIS	FKQKRVKG 1873
<i>Oryzias latipes</i>	TLQVWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCSLDMIRNEHELPTIS	FKQKRVKG 1850
<i>Danio rerio</i>	NLQVWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCSIEMVTNENEMPMVNI	FKQKRIKG 1092
<i>Takifugu rubripes</i>	NLQVWDADHFSADDFLGAIELDLNRFPP	GAKTAKQCTIKMVTSEGDMPMVSI	FKQKRIKG 1721

Şekil 4-35: Çeşitli omurgalı hayvanlardaki otoferlin homologlarının protein dizilerinin karşılaştırılması.

p.R1856 rezidüsü okla gösterilmiştir. Yeşil kutu, p.R1856 rezidüsünün evrimsel süreçteki korunumunu göstermektedir.

Tablo 4-2: SDK ve NSDK ailelerinde dizi analizi ile incelenen genlerde saptanan polimorfizmler

Gen	Ekson	İntron	SNP no.*	Polimorfizm	Aile	Birey	Genotip	
ATP6V1B1	1		rs11681642	c.T2C (p.M1T)	DF#191	IV.2.	Homozigot	
			rs17853498	c.T27C (p.P9P)	DF#191	IV.2.	Homozigot	
		1	rs759219	c.118+23C>T	DF#191	IV.2.	Homozigot	
	2		rs2266918	c.C138T (p.S46S)	DF#152	IV.1.	Homozigot	
					DF#191	IV.2.	Homozigot	
		3	rs967063	c.274-72A>C	DF#152	IV.1.	Homozigot	
					DF#191	IV.2.	Homozigot	
		5	rs17006573	c.445+157G>A	DF#191	IV.2.	Homozigot	
		7	rs4852733	c.687+163G>A	DF#152	IV.1.	Homozigot	
					DF#191	IV.2.	Homozigot	
		7	rs2110405	c.688-265G>C	DF#152	IV.1.	Homozigot	
					DF#191	IV.2.	Homozigot	
		10		rs2072462	c.C1002T (p.R334R)	DF#191	III.1.	Heterozigot
				rs2072463	c.1060+103G>A	DF#191	IV.2.	Homozigot
			rs2270263	c.1249-89C>T	DF#152	IV.1.	Homozigot	
				DF#191	IV.2.	Homozigot		
OTOF		3	rs1879760	c.227+55C>T	DF#51	V.3.	Homozigot	
SLC26A4		5	rs3817613	c.600-266T>G	DF#39	III.7.	Homozigot	
		8	rs2395911	c.1011+131G>T	DF#39	III.7.	Homozigot	
		17	rs6955309	c.2034-210C>T	DF#39	III.7.	Homozigot	
WFS1		3	rs4688990	c.316-37C>T	DF#43	IV.1.	Heterozigot	
				DF#181	III.1.	Heterozigot		
		5	rs9998835	c.631+143C>G	DF#181	III.1.	Homozigot	
		5	rs10012946	c.631+256T>C	DF#181	III.1.	Homozigot	
		5	rs13101355	c.632-198T>C	DF#181	III.1.	Homozigot	
		5	rs13147655	c.632-170A>G	DF#181	III.1.	Homozigot	
		6	rs7672995	c.C854G (p.R228R)	DF#181	III.1.	Homozigot	
		8	rs1801212	c.A997G (p.I333V)	DF#43	IV.1.	Heterozigot	
		8	rs1801206	c.C1185T (p.V395V)	DF#181	III.1.	Heterozigot	
		8	rs1801214	c.C1500T (p.N500N)	DF#43	IV.1.	Heterozigot	
				DF#181	III.1.	Homozigot		
		8	rs734312	c.G1832A (p.R611H)	DF#181	III.1.	Heterozigot	
	8	rs1046314	c.G2433A (p.K811K)	DF#43	III.6.	Heterozigot		
			DF#181	III.1.	Heterozigot			
	8	rs1046316	c.A2565G (p.S855S)	DF#43	IV.1.	Heterozigot		

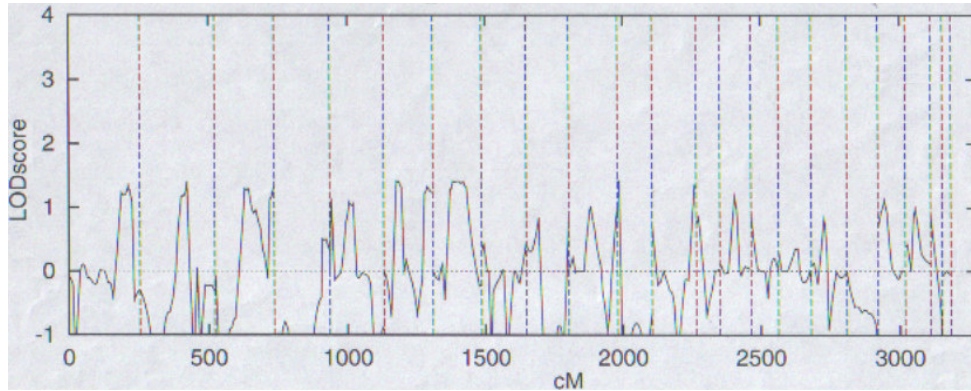
* NCBI Entrez SNP, www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP.

4.4. Non-Sendromik Duyma Kaybı Ailelerinde Gen Haritalaması

Yakın akraba evliliği yapmış, ≥ 4 etkilenmiş bireye sahip DF#17 ve DF#33 aileleri genom-boyu bağlantı analizi ile gen haritalaması için seçildi. Her iki aile için de, SLINK programı kullanılarak otozomal resesif kalıtım, tam penetrans ve %1 fenokopi olasılığına göre ELOD skorları ≥ 3 olarak hesaplandı. Gen haritalaması Max-Delbrück Moleküler Tıp Merkezi'ndeki (Berlin, Almanya) Gen Haritalama Merkezi'nin imkanları kullanılarak gerçekleştirildi.

DF#17 Ailesi

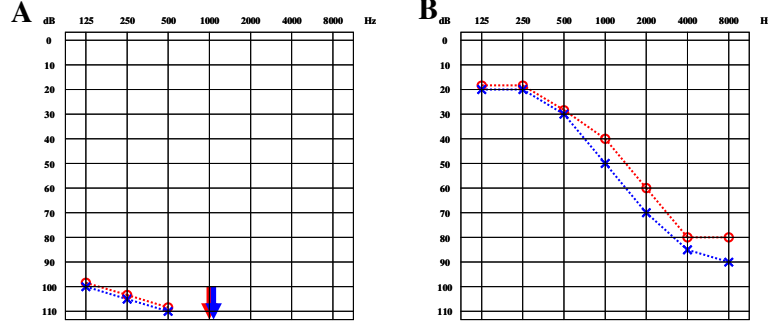
Dört etkilenmiş ve beş etkilenmemiş bireyden oluşan DF#17 ailesinde genom-boyu bağlantı analizini takiben otozomal resesif kalıtım, tam penetrans ve %1 fenokopi olasılığına göre MLINK programı kullanılarak yapılan *two-point* ve SIMWALK2 programı ile gerçekleştirilen *multi-point* LOD skor hesaplamalarında anlamlı LOD skor değerine ulaşılamadı (Şekil 4-36).



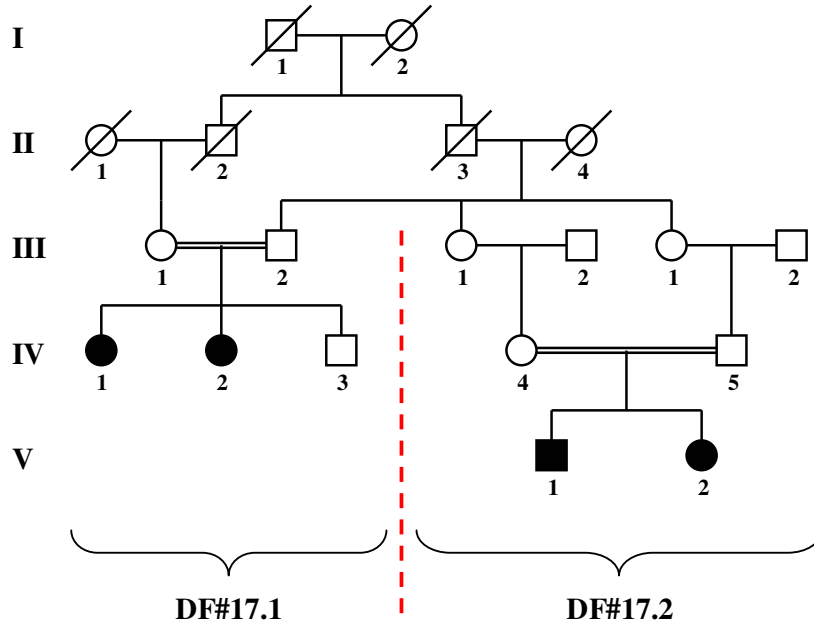
Şekil 4-36: DF#17 ailesinde genom-boyu bağlantı analizinden genotipler üzerinden hesaplanan *multi-point* LOD skor değerleri.

Etkilenmiş bireylerin odyolojik fenotiplerinin yeniden değerlendirilmesi sonucunda IV.1. ve IV.2.'nin tüm frekansları tutan çok ağır derecede duyma kaybından (Şekil 4-37A), V.1.'in ise yüksek frekans duyma kaybından (Şekil 4-37B) etkilenmiş olduğu görüldü. Olgu V.2.'de ise kazanılmış nörolojik becerilerin kaybı ve retinitis pigmentosa dolayısıyla odyolojik incelemeler yapılamadı. Elde edilen verilere dayanılarak DF#17 ailesinin iki kolunda farklı kalıtsal duyma kayıplarının segregasyon gösterdiği sonucuna varıldı ve etkilenmiş iki kol (DF#17.1 ve DF#17.2) birbirinden

ayrıldı (Şekil 4-38). Çalışmamız kapsamında sadece NSDK'ya sahip DF#17.1 kolu değerlendirildi.



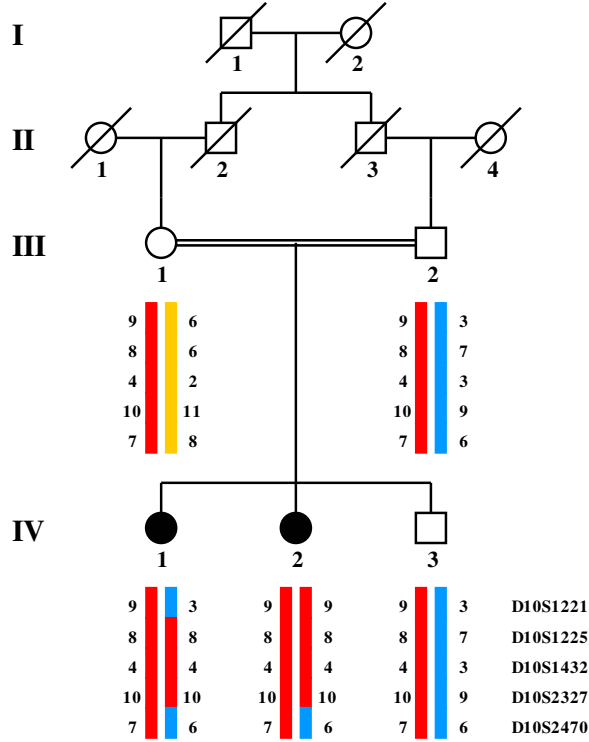
Şekil 4-37: DF#17 ailesinden (A) VI.2. ve (B) V.1.'deki odyogram bulguları.



Şekil 4-38: DF#17 ailesinin aile ağacı.

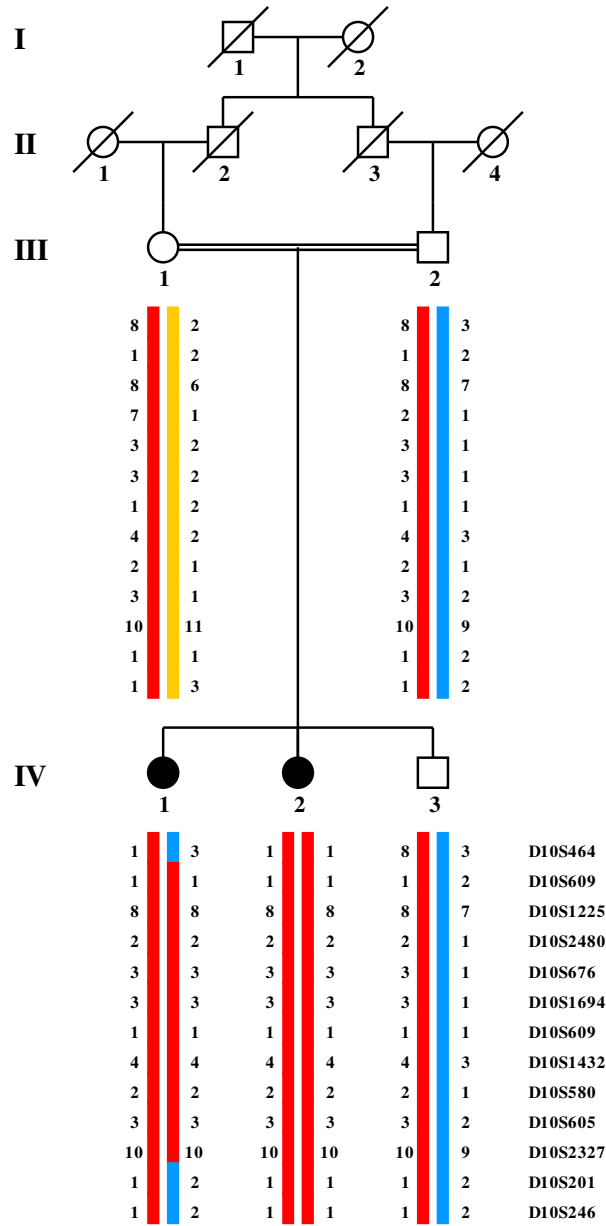
DF#17.1 kolunda bağlantı analizinden elde edilen genotipler kullanılarak oluşturulan genom-boyu haplotiplerin incelenmesi, etkilenmiş bireyler IV.1. ve IV.2.'nin D10S1221 ile D10S2470 markörleri arasında kalan bölgede 8-4-10 haplotipi için homozigot, odyolojik açıdan normal olan diğer bireylerin (III.1., III.2. ve IV.3) ise heterozigot olduğunu gösterdi (Şekil 4-39). İlave STR markörler kullanılarak

gerçekleştirilen ince haritalama çalışmaları sonucunda, D10S464-D10S201 aralığındaki markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotiplerin DF#17.1 kolundaki ORNSDK ile tam segregasyon gösterdiği saptandı (Şekil 4-40).

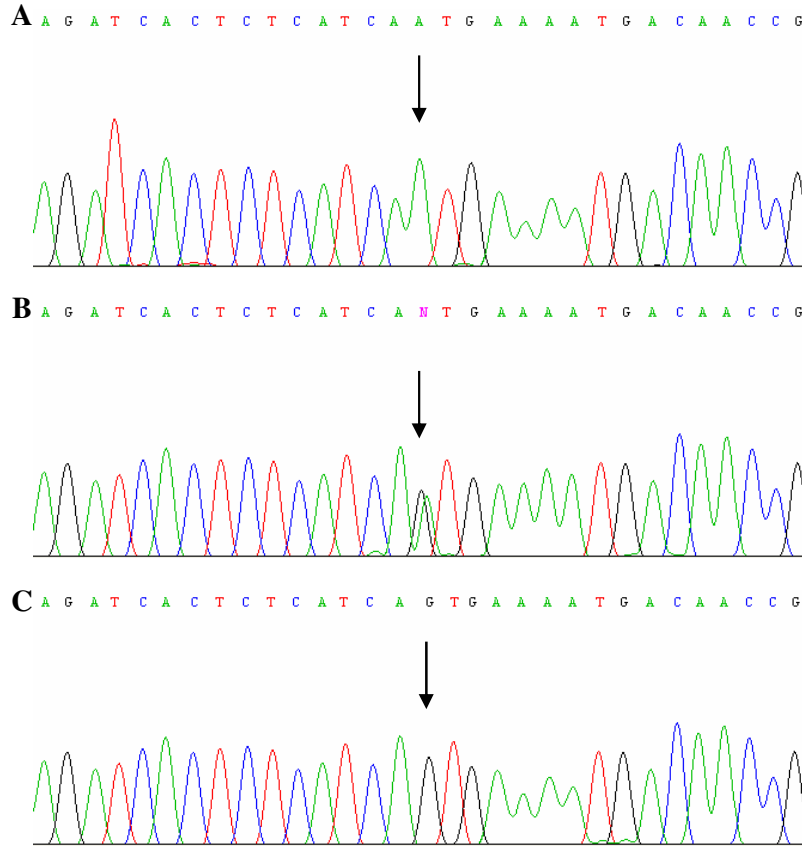


Şekil 4-39: DF#17 ailesinde 10q21.21-q23.31'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.

10q21.2-q22.3'te D10S464 ve D10S201 markörleri arasında kalan ~20 Mb'lik bölgede (UCSC Genome Browser) yer alan ve 69 eksondan oluşan CDH23 geninde gerçekleştirilen dizi analizleri sonucunda, III.1., III.2. ve IV.3.'ün 13. eksondaki bilinen c.A1355G (p.N452S) mutasyonu (Şekil 4-41; The Human Genome Mutation Database) için heterozigot, etkilenmiş bireyler IV.1. ve IV.2.'nin ise homozigot olduğu saptandı. DF#17 ailesinin ikinci kolunu oluşturan bireylerde p.N452S mutasyonuna rastlanmadı.



Şekil 4-40: DF#17 ailesinde 10q21.1-q23.1'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.



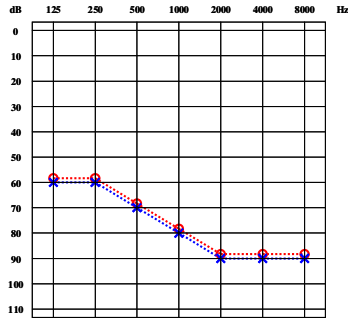
Şekil 4-41: DF#17 ailesinden CDH23 geninin 13. eksonundaki c.A1355G (p.N452S) mutasyonu için (A) wild-type, (B) heterozigot ve (C) homozigot bireylere ait kromatogramlar.

DF#33

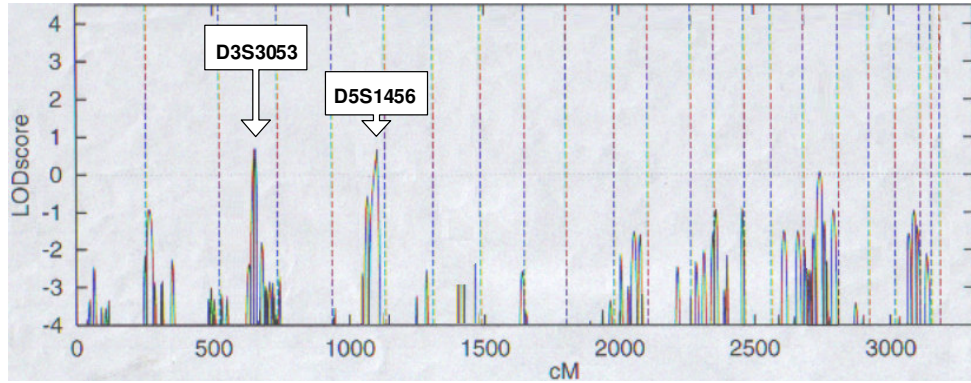
Beş etkilenmiş ve 11 etkilenmemiş bireyden oluşan, yüksek ve orta frekanslarda ağır, düşük frekanslarda ise orta-ağır düzeyde duyma kaybından (Şekil 4-42) etkilenmiş DF#33 ailesinde genom-boyu bağlantı analizini takiben MLINK ve SIMWALK2 programları kullanılarak otozomal resesif kalıtım, tam penetrans ve %1 fenokopi olasılığına göre gerçekleştirilen *two-* ve *multi-point* LOD skor hesaplamalarında anlamlı LOD skor değerine ulaşamadı (Şekil 4-43). Hesaplanan *multi-point* LOD skor değerleri arasından en yüksek ikisinin elde edildiği D3S3053 ve D5S1456 markörlerini çevreleyen ilave STR markörler kullanılarak bağlantı analizi gerçekleştirildi. İlave STR markörlerden elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotiplerin incelenmesi sonucunda

DF#33 ailesindeki NSDK'nın 3q26.2-q26.31 ve 5q34-q35.2 bölgeleri (UCSC Genome Browser) ile bağlantılı olmadığı saptandı (Şekil 4-44 ve 4-45).

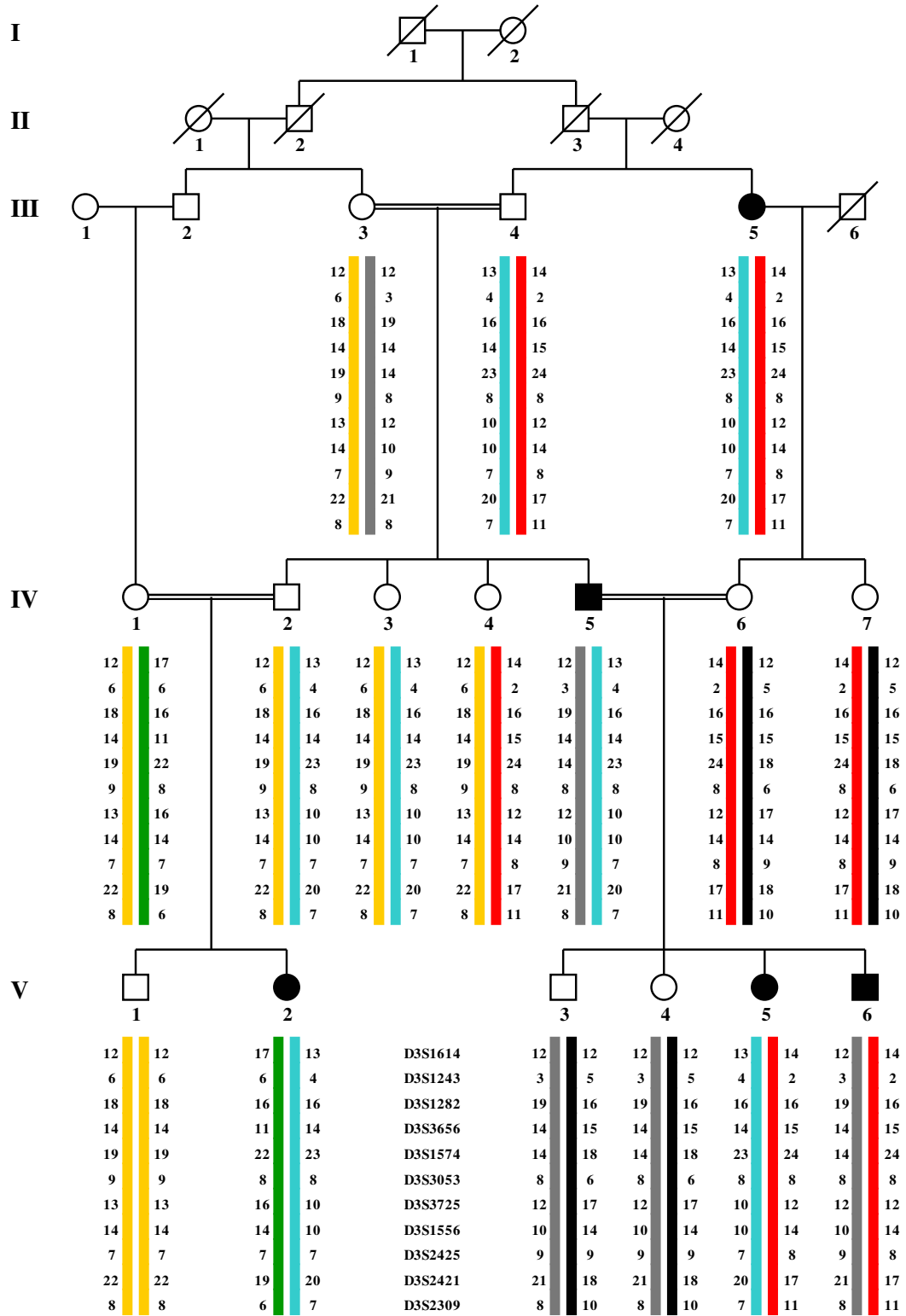
DF#33 ailesinde yapılan genom-boyu haplotip analizleri, genotiplenen STR markörlerinin %54'ünün non-informatif olduğunu gösterdi. Non-informatiflik, 16 aile üyesinde ≤ 4 farklı allelin bulunması olarak tanımlandı. Ayrıca DF#33 ailesinin iki kolunun köken aldığı, etkilenmemiş IV.4.'in tüm markörlerin %36'sı için homozigot genotipte olduğu saptandı. Kullanılan STR markörlerinin yüksek oranda non-informatiflik göstermesinden dolayı genom-boyu bağlantı analizinde anlamlı LOD skor değerine ulaşamadığı düşünüldü.



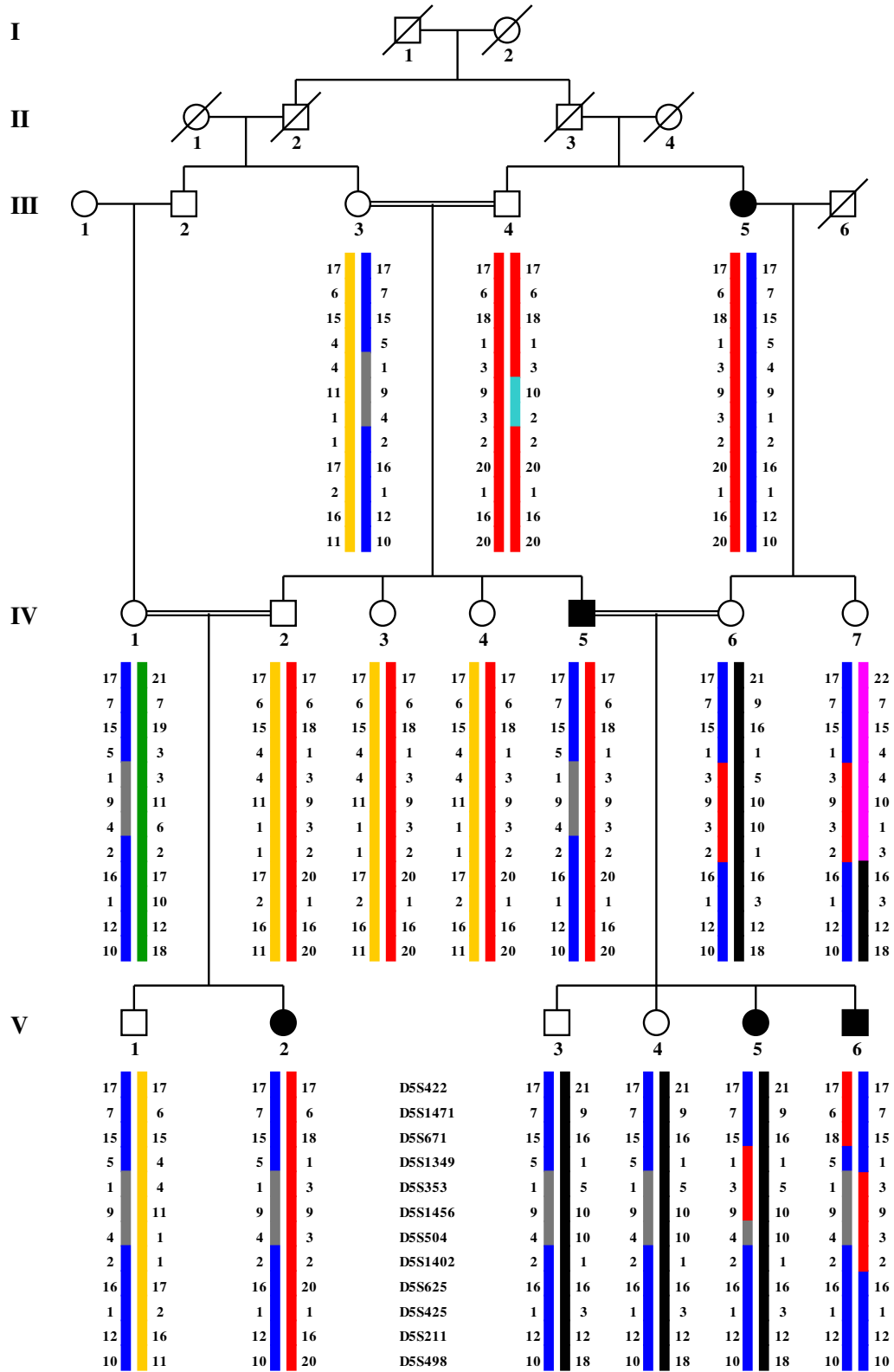
Şekil 4-42: DF#33 ailesinden V.2.'deki odyogram bulgusu.



Şekil 4-43: DF#17 ailesinde genom-boyu bağlantı analizinden genotipler üzerinden hesaplanan multi-point LOD skor değerleri.



Şekil 4-44: DF#33 ailesinde 3q26.2-q26.31'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.



Şekil 4-45: DF#33 ailesinde 5q34-q35.2'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.

4.5. Koklear Oksidatif Stres ile İlişkili Duyma Kaybı

Duyma kaybının ortaya çıkışından önce iç kulakta KOS oluşumu ile ilişkili olabilecek çevresel etmenlere maruz kalmış üç etkilenmiş birey ve ailesi (KOSDK#1-3; Şekil 4-46) KOSDK'ya yatkınlıkta rol oynayan genetik faktörlerin tanımlanması için çalışmamıza dahil edildi.

4.5.1. Klinik Bulgular

KOSDK ailelerindeki etkilenmiş bireylerde saptanan klinik bulgular Tablo 4-2'de verildi. KOSDK#1 ailesinden V.7. ve V.12., KOSDK#2'den V.6. ve KOSDK#3'ten IV.1.'de duyma kaybının ortaya çıkışından önce sistemik veya topikal aminoglikozid antibiyotik kullanımı saptanırken KOSDK#1'den V.2. ve V.8., KOSDK#2'den V.2., V.3. ve VI.1. ile KOSDK#3'ten IV.3. ve IV.4.'te duyma kaybının fark edilmesinden önce geçirilen yüksek ateşli hastalık ve bunun tedavisinde tanımlanamayan, şüpheli antibiyotik kullanımı öyküsü bulunmakta idi. Ayrıntılı hikayeden KOSDK#2 ailesindeki IV.2. ve IV.3.'te duyma kaybının 2.-3. dekatta, öncesinde herhangi bir bilinen maruziyet olmaksızın ortaya çıktığı belirlendi.

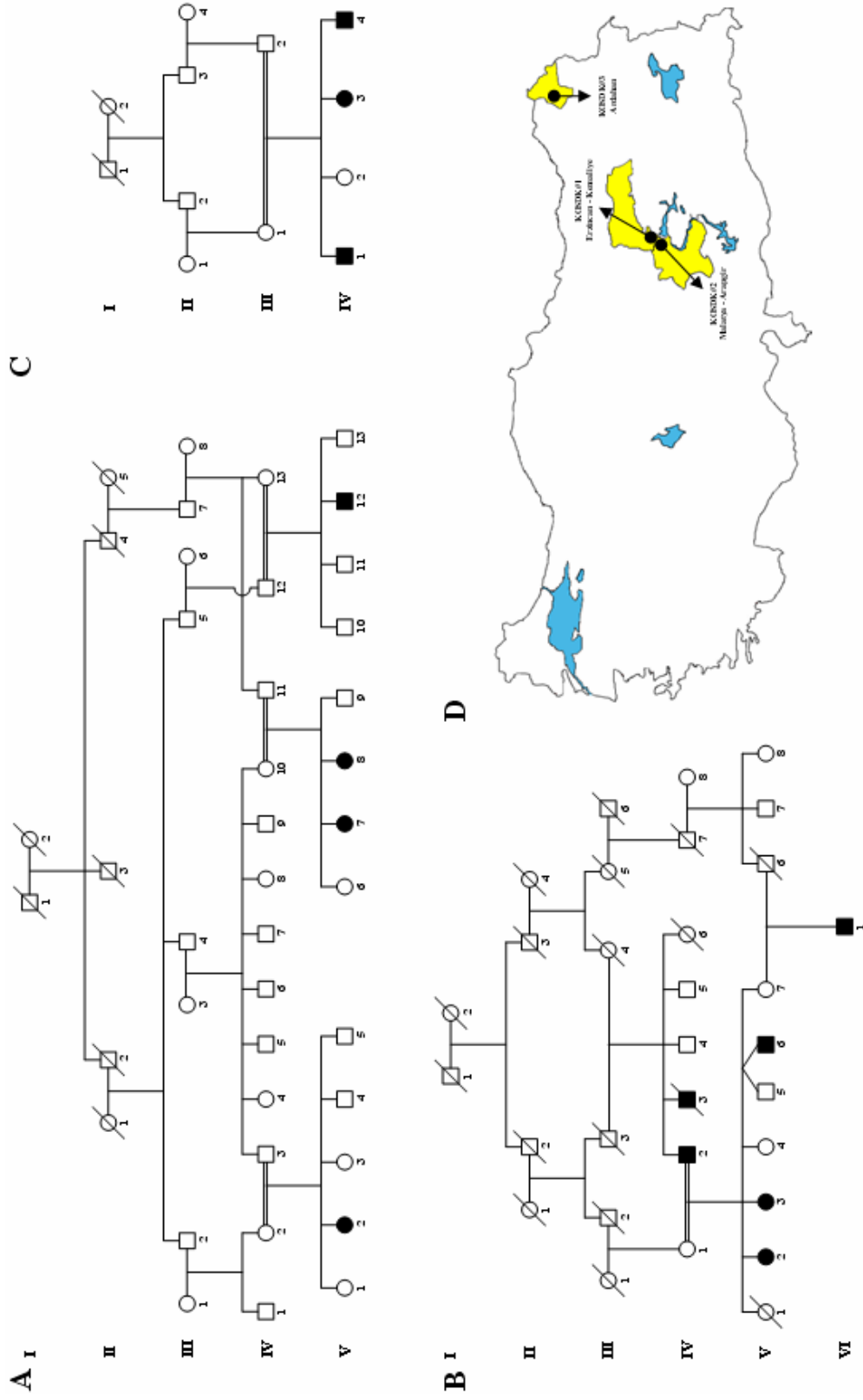
Odyolojik incelemeler, KOSDK#1-3 ailelerindeki etkilenmiş bireylerde yüksek frekans duyma kaybı olduğunu gösterdi (Şekil 4-47). KOSDK#2 ailesinden çalışmaya katılmayan etkilenmiş V.2. ve V.3. ile vefat ettiği için incelenemeyen IV.3.'ün konuşma frekanslarının iyi derecede korunmuş olduğu ancak sert ünsüz sesler (ç, f, h, k, p, s, ş, t) ve telefon zili sesi gibi yüksek frekans sesleri duymadıkları/duymada oldukça zorlandıkları ailenin diğer bireyleri tarafından bildirildi. Üç ailedeki etkilenmemiş bireylerin işitme düzeylerinin kendi yaş grupları ile uyumlu olduğu ve bu bireylerde duyma kaybı ile ilişkili olabilecek herhangi bir etmene maruz kalma öyküsü bulunmadığı belirlendi.

Aile ağacı analizleri tüm ailelerde KOSDK yatkınlığının otozomal resesif olarak kalıtıldığını gösterdi (Şekil 4-46).

4.5.2. Moleküler Genetik ve İstatistiksel Bulgular

4.5.2.1. Mutasyon Taraması

Dizi ve post-PCR restriksiyon enzimi analizleri, üç KOSDK ailesinden çalışmaya katılan toplam 10 etkilenmiş bireyin GJB2 geninde mutasyona sahip olmadığını ve MTRNR1 geninde A1555G mutasyonunu taşımadığını gösterdi.



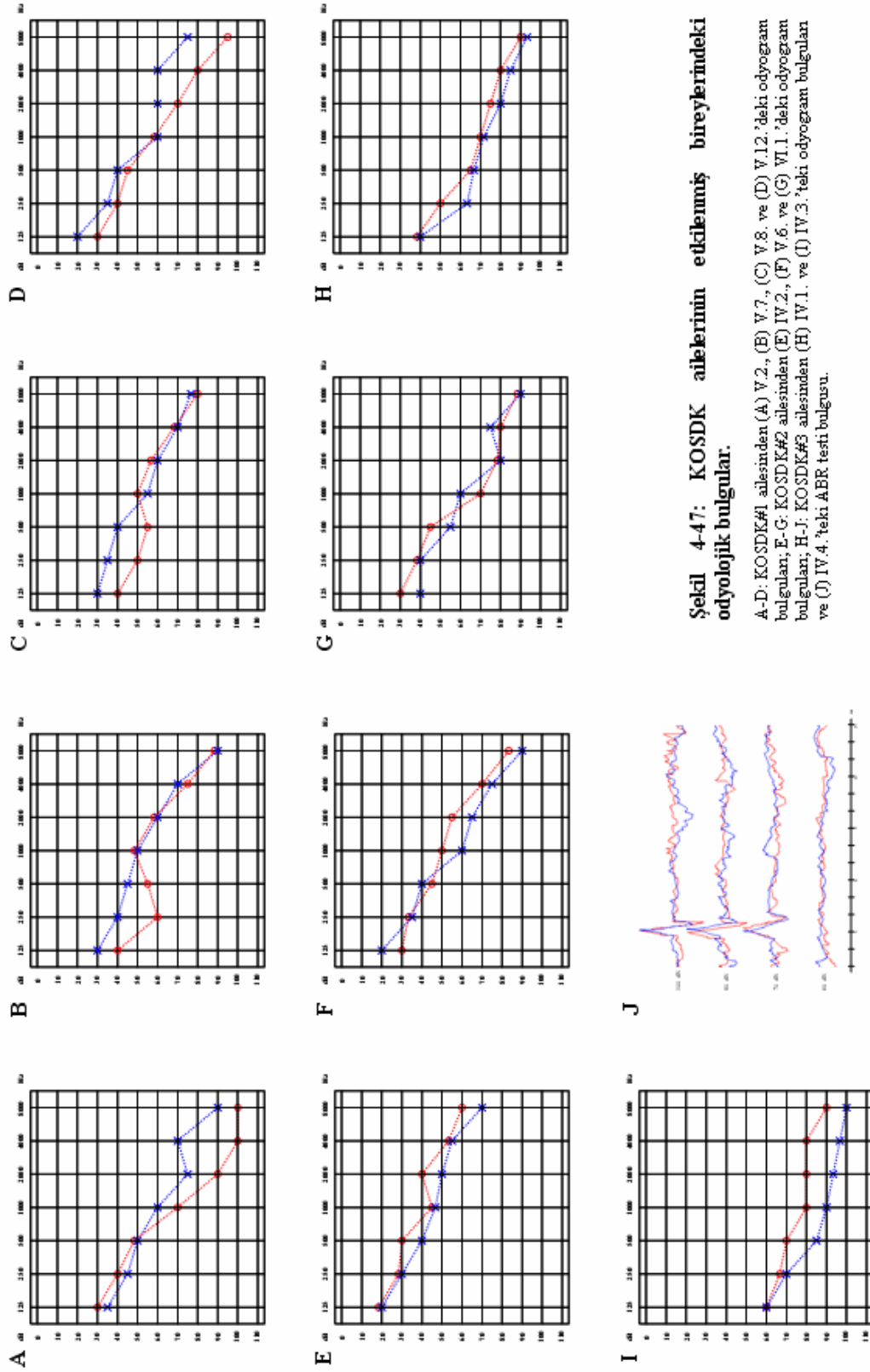
Şekil 4-46: (A) KOSDK#1, KOSDK#2 ve (C) KOSDK#3 ailelerinin pedigrileri ve (D) nüfusa kayıtlı oldukları il ve ilçeler.

Tablo 4-3: KOSDK ailelerindeki etkilenmiş bireylerin klinik bulguları

Aile	DK'nun ortaya çıkışı				Tedavi				Odyolojik bulgular			
	Birey	Yaş	Çıkış şekli	Endikasyon	Aminoglikozid	Şüpheli antibiyotik	Odyometri	ABR	Diğer*	DK'nun derecesi	Progressyon	
KOSDK#1	V.2.	5-6	TS	AH	?	Var	YFDK		Ağır	Yok		
	V.7.	9	TS	Tüberküloz	Streptomisin		YFDK		Ağır	Yok		
	V.8.	6-7	TS	AH	?	Var	YFDK		Ağır	Yok		
	V.12.	>5	TS	TOM	Gentamisin		YFDK		Orta-ağır	Yok		
KOSDK#2	IV.2.	2-3. dekad	?	Yok	?	Yok	YFDK		Orta-orta ağır	Yok		
	IV.3.	2-3. dekad	?	Yok	?	Yok	Yok	YFDK?	?	?		
	V.2.	1. dekad	TS	AH	?	Var	Yok	YFDK?	?	?		
V.3.	1. dekad	TS	AH	?	Var	Yok	Yok	YFDK?	?	?		
V.6.	6-7	TS	AH	Streptomisin		Var	YFDK		Orta-ağır	Yok		
KOSDK#3	VI.1.	5-6	TS	AH	?	Var	YFDK		Ağır	Yok		
	IV.1.	>5	TS	TOM	Gentamisin		YFDK		Ağır	Yok		
	IV.3.	2-3	TS	AH	?	Var	YFDK		Ağır-çok ağır	Yok		
	IV.4.	1-2	TS	AH	?	Var	Yok	YFDK	Orta	?		

* Aile üyelerinin bildirdikleri.

Kısaltmalar: ABR, *Amplitud Response* odyometri; AH, ateşli hastalık; DK, duyma kaybı; TOM, tekranlayan otitis media; TS, tedavi sonrası; YFDK, yüksek frekans duyma kaybı; ?, bilinmiyor.



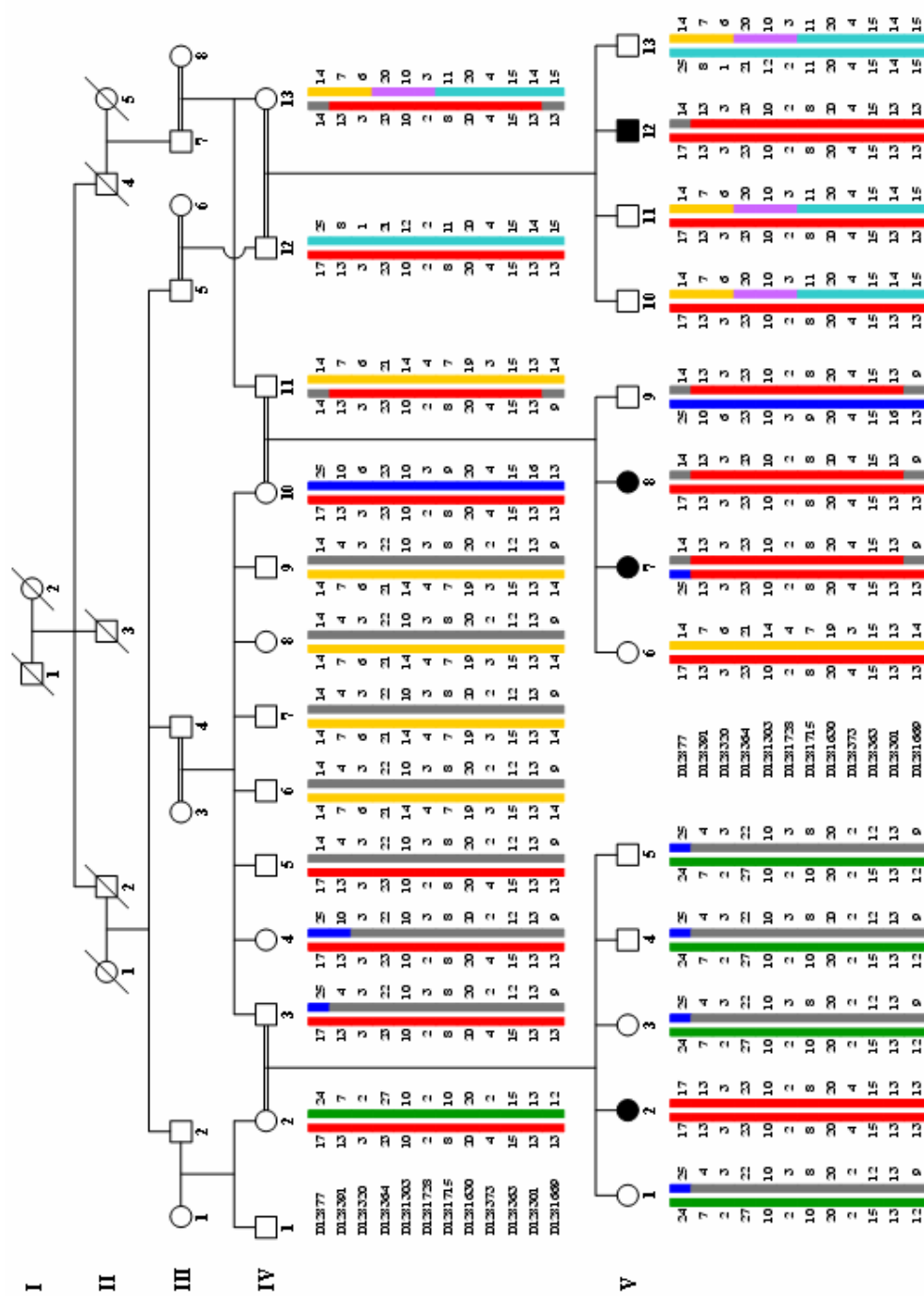
4.5.2.2. Gen Haritalaması

KOSDK#1 ailesinden dört etkilenmiş bireyde (V.2., V.7., V.8. ve V.12.) genom-boyu homozigotluk haritalaması gerçekleştirildi. *Two-point* LOD skor değerleri otozomal resesif kalıtım, tam penetrans parametrelerine göre SUPERLINK-Online programı kullanılarak hesaplandı. Klinik bulgu göstermeyen bireylerin etkilenmişlik durumları “bilinmiyor” (status: unknown) olarak kabul edildi. Maksimum *two-point* lod skor değeri ($Z_{\max}=1.1582$, $\theta=0.00$) D12S391 ve D12S373 markörleri için elde edildi (Tablo 4-4).

Tablo 4-4: KOSDK#1 ailesinde 12p13.32-q15'teki STR markörler için elde edilen *two-point* LOD skor değerleri

Markör	$\theta=$	0.00	0.01	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40
D12S372		-2.5923	-1.9395	-0.9724	-0.5086	-0.1508	-0.0360	-0.0006
GATA49D12		-1.2049	-0.8704	-0.3829	-0.1554	-0.0019	0.0231	0.0155
D12S391		1.1582	1.1196	0.9683	0.7885	0.4718	0.2304	0.0755
D12S373		1.1582	1.1196	0.9683	0.7885	0.4718	0.2304	0.0755
D12S1042		-0.3632	-0.2466	-0.0239	0.0694	0.0890	0.0530	0.0186
D12S398		-1.6509	-1.3144	-0.7688	-0.4749	-0.2027	-0.0817	-0.0244
D12S1294		-3.0732	-2.4480	-1.4415	-0.8990	-0.3891	-0.1583	-0.0474

KOSDK ile sağlanan bağlantının daha fazla sayıda markör ile doğrulanması ve kritik bölgenin daraltılması için KOSDK#1 ailesinin etkilenmiş dört ve etkilenmemişlik durumu “bilinmiyor” olarak kabul edilen 21 bireyinde D12S372 ile D12S1042 markörleri arasında yapılan ince haritalama çalışması sonucunda, etkilenmiş bireylerin D12S77 ile D12S1669 markörleri arasında kalan bölge için homozigot olduğu saptandı (Şekil 4-48). Elde edilen genotipler üzerinden otozomal resesif kalıtım ve tam penetrans için SUPERLINK-Online programı kullanılarak *two-point* LOD skor değerleri hesaplandı. Anlamlı LOD skor değerine ($Z=3.2617$, $\theta=0.00$) D12S391 markörü için ulaşılrken hiçbir markör için KOSDK ile bağlantıyı dışlayacak LOD skor değeri (<-2) elde edilemedi (Tablo 4-5). Buna göre, otozomal resesif KOSDK yatkınlığı ile ilişkili gen 12p12.3-p13.2'deki ~9.2 Mb'lik kromozomal bölgeye (UCSC Genome Browser) haritalandı.



Şekil 4-48: KOSDK#1 ailesinde I2p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.

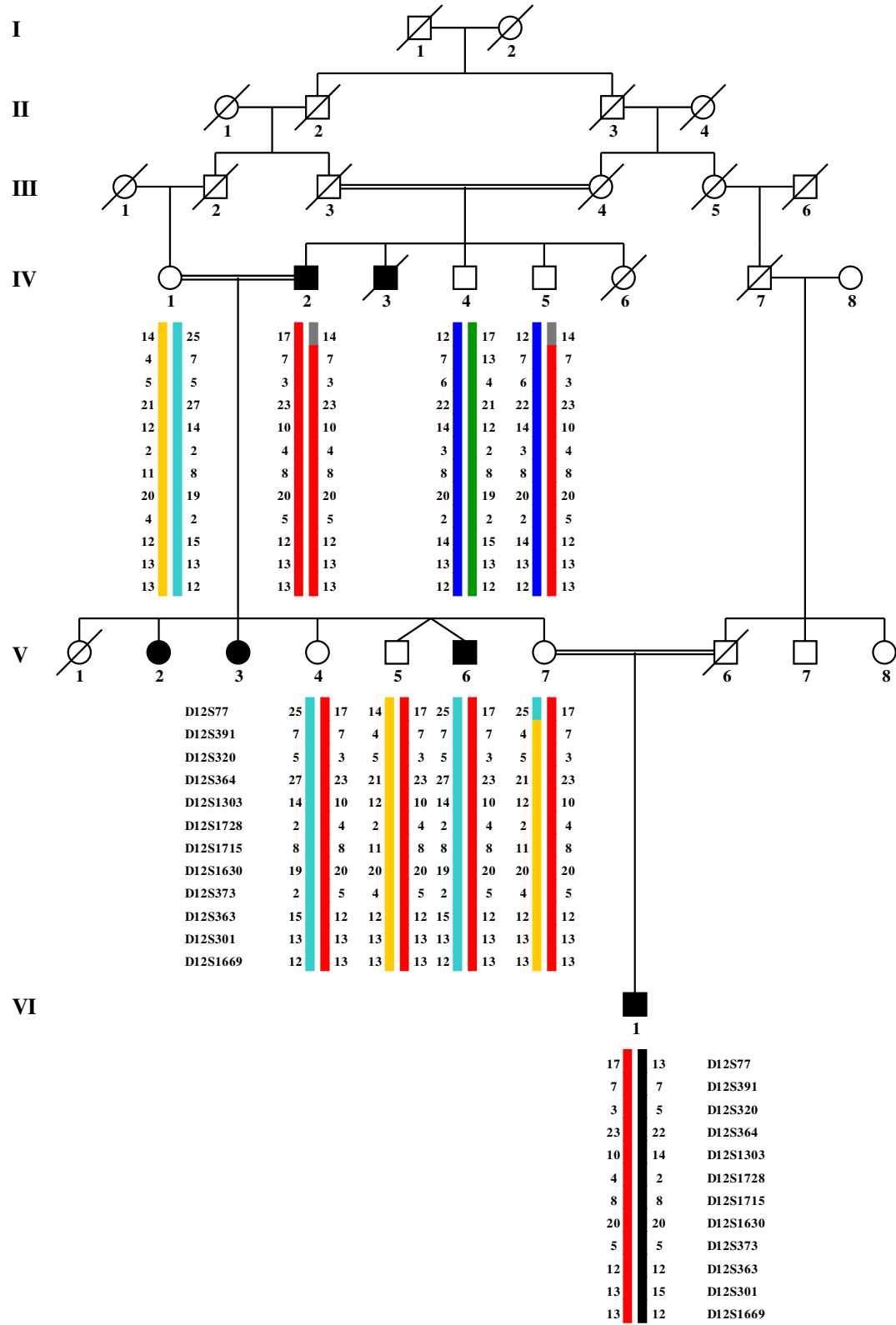
Tablo 4-5: KOSDK#1 ailesinde 12p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen *two-point* LOD skor değerleri

Markör	$\theta=$	0.00	0.01	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40
D12S77	-0.3725	-0.0792	0.3266	0.4557	0.3994	0.2199	0.0664	
D12S391	3.2617	3.1859	2.8786	2.4863	1.6879	0.9265	0.3304	
D12S320	2.3921	2.3406	2.1333	1.8723	1.3527	0.8552	0.4013	
D12S364	2.9523	2.8847	2.6119	2.2663	1.5745	0.9255	0.3892	
D12S1303	1.4692	1.4314	1.2808	1.0955	0.7442	0.4382	0.1928	
D12S1728	2.7677	2.7038	2.4457	2.1190	1.4661	0.8513	0.3392	
D12S1715	2.9488	2.8856	2.6294	2.3016	1.6311	0.9771	0.4149	
D12S1630	1.3199	1.2864	1.1531	0.9883	0.6731	0.3937	0.1679	
D12S373	1.4301	1.3748	1.1536	0.8806	0.3813	0.0395	-0.0639	
D12S363	0.7273	0.7028	0.6074	0.4951	0.2995	0.1517	0.0553	
D12S301	1.1650	1.1351	1.0159	0.8692	0.5915	0.3487	0.1526	
D12S1669	0.7505	0.9967	1.2489	1.2278	0.9431	0.5847	0.2628	

4.5.2.3. Kritik Bölge Analizi

KOSDK#1 ailesinden elde edilen sonuçlara dayanarak diğer iki ailedeki KOSDK fenotipinin D12S77 ile D12S1669 markörleri arasındaki kritik bölge ile bağlantısı araştırıldı. Otozomal resesif kalıtım ve tam penetrans için SUPERLINK-Online programı kullanılarak *two-point* LOD skor analizleri gerçekleştirildi. Etkilenmemiş bireylerin etkilenmişlik durumları “bilinmiyor” olarak kabul edildi.

KOSDK#2 ailesinden çalışmamıza katılan üç etkilenmiş ve altı etkilenmemiş bireyde yapılan haplotip analizinde, etkilenmiş bireylerden IV.2.'nin D12S77-D12S1669 aralığındaki markörler için homozigot genotiplere sahip olmasına karşın diğer iki olgunun (V.6. ve VI.1.) farklı haplotipler için heterozigot olduğu saptandı (Şekil 4-49). LOD skor analizinde (Tablo 4-6) anlamlı değere ulaşamadı. $\theta=0.00$ için pozitif LOD skor değerlerine D12S391 ($Z=1.7020$), D12S1715 ($Z=1.5431$), D12S363 ($Z=1.3590$) ve D12S1669 ($Z=0.2310$) markörleri için ulaşılırken bağlantı olmadığını gösteren LOD skor değeri sadece D12S77 markörü ($Z=-2.3459$) için elde edildi.



Şekil 4-49: KOSDK#2 ailesinde 12p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.

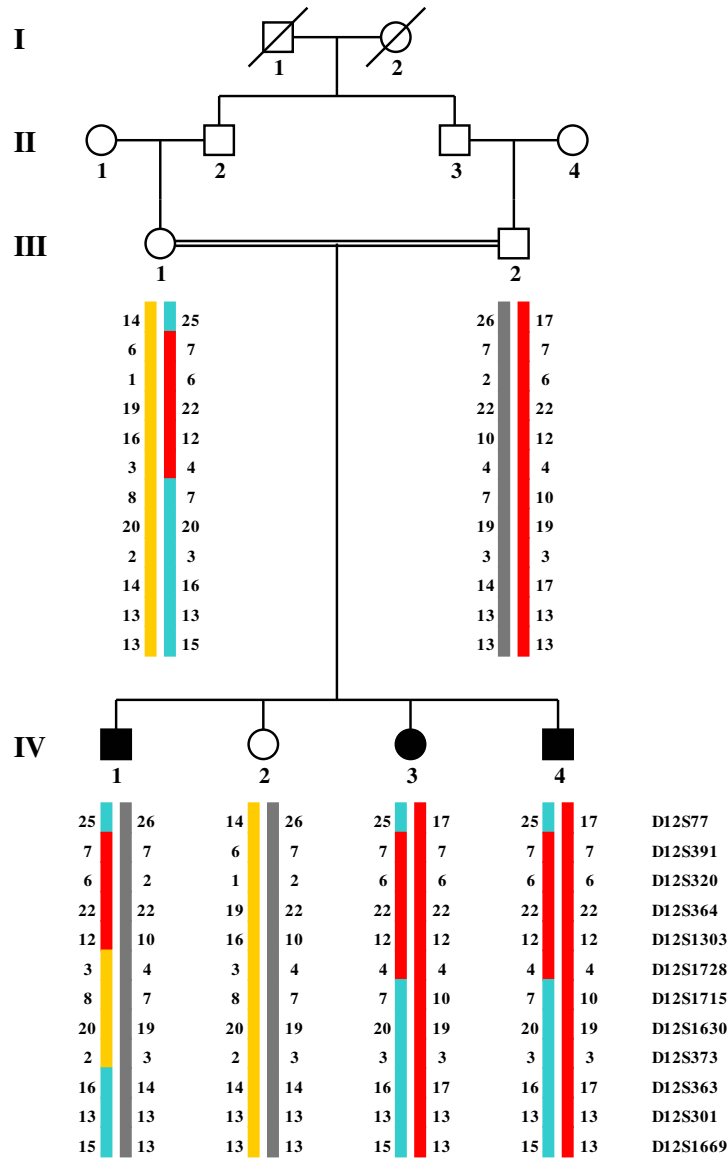
Tablo 4-6: KOSDK#2 ailesinde 12p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen *two-point* LOD skor değerleri

Markör	$\theta=$	0.00	0.01	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40
D12S77		-2.3459	-1.9876	-1.2390	-0.7859	-0.3567	-0.1661	-0.0672
D12S391		1.7020	1.6542	1.4639	1.2300	0.7914	0.4278	0.1693
D12S320		-0.3746	-0.2709	-0.0553	0.0473	0.0868	0.0639	0.0323
D12S364		-1.2054	-1.0388	-0.6381	-0.3763	-0.1228	-0.0169	0.0160
D12S1303		-1.0160	-0.9156	-0.5731	-0.3221	-0.0933	-0.0068	0.0172
D12S1728		-0.5756	-0.4860	-0.2708	-0.1391	-0.0314	0.0028	0.0099
D12S1715		1.5431	1.4987	1.3226	1.1077	0.7106	0.3859	0.1545
D12S1630		-0.0692	0.0025	0.1427	0.1874	0.1525	0.0873	0.0360
D12S373		-1.2799	-1.0781	-0.6136	-0.3294	-0.0839	-0.0028	0.0136
D12S363		1.3590	1.3156	1.1438	0.9349	0.5567	0.2699	0.0938
D12S301		-0.3341	-0.2530	-0.0786	0.0049	0.0352	0.0171	0.0011
D12S1669		0.2310	0.2949	0.4033	0.4062	0.2859	0.1463	0.0485

Üçer etkilenmiş ve etkilenmemiş bireyden oluşan KOSDK#3 ailesinde yapılan haplotip analizi sonucunda etkilenmiş olgulardan IV.3. ve IV.4.'ün D12S77 ile D12S1715 arasında kalan markörler için 7-6-22-12-4 haplotipini homozigot olarak taşıdığı ancak diğer etkilenmiş olgunun (IV.1.) söz konusu haplotipin büyük kısmı için heterozigot olduğu saptandı (Şekil 4-50). LOD skor hesaplamalarında (Tablo 4-7) anlamlı değere ulaşamadı. $\theta=0.00$ için pozitif LOD skor değerleri D12S391 ($Z=1.0941$), D12S364 ($Z=1.0941$), D12S373 ($Z=1.0410$) ve D12S301 ($Z=0.2713$) markörleri için elde edildi. Kritik bölgede yer alan hiçbir markörün KOSDK ile bağlantısı istatistiksel olarak dışlanamadı.

Üç aile kombine edildiğinde D12S391 markörü için anlamlı *two-point* LOD skor değeri ($Z=6.0578$, $\theta=0.00$) elde edilirken D12S364 ve D12S1715 markörleri için de bağlantıyı destekleyebilecek >2 'lik değerlere ulaşıldı ($Z=2.8410$, $\theta=0.00$ ve $Z=2.2710$, $\theta=0.00$; Tablo 4-8).

Tek başına veya kombine *multi-point* LOD skor değerleri ailelerdeki normal odyolojik fenotipe sahip bireylerin etkilenmişlik durumları bilinmediğinden hesaplanamadı.



Şekil 4-50: KOSDK#3 ailesinde 12p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen genotiplerden oluşturulan haplotipler.

Tablo 4-7: KOSDK#3 ailesinde 12p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen *two-point* LOD skor değerleri

Markör	$\theta=$	0.00	0.01	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40
D12S77		-1.6997	-1.2440	-0.5695	-0.2376	0.0072	0.0486	0.0207
D12S391		1.0941	1.0679	0.9628	0.8316	0.5749	0.3372	0.1372
D12S320		-0.2889	-0.0176	0.3271	0.4233	0.3788	0.2455	0.1035
D12S364		1.0941	1.0679	0.9628	0.8316	0.5749	0.3372	0.1372
D12S1303		-0.3816	-0.1081	0.2438	0.3495	0.3258	0.2126	0.0881
D12S1728		-1.0341	-0.7476	-0.3421	-0.1665	-0.0414	-0.0009	0.0108
D12S1715		-2.2209	-1.9140	-1.3298	-0.8925	-0.3974	-0.1532	-0.0356
D12S1630		-0.8781	-0.7501	-0.4648	-0.2881	-0.1177	-0.0417	-0.0087
D12S373		1.0410	1.0157	0.9144	0.7884	0.5428	0.3161	0.1263
D12S363		-1.6997	-1.2724	-0.6276	-0.3066	-0.0665	-0.0186	-0.0244
D12S301		0.2713	0.2606	0.2193	0.1717	0.0925	0.0381	0.0086
D12S1669		-0.2889	-0.2268	-0.0812	-0.0064	0.0112	-0.0291	-0.0517

Tablo 4-8: KOSDK#1-3 ailelerinde 12p12.3-p13.2'deki STR markörler için elde edilen *two-point* LOD skor değerleri

Markör	$\theta=$	0.00	0.01	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40
D12S77		-4.4181	-3.3107	-1.4820	-0.5678	0.0499	0.1024	0.0199
D12S391		6.0578	5.9080	5.3053	4.5479	3.0542	1.6915	0.6369
D12S320		1.7286	2.0521	2.4051	2.3430	1.8183	1.1646	0.5370
D12S364		2.8410	2.9138	2.9366	2.7216	2.0266	1.2458	0.5424
D12S1303		0.0715	0.4077	0.9515	1.1229	0.9767	0.6440	0.2981
D12S1728		1.1580	1.4702	1.8328	1.8134	1.3932	0.8533	0.3599
D12S1715		2.2710	2.4703	2.6221	2.5169	1.9443	1.2098	0.5339
D12S1630		-0.1037	-0.0778	0.4240	0.5457	0.4923	0.3302	0.1581
D12S373		1.1912	1.3124	1.4544	1.3396	0.8402	0.3528	0.0760
D12S363		0.3866	0.7460	1.1236	1.1233	0.7897	0.4031	0.1247
D12S301		1.1021	1.1427	1.1567	1.0458	0.7192	0.4039	0.1623
D12S1669		0.6925	1.0648	1.5711	1.6277	1.2403	0.7019	0.2596

4.5.2.4. Karşılaştırmalı Haplotip Analizi

Üç KOSDK ailesinden genotiplenen 10 etkilenmiş bireyin D12S77 ve D12S1669 markörleri arasında kalan bölgedeki haplotipleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, KOSDK#1 ailesinden dört etkilenmiş birey, KOSDK#2 ailesinden IV.2. ve KOSDK#3 ailesinden IV.3. ve IV.4. olmak üzere toplam yedi bireyin D12S320-D12S364-D12S303-D12S1728 markörleri için homozigot haplotiplere sahip oldukları saptandı (Şekil 4-48, 4-49 ve 4-50). Bu nedenle, otozomal resesif KOSDK yatkınlığından sorumlu genin D12S391 ve D12S1715 markörleri arasındaki ~4.2 Mb'lik bölgede lokalize olabileceği düşünüldü.

4.5.2.5. Aday Gen Yaklaşımı

D12S391 ve D12S1715 markörleri arasında kalan kromozomal bölgede yer alan ATF7IP (16 ekson), CDKN1B (3 ekson), EMP1 (5 ekson), GRIN2B (13 ekson), MGP (4 ekson) ve MGST1 (4 ekson) genleri aday gen olarak seçildi ve KOSDK#1 ailesinden V.7.'de dizi analizi ile tarandı. Dizi analizi sonucunda, indeks olguda taranan genlerin kodlayan bölgeleri ile ekson-intron birleşimlerinde klinik bulguya yol açabilecek bir mutasyon saptanmadı. Kritik bölgenin daraltılmasını sağlayabilecek herhangi bir heterozigot SNP'ye rastlanmadı. Homozigot olarak saptanan daha önceden tanımlanmış polimorfizmler Tablo 4-9'da verildi.

Tablo 4-9: KOSDK#1 ailesinden V.7.'de dizi analizi ile taranan aday genlerde saptanan polimorfizmler

Gen	Ekson	SNP no.*	Polimorfizm	İntron	SNP no.*	Polimorfizm
ATF7IP	7	rs4479040	c.1929+19G>A	14	rs10624410	c.3280+276-279insTTGA
EMP1	3	rs34412222	c.G170A (p.S57N)	3	rs2277395	c.176-16C>T
GRIN2B	13	rs1806201	c.C2666T (p.T888T)	6	rs1468845	c.1500+73G>A
				11	rs2072539	c.2359+129A>G
MGP	4	rs4236	c.A304G (p.T102A)			
MGST1				1	rs2975152	c.-22-463T>C

* NCBI Entrez SNP, www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP.

5. TARTIŞMA

Duyma kaybının insanlarda görülen en yaygın duyu organı bozukluğu olduğu bildirilmektedir (52). Duyma kaybı, -özellikle konuşma yetisinin ortaya çıkışından önce- etkilenen bireylerin dil kullanımına bağlı bilişsel yeteneklerinin gelişmesini engelleyerek çevrelerindeki anılamaları ve kendilerini ifade etmelerinde yetersizliğe neden olarak psikolojik ve sosyolojik sorunlara yol açmaktadır (357). Erken tanı (örneğin, yeni doğan taraması gibi) ve tedavinin (örneğin, koklear implantasyon), uygun eğitim ile birlikte, duyma kaybının yol açacağı olumsuz etkileri azalttığını, aile ve toplum üzerindeki yükü hafiflettiğini gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (411).

Konjenital duyma kaybının yenidoğandaki insidansının gelişmiş ülkelerde ~1:1000 (378), ülkemizde ise 1:500 olduğu bildirilmektedir (180). Konjenital olguların %50-60'nın genetik kökene sahip olduğu tahmin edilmektedir (451). Her ne kadar yeni doğan taramaları konjenital olgulara erken tanı sunsa da, moleküler tanı, pre- ve postnatal tanının yanı sıra, kalıtsal duyma kaybı ailelerindeki asemptomatik bireyler ile taşıyıcıların saptanmasına ve ailelere özgün genetik danışma verilmesine olanak sağlamaktadır. Kalıtsal duyma kaybında prenatal tanının yeri ise tartışmalıdır.

Bugüne kadar Türkiye'deki NSDK'ların altında yatan genlerin tanımlanması için gerçekleştirilmiş çok sayıda çalışma bulunmaktadır (35, 38, 95, 243, 244, 391, 515, 540, 541, 543, 544, 561, 610). Ancak bu çalışmalarda Türk toplumundaki NSDK'lardan sorumlu GJB2 geni dışında ikinci bir yaygın gen tanımlanmamıştır. Ülkemizde, NSDK'lar ile ilişkili oldukları tanımlanan diğer genler (GJB3 [561], MTRNR1 [544], MYO15A [391], TMC1 [244] ve Tmprss3 [610]) ise birkaç aile ile sınırlı kalmaktadır. Bu nedenle, NSDK'nın ülkemizdeki moleküler etiyojisinin daha detaylı aydınlatılması için daha geniş populasyon çalışmalarına ve daha ileri moleküler genetik çalışmalara gerek duyulmaktadır.

Diğer taraftan, çevresel etmenlerden kaynaklanan duyma kayıplarında da genetik yatkınlığın rol oynadığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (89, 163, 167, 207). Ülkemizdeki >%21'lik akraba evliliği oranı (37) –tüm otozomal resesif hastalıklar gibi- ORNSDK mutasyonlarının yanı sıra çevresel faktörlerden kaynaklanan duyma kaybına yatkınlık sağlayan allellerin de Türk toplumunda artmasına neden olmaktadır.

Keza çalışmamız, akraba evliliklerinin çevresel/edinsel duyma kayıplarına olan doğrudan katkısını gösteren kanıtlar sunmaktadır.

Çevresel/edinsel duyma kaybına yatkınlık allelerinin saptanması, riskli olguların belirlenerek bu bireylerin risk yaratan çevresel faktörlerden korunmasına yardımcı olacak ve bu engelin birey ve toplum üzerine getireceği yük ve maliyet ortadan kaldırılabilecektir.

Duyma kaybının altında yatan genlerin tanımlanması, ayrıca, iç kulağın gelişimi ve fizyolojisinin ve duyma kaybına neden olan patogenetik mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. İç kulağın anatomisi ve fizyolojisi ile işitme süreci hakkında elde edilecek ileri bilgiler, duyma kayıplarına nanoteknolojik çözümler geliştirilmesine zemin hazırlamaktadır (395). Saç hücrelerinin rejenerasyonuna olanak sağlayacak gen tedavisi ve kök-hücre çalışmaları gelecek için umut vaad etmektedir (9, 232, 248, 251, 347, 423).

5.1. Renal Tübüler Asidoz ve Duyma Kaybı

Otozomal resesif renal tübüler asidoz ve duyma kaybı (RTADK), ATP6V1B1 ve ATP6V0A4 genlerindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (255, 527, 583). Stover ve ark. (2002), ATP6V1B1 geni mutasyonlarının prelingual duyma kaybı ile, ATP6V0A4 geni mutasyonlarının ise postlingual duyma kaybı ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (527). Bu nedenle, renal tübüler asidoz ve prelingual duyma kaybından etkilenmiş DF#152 ve DF#191 ailelerinde öncelikle ATP6V1B1 geni tarandı. Dizi analizleri sonucunda, 1. derece kuzen evliliği ürünü olan üç etkilenmiş bireyin (DF#152 ailesinden V.2., DF#191 ailesinden IV.1. ve IV.2.) bilinen p.P346R mutasyonunu homozigot taşıdığı saptanırken DF#152 ailesindeki, aralarında akrabalık bulunmayan ebeveynlerden olma, diğer etkilenmiş birey V.1.'in p.P346R ve bu çalışma ile ilk kez tanımlanan p.G180V mutasyonları için birleşik heterozigot olduğu belirlendi (Şekil 4-4 ve 4-7).

İç kulak, böbrek ve erkek üreme kanalında eksprese olan ATP6V1B1 geni, vakuoler H⁺-ATPaz proton pompası kompleksinin ATP hidrolizinden sorumlu sitoplazmik V1 ünitesinin B1 alt-ünitesini kodlamaktadır. Vakuoler H⁺-ATPaz proton pompası, distal nefron ve erkek üreme kanalının interkalate hücreleri, iç kulaktaki endolenfatik kesenin epitelyal hücreleri ve spiral limbusun interdental hücrelerinin apikal yüzeylerinde yer almakta ve H⁺ iyonlarının aktif taşıma yolu ile bu hücrelerden

lumen ve intrastriyal alanlara salınması ve bu sayede asit-baz dengelerinin korunmasında rol oynamaktadır (102, 137, 210, 255).

ATP6V1B1 geninde bugüne kadar 13'ü yanlış anlamlı olmak üzere 24 farklı mutasyon tanımlanmış bulunmaktadır (183). Daha önce Suudi Arabistan'lı üç, İsrail, İtalya ve Kosova'lı birer ve orijini bilinmeyen bir aile olmak üzere toplam yedi ailede saptanan p.P346R mutasyonunun (239, 255, 467, 527), diğer yanlış anlamlı mutasyonlar gibi, mutant B1 alt ünitesinin vakuoler H⁺-ATPaz proton pompası kompleksine katılımını engellediği ve H⁺ iyonlarının salınımının ve dolayısıyla pH regülasyonunun inhibe olmasına neden olduğu ileri sürülmektedir (643). ATP6V1B1 geninde tanımlanan 14. yanlış anlamlı mutasyon olan p.G180V mutasyonunun da vakuoler H⁺-ATPaz proton pompasının oluşumunu inhibe ettiği düşünülebilir. Ancak, p.G180V mutasyonunun proteinin yapı ve fonksiyonu üzerindeki kesin etkisinin aydınlatılabilmesi için ileri fonksiyonel analizlerin yapılması gerekmektedir.

Berrettini ve ark. (2002), RTADK'ya geniş vestibüler akuaduktus (GVAD)'un eşlik edebileceğini göstermiştir (46). pH'nin, endolenfatik kesede 7.0 ve kokleada 7.4 olduğu bildirilmektedir (102). Vakuoler H⁺-ATPaz proton pompasının fonksiyonunun ortadan kalkmasının endolenfatik kese ve koklear endolenfte alkali bir ortamın oluşumuna ve osmotik dengenin bozulmasına neden olduğu öne sürülmektedir (102). Ancak, Atp6v1b1 KO fare modellerinde iç kulağın gelişimi ve işlevinin normal olduğu gösterilmiştir (137). Fare ve insan arasındaki bu fark, proton pompası ya da pH düzenleyicisi olarak işlev gören diğer proteinlerin farede kompanse edici etkileri ile açıklanmaktadır (137).

Diğer taraftan, endolenfatik kanal ve kesede eksprese olan ve mutasyonları GVAD ile ilişkili olabilen Pendred sendromu (PS) ve DFNB4'e yol açan Slc26a4 geni ile bu genin ekspresyonunu düzenleyen Foxi1 geni için *null* mutant farelerden elde edilen bulgulara dayanılarak GVAD oluşumu ile ilişkili osmotik değişimlerin koklear saç hücrelerine toksik etki yaptığı ve progresif dejenerasyona neden olduğu ileri sürülmektedir (150, 152, 222; bk. 2.4.4.4.1. ve 5.2.1.). Blomqvist ve ark. (2006), SLC26A4 genininki gibi ATP6V1B1 geni ekspresyonunun da Foxi1'in kontrolü altında olduğunu göstermiştir (55). Bu bulgu, ATP6V1B1 ve SLC26A4 gen mutasyonlarından kaynaklanan duyma kayıplarının ortak bir patogenetik mekanizmayı paylaşıyor olabileceklerine dair bir hipotez kurulmasını olası kılmaktadır.

DF#152 ve DF#191 ailelerindeki etkilenmiş bireylerin GVAD'ye sahip olup olmadığının anlaşılabilmesi için bilgisayarlı tomografi ile iç kulak yapılarına yönelik radyolojik değerlendirme yapılması gerekmektedir. Özellikle DF#191 ailesindeki biri hafif diğeri orta-ağır düzeyde duyma kaybından etkilenmiş kardeşlerde yapılacak radyolojik değerlendirme sonucunda saptanabilecek otolojik farklılıklar, odyolojik farklılığın nedenini de ortaya koyabilir.

5.2. Özgün Oto-/odyolojik Fenotipler

Yüksek genetik heterojeniteye rağmen sahip oldukları odyolojik özellikler ya da kendilerine eşlik eden otolojik bulgular sayesinde bazı NSDK formlarında kolayca ayırıcı tanıya ulaşılabilmekte ve nihayetinde moleküler tanı konabilmektedir (52, 431).

5.2.1. Geniş Vestibüler Akuaduktus

DF#39 ailesinde orta-çok ağır düzeydeki sensorinöral duyma kaybına GVAD eşlik etmekte idi. GVAD'nin izole olarak görülebileceği gibi çeşitli SDK formları (örneğin PS, RTADK ve brankiyo-oto-renal sendrom) ve bir NSDK formu olan DFNB4 ile de ilişkili olabileceği bildirilmektedir (46, 348, 526, 560).

PS olgularında GVAD'nin görülme sıklığının >%80'e ulaşabildiği gösterilmiştir (104, 446). PS, sensorinöral duyma kaybına gelişimsel koklear anormallikler (GVAD ve Mondini displazisi), primer hipotiroidi/guatr ve anormal perklorat atılım testinin eşlik ettiği otozomal resesif bir hastalıktır (52, 185, 413). PS'nin SLC26A4 genindeki mutasyonlardan kaynaklandığı ve DFNB4 ile allelik olduğu bildirilmektedir (151, 560, 621). Albert ve ark. (2006), duyma kaybı ve GVAD'ye sahip olguların %40'ından SLC26A4 genindeki mutasyonların sorumlu olduğunu bildirmektedir (18).

7q22.3'de lokalize olan SLC26A4 geninin ürünü olan ve sülfat transportör motifi ile birlikte 12 TM domaini ve bir STAS (sulfate transporter and anti-sigma) domaininden oluşan pendrin, Cl⁻ ve I⁻ transport etmekte ve Cl⁻/anyon değişimi yapmaktadır (151, 484, 486, 522). Endolenfatik kanal ve kesede eksprese olan Slc26a4 geni ve bu geninin otik epitelyumdaki ekspresyonunun düzenlenmesinden sorumlu olan Foxi1 geni için *null* mutant farelerden elde edilen bulgulara dayanılarak PS ve DFNB4'teki duyma kaybının altında yatan patogenetik mekanizmanın, anyon transportunun gerçekleşmemesine bağlı olarak endolenfte meydana gelen osmotik değişimler sonucunda GVAD'nin ortaya çıkması ve nihayetinde oluşan ortamın sağ

hücrelerine toksik etki yaparak progresif dejenerasyona neden olması olduğu ileri sürülmektedir (150, 152, 222; bk. 2.4.4.4.1.).

DF#39 ailesinde genetik bağlantı analizini takiben SLC26A4 geninin dizilenmesi sonucunda, etkilenmiş bireylerin daha önce tanımlanmış olan ve 5. intrasitoplazmik *loop*'da yer alan p.L445W (18) ile bu çalışmada ilk kez tanımlanan ve intrasitoplazmik C-terminal domainde lokalize olan p.F515C mutasyonları için birleşik heterozigot oldukları saptandı.

p.L445W mutasyonunun homozigot (56, 348) veya p.H723R (571) ve c.766-2A>G (100) mutasyonları ile birleşik heterozigot olarak PS ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Diğer taraftan, Masmoudi ve ark. (2000), Tunuslu bir ailenin p.L445W mutasyonu için homozigot olan PS'den etkilenmiş bireylerinde GVAD'nin bulunduğunu saptamıştır (348). Yeni p.F515C mutasyonunun trioid fonksiyonu açısından klinik sonucu bilinmemektedir. p.F515 rezidüsünün komşuluğunda yer alan rezidüleri etkileyen p.T508N, p.Q514R, p.T527A ve p.Y530H mutasyonlarının PS ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (60, 100, 440, 518). Scott ve ark. (2000), pendrinin transport fonksiyonunu kısmen bozan SLC26A4 mutasyonlarının tiroid fonksiyon bozukluğuna yol açmadığını sadece duyma kaybı ve GVAD/Mondini displazisi ile ilişkili olduğunu ancak transport işlevini tamamen ortadan kaldıran mutasyonların tiroid fonksiyon bozukluğuna ve dolayısıyla PS fenotipinin ortaya çıkmasına neden olduğunu ileri sürmüştür (485). p.F515 rezidüsünün, p.T508, p.Q514, p.T.527 ve p.Y530 rezidüleri ile birlikte evrimsel süreç boyunca korunmuş olması (Şekil 4-13), bu rezidülerin pendrinin fonksiyonu açısından gerekli olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, p.F515C mutasyonunun da PS ile ilişkili olabileceği öne sürülebilir. Bu durumda, DF#39 ailesinin etkilenmiş bireylerinde yapılacak fizik muayene ve tiroid fonksiyon değerlendirmeleri sensorinöral duyma kaybının ayırıcı tanısını (DFNB4/PS) sağlamaya katkıda bulunabilir.

DFNB4'ün hemen her zaman konjenital çok ağır duyma kaybı ile kendini gösterdiği bildirilmektedir. Buna karşın PS'nin konjenital çok ağır derecede duyma kaybının yanı sıra yüksek frekansları etkileyen hafif-orta/orta ağır derecede duyma kayıpları ile de ilişkili olabileceği gösterilmiştir (56). Odyolojik incelemeler, DF#39 ailesindeki etkilenmiş bireylerden III.1. ve III.7.'nin çok ağır düzeyde, III.4.'ün ise yüksek frekanslarda orta-ağır derecede duyma kaybına sahip olduğunu gösterdi (Şekil

4-8). Olgu III.4.'ün sahip olduğu odyolojik fenotip, p.F515C mutasyonunun PS ile ilişkili olabileceği ve dolayısıyla pendrinin transport işlevini tamamen ortadan kaldırdığı savını desteklemektedir. Ancak, p.F515C mutasyonunun pendrin fonksiyonu üzerine etkisinin kesin olarak ortaya konabilmesi için ileri fonksiyonel analizler yapılması gerekmektedir.

DF#39 ailesindeki odyolojik açıdan farklılıklar gösteren etkilenmiş bireyler, SLC26A4 gen mutasyonlarında nadir olarak bildirilen aile içi klinik farklılığa (332, 394) örnek oluşturmaktadır. Napiontek ve ark. (2004), aile içi odyolojik farklılığın bulunduğu bir PS ailesini 20 yıldan uzun bir süre ile izlemiş ve duyma kaybının yüksek frekanslardan düşük ve orta frekanslara ilerlediğini saptamıştır (394). Bu nedenle, etkilenmiş bireylerden yüksek frekanslarda orta-ağır derecede duyma kaybına sahip olan III.4.'ün odyolojik açıdan izlenmesi yararlı olacaktır. Blons ve ark (2004), SLC26A4 geninde aynı mutasyon(lar)a sahip etkilenmiş kardeşler arasında fenotipik heterojenite bulunduğunu bildirmiştir (56). Tiroid fonksiyon değerlendirmeleri, DF#39 ailesindeki etkilenmiş kardeşler arasında endokronolojik açıdan da farklılık bulunup bulunmadığını ortaya koyacaktır.

5.2.2. Düşük Frekans Sensorinöral Duyma Kaybı

Bugüne kadar otozomal dominant non-sendromik düşük frekans sensorinöral duyma kaybı (DFSNDK) ile ilişkili üç lokus (DFSNDK1 [DFNA1], DFSNDK2 [DFNA6/14/38] ve DFSNDK3 [DFNA54]) haritalanmıştır (47, 197, 306, 566). DIAPH1 ve WFS1 genlerindeki mutasyonların DFSNDK1 ve DFSNDK2 ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (47, 336).

Bespalova ve ark. (2001), WFS1 geni mutasyonlarının kalıtsal non-sendromik DFSNDK'nın en yaygın nedeni olduğunu bildirmektedir (47). 4p16.1'de lokalize olan WFS1 geni wolframin adı verilen bir protein kodlamaktadır. Fonksiyonu tam olarak aydınlatılamamış olan wolframminin, ER ile ilişkili bir Ca^{+2} transportör/modülatörü olabileceği ileri sürülmektedir (535). WFS1 genindeki mutasyonlar, DFSNDK2'nin yanı sıra Wolfram sendromu tip I (WS-I)'den de sorumludur (265, 413). Otozomal resesif kalıtım gösteren WS-I, diabetes insipidus, diabetes mellitus, optik atrofi ve duyma kaybı ile karakterizedir (413). WS-I'deki duyma kaybı DFSNDK2'nin aksine yüksek frekansları tutmaktadır (213, 513). Yakın zaman önce yapılan bir çalışmada, optik atrofi, glukoz regülasyonu bozukluğu ve düşük-orta frekans duyma kaybı ile

karakterize otozomal dominant Wolfram-benzeri sendrom'un da WFS1 genindeki bir mutasyondan kaynaklandığı gösterilmiştir (144).

Otozomal dominant DFSNDK'ya sahip DF#43 ailesinde WFS1 geninde yapılan dizi analizleri sonucunda etkilenmiş bireylerin 8. eksondaki c.2498_2506delTGGGCAGCA mutasyonu için heterozigot oldukları belirlendi. Saptanan delesyon, protein düzeyinde 833. ile 836. aa arasındaki "LGSK" dizisinin "Q" rezidüsü ile değişmesine (p.L833_K836delinsQ) neden olmaktadır. Delesyona uğrayan rezidülerden p.L833 ve p.G834 aşağı omurgalılarından yüksek omurgalılara kadar olan evrim süreci boyunca tamamen korunurken p.S835 ve p.K836 rezidüleri ilk kez balıkların evrimi sırasında ortaya çıkmış ve yüksek omurgalılara kadar değişmeden kalmıştır. Bu veri, "LGSK" rezidülerinin wolframinin fonksiyonu açısından oldukça kritik olduğunu göstermektedir.

Bugüne kadar WFS1 geninde 16'sı çerçeve içi olmak üzere 34 farklı küçük delesyon tanımlanmış bulunmaktadır. Çerçeve dışı delesyonların tümünün ve 15 çerçeve içi delesyonun WS-I ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (23, 618). WFS1 geninde DFSNDK ile ilişkili olduğu tanımlanmış tek delesyon çerçeve içi tipindeki c.2300_2302delTCA (p.I767del) delesyonudur (105, 618). İlk kez DF#43 ailesinde saptanan c.2498_2506delTGGGCAGCA (p.L833_K836delinsQ) delesyonu ise WFS1 geninde DFSNDK ile ilişkili olduğu tanımlanan çerçeve içi delesyon tipindeki ikinci mutasyonu oluşturmaktadır.

Üç etkilenmiş bireyden (anne, baba ve çocuk) oluşan DF#181 ailesinde (Şekil 4-20) yapılan odyolojik incelemeler, indeks olgu (III.1.) ve babasının (II.2.) DFSNDK'ya, annenin (II.1.) ise tüm frekansları tutan çok ağır düzeyde duyma kaybına sahip olduğunu gösterdi (Şekil 4-17). Odyolojik fenotiplere dayanılarak, DF#181 ailesinde indeks olgu III.1.'in DFSNDK'dan sorumlu genetik defekti babadan otozomal dominant kalıtım yolu ile aldığı düşünüldü. Ailede yapılan GJB2 mutasyon taramasında, anne ve çocukta heterozigot olarak p.L90P mutasyonu saptandı. Annedeki duyma kaybını açıklayabilecek 2. mutasyonun GJB2 geninin -çalışmamızda taranmayan- promotör veya intronunda olabileceği düşünüldü. DF#181 ailesinde, baba ve çocuktaki otozomal dominant DFSNDK nedeniyle WFS1 geni incelendi. Yapılan dizi analizleri sonucunda indeks olgu ve babasının 8. eksonda heterozigot olarak p.A684V değişimini taşıdığı saptandı.

p.A684V değişimi, ilk kez Tessa ve ark. (2001) tarafından bir İtalyan WS-I olgusunda heterozigot durumda saptanmıştır (545). İlginç olarak, Tessa ve ark. (2001), kontrol kromozomlarında rastlamadıkları halde p.A684V değişimini nötral olarak değerlendirmiş ve olguda saptadıkları c.1230_1233delCTCT (p.V412fsX440) mutasyonuna intron bölgelerinde yer alan başka bir mutasyonun eşlik ediyor olabileceğini ileri sürmüştür (545). Sivakumaran ve Lesperance, ikinci bir olguda c.1243_1245delGTC (p.V415del) mutasyonu ile birlikte birleşik heterozigot olarak saptadıkları p.A684V değişiminin WS-I ile ilişkili resesif bir mutasyon olabileceğini bildirmiştir (618).

Bilgisayar ortamında yapılan analizler, wolframnin ER'nin lümeninde yer alan C-terminal domainindeki p.A684 rezidüsünün omurgalı evriminin başından sonuna kadar korunduğunu göstermektedir. Tessa ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada (545) olduğu gibi bu çalışmada da p.A684V değişimine sağlıklı kontrol kromozomlarında rastlanmaması, bu değişimin mutasyon olma olasılığını artırmaktadır.

Young ve ark. (2001), DFSNDK'dan etkilenmiş bireyler ile WS-I benzeri bulgular gösteren bireylerin bulunduğu Newfoundland-Kanada'lı bir ailede WFS1 genini dizi analizi ile taramış ve DFSNDK'dan etkilenmiş bireylerde p.A716T mutasyonunun heterozigot olarak, WS-I benzeri bulgular gösteren bireyde ise homozigot olarak bulunduğunu göstermiştir (651).

Yukarıdaki veriler, p.A684V mutasyonunun -p.A716T mutasyonu (651) gibi heterozigot halde otozomal dominant DFSNDK ile ilişkili olduğunu ve başka bir mutasyon (p.V412fsX440 [545] ve p.V415del [618]) ile birlikte birleşik heterozigot olarak bulunduğu WS-I/WS-I benzeri bulgulara yol açtığını göstermektedir. Bu bağlamda çalışmamız, Young ve ark. (2001)'ın otozomal dominant DFSNDK mutasyonlarının homozigot halde WS-I benzeri bulgulara neden olabileceği yönündeki savını (651) desteklemektedir.

Literatürde bildirilmiş benzer olgu bulunmadığından, DF#181 ailesinden III.1., GJB2 ve WFS1 geni mutasyonları için çifte heterozigot olduğu tanımlanmış ilk DFSNDK olgusudur. III.1. ile II.2. olgularının odyolojik fenotiplerindeki farklılık, GJB2 genindeki heterozigot p.L90P mutasyonunun WFS1 genindeki p.A684V mutasyonu üzerinde modifiye edici etkisi olmasından çok iki olgu arasındaki yaş farkı ve DFSNDK'nın ilerleyici özellikte olması ile açıklanabilir (265).

Bugüne kadar DF#43 ve DF#181 aileleri dahil olmak üzere otozomal dominant non-sendromik DFSNDK'dan etkilenmiş toplam 49 aile tanımlanmış bulunmaktadır. Bu ailelerin 39'unda WFS1 geninin kodlayan bölgelerinde mutasyon saptanmıştır (105, 172, 552, 618). Cryns ve ark. (2002) ve Fukuoka ve ark. (2007) tarafından tanımlanan toplam sekiz ailede WFS1 geninin kodlayan bölgelerinde mutasyon saptanmamıştır (105, 172). İki ailede ise DFSNDK'nın farklı lokuslar (DFSNDK1 ve DFSNDK3) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (197, 336). Buna göre, otozomal dominant non-sendromik DFSNDK olgularının ~%80'inden WFS1 gen mutasyonları sorumlu bulunmaktadır. Diğer taraftan, DFSNDK ile ilişkili olarak WFS1 geninde saptanan -p.A684V ve p.L833_K836delinsQ mutasyonları dahil- 26 farklı mutasyondan 24'ü 8. eksonda yer almaktadır (552, 618). WFS1 geninin 5. eksonunda yer alan diğer iki mutasyon ise üç farklı ailede saptanmıştır (618). Bu veriler, WFS1 geninin sadece 8. eksonunun taranması sayesinde, birden çok etkilenmiş bireyin bulunduğu otozomal dominant non-sendromik DFSNDK ailelerinin ~%75'ine moleküler tanı konabileceğini göstermektedir. Buna karşın, sporadik DFSNDK olgularında WFS1 geninde mutasyon bulma olasılığının sadece %8 olduğu bildirilmiştir (105).

5.3. Daha Önce Haritalanan NSDK Ailelerinde Yapılan Çalışmalar

Önceki çalışmamızda (562) DF#9, DF#19, DF#44 ve DF#51 ailelerinde yapılan gen haritalama çalışmaları ile belirlenen lokuslardaki, ilişkili olduğu bilinen genler ile aday genler dizi analizleri incelendi ve mutasyonlar tanımlandı.

DF#9

DF#9 ailesindeki NSDK'dan sorumlu gen 3p14.2-p22.1'de D3S3678 ve D3S3722 markörleri arasında kalan ~16.1 Mb'lik bölgeye (UCSC Genome Browser) haritalanmıştı (D3S1578 için $Z_{max}=3.007$, $\theta=0.00$; 562). Bu bölge, Fukushima ve ark. (1995) tarafından tanımlanan, 3p14.2-p22.3'de D3S1619 ve D3S1766 markörleri arasındaki ~24.9 Mb'lik bölgeye (UCSC Genome Browser) haritalanmış olan DFNB6 lokusu (173) ile çakışmakta idi.

Petit (1996), denge ve duyma kaybı olan *spinner* (sr) farelerindeki nedensel genin haritalandığı 9. kromozomdaki bölgenin insan 3p21.3-p23 kromozomal bölgesi ile sentenik olduğunu ve dolayısıyla sr fenotipinin altında yatan genin DFNB6 ile ortolog olabileceğini ileri sürmüştür (430). Mitchem ve ark. (2002), sr farelerindeki duyma ve denge kaybından Tmie geninin sorumlu olduğunu tanımlamıştır (369). Naz

ve ark. (2002), DFNB6 lokusuna haritaladıkları ailelerdeki duyma kaybının TMIE genindeki mutasyonlardan kaynaklandığını göstermiştir (397).

DFNB6'dan sorumlu olduğunun anlaşılmasından sonra TMIE geni DF#9 ailesinde tarandı. Dizi analizleri sonucunda etkilenmiş bireylerin p.R84W mutasyonu için homozigot oldukları saptandı. İntrasitoplazmik C-terminal domaininde lokalize olan p.R84W mutasyonu, ilk kez Naz ve ark. (2002) tarafından tanımlanmıştır (397). TMIE geninde tanımlanan sekiz farklı mutasyondan dördünün yanlış anlamalı mutasyon olduğu ve bunlardan p.R81C ve p.R84W mutasyonlarının C-terminal domainde yer alan çok sayıdaki pozitif şarj rezidülerinden ikisini etkilediği bildirilmektedir (397, 475). Bu nedenle, C-terminal şarj rezidülerinin TMIE'nin hücresel fonksiyonu açısından kritik olduğu ileri sürülmektedir (397).

Literatürde TMIE/Tmie geninin sub-koklear ekspresyon paterni ile ilişkili bilgi bulunmamaktadır. Ancak sr ve Tmie transkriptlerinin yokluğundan kaynaklanan *circling* (cir) farelerinde (Tmie^{sr/sr} ve Tmie^{cir/cir}) yapılan histolojik incelemelerde defektif saç demeti organizasyonları, sayıca artmış ancak boyca kısalmış stereosiller ve ilerleyen dönemde spiral ganglion hücrelerinde dejenerasyon gözlemlenmiştir (90, 369). Yapılan gözlemlere dayanılarak TMIE/Tmie gen ürününün stereosillerin gelişimi ile saç demeti organizasyonunun ve devamlılığının sağlanmasında işlev gördüğü ileri sürülmektedir (369). Ancak herhangi bir protein ile homoloji göstermeyen ve hücresel fonksiyonu bilinmeyen TMIE/Tmie'nin hangi koklear süreçlerde rol oynadığının ve DFNB6'dan sorumlu patogenetik mekanizmanın aydınlatılabilmesi için Tmie^{sr/sr} ve Tmie^{cir/cir}lerde ileri fonksiyonel çalışmalar yapılması gerekmektedir (90, 369, 397).

Köln Üniversitesi İnsan Genetiği Enstitüsü Moleküler Tıp Merkezi'nde, TMIE geni mutasyonları açısından taranan 100 ORNSDK olgusundan DF#25'in homozigot olarak p.R84W mutasyonunu taşıdığı saptandı. DF#25 ailesinde yapılan segregasyon analizleri sonucunda p.R84W mutasyonunun odyolojik fenotipler ile birlikte geçiş gösterdiği belirlendi. DF#9 ve DF#25 ailelerinin ikisinin de TMIE geninde aynı mutasyonu taşıyor olması nedeni ile yapılan haplotip analizlerinde p.R84W mutasyonun aynı haplotip ile ilişkili olduğu saptandı. Bu bulguya dayanılarak aile öyküleri detaylandırıldığında, DF#9 ve DF#25 ailelerinin yaklaşık 150 yıl önce aynı bölgede buldukları ve uzak akraba olabilecekleri anlaşıldı. Türk toplumundan 200 sağlıklı bireye ait DNA örneklerinde yapılan kontrol çalışmasında p.R84W mutasyonuna

rastlanmadı. Elde edilen veriler, TMIE gen mutasyonlarının Türkiye'deki NSDK'ların yaygın nedeni olmadığını göstermektedir.

DF#19

DF#19 ailesindeki NSDK'dan sorumlu gen, 17p11.2-q11.2'deki D17S1303 ve D17S1293 markörleri arasında kalan ~18.8 Mb'lık (UCSC Genome Browser) bölgeye haritalanmıştı (D17S2196 için $Z_{max}=3.708$, $\theta=0.00$; 562). Wang ve ark. (1999), 17p11.2'de lokalize olan DFNB3'ün MYO15A genindeki mutasyonlardan kaynaklandığını bildirmiştir (597). MYO15A geni konvansiyonel olmayan miyozinlerden miyozin XVA'yı kodlamaktadır. Miyozin XVA'nın domain organizasyonu motor domainin önünde yer alan, prolin ve tirozinden zengin bir N-terminal segment ile motor domaini takip eden iki IQ motifi, ikişer MyTH4 ve FERM domaini, bir SH3 domaini ve C-terminalde lokalize PLM'den oluşmaktadır (170, 318, 391; bk. 2.4.1.4.2.).

Myo15 geninde homozigot mutasyon taşıyan *Shaker-2* (sh2) farelerinde (Myo15^{sh2/sh2}) yapılan histolojik çalışmalar; saç hücrelerinde stereosil boylarının normalden çok kısa olduğunu, aktin filamentlerin düzgün yerleşim göstermediğini, uç bağlantılarının bulunmadığını ve stereosillerin basamak şeklindeki organizasyonunun kaybolmuş olduğunu ortaya koymuştur (24, 40, 439). Benzer bulguların whirlini kodlayan Whrn geninde homozigot mutasyon taşıyan *whirlers* (wi) farelerinde (Whrn^{wi/wi}) de gözlemlenmesi (bk. 2.4.1.5.2.), miyozin XVA ve whirlin arasında olası bir etkileşim olabileceğinin ileri sürülmesine neden olmuştur (42, 179). PDZ içeren bir iskele protein olan whirlinin, stereosillerin apikal ucunda fonksiyonel bir UPI oluşturduğu ve bu multiprotein kompleksi üzerinden p55/4.1R kompleksi ile etkileşerek stereosillerin uzaması ve saç demetlerinin basamak şeklindeki organizasyonlarının oluşumuna katıldığı ileri sürülmüştür (352; bk. 2.4.1.5.2.).

Kikkawa ve ark. (2005), Myo15^{sh2/sh2} ve Whrn^{wi/wi}lerde yaptıkları çalışmalar sonucunda miyozin XVA'nın whirlinin stereosillerin uç kısımlarına yerleşiminde rol oynadığını göstermiştir (269). Belyantseva ve ark. (2005) ise miyozin XVA'nın saç hücrelerindeki işlevinin whirlinin apikal uca taşınması olduğunu ileri sürmektedir (41).

DF#19 ailesinde yapılan dizi analizleri sonucunda etkilenmiş bireylerin MYO15A geninin 50. introndaki c.8974-1G>C mutasyonu için homozigot olduğu saptandı. Bilgisayar ortamında yapılan analizler, c.8974-1G>C mutasyonunun kırılma

hatasına yol açarak protein düzeyinde p.P2993WfsX63 değişimine neden olduğunu ve oluşan mutant proteinin distal MyTH4 ve FERM domainleri ile C-terminal PLM'den yoksun olduğunu gösterdi.

Delprat ve ark. (2005), miyozin XVA'nın C-terminal SH3-MyTH4 domain segmentinin whirlinin kısa izoformu ile etkileştiğini (125) ve Belyantseva ve ark. (2005) da, PLM'nin whirlinin PDZ3 domaini tarafından hedeflendiğini göstermişlerdir (41). Nal ve ark. (2007), distal MyTH4 domaininde yer alan p.L3160F mutasyonu ile protein düzeyinde PLM delesyonuna neden olan anlamsız p.Q3492X mutasyonunun ORNSDK ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (391). Diğer taraftan, Myo15^{sh2/sh2}lerde tanımlanan 14.7 Kb'lık delesyonun Myo15 geninin son altı eksonunu ortadan kaldırdığı ve sonuçta distal FERM domaini ile PLM'nin yer almadığı mutant bir miyozin XVA kodlandığı bildirilmektedir (24). DF#19 ailesinde tanımlanan ve proteinin MyTH4-FERM-PLM domain segmentinin kaybına neden olan c.8974-1G>C mutasyonu, miyozin XVA'nın distal kuyruk domainlerinin işlevsel açıdan kritik olduğunu bir kez daha göstermektedir.

MYO15A gen mutasyonlarının hemen hepsi -sensorinöral duyma kaybına sahip Smith-Magenis (del[17]p11.2) sendromlu bir olgu (320) hariç- genetik bağlantı analizi ile DFNB3 lokusuna bağlantılanan ORNSDK ailelerinde gösterilmiştir (246, 311, 320, 391, 597). MYO15A geninin 65 eksondan oluşan büyük bir gen olması ve bu kadar büyük bir genin taranmasının yaratacağı güçlük ve getireceği maliyet bu duruma yol açmaktadır. Aynı nedenlerle, MYO15A geni mutasyonlarının ORNSDK olgularındaki sıklığının saptanmasına yönelik çalışmalar yürütülememektedir.

DF#44

DF#44 ailesinin odyolojik fenotiplerinin ileri odyolojik tetkikler ile yeniden değerlendirilmesi, VI.2.'nin diğer etkilenmiş aile üyelerinden farklı olarak yüksek frekans duyma kaybına sahip olduğunu ve bu bağlamda ailedeki duyma kayıplı bireyler arasında fenokopi bulunduğunu gösterdi (Şekil 4-27).

VI.2.'nin etkilenmişlik durumu değiştirildikten sonra, genom-boyu bağlantı analizinden (562) elde edilen genotipler üzerinde gerçekleştirilen LOD skor hesaplamaları ve saptanan yeni etkilenmiş ve etkilenmemiş bireylerin de dahil edildiği ince haritalama çalışmaları sonucunda, DF#44 ailesindeki NSDK'dan sorumlu gen 6p21.1-p21.31 kromozomal bölgesinde lokalize D6S1629 ve D6S400 markörleri

arasında kalan ~8.4 Mb'lık bölgeye (UCSC Genome Browser) haritalandı (D6S2427 için $Z_{\max}=4.44$, $\theta=0.00$). DF#44 ailesinin haritalandığı bölge DFNB53 ve DFNB66 lokusları ile çakışmakta idi (566). Chen ve ark. (2005), İranlı DFNB53 ailesindeki NSDK'dan homozigot COL11A2 geni mutasyonunun sorumlu olduğunu bildirmiştir (85). Ancak DF#44 ailesinden etkilenmiş birey IV.8.'de D6S1629 ve D6S291 markörleri arasında gözlemlenen rekombinasyon olayı, COL11A2 genini nedensel gen olarak dışladı (Şekil 4-29). Tlili ve ark. (2005), Tunuslu bir ailede haritaladıkları DFNB66 lokusunda yer alan genlerden pozisyonel aday olarak seçtikleri COL11A2, BAK1 ve TMHS/LHFPL5 genlerini dizi analizi ile taramış, herhangi bir değişim saptamamıştır (547). COL11A2 geni gibi BAK1 geni de DF#44 ailesinin haritalandığı kritik bölgenin dışında kaldığından incelemeye alınmadı.

TMHS/LHFPL5 geninin faredeki ortologunun *hurry-scurry* (*hscy*) fare modellerindeki ($Tmhs^{hscy/hscy}$) duyma ve denge kaybından sorumlu olduğu bildirilmektedir (327). TMHS/LHFPL5 geninin DF#44 ailesinde dizi analizi ile değerlendirilmesi sonucunda, etkilenmiş aile üyelerinde homozigot c.649delG mutasyonu saptandı. Bilgisayar ortamında yapılan analizlerde, c.649delG mutasyonunun kırılma hatasına yol açarak protein düzeyinde p.E217VfsX62 değişimine neden olduğu belirlendi. Kalay ve ark. (2006), cDNA düzeyinde yaptıkları çalışmada c.649delG mutasyonunu taşıyan allelden eksprese edilen mutant TMHS/LHFPL5 transkriptinin mRNA yıkımına (nonsense-mediated mRNA decay [293]) uğradığını gösterdi (245). Buna göre, TMHS/LHFPL5 c.649delG mutasyonunun *null* allel oluşumu ile ilişkili olabileceği sonucuna varıldı.

TMHS/LHFPL5 gen ürününün kokleadaki işlevi bilinmemektedir. Ancak $Tmhs^{hscy/hscy}$ lerdeki saç demeti defektlerinin *Cdh23* ve *Pcdh15* mutasyonlarına sahip farelerde gözlemlenenler (bk. 2.4.2.1. ve 2.4.2.2.) ile benzeştiği ve bu nedenle TMHS/LHFPL5 tarafından kodlanan proteinin fonksiyonunun kaderin-23 ve protokaderin-15'inki gibi stereosiller arasında adezyon sağlamak olabileceği ileri sürülmüştür (327).

Bu tez projesi ile eş zamanlı olarak yürütüldüğü anlaşılan bir çalışmada, Shabbir ve ark. (2006), 6p21.1-p22.3 bölgesine haritaladıkları iki Pakistanlı ailedeki ORNSDK'dan TMHS/LHFPL5 geni mutasyonlarının sorumlu olduğunu göstermiştir

(504). Kalay ve ark. (2006) ise, TMHS/LHFPL5 geni mutasyonlarının Türkiye'deki NSDK'ların yaygın bir nedeni olmadığını bildirmektedir (245).

DF#51

DF#51 ailesindeki duyma kaybı ile ilişkili gen, 2p22.3-p24.2'te D2S2375 ile D2S2374 markörleri arasında kalan ~17 Mb'lık bölgeye (UCSC Genome Browser) haritalanmıştı (D2S2168 için $Z_{max}=4.775$, $\theta=0.00$; 562). Bu bölge, Yasunaga ve ark. (1999) tarafından OTOF genindeki mutasyonlar ile ilişkili olduğu bildirilen DFNB9 lokusu ile çakışmakta idi (647). OTOF geninde gerçekleştirilen dizi analizleri sonucunda p.R1856Q mutasyonunun DF#51 ailesindeki odyolojik fenotipler ile birlikte geçiş gösterdiği saptandı.

Varga ve ark. (2003), başlangıçta ORNSDK'dan sorumlu tutulan OTOF geni mutasyonlarının non-sendromik resesif işitsel nöropati (NSRİN) ile de ilişkili olduğunu göstermiştir (582). İşitsel nöropati, VIII. sinirin işlev görememesinden kaynaklanmakta olup ABR yokluğu/anormalliğine karşın DSH'lerin ses uyarımını takiben boylarında meydana gelen hızlı değişimler sırasında ortaya çıkan seslerden oluşan otoakustik emisyon (OAE) ve koklear mikrofoniklerin korunmuş olması ile karakterizedir (138, 340). DPOAE ve ABR tetkikleri, etkilenmiş olgular V.2 ve V.3'teki odyolojik fenotipin bilateral işitsel nöropati olduğunu gösterdi (Şekil 4-32).

OTOF geni, her biri altı sitoplazmik C2 domaini (C2A-F) ve bir C-terminal TM domainine sahip proteinlerden oluşan FER1L ailesinin bir üyesi olan otoferlini kodlamaktadır (646, 647). Otoferlinin, İSH'lerden ribon sinapslarına nörotransmitter salınımında Ca^{+2} sensörü olarak rol oynadığını bildirilmektedir (465). İSH'ler ile spiral ganglion arasında yer alan ribon sinapsları, işitme kaynaklı uyarıların spiral ganglionda yer alan VIII. sinir hücrelerine iletilmesini sağlamaktadır (380).

Otoferlinin işlevinin, sahip olduğu C2 domainleri ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (465). Sekiz β -zincirinden oluşan bir sandviç yapısındaki C2 domainlerinin tepesinde, her biri sahip olduğu aspartat rezidüleri sayesinde Ca^{+2} iyonlarına bağlanan üç *loop* bulunmaktadır (456). Literatürde, doğrudan C2 domainlerini etkileyen çok sayıda yanlış anlamlı mutasyon tanımlanmış bulunmaktadır. Fernandez-Chacon ve ark. (2001), iki C2 domaini (C2A ve C2B) bulduran ve MSS'de otoferlininkine benzer bir işlev gören sinaptotagmin-1'in C2A domaininde yer alan p.R233Q mutasyonunun yapısal ve konformasyonel bir değişim olmaksızın Ca^{+2}

afinitesini ve sonuçta nörotransmitter salınımının Ca^{+2} duyarlılığını iki kat indirgediğini saptamıştır (159). Maeckler ve ark. (2002) ise, sinaptotagmin-1'in C2B domainindeki aspartat rezidülerinin ikisini mutasyona uğratarak uyarılmış nörotransmitter salınımında $>95\%$ 'lik bir azalma elde etmiştir (337). Davis ve ark. (2002), Ca^{+2} 'a bağlı sarkolemma tamirinde rol oynayan disferlindeki p.V67D ve miyoferlinde oluşturdukları p.I67D mutasyonlarının her iki proteinin C2A domainlerinin Ca^{+2} 'a bağlı fosfolipid bağlama özelliklerini değiştirdiğini bildirmiştir (116). Washington ve Ward (2006), FER1L protein ailesinin prototipi olan *C. elegans* fer-1'deki C2 domain mutasyonlarının Ca^{+2} duyarlılığını değiştirerek spermatogenez sırasında vezikül/plazma membranı füzyonunu defekte uğrattığını göstermiştir (606).

Otoferlinde saptanan yanlış anlamlı mutasyonlardan p.P490Q (368), p.I515T (368, 581), p.L1011P (541) ve p.P1825A (365) mutasyonları C2C, C2D ve C2F domainlerinde yer almaktadır. Bu çalışma ile ilk kez tanımlanan p.R1856Q mutasyonu da C2F domainini etkilemektedir. Diğer C2 domain mutasyonlarının fonksiyonel karakterizasyonundan elde edilen veriler, otoferlinin üç farklı C2 domainde tanımlanan bu beş mutasyonun Ca^{+2} bağlama yeteneğini benzer şekilde etkilediğini düşündürmektedir.

Varga ve ark. (2006), OTOF geninde bugüne kadar tanımlanan 22 mutasyonu ve bu mutasyonların NSDK ve/veya NSRİN ile ilişkilerini derlemiştir (581). NSDK ile ilişkilendirilen 10 mutasyondan altısı, OTOF geni mutasyonlarının NSRİN ile ilişkili olduğunun gösterilmesinden önce tanımlanmış ve bu mutasyonların saptandığı olgular işitsel nöropati açısından değerlendirilmemiştir (6, 220, 365, 368, 646, 647). Rodriguez-Ballesteros ve ark. (2003) ve Varga ve ark. (2006), geriye kalan dört mutasyondan ikisinin NSRİN ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır (462, 581). Diğer iki mutasyonun ise NSDK ile ilişkili olduğu, odyolojik tetkikler ile gösterilmiştir (581).

Rodriguez-Ballesteros ve ark. (2003), OTOF genindeki p.Q829X mutasyonunu biri homozigot diğeri tek taraflı olarak taşıyan iki NSRİN olgusundaki OAE'lerin yedi aylık izlem sırasında ortadan kalktığını, p.Q829X mutasyonunu homozigot olarak ya da başka bir mutasyonla birlikte birleşik heterozigot taşıyan olguların sadece 1/3'ünün bilateral olarak OAE'lere sahip bulunduğunu ve bunların yaş ortalamasının unilateral ($\sim 21\%$) ve bilateral ($\sim 46\%$) olarak OAE'lerden yoksun grubunki ile karşılaştırıldığında çok daha düşük olduğunu bildirmiştir (462). Varga ve ark. (2003) ise, OTOF genindeki

c.1651delG ve p.R1939Q mutasyonlarından kaynaklanan NSRİN'e sahip bir ailedeki yaşlı bireylerde OAE'lerin ortadan kalktığını saptamış ve ileri yaştaki OAE kaybının işitme cihazı kullanımı ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüştür (582). Tekin ve ark. (2005), p.L1011P mutasyonunu homozigot olarak taşıyan üç kardeşten ikisinin NSRİN fenotipine sahipken daha uzun süredir işitme cihazı kullanan diğer etkilenmiş bireyin OAE'lere sahip olmadığını bildirmiştir (541). İşitme cihazlarının aşırı amplifikasyona yol açacak şekilde yanlış kullanılmasının zamanla DSH kaybına neden olacağı bildirilmektedir (338). Bu veriler, NSRİN'in OTOF geni mutasyonlarından kaynaklanan tek odyolojik fenotip olduğunu ve NSDK'nın yanlış işitme cihazı kullanımına bağlı ortaya çıktığını düşündürmektedir.

DF#51 ailesinin NSRİN tanısı alan etkilenmiş bireyleri V.2 ve V.3'ün dışında kalan etkilenmiş bireylerinin detaylı odyolojik değerlendirmesi ve işitme cihazı kullanım şekil ve sürelerinin belirlenmesi yukarıda verilen örnekleri doğrulayabilir ya da sekonder NSDK kaynağı olarak yanlış işitme cihazı kullanımının yanı sıra başka faktörleri (örneğin, genetik modifiye edicilerin varlığı ya da yaşa bağlı duyma kaybı yatkınlığı) işaret edebilir.

5.4. Non-Sendromik Duyma Kaybına Sahip Aday Ailelerde Gen Haritalaması

DF#17

ELOD skor değerinin ≥ 3 olmasına karşın genom-boyu bağlantı analizi sonucunda anlamlı LOD skoru değerine ulaşılamayan DF#17 ailesindeki etkilenmiş bireylerin (V.1., V.2. ve VI.1.) odyolojik fenotiplerinin yeniden değerlendirilmesi sonucunda ailenin iki kolu (DF#17.1 ve DF#17.2; Şekil 4-38) arasında duyma kaybının tipi ve şiddeti açısından farklılık bulunduğu saptandı (Şekil 4-37). DF#17.1 kolunun NSDK'dan etkilenmiş olduğu belirlenirken DF#17.2 kolunda yapılan ileri klinik ve biyokimyasal çalışmalar sonucunda odyolojik fenotipe ek olarak retinitis pigmentosa gelişen ve kazanılmış becerilerinde kayıp gösteren VI.2. ile yüksek frekans duyma kaybindan etkilenmiş VI.1.'in çok uzun zincirli yağ asitlerinin plazma düzeylerinde artış ve sensorinöral duyma kaybı ile ilişkili peroksizomal biyogenez bozukluğu (Zellweger sendromu) spektrumuna sahip olduğu bildirildi (22). DF#17 ailesinde -biri NSDK ve diğeri SDK olmak üzere- iki farklı kalıtsal duyma kaybı formunun bir arada bulunmasının genom-boyu bağlantı analizi sonrası gerçekleştirilen istatistiksel

hesaplamalarda anlamlı LOD skor değerine ulaşılmamasından sorumlu olduğu sonucuna varıldı.

DF#17.1 kolunda yapılan genom-boyu haplotip ve ince haritalama çalışmaları sonucunda NSDK'dan sorumlu genin lokalizasyonu, 10q21.2-q23.1'de D10S464 ve D10S523 markörleri arasında kalan ~26 Mb'lık bölge (UCSC Genome Browser) olarak belirlendi. Kritik bölge, DFNB12 lokusu (81) ile çakışmakta idi. Bork ve ark. (2001), DFNB12'nin CDH23 genindeki mutasyonlardan kaynaklandığını bildirmiştir (65). Dizi analizleri sonucunda, CDH23 genindeki p.N452S mutasyonunun DF#17.1 kolundaki NSDK ile birlikte geçiş gösterdiği saptandı.

İlk kez Astuto ve ark. (2002) tarafından tanımlanan p.N452S mutasyonu, CDH23 geni tarafından kodlanan ve saç demetlerindeki stereosiller arasındaki geçici bağlantıların yapısını oluşturan kaderin-23'ün 4. EK tekrarında yer almaktadır (29, 294, 364). Kaderin-23'ün de dahil olduğu klasik kaderin protein ailesinin üyelerinin sahip oldukları EK tekrarlarının Ca^{+2} varlığında birbirleri ile gösterdikleri homofilik etkileşimler sayesinde hücre-hücre adezyonunu sağladıkları bildirilmektedir (402, 425). Nollet ve ark. (2000), EK tekrarlarındaki LDRE, DXNDN ve DXD konsensüs dizilerinin Ca^{+2} iyonlarını bağlamada rol oynadıklarını ileri sürmektedir (402). p.N452 rezidüsünün içinde yer aldığı NENDN (452.-456. aa) dizisinin DXNDN konsensüs dizisini andırıyor olması p.N452S mutasyonunun kaderin-23'ün 4. EK tekrarının Ca^{+2} bağlama yeteneğini etkilediğini düşündürmektedir.

DF#33

Beş etkilenmiş ve 11 etkilenmemiş bireyinde genom-boyu bağlantı analizi uygulanan DF#33 ailesinde anlamlı *two-* ve *multi-point* LOD skor değerlerine ulaşamadı. Elde edilen çok sayıda pozitif LOD skor değerinden en yüksek ikisini veren D3S3053 ve D5S1456 markörlerinin lokalize olduğu 3q26 ve 5q34-35 kromozomal bölgelerinde yapılan ince haritalama ve haplotip analizleri, söz konusu bölgelerin DF#33 ailesindeki NSDK ile bağlantılı olmadığını gösterdi. DF#33 ailesinin gen haritalama çalışmasına dahil edilen 16 aile üyesinden elde edilen genotipler kullanılarak oluşturulan genom-boyu haplotiplerin incelenmesi sonucunda tüm STR markörlerinin %54'ünün –analiz edilen aile üyelerinin toplamda ≤ 4 farklı allele sahip olması şeklinde tanımlandığı üzere- non-informatif olduğu saptandı. Haplotip analizi, ayrıca, DF#33 ailesinin V. ve VI. kuşaklarında yer alan 10 aile üyesinin ortak atası olan

ve kendi ebeveynleri de 1. derece kuzen olan IV.4. no'lu etkilenmemiş bireyin tüm markörlerin %36'sı için homozigot genotipe sahip olduğunu gösterdi. Elde edilen bu bulgulara dayanılarak, DF#33 ailesindeki NSDK'nın altında yatan genin lokalizasyonunun LOD skor analizi ile belirlenememesinden aile bireylerinin kullanılan STR markörler için yüksek non-informatifliğe sahip olmaları sorumlu tutuldu.

Yüksek oranda non-informatiflik görülen ailelerde analiz edilenlerden farklı ve çok daha fazla sayıda markör kullanılarak ikinci bir haritalama yapılması önerilmektedir (528). Diğer taraftan, yapılan istatistiksel analizlerde bağlantıyı dışlayacak ≤ -2 'lik LOD skor değeri elde edilen STR markörlerin incelenmesi ile gerçekleştirilecek "dışlama (exclusion) haritalaması" (206) sonucunda DF#33 ailesindeki NSDK'dan sorumlu genin lokalize olmadığı kromozomal bölgeler saptanabilecektir. Bu sayede, nedensel genin bulunabileceği bölgeler de dolaylı olarak belirlenebilecektir. Bağlantının dışlanamadığı kromozomal bölgeleri kapsayacak şekilde seçilecek çok sayıda STR markörü ile yapılacak ikinci gen haritalama çalışması NSDK'nın altında yatan genin haritalanabilmesine olanak sağlayacaktır.

5.5. Koklear Oksidatif Stres ile İlişkili Duyma Kaybı

Aminoglikozid kullanımına bağlı duyma kaybı nedeni ile çalışmaya dahil edilen üç aileden (KOSDK#1-3) alınan detaylı öykülerden, ailelerde başka etkilenmiş bireylerin de bulunduğu ve bunlarda da duyma kaybının ortaya çıkışından önce çeşitli çevresel etmenlere maruz kaldıkları anlaşıldı. Toplam 13 etkilenmiş bireyden ikisinde sistemik aminoglikozid kullanımı, ikisinde otitis media ve topikal aminoglikozid kullanımı birlikteliği, yedisinde yüksek ateşli hastalık ve şüpheli antibiyotik kullanımı birlikteliği hikayesi bulunmakta iken diğer iki etkilenmiş bireyde duyma kaybının öncesinde duyma kaybı ile ilişkili olabilecek herhangi bir bilinen çevresel etmen olmaksızın 2.-3. dekatta ortaya çıktığı bildirildi.

Duyma kaybı ile ilişkili çevresel etmenlerden aminoglikozid antibiyotikler (626) ve otitis media'nın (121, 242), yüksek ses (209), sisplatin (469) ve iskemi/hipoksi (636) ile birlikte, DSH'lerde KOS oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir. Aminoglikozid ototoksitesinin, DSH'lerde oluşan demir-aminoglikozid bileşiklerinin katalizlediği serbest radikal oluşumu ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (626). Otitis media'nın ise hem NO (242) hem de hidrojen peroksit oluşumu (121) aracılığıyla DSH'lerde hücrel

hasara ve sonuçta sensorinöral duyma kaybına yol açabileceği ileri sürülmektedir (bk. 2.3.6.1.2.).

Hiperterminin DSH'ler ve stria vaskulariste hemin fizyolojik konsantrasyonlarda hücre koruyucu özellik gösteren karbonmonoksit (CO) ve bilirubine yıkılımını katalizleyen hem oksijenaz-1 (HO-1)'in sentezini artırdığı bildirilmektedir (153). HO-1'in Korti organında CO'ya bağlı bir mekanizma aracılığıyla sisplatin kaynaklı serbest radikal oluşumunu baskıladığı gösterilmiştir (273). Bu veriler, dolaylı olarak, hiperterminin koklear yapılarda KOS oluşumu ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Diğer taraftan, CO'nun yüksek dozlarının yüksek frekanslarda işitsel duyarlılığın kaybı ile ilişkili olduğu ve serbest radikal blokerlerinin CO'nun toksik etkilerine karşı kokleaya koruma sağladığı gözlemlenmiştir (157). Hiperbilirubinemi ise -özellikle yenidoğan döneminde- çevresel duyma kaybı (işitsel nöropati [49] ve/veya DSH kaybı [419]) ile ilişkili etmenler arasında sayılmaktadır (463). Bu bağlamda, hipertermi süresinin uzamasının, intrakoklear HO-1 miktarlarının ve dolayısıyla CO ve bilirubin düzeylerinin artmasına ve sonuçta ROT oluşumuna neden olabileceği düşünülebilir.

Diğer taraftan, yüksek ateş, altta yatan ve yine KOSDK'ya yol açabilecek enfeksiyonlar ile ilişkili olabilmektedir. Örneğin, Kuppermann ve ark. (1998), 3-36 aylık ve $>39^{\circ}\text{C}$ ateşe sahip çocuklardan oluşan geniş bir olgu grubunda gizli pnömokok bakteriyemisi sıklığını $\sim\%2.5$ olarak hesaplamıştır (288). Çocukluk çağı ve erişkin dönemdeki bakteriyel menenjitin en yaygın nedeni olarak gösterilen *Streptococcus pneumoniae* tarafından salınan pnömölizin proteininin saç hücrelerinin membranlarında Ca^{+2} iyonlarının hücre içine girişine izin veren porlar oluşturduğu saptanmıştır (48, 108). İntrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonlarındaki pnömölizin kaynaklı artışın nöronlarda aşırı ROT oluşumunu tetiklediği gösterilmiş olsa da (67), saç hücrelerinde pnömölizin ve ROT arasındaki olası ilişki henüz ortaya konmuş değildir. Ancak, artmış intrasellüler Ca^{+2} düzeylerinin mitokondrilerde MPT porlarının açılmasına ve bunu izleyen süreçte yüksek miktarlarda ROT oluşumuna neden olduğu bildirilmektedir (403; bk. 2.3.6.1.2.). Yüksek ateşin bakteriyemiden kaynaklandığı durumlarda tedavi amacı ile kullanılan antibiyotiklerin aminoglikozid olma olasılığı da dikkate alındığında, aile öykülerindeki yüksek ateş ve şüpheli antibiyotik kullanımı birlikteliği KOS oluşumu ile ilişkili bir “olay” olarak değerlendirildi.

Genetik AGKDK (veya başka bir deyişle aminoglikozid kullanımı ile ilişkili KOSDK [194]) yatkınlığının en yaygın nedeni olan MTRNR1 geni mutasyonlarının aminoglikozid maruziyeti olmayan taşıyıcı bireylerde NSDK ile ilişkili olabildiği bildirilmektedir. Estivill ve ark. (1998), MTRNR1 geninde mutasyon taşıyan ancak aminoglikozidlere maruziyeti bulunmayan bireylerde NSDK'nın ortalama ortaya çıkış yaşını 20 olarak belirlerken aminoglikozid kullanımı için negatif öyküye sahip A1555G mutasyonu taşıyıcılarının 30 yaş civarında sensorinöral duyma kaybından etkilenme olasılığını %40 olarak hesaplamıştır (148). Leveque ve ark. (2007) ise, A1555G mutasyonunun segregasyon gösterdiği bir aileden aminoglikozid antibiyotik kullanımı öyküsüne sahip olmayan beş etkilenmiş bireyde duyma kaybının ortaya çıkış yaşlarının 10 ile 30 arasında değiştiğini bildirmiştir (310). Bu çalışmalar ışığında, KOSDK#2 ailesinin IV. ve V. kuşaklarındaki KOSDK'nın altında yatan genetik faktörün doğrudan ya da belirlenemeyen başka çevresel/kalıtsal etmenlerin etkisi ile III. kuşakta yer alan etkilenmiş bireylerdeki geç başlangıçlı duyma kaybından da sorumlu olabileceği düşünülebilir.

KOSDK#1-3 ailelerinde yapılan odyolojik incelemelerde, çalışmaya katılan 10 etkilenmiş bireyin de non-progresif yüksek frekans duyma kaybına sahip olduğu saptandı. Sha ve ark. (2001), sahip oldukları glutatyon düzeyleri ve diğer intrinsik faktörlerin yarattığı farklı yatkınlıklardan dolayı DSH'lerin KOS'ye karşı kokleanın apikalinden bazaline doğru artan bir duyarlılığa sahip olduklarını ve bu nedenle ROT ve diğer serbest radikallerin oluşumunun yüksek frekanslardaki seslerin iletiminden sorumlu bazal DSH'leri çok daha fazla etkilediğini ileri sürmüştür (503). Diğer taraftan, post-PCR restriksiyon enzim analizi ile saptandığı üzere çalışmaya katılan etkilenmiş bireylerinin yüksek frekans duyma kaybı ile karakterize AGKDK'nın en yaygın nedeni olan mtDNA'daki A1555G mutasyonunu (163) taşımadığı saptanan üç ailenin pedigrilerinin incelenmesi sonucunda KOSDK yatkınlığının otozomal resesif olarak kalıtıldığı görüldü. Literatürde otozomal resesif non-progresif yüksek frekans duyma kaybı ile ilişkili olduğu bildirilen tek lokus DFNB1'dir (622). Dizi analizleri, üç ailedeki etkilenmiş bireylerin DFNB1'den sorumlu GJB2 geninde mutasyon taşımadığını gösterdi. Bu bulgular, her üç ailede de KOSDK yatkınlığının bulunduğunu göstermektedir.

Yüksek ses ve aminoglikozid kaynaklı KOS'nin, DSH'lerin nükleer DNA'larında hasar meydana getirerek JNK/SAPK sinyal yolununun aktif haline geçmesine ve sonuçta kaspazların rol oynadığı apoptotik mekanizmaların tetiklenmesine neden olduğu bildirilmektedir (435, 600, 648). Bu verilerden hareketle, Wang ve ark. (2003), KOS ile ilişkili diğer çevresel etmenlerden kaynaklanan duyma kayıplarının ortaya çıkmasında JNK/SAPK sinyal yolunun rol oynayabileceğini ileri sürmektedir (600). Bu hipotez, farede otozomal resesif kalıtım gösteren ve KOS ile ilişkilendirilen YBDK yatkınlığından sorumlu iki lokusun (Ahl-1 ve Ahl-3) YSKDK yatkınlığında da rol oynadığının saptanması ile desteklenmiştir (117, 377). Bu bağlamda, aynı patogenetik mekanizmayı tetikleyen farklı çevresel etmenlerden kaynaklanan duyma kayıplarından ortak bir/birkaç gendeki değişimlerin sorumlu olabileceği düşünülebilir.

Otozomal resesif KOSDK yatkınlığından sorumlu lokusun tanımlanabilmesi amacı ile KOSDK#1 ailesinde genom-boyu homozigotluk haritalaması ve takiben ince haritalama çalışmaları yapıldı. Saptanan gentotipler üzerinden gerçekleştirilen haplotip ve LOD skor analizleri sonucunda, KOSDK'dan sorumlu gen 12p12.3-p13.2'deki ~9.2 Mb'lik kromozomal bölgeye (UCSC Genome Browser) haritalandı (D12S391 için $Z_{\max}=3.2617$, $\theta=0.00$).

KOSDK#2 ve KOSDK#3 ailelerinde gerçekleştirilen kritik bölge analizlerinde kromozomal 12p12.3-p13.2 bölgesinde yer alan STR markörleri için elde edilen genotipler kullanılarak oluşturulan haplotiplerin bu ailelerdeki otozomal resesif KOSDK yatkınlığı ile birlikte geçiş göstermediği saptandı. İstatistiksel analizlerde ise, KOSDK#2 ailesinde otozomal resesif KOSDK yatkınlığı ile D12S77 arasındaki bağlantı dışlanırken ($Z=-2.3459$, $\theta=0.00$) diğer markörler için her iki ailede de bağlantıyı destekleyen ya da dışlayan herhangi bir anlamlı LOD skor değerine ulaşılamadı. Üç KOSDK ailesi kombine edilerek yapılan hesaplamalarda D12S391 için anlamlı LOD skor değerine ($Z=6.0578$, $\theta=0.00$) ulaşılırken D12S364 ve D12S1715 markörleri için bağlantıyı destekleyebilecek >2 'lik değerler elde edildi ($Z=2.8410$, $\theta=0.00$ ve $Z=2.2710$, $\theta=0.00$).

KOSDK#1 ve KOSDK#2 ailelerinin 12p12.3-p13.2'deki haplotipleri karşılaştırıldığında, KOSDK#2 ailesinden etkilenmiş birey III.2.'nin D12S391-D12S1669 aralığındaki markörler için homozigot haplotipe sahip olduğu ve D12S320-

D12S364-D12S303 ile D12S1715-D12S1630 markörleri için KOSDK#1 ailesindeki bağlantılı haplotipi homozigot olarak taşıdığı saptandı (Şekil 4-48 ve 4-49). Aile bilgilerinden her iki ailenin komşu ilçelerden (Erzincan-Kemaliye ve Malatya-Arapgirli) oldukları belirlendi (Şekil 4-46D). Bu nedenle, KOSDK#1 ve KOSDK#2 ailelerinin ortak bir ataya sahip olabileceği düşünüldü. Diğer taraftan, KOSDK#3 ailesinden etkilenmiş bireyler III.3. ve III.4.'ün D12S320-D12S364-D12S303-D12S1728 markörleri için KOSDK#1 ailesindekinden farklı olmakla birlikte homozigot haplotipe sahip olduğu gözlemlendi (Şekil 4-48 ve 4-50). Buna göre, üç aileden çalışmaya dahil edilen toplam 10 etkilenmiş bireyden yedisinin D12S320-D12S364-D12S1303 markörleri için homozigot haplotiplere sahip olduğu belirlendi. Üç ailedeki istatistiksel analizler ve etkilenmiş bireyler arasında gerçekleştirilen yatay haplotip analizlerinden elde edilen veriler ışığında ve 10 etkilenmiş bireyden homozigot haplotipe sahip olmayan üç bireydeki duyma kaybının -homozigot yatkınlık alleline sahip olmaları gerekmeksizin- KOS oluşumunu tetikleyen olaylara maruziyet süresinin uzaması sonucunda ortaya çıkmış olma olasılığı dikkate alınarak otozomal resesif KOSDK yatkınlığından sorumlu genin D12S391 ve D12S1715 markörleri arasındaki ~4.2 Mb'lik bölgede (UCSC Genome Browser) lokalize olabileceği düşünüldü.

Söz konusu kritik bölgede yer alan 36 gen arasından; duyma kaybı ile ilişkili Keutel sendromundan sorumlu olan ve ekspresyonunun saç hücrelerinin aminoglikozid kaynaklı apoptozunda azalma gösterdiği bildirilen MGP (383, 549), KO fare modellerinde duyma kaybı olan CDKN1B (252), sensorinöral işitme kaybı ile ilişkili Charcot-Marie-Tooth hastalığı tip IA'dan sorumlu PMP22 geninin duplikasyonu ile oluştuğu ileri sürülen EMP1 (87, 585), oksidatif strese karşı hücrelerdeki membranöz yapıların korunmasında rol oynayan MGST1 (514), JNK/SAPK sinyal yolu düzenleyicilerinden ATFa/ATF7'yi (57) modüle eden ATF7IP (118) ve spiral ganglion hücrelerinde aminoglikozid antibiyotik kullanımı, yüksek ses maruziyeti ve hipoksi kaynaklı eksitotoksiteden sorumlu tutulan iyonotropik glutamat reseptör kompleksinin bir alt-ünitesini kodlayan GRIN2B genleri (84, 139, 279, 496) aday gen olarak seçildi. KOSDK#1 ailesinden indeks olgu IV.4.'te yapılan dizi analizleri sonucunda seçilen aday genlerin kodlayan bölgelerinde patojenik olarak değerlendirilebilecek herhangi bir mutasyon saptanmadı. KOSDK yatkınlığı ile ilişkili genin tanımlanabilmesi için kritik bölgede yer alan diğer genlerin taranması planlandı.

Diğer taraftan, KOSDK#1 ailesindeki otozomal resesif KOSDK yatkinlığından sorumlu genin haritalandığı bölge, Ali ve ark. (2006) tarafından 12p11.23-p13.22'de D12S358 ve D12S1042 arasında kalan 15 Mb'lik bölgeye haritalanan tüm frekanslarda konjenital çok ağır duyma kaybı ile karakterize DFNB62 lokusu (20) ile çakışmaktadır. Çakışan bölge, D12S358 ve D12S1669 markörleri arasında kalan 6.9 Mb'lik kromozomal segmentten oluşmaktadır (UCSC Genome Browser). Her ne kadar her iki duyma kaybının tipi ile ortaya çıkış dönem ve şekilleri arasında farklılık bulunmakta ise de, DFNB62'den sorumlu gendeki hipomorfik bir allelin otozomal resesif KOSDK yatkinlığı ile ilişkili olabileceği düşünülebilir.

İnsanda KOSDK ile ilişkili nükleer genlerin tanımlanabilmesi amacı ile daha önce sadece sisplatin kaynaklı duyma kaybı ile YSKDK ve/veya YBDK'dan etkilenmiş bireylerde gerçekleştirilen aday gen taraması ve assosiasyon çalışmalarından (30, 79, 165, 278, 280, 428, 455, 559, 568, 569, 573, 577, 640, 641, 642) farklı olarak, KOSDK'nın birçok şeklinin bir arada görüldüğü ailelerde gen haritalaması, kritik bölge analizi ve pozisyonel aday gen yaklaşımının kullanıldığı çalışmamız tamamlandığında, 12p12.3-p13.2'de lokalize olan KOSDK geninin tanımlanması beklenmektedir. Bu genin KOSDK#2 ve KOSDK#3 ailelerinde taranmasından elde edilecek bulguların, ülkemizdeki otozomal resesif KOSDK yatkinlığında etken yaygın bir genin tanımlanmasını ya da ileri genetik heterojenitenin varlığının ortaya konmasını sağlayacağını düşünmekteyiz.

Otozomal resesif KOSDK yatkinlığından sorumlu gen(ler)in tanımlanması ve mutasyonlarının saptanması, akraba evliliklerinin sıkça görüldüğü ülkemizdeki riskli aile ve bireylerin belirlenmesini mümkün kılacaktır. Çevresel etmenlere maruziyet durumunda, riskli bireylerde KOSDK'nın ortaya çıkışı/şiddeti, önleyici/yavaşlatıcı etkinliği halihazırda gösterilmiş olan Mg⁺² (500), aspirin (86), N-asetilsistein (281) vb. gibi anti-oksidan moleküllerin kullanımı ile engellenebilir/azaltılabilir (113).

Model organizmalarda anti-oksidan enzimler (örneğin, süperoksit dismutaz [177]), glutamat reseptör antagonistleri (84, 139), JNK/SAPK sinyal iletim yolu inhibitör/blokerleri (94, 600) ile kaspaz (599, 613) ve kalpain inhibitörlerinin (373, 598) önleyici tedavi olarak etkinliğinin araştırıldığı ve sonuçların olumlu olduğunu gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (468). Ancak bu ajanların insanlarda yan etkilere sahip olabileceği bildirilmektedir (112). KOSDK ile ilişkili genlerin tanımlanması,

henüz aydınlatılmamış patogenetik mekanizmaların ve patofizyolojide rol oynayan yolların belirlenmesine olanak sağlayacaktır. Bu sayede, KOSDK'ya yönelik uygulanacak önleyici tedavide kullanılmak üzere daha az yan etkiye sahip ilaçların geliştirilmesi mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Abe S, Katagiri T, Saito-Hisaminato A, Usami S, Inoue Y, Tsunoda T, et al. Identification of CRYM as a candidate responsible for nonsyndromic deafness, through cDNA microarray analysis of human cochlear and vestibular tissues. *Am J Hum Genet* 2003; **72(1)**: 73-82.
2. Abe S, Usami S, Hoover DM, Cohn E, Shinkawa H, Kimberling WJ. Fluctuating sensorineural hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct maps to 7q31, the region containing the Pendred gene. *Am J Med Genet* 1999; **82(4)**: 322-328.
3. Abe S, Usami S, Shinkawa H, Kelley PM, Kimberling WJ. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese. *J Med Genet* 2000; **37(1)**: 41-43.
4. Adato A, Lefevre G, Delprat B, Michel V, Michalski N, Chardenoux S, et al. Usherin, the defective protein in Usher syndrome type IIA, is likely to be a component of interstereocilia ankle links in the inner ear sensory cells. *Hum Mol Genet* 2005; **14(24)**: 3921-3932.
5. Adato A, Michel V, Kikkawa Y, Reiners J, Alagramam KN, Weil D, et al. Interactions in the network of Usher syndrome type 1 proteins. *Hum Mol Genet* 2005; **14(3)**: 347-356.
6. Adato A, Raskin L, Petit C, Bonne-Tamir B. Deafness heterogeneity in a Druze isolate from the Middle East: novel OTOF and PDS mutations, low prevalence of GJB2 35delG mutation and indication for a new DFNB locus. *Eur J Hum Genet* 2000; **8(6)**: 437-442.
7. Adler HJ, Belyantseva IA, Merritt RC Jr, Frolenkov GI, Dougherty GW, Kachar B. Expression of prestin, a membrane motor protein, in the mammalian auditory and vestibular periphery. *Hear Res* 2003; **184(1-2)**: 27-40.
8. Ahmad S, Chen S, Sun J, Lin X. Connexins 26 and 30 are co-assembled to form gap junctions in the cochlea of mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; **307(2)**: 362-368.
9. Ahmad S, Tang W, Chang Q, Qu Y, Hibshman J, Li Y, et al. Restoration of connexin26 protein level in the cochlea completely rescues hearing in a mouse model of human connexin30-linked deafness. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; **104(4)**: 1337-1341.

10. Ahmed ZM, Goodyear R, Riazuddin S, Lagziel A, Legan PK, Behra M, et al. The tip-link antigen, a protein associated with the transduction complex of sensory hair cells, is protocadherin-15. *J Neurosci* 2006; **26(26)**: 7022-7034.
11. Ahmed ZM, Li XC, Powell SD, Riazuddin S, Young TL, Ramzan K, et al. Characterization of a new full length TMPRSS3 isoform and identification of mutant alleles responsible for nonsyndromic recessive deafness in Newfoundland and Pakistan. *BMC Med Genet* 2004; **5**: 24.
12. Ahmed ZM, Morell RJ, Riazuddin S, Gropman A, Shaukat S, Ahmad MM, et al. Mutations of MYO6 are associated with recessive deafness, DFNB37. *Am J Hum Genet* 2003; **72(5)**: 1315-1322.
13. Ahmed ZM, Riazuddin S, Ahmad J, Bernstein SL, Guo Y, Sabar MF, et al. PCDH15 is expressed in the neurosensory epithelium of the eye and ear and mutant alleles are responsible for both USH1F and DFNB23. *Hum Mol Genet* 2003; **12(24)**: 3215-3223.
14. Ahmed ZM, Riazuddin S, Bernstein SL, Ahmed Z, Khan S, Griffith AJ, et al. Mutations of the protocadherin gene PCDH15 cause Usher syndrome type 1F. *Am J Hum Genet* 2001; **69(1)**: 25-34.
15. Ahmed ZM, Smith TN, Riazuddin S, Makishima T, Ghosh M, Bokhari S, et al. Nonsyndromic recessive deafness DFNB18 and Usher syndrome type IC are allelic mutations of USH1C. *Hum Genet* 2002; **110(6)**: 527-531.
16. Alagramam KN, Murcia CL, Kwon HY, Pawlowski KS, Wright CG, Woychik RP. The mouse Ames waltzer hearing-loss mutant is caused by mutation of Pcdh15, a novel protocadherin gene. *Nat Genet* 2001; **27(1)**: 99-102.
17. Alagramam KN, Yuan H, Kuehn MH, Murcia CL, Wayne S, Srisailpathy CR, et al. Mutations in the novel protocadherin PCDH15 cause Usher syndrome type 1F. *Hum Mol Genet* 2001; **10(16)**: 1709-1718.
18. Albert S, Blons H, Jonard L, Feldmann D, Chauvin P, Loundon N, et al. SLC26A4 gene is frequently involved in nonsyndromic hearing impairment with enlarged vestibular aqueduct in Caucasian populations. *Eur J Hum Genet* 2006; **14(6)**: 773-779.
19. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell*. 4th ed. New York, London: Garland Science; 2002.

20. Ali G, Santos RL, John P, Wambangco MA, Lee K, Ahmad W, et al. The mapping of DFNB62, a new locus for autosomal recessive non-syndromic hearing impairment, to chromosome 12p13.2-p11.23. *Clin Genet* 2006; **69(5)**: 429-433.
21. Altman D, Sweeney HL, Spudich JA. The mechanism of myosin VI translocation and its load-induced anchoring. *Cell* 2004; **116(5)**: 737-749.
22. Altunoğlu U, Tatlı B, Kayserili H, Özmen M, Üzümcü A, Ulubil-Emiroğlu M, Wollnik B, Uyguner ZO. Zellweger sendromu spektrumu: etkilenmiş iki kardeşte fenotipik değişkenlik ve yeni PEX26 p.P118R (353C>G) gen mutasyonunun tanımlanması. 1. Nörogenetik Sempozyumu. İzmir, 4-6 Kasım 2007. pp.34-35.
23. Aluclu MU, Bahceci M, Tuzcu A, Arikan S, Gokalp D. A new mutation in WFS1 gene (C.1522-1523delTA, Y508fsX421) may be responsible for early appearance of clinical features of Wolfram syndrome and suicidal behaviour. *Neuro Endocrinol Lett* 2006; **27(6)**: 691-694.
24. Anderson DW, Probst FJ, Belyantseva IA, Fridell RA, Beyer L, Martin DM, et al. The motor and tail regions of myosin XV are critical for normal structure and function of auditory and vestibular hair cells. *Hum Mol Genet* 2000; **9(12)**: 1729-1738.
25. Antoniadis T, Rabionet R, Kroupis C, Aperis GA, Economides J, Petmezakis J, et al. High prevalence in the Greek population of the 35delG mutation in the connexin 26 gene causing prelingual deafness. *Clin Genet* 1999; **55(5)**: 381-382.
26. Aravind L, Koonin EV. The STAS domain - a link between anion transporters and antisigma-factor antagonists. *Curr Biol* 2000; **10(2)**: R53-55.
27. Aschenbrenner L, Lee T, Hasson T. Myo6 facilitates the translocation of endocytic vesicles from cell peripheries. *Mol Biol Cell* 2003; **14(7)**: 2728-2743.
28. Aschenbrenner L, Naccache SN, Hasson T. Uncoated endocytic vesicles require the unconventional myosin, Myo6, for rapid transport through actin barriers. *Mol Biol Cell* 2004; **15(5)**: 2253-2263.
29. Astuto LM, Bork JM, Weston MD, Askew JW, Fields RR, Orten DJ, et al. CDH23 mutation and phenotype heterogeneity: a profile of 107 diverse families with Usher syndrome and nonsyndromic deafness. *Am J Hum Genet* 2002; **71(2)**: 262-275.

30. Ates NA, Unal M, Tamer L, Derici E, Karakas S, Ercan B, et al. Glutathione S-transferase gene polymorphisms in presbycusis. *Otol Neurotol* 2005; **26(3)**: 392-397.
31. Avraham KB, Hasson T, Sobe T, Balsara B, Testa JR, Skvorak AB, et al. Characterization of unconventional MYO6, the human homologue of the gene responsible for deafness in Snell's waltzer mice. *Hum Mol Genet* 1997; **6(8)**: 1225-1231.
32. Avraham KB, Hasson T, Steel KP, Kingsley DM, Russell LB, Mooseker MS, et al. The mouse Snell's waltzer deafness gene encodes an unconventional myosin required for structural integrity of inner ear hair cells. *Nat Genet* 1995; **11(4)**: 369-375.
33. Balda MS, Matter K. Transmembrane proteins of tight junctions. *Semin Cell Dev Biol* 2000; **11(4)**: 281-289.
34. Ballana E, Ventayol M, Rabionet R, Gasparini P, Estivill X. *Mutations in GJB2 in patients with non-syndromic deafness* (internette), 30.08.2007. Erişim 30.12.2007, Connexins and Deafness Homepage World wide web URL: http://davinci.crg.es/deafness/index.php?seccion=mut_db&db=nonsynd&nonsynd=cx26mut.
35. Baris I, Kilinc MO, Tolun A. Frequency of the 35delG mutation in the connexin 26 gene in Turkish hearing-impaired patients. *Clin Genet* 2001; **60(6)**: 452-455.
36. Bartles JR, Zheng L, Li A, Wierda A, Chen B. Small espin: a third actin-bundling protein and potential forked protein ortholog in brush border microvilli. *J Cell Biol* 1998; **143(1)**: 107-119.
37. Basaran N, Sayli BS, Basarab A, Solak M, Artan S, Stevenson JD. Consanguineous marriages in the Turkish population. *Clin Genet* 1988; **34(5)**: 339-341.
38. Bayazit YA, Cable BB, Cataloluk O, Kara C, Chamberlin P, Smith RJ, et al. GJB2 gene mutations causing familial hereditary deafness in Turkey. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2003; **67(12)**: 1331-1335.
39. Beisel KW, Nelson NC, Delimont DC, Fritzsche B. Longitudinal gradients of KCNQ4 expression in spiral ganglion and cochlear hair cells correlate with progressive hearing loss in DFNA2. *Brain Res Mol Brain Res* 2000; **82(1-2)**: 137-149.

40. Belyantseva IA, Boger ET, Friedman TB. 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 USA* 2003; **100(24)**: 13958-13963.
41. Belyantseva IA, Boger ET, Naz S, Frolenkov GI, Sellers JR, Ahmed ZM, et al. Myosin-XVa is required for tip localization of whirlin and differential elongation of hair-cell stereocilia. *Nat Cell Biol* 2005; **7(2)**: 148-156.
42. Belyantseva IA, Labay V, Boger ET, Griffith AJ, Friedman TB. Stereocilia: the long and the short of it. *Trends Mol Med* 2003; **9(11)**: 458-461.
43. Ben-Yosef T, Belyantseva IA, Saunders TL, Hughes ED, Kawamoto K, Van Itallie CM, et al. Claudin 14 knockout mice, a model for autosomal recessive deafness DFNB29, are deaf due to cochlear hair cell degeneration. *Hum Mol Genet* 2003; **12(16)**: 2049-2061.
44. Berg JS, Powell BC, Cheney RE. A millennial myosin census. *Mol Biol Cell* 2001; **12(4)**: 780-794.
45. Bermingham NA, Hassan BA, Price SD, Vollrath MA, Ben-Arie N, Eatock RA, et al. Math1: an essential gene for the generation of inner ear hair cells. *Science* 1999; **284(5421)**: 1837-1841.
46. Berrettini S, Neri E, Forli F, Panconi M, Massimetti M, Ravecca F, et al. Large vestibular aqueduct in distal renal tubular acidosis. High-resolution MR in three cases. *Acta Radiol* 2001; **42(3)**: 320-322.
47. Bessalova IN, Van Camp G, Bom SJ, Brown DJ, Cryns K, DeWan AT, et al. Mutations in the Wolfram syndrome 1 gene (WFS1) are a common cause of low frequency sensorineural hearing loss. *Hum Mol Genet* 2001; **10(22)**: 2501-2508.
48. Beurg M, Hafidi A, Skinner L, Cowan G, Hondarrague Y, Mitchell TJ, et al. The mechanism of pneumolysin-induced cochlear hair cell death in the rat. *J Physiol* 2005; **568(Pt 1)**: 211-227.
49. Beutner D, Foerst A, Lang-Roth R, von Wedel H, Walger M. Risk factors for auditory neuropathy/auditory synaptopathy. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2007; **69(4)**: 239-244.
50. Bhattacharya SK. Focus on molecules: cochlin. *Exp Eye Res* 2006; **82(3)**: 355-356.

51. Bischoff AM, Luijendijk MW, Huygen PL, van Duijnhoven G, De Leenheer EM, Oudesluijs GG, et al. A novel mutation identified in the DFNA5 gene in a Dutch family: a clinical and genetic evaluation. *Audiol Neurootol* 2004; **9(1)**: 34-46.
52. Bitner-Glindzicz M. Hereditary deafness and phenotyping in humans. *Br Med Bull* 2002; **63**: 73-94.
53. Bitner-Glindzicz M, Turnpenny P, Hoglund P, Kaariainen H, Sankila EM, van der Maarel SM, et al. Further mutations in Brain 4 (POU3F4) clarify the phenotype in the X-linked deafness, DFN3. *Hum Mol Genet* 1995; **4(8)**: 1467-1469.
54. Blangy A, Vignal E, Schmidt S, Debant A, Gauthier-Rouviere C, Fort P. TrioGEF1 controls Rac- and Cdc42-dependent cell structures through the direct activation of rhoG. *J Cell Sci* 2000; **113(Pt 4)**: 729-739.
55. Blomqvist SR, Vidarsson H, Soder O, Enerback S. Epididymal expression of the forkhead transcription factor Foxi1 is required for male fertility. *EMBO J* 2006; **25(17)**: 4131-4141.
56. Blons H, Feldmann D, Duval V, Messaz O, Denoyelle F, Loundon N, et al. Screening of SLC26A4 (PDS) gene in Pendred's syndrome: a large spectrum of mutations in France and phenotypic heterogeneity. *Clin Genet* 2004; **66(4)**: 333-340.
57. Bocco JL, Bahr A, Goetz J, Hauss C, Kallunki T, Kedinger C, et al. In vivo association of ATF α with JNK/SAP kinase activities. *Oncogene* 1996; **12(9)**: 1971-1980.
58. Bock GR, Steel KP. Inner ear pathology in the deafness mutant mouse. *Acta Otolaryngol* 1983; **96(1-2)**: 39-47.
59. Boeda B, El-Amraoui A, Bahloul A, Goodyear R, Daviet L, Blanchard S, et al. Myosin VIIa, harmonin and cadherin 23, three Usher I gene products that cooperate to shape the sensory hair cell bundle. *EMBO J* 2002; **21(24)**: 6689-6699.
60. Bogazzi F, Russo D, Raggi F, Ultimieri F, Berrettini S, Forli F, et al. Mutations in the SLC26A4 (pendrin) gene in patients with sensorineural deafness and enlarged vestibular aqueduct. *J Endocrinol Invest* 2004; **27(5)**: 430-435.
61. Bolz H, Reiners J, Wolfrum U, Gal A. Role of cadherins in Ca²⁺-mediated cell adhesion and inherited photoreceptor degeneration. *Adv Exp Med Biol* 2002; **514**: 399-410.

62. Bolz H, von Brederlow B, Ramirez A, Bryda EC, Kutsche K, Nothwang HG, et al. Mutation of CDH23, encoding a new member of the cadherin gene family, causes Usher syndrome type 1D. *Nat Genet* 2001; **27(1)**: 108-112.
63. Bonini NM, Bui QT, Gray-Board GL, Warrick JM. The *Drosophila* eyes absent gene directs ectopic eye formation in a pathway conserved between flies and vertebrates. *Development* 1997; **124(23)**: 4819-4826.
64. Bonini NM, Fortini ME. Surviving *Drosophila* eye development: integrating cell death with differentiation during formation of a neural structure. *Bioessays* 1999; **21(12)**: 991-1003.
65. Bork JM, Peters LM, Riazuddin S, Bernstein SL, Ahmed ZM, Ness SL, et al. Usher syndrome 1D and nonsyndromic autosomal recessive deafness DFNB12 are caused by allelic mutations of the novel cadherin-like gene CDH23. *Am J Hum Genet* 2001; **68(1)**: 26-37.
66. Borsani G, DeGrandi A, Ballabio A, Bulfone A, Bernard L, Banfi S, et al. EYA4, a novel vertebrate gene related to *Drosophila* eyes absent. *Hum Mol Genet* 1999; **8(1)**: 11-23.
67. Braun JS, Hoffmann O, Schickhaus M, Freyer D, Dagand E, Bermpohl D, et al. Pneumolysin causes neuronal cell death through mitochondrial damage. *Infect Immun* 2007; **75(9)**: 4245-4254.
68. Bretscher A, Edwards K, Fehon RG. ERM proteins and merlin: integrators at the cell cortex. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; **3(8)**: 586-599.
69. Britton S, Freeman T, Vafiadaki E, Keers S, Harrison R, Bushby K, et al. The third human FER-1-like protein is highly similar to dysferlin. *Genomics* 2000; **68(3)**: 313-321.
70. Brobby GW, Muller-Myhsok B, Horstmann RD. Connexin 26 R143W mutation associated with recessive nonsyndromic sensorineural deafness in Africa. *N Engl J Med* 1998; **338(8)**: 548-550.
71. Brown MR, Tomek MS, Van Laer L, Smith S, Kenyon JB, Van Camp G, et al. A novel locus for autosomal dominant nonsyndromic hearing loss, DFNA13, maps to chromosome 6p. *Am J Hum Genet* 1997; **61(4)**: 924-927.
72. Brunner HG, van Bennekom A, Lambermon EM, Oei TL, Cremers WR, Wieringa B, et al. The gene for X-linked progressive mixed deafness with perilymphatic

- gusher during stapes surgery (DFN3) is linked to PGK. *Hum Genet* 1988; **80(4)**: 337-340.
73. Buss F, Arden SD, Lindsay M, Luzio JP, Kendrick-Jones J. Myosin VI isoform localized to clathrin-coated vesicles with a role in clathrin-mediated endocytosis. *EMBO J* 2001; **20(14)**: 3676-3684.
74. Bykhovskaya Y, Estivill X, Taylor K, Hang T, Hamon M, Casano RA, et al. Candidate locus for a nuclear modifier gene for maternally inherited deafness. *Am J Hum Genet* 2000; **66(6)**: 1905-1910.
75. Bykhovskaya Y, Mengesha E, Wang D, Yang H, Estivill X, Shohat M, et al. Human mitochondrial transcription factor B1 as a modifier gene for hearing loss associated with the mitochondrial A1555G mutation. *Mol Genet Metab* 2004; **82(1)**: 27-32.
76. Bykhovskaya Y, Mengesha E, Wang D, Yang H, Estivill X, Shohat M, et al. Phenotype of non-syndromic deafness associated with the mitochondrial A1555G mutation is modulated by mitochondrial RNA modifying enzymes MTO1 and GTPBP3. *Mol Genet Metab* 2004; **83(3)**: 199-206.
77. Bykhovskaya Y, Yang H, Taylor K, Hang T, Tun RY, Estivill X, et al. Modifier locus for mitochondrial DNA disease: linkage and linkage disequilibrium mapping of a nuclear modifier gene for maternally inherited deafness. *Genet Med* 2001; **3(3)**: 177-180.
78. Campbell C, Cucci RA, Prasad S, Green GE, Edeal JB, Galer CE, et al. Pendred syndrome, DFNB4, and PDS/SLC26A4 identification of eight novel mutations and possible genotype-phenotype correlations. *Hum Mutat* 2001; **17(5)**: 403-411.
79. Carlsson PI, Van Laer L, Borg E, Bondeson ML, Thys M, Fransen E, et al. The influence of genetic variation in oxidative stress genes on human noise susceptibility. *Hear Res* 2005; **202(1-2)**: 87-96.
80. Cereijido M, Valdes J, Shoshani L, Contreras RG. Role of tight junctions in establishing and maintaining cell polarity. *Annu Rev Physiol* 1998; **60**: 161-177.
81. Chaib H, Place C, Salem N, Dode C, Chardenoux S, Weissenbach J, et al. Mapping of DFNB12, a gene for a non-syndromal autosomal recessive deafness, to chromosome 10q21-22. *Hum Mol Genet* 1996; **5(7)**: 1061-1064.

82. Chambard JM, Ashmore JF. Sugar transport by mammalian members of the SLC26 superfamily of anion-bicarbonate exchangers. *J Physiol* 2003; 550(Pt 3): 667-677.
83. Chen AH, Ni L, Fukushima K, Marietta J, O'Neill M, Coucke P, et al. Linkage of a gene for dominant non-syndromic deafness to chromosome 19. *Hum Mol Genet* 1995; **4(6)**: 1073-1076.
84. Chen GD, Kong J, Reinhard K, Fechter LD. NMDA receptor blockage protects against permanent noise-induced hearing loss but not its potentiation by carbon monoxide. *Hear Res* 2001; **154(1-2)**: 108-115.
85. Chen W, Kahrizi K, Meyer NC, Riazalhosseini Y, Van Camp G, Najmabadi H, et al. Mutation of COL11A2 causes autosomal recessive non-syndromic hearing loss at the DFNB53 locus. *J Med Genet* 2005; **42(10)**: e61.
86. Chen Y, Huang WG, Zha DJ, Qiu JH, Wang JL, Sha SH, et al. Aspirin attenuates gentamicin ototoxicity: from the laboratory to the clinic. *Hear Res* 2007; **226(1-2)**: 178-182.
87. Chen Y, Medvedev A, Ruzanov P, Marvin KW, Jetten AM. cDNA cloning, genomic structure, and chromosome mapping of the human epithelial membrane protein CL-20 gene (EMP1), a member of the PMP22 family. *Genomics* 1997; **41(1)**: 40-48.
88. Chishti AH, Kim AC, Marfatia SM, Lutchman M, Hanspal M, Jindal H, et al. The FERM domain: a unique module involved in the linkage of cytoplasmic proteins to the membrane. *Trends Biochem Sci* 1998; **23(8)**: 281-282.
89. Christensen K, Frederiksen H, Hoffman HJ. Genetic and environmental influences on self-reported reduced hearing in the old and oldest old. *J Am Geriatr Soc* 2001; **49(11)**: 1512-1517.
90. Chung WH, Kim KR, Cho YS, Cho DY, Woo JH, Ryoo ZY, et al. Cochlear pathology of the circling mouse: a new mouse model of DFNB6. *Acta Otolaryngol* 2007; **127(3)**: 244-251.
91. Clark SW, Fee BE, Cleveland JL. Misexpression of the eyes absent family triggers the apoptotic program. *J Biol Chem* 2002; **277(5)**: 3560-3567.
92. Clough RL, Sud R, Davis-Silberman N, Hertzano R, Avraham KB, Holley M, et al. Brn-3c (POU4F3) regulates BDNF and NT-3 promoter activity. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; **324(1)**: 372-381.

93. Cohen-Salmon M, Ott T, Michel V, Hardelin JP, Perfettini I, Eybalin M, et al. Targeted ablation of connexin26 in the inner ear epithelial gap junction network causes hearing impairment and cell death. *Curr Biol* 2002; **12(13)**: 1106-1111.
94. Coleman JK, Littlesunday C, Jackson R, Meyer T. AM-111 protects against permanent hearing loss from impulse noise trauma. *Hear Res* 2007; **226(1-2)**: 70-78.
95. Collin RW, Kalay E, Oostrik J, Caylan R, Wollnik B, Arslan S, et al. Involvement of DFNB59 mutations in autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment. *Hum Mutat* 2007; **28(7)**: 718-723.
96. Connell SS, Angeli SI, Suarez H, Hodges AV, Balkany TJ, Liu XZ. Performance after cochlear implantation in DFNB1 patients. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; **137(4)**: 596-602.
97. Cooper GM. *The Cell A Molecular Approach*. 2nd ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates, Inc.; 2000.
98. Corey DP, Garcia-Anoveros J, Holt JR, Kwan KY, Lin SY, Vollrath MA, et al. TRPA1 is a candidate for the mechanosensitive transduction channel of vertebrate hair cells. *Nature* 2004; **432(7018)**: 723-730.
99. Coucke P, Van Camp G, Djoyodiharjo B, Smith SD, Frants RR, Padberg GW, et al. Linkage of autosomal dominant hearing loss to the short arm of chromosome 1 in two families. *N Engl J Med* 1994; **331(7)**: 425-431.
100. Coucke PJ, Van Hauwe P, Everett LA, Demirhan O, Kabakkaya Y, Dietrich NL, et al. Identification of two different mutations in the PDS gene in an inbred family with Pendred syndrome. *J Med Genet* 1999; **36(6)**: 475-477.
101. Couloigner V, Fay M, Djelidi S, Farman N, Escoubet B, Runembert I, et al. Location and function of the epithelial Na channel in the cochlea. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; **280(2)**: F214-222.
102. Couloigner V, Teixeira M, Hulin P, Sterkers O, Bichara M, Escoubet B, et al. Effect of locally applied drugs on the pH of luminal fluid in the endolymphatic sac of guinea pig. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; **279(5)**: R1695-1700.
103. Cramer LP. Myosin VI: roles for a minus end-directed actin motor in cells. *J Cell Biol* 2000; **150(6)**: F121-126.

104. Cremers CW, Admiraal RJ, Huygen PL, Bolder C, Everett LA, Joosten FB, et al. Progressive hearing loss, hypoplasia of the cochlea and widened vestibular aqueducts are very common features in Pendred's syndrome. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1998; **45(2)**: 113-123.
105. Cryns K, Pfister M, Pennings RJ, Bom SJ, Flothmann K, Caethoven G, et al. Mutations in the WFS1 gene that cause low-frequency sensorineural hearing loss are small non-inactivating mutations. *Hum Genet* 2002; **110(5)**: 389-394.
106. Cryns K, Sivakumaran TA, Van den Ouweland JM, Pennings RJ, Cremers CW, Flothmann K, et al. Mutational spectrum of the WFS1 gene in Wolfram syndrome, nonsyndromic hearing impairment, diabetes mellitus, and psychiatric disease. *Hum Mutat* 2003; **22(4)**: 275-287.
107. Cryns K, Thys S, Van Laer L, Oka Y, Pfister M, Van Nassauw L, et al. The WFS1 gene, responsible for low frequency sensorineural hearing loss and Wolfram syndrome, is expressed in a variety of inner ear cells. *Histochem Cell Biol* 2003; **119(3)**: 247-256.
108. Dagan R. Treatment of acute otitis media - challenges in the era of antibiotic resistance. *Vaccine* 2000; **19 Suppl 1**: S9-S16.
109. Dallos P, Fakler B. Prestin, a new type of motor protein. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; **3(2)**: 104-111.
110. Dallos P, Zheng J, Cheatham MA. Prestin and the cochlear amplifier. *J Physiol* 2006; **576(Pt 1)**: 37-42.
111. D'Andrea P, Veronesi V, Bicego M, Melchionda S, Zelante L, Di Iorio E, et al. Hearing loss: frequency and functional studies of the most common connexin26 alleles. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **296(3)**: 685-691.
112. Darlington CL, Smith PF. Vestibulotoxicity following aminoglycoside antibiotics and its prevention. *Curr Opin Investig Drugs* 2003; **4(7)**: 841-846.
113. Darrat I, Ahmad N, Seidman K, Seidman MD. Auditory research involving antioxidants. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; **15(5)**: 358-363.
114. Davis AC. The prevalence of hearing impairment and reported hearing disability among adults in Great Britain. *Int J Epidemiol* 1989; **18(4)**: 911-917.
115. Davis DB, Delmonte AJ, Ly CT, McNally EM. Myoferlin, a candidate gene and potential modifier of muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2000; **9(2)**: 217-226.

116. Davis DB, Doherty KR, Delmonte AJ, McNally EM. Calcium-sensitive phospholipid binding properties of normal and mutant ferlin C2 domains. *J Biol Chem* 2002; **277(25)**: 22883-22888.
117. Davis RR, Newlander JK, Ling X, Cortopassi GA, Krieg EF, Erway LC. Genetic basis for susceptibility to noise-induced hearing loss in mice. *Hear Res* 2001; **155(1-2)**: 82-90.
118. De Graeve F, Bahr A, Chatton B, Kedinger C. A murine ATFa-associated factor with transcriptional repressing activity. *Oncogene* 2000; **19(14)**: 1807-1819.
119. de Kok YJ, van der Maarel SM, Bitner-Glindzicz M, Huber I, Monaco AP, Malcolm S, et al. Association between X-linked mixed deafness and mutations in the POU domain gene POU3F4. *Science* 1995; **267(5198)**: 685-688.
120. de Kok YJ, Vossenaar ER, Cremers CW, Dahl N, Laporte J, Hu LJ, et al. Identification of a hot spot for microdeletions in patients with X-linked deafness type 3 (DFN3) 900 kb proximal to the DFN3 gene POU3F4. *Hum Mol Genet* 1996; **5(9)**: 1229-1235.
121. Dehne N, Lautermann J, ten Cate WJ, Rauhen U, de Groot H. In vitro effects of hydrogen peroxide on the cochlear neurosensory epithelium of the guinea pig. *Hear Res* 2000; **143(1-2)**: 162-170.
122. del Castillo FJ, Rodriguez-Ballesteros M, Alvarez A, Hutchin T, Leonardi E, de Oliveira CA, et al. A novel deletion involving the connexin-30 gene, del(GJB6-d13s1854), found in trans with mutations in the GJB2 gene (connexin-26) in subjects with DFNB1 non-syndromic hearing impairment. *J Med Genet* 2005; **42(7)**: 588-594.
123. del Castillo I, Villamar M, Moreno-Pelayo MA, del Castillo FJ, Alvarez A, Telleria D, et al. A deletion involving the connexin 30 gene in nonsyndromic hearing impairment. *N Engl J Med* 2002; **346(4)**: 243-249.
124. Delmaghani S, del Castillo FJ, Michel V, Leibovici M, Aghaie A, Ron U, et al. Mutations in the gene encoding pejvakina, a newly identified protein of the afferent auditory pathway, cause DFNB59 auditory neuropathy. *Nat Genet* 2006; **38(7)**: 770-778.
125. Delprat B, Michel V, Goodyear R, Yamasaki Y, Michalski N, El-Amraoui A, et al. Myosin XVa and whirlin, two deafness gene products required for hair bundle

- growth, are located at the stereocilia tips and interact directly. *Hum Mol Genet* 2005; **14(3)**: 401-410.
126. Denoyelle F, Lina-Granade G, Plauchu H, Bruzzone R, Chaib H, Levi-Acobas F, et al. Connexin 26 gene linked to a dominant deafness. *Nature* 1998; **393**: 319-320.
127. Denoyelle F, Weil D, Maw MA, Wilcox SA, Lench NJ, Allen-Powell DR, et al. Prelingual deafness: high prevalence of a 30delG mutation in the connexin 26 gene. *Hum Mol Genet* 1997; **6(12)**: 2173-2177.
128. Di Palma F, Holme RH, Bryda EC, Belyantseva IA, Pellegrino R, Kachar B, et al. Mutations in *Cdh23*, encoding a new type of cadherin, cause stereocilia disorganization in waltzer, the mouse model for Usher syndrome type 1D. *Nat Genet* 2001; **27(1)**: 103-107.
129. Di Palma F, Pellegrino R, Noben-Trauth K. Genomic structure, alternative splice forms and normal and mutant alleles of cadherin 23 (*Cdh23*). *Gene* 2001; **281(1-2)**: 31-41.
130. *Domains Found in Myosins* (internet). Erişim 27.12.2007, Myosin Resource Page, Molecular Motors Group, Biology Department, University of York: <http://motility.york.ac.uk/domains.shtml>.
131. Donaudy F, Ferrara A, Esposito L, Hertzano R, Ben-David O, Bell RE, et al. Multiple Mutations of MYO1A, a Cochlear-Expressed Gene, in Sensorineural Hearing Loss. *Am J Hum Genet* 2003; **72**: 1571-1577.
132. Donaudy F, Snoeckx R, Pfister M, Zenner HP, Blin N, Di Stazio M, et al. Nonmuscle myosin heavy-chain gene MYH14 is expressed in cochlea and mutated in patients affected by autosomal dominant hearing impairment (DFNA4). *Am J Hum Genet* 2004; **74(4)**: 770-776.
133. Donaudy F, Zheng L, Ficarella R, Ballana E, Carella M, Melchionda S, et al. Espin gene (ESPN) mutations associated with autosomal dominant hearing loss cause defects in microvillar elongation or organisation. *J Med Genet* 2006; **43(2)**: 157-161.
134. Dose AC, Burnside B. A Class III Myosin Expressed in the Retina Is a Potential Candidate for Bardet-Biedl Syndrome. *Genomics* 2002; **79(5)**: 621-624.
135. Dose AC, Burnside B. Cloning and chromosomal localization of a human class III myosin. *Genomics* 2000; **67(3)**: 333-342.

136. Dose AC, Hillman DW, Wong C, Sohlberg L, Lin-Jones J, Burnside B. Myo3A, one of two class III myosin genes expressed in vertebrate retina, is localized to the calycal processes of rod and cone photoreceptors and is expressed in the sacculus. *Mol Biol Cell* 2003; **14(3)**: 1058-1073.
137. Dou H, Finberg K, Cardell EL, Lifton R, Choo D. Mice lacking the B1 subunit of H⁺-ATPase have normal hearing. *Hear Res* 2003; **180(1-2)**: 76-84.
138. Doyle KJ, Sininger Y, Starr A. Auditory neuropathy in childhood. *Laryngoscope* 1998; **108(9)**: 1374-1377.
139. Duan M, Agerman K, Ernfors P, Canlon B. Complementary roles of neurotrophin 3 and a N-methyl-D-aspartate antagonist in the protection of noise and aminoglycoside-induced ototoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97(13)**: 7597-7602.
140. Dumont RA, Zhao YD, Holt JR, Bahler M, Gillespie PG. Myosin-I isozymes in neonatal rodent auditory and vestibular epithelia. *J Assoc Res Otolaryngol* 2002; **3(4)**: 375-389.
141. Ebermann I, Scholl HP, Charbel Issa P, Becirovic E, Lamprecht J, Jurklics B, et al. A novel gene for Usher syndrome type 2: mutations in the long isoform of whirlin are associated with retinitis pigmentosa and sensorineural hearing loss. *Hum Genet* 2007; **121(2)**: 203-211.
142. Ebermann I, Walger M, Scholl HP, Charbel Issa P, Luke C, Nurnberg G, et al. Truncating mutation of the DFNB59 gene causes cochlear hearing impairment and central vestibular dysfunction. *Hum Mutat* 2007; **28(6)**: 571-577.
143. Edmunds AL, Campbell KCM, Rybak LP, Glatz F, Kalkanis J, Mudd PA. *Inner Ear, Ototoxicity* (internet), 06.09.2006. Erişim 12.11.2007, eMedicine: <http://www.emedicine.com/ent/topic699.htm>.
144. Eiberg H, Hansen L, Kjer B, Hansen T, Pedersen O, Bille M, et al. Autosomal dominant optic atrophy associated with hearing impairment and impaired glucose regulation caused by a missense mutation in the WFS1 gene. *J Med Genet* 2006; **43(5)**: 435-440.
145. El-Amraoui A, Petit C. Usher I syndrome: unravelling the mechanisms that underlie the cohesion of the growing hair bundle in inner ear sensory cells. *J Cell Sci* 2005; **118(Pt 20)**: 4593-4603.

146. Ernest S, Rauch GJ, Haffter P, Geisler R, Petit C, Nicolson T. Mariner is defective in myosin VIIA: a zebrafish model for human hereditary deafness. *Hum Mol Genet* 2000; **9(14)**: 2189-2196.
147. Estivill X, Fortina P, Surrey S, Rabionet R, Melchionda S, D'Agruma L, et al. Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. *Lancet* 1998; **351(9100)**: 394-398.
148. Estivill X, Govea N, Barcelo E, Badenas C, Romero E, Moral L, et al. Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA A1555G mutation and is enhanced by treatment of aminoglycosides. *Am J Hum Genet* 1998; **62(1)**: 27-35.
149. Evans WH, Martin PE. Gap junctions: structure and function. *Mol Membr Biol* 2002; **19(2)**: 121-136.
150. Everett LA, Belyantseva IA, Noben-Trauth K, Cantos R, Chen A, Thakkar SI, et al. Targeted disruption of mouse Pds provides insight about the inner-ear defects encountered in Pendred syndrome. *Hum Mol Genet* 2001; **10(2)**: 153-161.
151. Everett LA, Glaser B, Beck JC, Idol JR, Buchs A, Heyman M, et al. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nature Genet* 1997; **17(4)**: 411-422.
152. Everett LA, Morsli H, Wu DK, Green ED. Expression pattern of the mouse ortholog of the Pendred's syndrome gene (Pds) suggests a key role for pendrin in the inner ear. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; **96(17)**: 9727-9732.
153. Fairfield DA, Kanicki AC, Lomax MI, Altschuler RA. Induction of heat shock protein 32 (Hsp32) in the rat cochlea following hyperthermia. *Hear Res* 2004; **188(1-2)**: 1-11.
154. Fanning AS, Ma TY, Anderson JM. Isolation and functional characterization of the actin binding region in the tight junction protein ZO-1. *FASEB J* 2002; **16(13)**: 1835-1837.
155. Farinas I, Jones KR, Tessarollo L, Vigers AJ, Huang E, Kirstein M, et al. Spatial shaping of cochlear innervation by temporally regulated neurotrophin expression. *J Neurosci* 2001; **21(16)**: 6170-6180.
156. Fausti SA, Henry JA, Schaffer HI, Olson DJ, Frey RH, McDonald WJ. High-frequency audiometric monitoring for early detection of aminoglycoside ototoxicity. *J Infect Dis* 1992; **165(6)**: 1026-1032.

157. Fechter LD, Liu Y, Pearce TA. Cochlear protection from carbon monoxide exposure by free radical blockers in the guinea pig. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; **142(1)**: 47-55.
158. Feng J, Orłowski J, Lingrel JB. Identification of a functional thyroid hormone response element in the upstream flanking region of the human Na,K-ATPase beta 1 gene. *Nucleic Acids Res* 1993; **21(11)**: 2619-2626.
159. Fernandez-Chacon R, Königstorfer A, Gerber SH, Garcia J, Matos MF, Stevens CF, et al. Synaptotagmin I functions as a calcium regulator of release probability. *Nature* 2001; **410(6824)**: 41-49.
160. Fettiplace R, Hackney CM. The sensory and motor roles of auditory hair cells. *Nat Rev Neurosci* 2006; **7(1)**: 19-29.
161. Finbow ME, Harrison MA. The vacuolar H⁺-ATPase: a universal proton pump of eukaryotes. *Biochem J* 1997; **324 (Pt 3)**: 697-712.
162. Finsterer J, Fellinger J. Nuclear and mitochondrial genes mutated in nonsyndromic impaired hearing. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2005; **69(5)**: 621-647.
163. Fischel-Ghodsian N. Genetic factors in aminoglycoside toxicity. *Pharmacogenomics* 2005; **6(1)**: 27-36.
164. Forge A, Marziano NK, Casalotti SO, Becker DL, Jagger D. The inner ear contains heteromeric channels composed of cx26 and cx30 and deafness-related mutations in cx26 have a dominant negative effect on cx30. *Cell Commun Adhes* 2003; **10(4-6)**: 341-346.
165. Fortunato G, Marciano E, Zarrilli F, Mazzaccara C, Intrieri M, Calcagno G, et al. Paraoxonase and superoxide dismutase gene polymorphisms and noise-induced hearing loss. *Clin Chem* 2004; **50(11)**: 2012-2018.
166. Frank M, Kemler R. Protocadherins. *Curr Opin Cell Biol* 2002; **14(5)**: 557-562.
167. Fransen E, Lemkens N, Van Laer L, Van Camp G. Age-related hearing impairment (ARHI): environmental risk factors and genetic prospects. *Exp Gerontol* 2003; **38(4)**: 353-359.
168. Fridberger A, Flock A, Ulfendahl M, Flock B. Acoustic overstimulation increases outer hair cell Ca²⁺ concentrations and causes dynamic contractions of the hearing organ. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95(12)**: 7127-7132.
169. Friedman TB, Griffith AJ. Human nonsyndromic sensorineural deafness. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2003; **4**: 341-402.

170. Friedman TB, Sellers JR, Avraham KB. Unconventional myosins and the genetics of hearing loss. *Am J Med Genet* 1999; **89(3)**: 147-157.
171. Frolenkov GI, Belyantseva IA, Friedman TB, Griffith AJ. Genetic insights into the morphogenesis of inner ear hair cells. *Nat Rev Genet* 2004; **5(7)**: 489-498.
172. Fukuoka H, Kanda Y, Ohta S, Usami S. Mutations in the WFS1 gene are a frequent cause of autosomal dominant nonsyndromic low-frequency hearing loss in Japanese. *J Hum Genet* 2007; **52(6)**: 510-515.
173. Fukushima K, Ramesh A, Srisailapathy CR, Ni L, Wayne S, O'Neill ME, et al. An autosomal recessive nonsyndromic form of sensorineural hearing loss maps to 3p-DFNB6. *Genome Res* 1995; **5(3)**: 305-308.
174. Fuse Y, Doi K, Hasegawa T, Sugii A, Hibino H, Kubo T. Three novel connexin26 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic deafness. *Neuroreport* 1999; **10(9)**: 1853-1857.
175. Garner CC, Nash J, Haganir RL. PDZ domains in synapse assembly and signalling. *Trends Cell Biol* 2000; **10(7)**: 274-280.
176. Gasparini P, Rabionet R, Barbuşani G, Melchionda S, Petersen M, Brøndum-Nielsen K, et al. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. Genetic Analysis Consortium of GJB2 35delG. *Eur J Hum Genet* 2000; **8(1)**: 19-23.
177. Ge NN, Brodie SA, Tinling SP, Brodie HA. The effects of superoxide dismutase in gerbils with bacterial meningitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; **131(5)**: 563-572.
178. Geleoc GS, Holt JR. Auditory amplification: outer hair cells pres the issue. *Trends Neurosci* 2003; **26(3)**: 115-117.
179. Geleoc GS, Holt JR. Developmental acquisition of sensory transduction in hair cells of the mouse inner ear. *Nat Neurosci* 2003; **6(10)**: 1019-1020.
180. Genç GA, Başar F, Kayıkçı ME, Türkyılmaz D, Fırat Z, Duran Ö, ve ark. Hacettepe Üniversitesi yenidoğan işitme taraması bulguları. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2005; **48(2)**: 119-124.
181. Ghanbari Marand A. De novo yapısal kromozom anomalilerinde mikrosatellit analizleri ile parental kökenin belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. İstanbul. 2005.

182. Gibson F, Walsh J, Mburu P, Varela A, Brown KA, Antonio M, et al. A type VII myosin encoded by the mouse deafness gene shaker-1. *Nature* 1995; **374(6517)**: 62-64.
183. Gil H, Santos F, Garcia E, Alvarez MV, Ordonez FA, Malaga S, et al. Distal RTA with nerve deafness: clinical spectrum and mutational analysis in five children. *Pediatr Nephrol* 2007; **22(6)**: 825-828.
184. Gillespie PG, Dumont RA, Kachar B. Have we found the tip link, transduction channel, and gating spring of the hair cell? *Curr Opin Neurobiol* 2005; **15(4)**: 389-396.
185. Glaser B. Pendred syndrome. *Pediatr Endocrinol Rev* 2003; **1 Suppl 2**: 199-204.
186. Goldstein JA, Lalwani AK. Further evidence for a third deafness gene within the DFNA2 locus. *Am J Med Genet* 2002; **108(4)**: 304-309.
187. Golomb E, Ma X, Jana SS, Preston YA, Kawamoto S, Shoham NG, et al. Identification and characterization of nonmuscle myosin II-C, a new member of the myosin II family. *J Biol Chem* 2004; **279(4)**: 2800-2808.
188. Govaerts PJ, De Ceulaer G, Daemers K, Verhoeven K, Van Camp G, Schatteman I, et al. A new autosomal-dominant locus (DFNA12) is responsible for a nonsyndromic, midfrequency, prelingual and nonprogressive sensorineural hearing loss. *Am J Otol* 1998; **19(6)**: 718-723.
189. Grabski R, Szul T, Sasaki T, Timpl R, Mayne R, Hicks B, et al. Mutations in COCH that result in non-syndromic autosomal dominant deafness (DFNA9) affect matrix deposition of cochlin. *Hum Genet* 2003; **113(5)**: 406-416.
190. Gregan J, Van Laer L, Lieto LD, Van Camp G, Kearsley SE. A yeast model for the study of human DFNA5, a gene mutated in nonsyndromic hearing impairment. *Biochim Biophys Acta* 2003; **1638(2)**: 179-186.
191. Grifa A, Wagner CA, D'Ambrosio L, Melchionda S, Bernardi F, Lopez-Bigas N, et al. Mutations in GJB6 cause nonsyndromic autosomal dominant deafness at DFNA3 locus. *Nat Genet* 1999; **23(1)**: 16-18.
192. Gruber CA, Rhee JM, Gleiberman A, Turner EE. POU domain factors of the Brn-3 class recognize functional DNA elements which are distinctive, symmetrical, and highly conserved in evolution. *Mol Cell Biol* 1997; **17(5)**: 2391-2400.

193. Grunder S, Muller A, Ruppertsberg JP. Developmental and cellular expression pattern of epithelial sodium channel alpha, beta and gamma subunits in the inner ear of the rat. *Eur J Neurosci* 2001; **13(4)**: 641-648.
194. Guan MX. Molecular pathogenetic mechanism of maternally inherited deafness. *Ann N Y Acad Sci* 2004; **1011**: 259-271.
195. Guan MX, Yan Q, Li X, Bykhovskaya Y, Gallo-Teran J, Hajek P, et al. Mutation in TRMU related to transfer RNA modification modulates the phenotypic expression of the deafness-associated mitochondrial 12S ribosomal RNA mutations. *Am J Hum Genet* 2006; **79(2)**: 291-302.
196. Guipponi M, Vuagniaux G, Wattenhofer M, Shibuya K, Vazquez M, Dougherty L, et al. The transmembrane serine protease (TMPRSS3) mutated in deafness DFNB8/10 activates the epithelial sodium channel (ENaC) in vitro. *Hum Mol Genet* 2002; **11(23)**: 2829-2836.
197. Gurtler N, Kim Y, Mhatre A, Schlegel C, Mathis A, Lalwani AK. DFNA54, a third locus for low-frequency hearing loss. *J Mol Med* 2004; **82(11)**: 775-780.
198. Hamelmann C, Amedofu GK, Albrecht K, Muntau B, Gelhaus A, Brobby GW, et al. Pattern of connexin 26 (GJB2) mutations causing sensorineural hearing impairment in Ghana. *Hum Mutat* 2001; **18(1)**: 84-85.
199. Hampton LL, Wright CG, Alagramam KN, Battey JF, Noben-Trauth K. A new spontaneous mutation in the mouse Ames waltzer gene, Pcdh15. *Hear Res* 2003; **180(1-2)**: 67-75.
200. Han D, Dai P, Zhu Q, Liu X, Huang D, Yuan Y, et al. The mitochondrial tRNA(Ala) T5628C variant may have a modifying role in the phenotypic manifestation of the 12S rRNA C1494T mutation in a large Chinese family with hearing loss. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; **357(2)**: 554-560.
201. Hashemzadeh Chaleshtori M, Simpson M, Farrokhi E, Dolati M, Hoghooghi Rad L, Amani Geshnigani S, et al. Novel mutations in the pejvakin gene are associated with autosomal recessive non-syndromic hearing loss in Iranian families. *Clin Genet* 2007; **72(3)**: 261-263.
202. Hasson T. Myosin VI: two distinct roles in endocytosis. *J Cell Sci* 2003; **116(Pt 17)**: 3453-3461.

203. Hasson T, Gillespie PG, Garcia JA, MacDonald RB, Zhao Y, Yee AG, et al. Unconventional myosins in inner-ear sensory epithelia. *J Cell Biol* 1997; **137**: 1287-1307.
204. Hayashi T, Cunningham D, Bermingham-McDonogh O. Loss of Fgfr3 leads to excess hair cell development in the mouse organ of Corti. *Dev Dyn* 2007; **236**(2): 525-533.
205. Haynes DS, Rutka J, Hawke M, Roland PS. Ototoxicity of ototopical drops-an update. *Otolaryngol Clin North Am* 2007; **40**(3): 669-683.
206. Hayward C, Livingstone J, Holloway S, Liston WA, Brock DJ. An exclusion map for pre-eclampsia: assuming autosomal recessive inheritance. *Am J Hum Genet* 1992; **50**(4): 749-757.
207. Heinonen-Guzejev M, Vuorinen HS, Mussalo-Rauhamaa H, Heikkila K, Koskenvuo M, Kaprio J. Genetic component of noise sensitivity. *Twin Res Hum Genet* 2005; **8**(3): 245-249.
208. Heinrich UR, Feltens R. Mechanisms underlying noise-induced hearing loss. *Drug Discov Today* 2006; **3**(1): 131-135.
209. Henderson D, Bielefeld EC, Harris KC, Hu BH. The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. *Ear Hear* 2006; **27**(1): 1-19.
210. Herak-Kramberger CM, Breton S, Brown D, Kraus O, Sabolic I. Distribution of the vacuolar H⁺ atpase along the rat and human male reproductive tract. *Biol Reprod* 2001; **64**(6): 1699-1707.
211. Hertzano R, Dror AA, Montcouquiol M, Ahmed ZM, Ellsworth B, Camper S, et al. Lhx3, a LIM domain transcription factor, is regulated by Pou4f3 in the auditory but not in the vestibular system. *Eur J Neurosci* 2007; **25**(4): 999-1005.
212. Hertzano R, Montcouquiol M, Rashi-Elkeles S, Elkon R, Yucel R, Frankel WN, et al. Transcription profiling of inner ears from Pou4f3(ddl/ddl) identifies Gfi1 as a target of the Pou4f3 deafness gene. *Hum Mol Genet* 2004; **13**(18): 2143-2153.
213. Higashi K. Otologic findings of DIDMOAD syndrome. *Am J Otol* 1991; **12**(1): 57-60.
214. Hodge T, Cope MJ. A myosin family tree. *J Cell Sci* 2000; **113 Pt 19**: 3353-3354.
215. Hofmann S, Philbrook C, Gerbitz KD, Bauer MF. Wolfram syndrome: structural and functional analyses of mutant and wild-type wolframin, the WFS1 gene product. *Hum Mol Genet* 2003; **12**(16): 2003-2012.

216. Holme RH, Kiernan BW, Brown SD, Steel KP. Elongation of hair cell stereocilia is defective in the mouse mutant whirler. *J Comp Neurol* 2002; **450(1)**: 94-102.
217. Holme RH, Steel KP. Stereocilia defects in waltzer (Cdh23), shaker1 (Myo7a) and double waltzer/shaker1 mutant mice. *Hear Res* 2002; **169(1-2)**: 13-23.
218. Holmes KC. The swinging lever-arm hypothesis of muscle contraction. *Curr Biol* 1997; **7(2)**: R112-118.
219. Hooper JD, Clements JA, Quigley JP, Antalis TM. Type II transmembrane serine proteases. Insights into an emerging class of cell surface proteolytic enzymes. *J Biol Chem* 2001; **276(2)**: 857-860.
220. Houseman MJ, Jackson AP, Al-Gazali LI, Badin RA, Roberts E, Mueller RF. A novel mutation in a family with non-syndromic sensorineural hearing loss that disrupts the newly characterised OTOF long isoforms. *J Med Genet* 2001; **38(8)**: e25.
221. Hudspeth AJ. How the ear's works work: mechano-electrical transduction and amplification by hair cells. *C R Biol* 2005; **328(2)**: 155-162.
222. Hulander M, Kiernan AE, Blomqvist SR, Carlsson P, Samuelsson EJ, Johansson BR, et al. Lack of pendrin expression leads to deafness and expansion of the endolymphatic compartment in inner ears of Foxi1 null mutant mice. *Development* 2003; **130(9)**: 2013-2025.
223. Hulander M, Wurst W, Carlsson P, Enerback S. The winged helix transcription factor Fkh10 is required for normal development of the inner ear. *Nat Genet* 1998; **20(4)**: 374-376.
224. Hume CR, Bratt DL, Oesterle EC. Expression of LHX3 and SOX2 during mouse inner ear development. *Gene Expr Patterns* 2007; **7(7)**: 798-807.
225. Hutchin TP, Parker MJ, Young ID, Davis AC, Pulleyn LJ, Deeble J, et al. A novel mutation in the mitochondrial tRNA(Ser(UCN)) gene in a family with non-syndromic sensorineural hearing impairment. *J Med Genet* 2000; **37(9)**: 692-694.
226. Ikenouchi J, Furuse M, Furuse K, Sasaki H, Tsukita S, Tsukita S. Tricellulin constitutes a novel barrier at tricellular contacts of epithelial cells. *J Cell Biol* 2005; **171(6)**: 939-945.
227. Ikezono T, Omori A, Ichinose S, Pawankar R, Watanabe A, Yagi T. Identification of the protein product of the Coch gene (hereditary deafness gene) as the major

- component of bovine inner ear protein. *Biochim Biophys Acta* 2001; **1535(3)**: 258-265.
228. Ikezono T, Shindo S, Li L, Omori A, Ichinose S, Watanabe A, et al. Identification of a novel Cochlin isoform in the perilymph: insights to Cochlin function and the pathogenesis of DFNA9. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; **314(2)**: 440-446.
229. Inoue H, Tanizawa Y, Wasson J, Behn P, Kalidas K, Bernal-Mizrachi E, et al. A gene encoding a transmembrane protein is mutated in patients with diabetes mellitus and optic atrophy (Wolfram syndrome). *Nat Genet* 1998; **20(2)**: 143-148.
230. Ishikawa H, Tamura A, Matsui T, Sasaki H, Hakoshima T, Tsukita S, et al. Structural conversion between open and closed forms of radixin: low-angle shadowing electron microscopy. *J Mol Biol* 2001; **310(5)**: 973-978.
231. Ishikawa S, Kobayashi I, Hamada J, Tada M, Hirai A, Furuuchi K, et al. Interaction of MCC2, a novel homologue of MCC tumor suppressor, with PDZ-domain Protein AIE-75. *Gene* 2001; **267(1)**: 101-110.
232. Izumikawa M, Minoda R, Kawamoto K, Abrashkin KA, Swiderski DL, Dolan DF, et al. Auditory hair cell replacement and hearing improvement by Atoh1 gene therapy in deaf mammals. *Nat Med* 2005; **11(3)**: 271-276.
233. Jacobs HT. Disorders of mitochondrial protein synthesis. *Hum Mol Genet* 2003; **12 Spec No 2**: R293-301.
234. Jain PK, Lalwani AK, Li XC, Singleton TL, Smith TN, Chen A, et al. A gene for recessive nonsyndromic sensorineural deafness (DFNB18) maps to the chromosomal region 11p14-p15.1 containing the Usher syndrome type 1C gene. *Genomics* 1998; **50(2)**: 290-292.
235. Jiang Z, Grichtchenko II, Boron WF, Aronson PS. Specificity of anion exchange mediated by mouse Slc26a6. *J Biol Chem* 2002; **277(37)**: 33963-33967.
236. Jin L, Yang A, Zhu Y, Zhao J, Wang X, Yang L, et al. Mitochondrial tRNA(Ser(UCN)) gene is the hot spot for mutations associated with aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; **361(1)**: 133-139.
237. Johnson KR, Gagnon LH, Webb LS, Peters LL, Hawes NL, Chang B, et al. Mouse models of USH1C and DFNB18: phenotypic and molecular analyses of two new spontaneous mutations of the Ush1c gene. *Hum Mol Genet* 2003; **12(23)**: 3075-3086.

238. Johnston AM, Naselli G, Niwa H, Brodnicki T, Harrison LC, Gonez LJ. Harp (harmonin-interacting, ankyrin repeat-containing protein), a novel protein that interacts with harmonin in epithelial tissues. *Genes Cells* 2004; **9(10)**: 967-982.
239. Joshua B, Kaplan DM, Raveh E, Lotan D, Anikster Y. Audiometric and imaging characteristics of distal renal tubular acidosis and deafness. *J Laryngol Otol* 2008; **122(2)**: 193-198.
240. Jovine L, Park J, Wassarman PM. Sequence similarity between stereocilin and otoancorin points to a unified mechanism for mechanotransduction in the mammalian inner ear. *BMC Cell Biol* 2002; **3**: 28.
241. Jovine L, Qi H, Williams Z, Litscher E, Wassarman PM. The ZP domain is a conserved module for polymerization of extracellular proteins. *Nat Cell Biol* 2002; **4(6)**: 457-461.
242. Jung TT, Llaurodo RJ, Nam BH, Park SK, Kim PD, John EO. Effects of nitric oxide on morphology of isolated cochlear outer hair cells: possible involvement in sensorineural hearing loss. *Otol Neurotol* 2003; **24(4)**: 682-685.
243. Kalay E, Caylan R, Kremer H, de Brouwer AP, Karaguzel A. GJB2 mutations in Turkish patients with ARNSHL: prevalence and two novel mutations. *Hear Res* 2005; **203(1-2)**: 88-93.
244. Kalay E, Karaguzel A, Caylan R, Heister A, Cremers FP, Cremers CW, et al. Four novel TMC1 (DFNB7/DFNB11) mutations in Turkish patients with congenital autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *Hum Mutat* 2005; **26(6)**: 591.
245. Kalay E, Li Y, Uzumcu A, Uyguner O, Collin RW, Caylan R, et al. Mutations in the lipoma HMGIC fusion partner-like 5 (LHFPL5) gene cause autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *Hum Mutat* 2006; **27(7)**: 633-639.
246. Kalay E, Uzumcu A, Krieger E, Caylan R, Uyguner O, Ulubil-Emiroglu M, et al. MYO15A (DFNB3) mutations in Turkish hearing loss families and functional modeling of a novel motor domain mutation. *Am J Med Genet A* 2007; **143(20)**: 2382-2389.
247. Kambara T, Komaba S, Ikebe M. Human myosin III is a motor having an extremely high affinity for actin. *J Biol Chem* 2006; **281(49)**: 37291-37301.
248. Kamiya K, Fujinami Y, Hoya N, Okamoto Y, Kouike H, Komatsuzaki R, et al. Mesenchymal stem cell transplantation accelerates hearing recovery through the repair of injured cochlear fibrocytes. *Am J Pathol* 2007; **171(1)**: 214-226.

249. Kammen-Jolly K, Ichiki H, Scholtz AW, Gsenger M, Kreczy A, Schrott-Fischer A. Connexin 26 in human fetal development of the inner ear. *Hear Res* 2001; **160(1-2)**: 15-21.
250. Kanno T, Sato EE, Muranaka S, Fujita H, Fujiwara T, Utsumi T, et al. Oxidative stress underlies the mechanism for Ca(2+)-induced permeability transition of mitochondria. *Free Radic Res* 2004; **38(1)**: 27-35.
251. Kanzaki S, Beyer L, Karolyi IJ, Dolan DF, Fang Q, Probst FJ, et al. Transgene correction maintains normal cochlear structure and function in 6-month-old Myo15a mutant mice. *Hear Res* 2006; **214(1-2)**: 37-44.
252. Kanzaki S, Beyer LA, Swiderski DL, Izumikawa M, Stover T, Kawamoto K, et al. p27(Kip1) deficiency causes organ of Corti pathology and hearing loss. *Hear Res* 2006; **214(1-2)**: 28-36.
253. Kappler JA, Starr CJ, Chan DK, Kollmar R, Hudspeth AJ. A nonsense mutation in the gene encoding a zebrafish myosin VI isoform causes defects in hair-cell mechanotransduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101(35)**: 13056-13061.
254. Karasik A, O'Hara C, Srikanta S, Swift M, Soeldner JS, Kahn CR, et al. Genetically programmed selective islet beta-cell loss in diabetic subjects with Wolfram's syndrome. *Diabetes Care* 1989; **12(2)**: 135-138.
255. Karet FE, Finberg KE, Nelson RD, Nayir A, Mocan H, Sanjad SA, et al. Mutations in the gene encoding B1 subunit of H⁺-ATPase cause renal tubular acidosis with sensorineural deafness. *Nat Genet* 1999; **21(1)**: 84-90.
256. Karniski LP. Functional expression and cellular distribution of diastrophic dysplasia sulfate transporter (DTDST) gene mutations in HEK cells. *Hum Mol Genet* 2004; **13(19)**: 2165-2171.
257. Keithley EM, Erkman L, Bennett T, Lou L, Ryan AF. Effects of a hair cell transcription factor, Brn-3.1, gene deletion on homozygous and heterozygous mouse cochleas in adulthood and aging. *Hear Res* 1999; **134(1-2)**: 71-76.
258. Kelley MW. Hair cell development: commitment through differentiation. *Brain Res* 2006; **1091(1)**: 172-185.
259. Kendrick-Jones J, Hodge TP, Lister IMB, Roberts RC, Buss F. *Myosin superfamily*. (internet). Erişim 27.12.2007, <http://www.mrc-lmb.cam.ac.uk/myosin/Review/Reviewframeset.html>.
260. Kenna MA. Neonatal hearing screening. *Pediatr Clin N Am* 2003; **50**: 301-313.

261. Kenneson A, Van Naarden Braun K, Boyle C. GJB2 (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: a HuGE review. *Genet Med* 2002; **4(4)**: 258-274.
262. Keresztes G, Mutai H, Heller S. TMC and EVER genes belong to a larger novel family, the TMC gene family encoding transmembrane proteins. *BMC Genomics* 2003; **4(1)**: 24.
263. Khaitlina SY. Functional specificity of actin isoforms. *Int Rev Cytology* 2001; **202**: 35-98.
264. Khan SY, Ahmed ZM, Shabbir MI, Kitajiri S, Kalsoom S, Tasneem S, et al. Mutations of the RDX gene cause nonsyndromic hearing loss at the DFNB24 locus. *Hum Mutat* 2007; **28(5)**: 417-423.
265. Khanim F, Kirk J, Latif F, Barrett TG. WFS1/wolframin mutations, Wolfram syndrome, and associated diseases. *Hum Mutat* 2001; **17(5)**: 357-367.
266. Kharkovets T, Dedek K, Maier H, Schweizer M, Khimich D, Nouvian R, et al. Mice with altered KCNQ4 K⁺ channels implicate sensory outer hair cells in human progressive deafness. *EMBO J* 2006; **25(3)**: 642-652.
267. Kharkovets T, Hardelin JP, Safieddine S, Schweizer M, El-Amraoui A, Petit C, et al. KCNQ4, a K⁺ channel mutated in a form of dominant deafness, is expressed in the inner ear and the central auditory pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97(8)**: 4333-4338.
268. Khetarpal U, Schuknecht HF, Gacek RR, Holmes LB. Pedigrees, audiologic findings, and temporal bone findings in two kindreds. Autosomal dominant sensorineural hearing loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991; **117(9)**: 1032-1042.
269. Kikkawa Y, Mburu P, Morse S, Kominami R, Townsend S, Brown SD. Mutant analysis reveals whirlin as a dynamic organizer in the growing hair cell stereocilium. *Hum Mol Genet* 2005; **14(3)**: 391-400.
270. Kikkawa Y, Shitara H, Wakana S, Kohara Y, Takada T, Okamoto M, et al. Mutations in a new scaffold protein Sans cause deafness in Jackson shaker mice. *Hum Mol Genet* 2003; **12(5)**: 453-461.
271. Kikuchi T, Adams JC, Miyabe Y, So E, Kobayashi T. Potassium ion recycling pathway via gap junction systems in the mammalian cochlea and its interruption in hereditary nonsyndromic deafness. *Med Electron Microsc* 2000; **33(2)**: 51-56.

272. Kikuchi T, Kimura RS, Paul DL, Takasaka T, Adams JC. Gap junction systems in the mammalian cochlea. *Brain Res Brain Res Rev* 2000; **32(1)**: 163-166.
273. Kim HJ, So HS, Lee JH, Lee JH, Park C, Park SY, et al. Heme oxygenase-1 attenuates the cisplatin-induced apoptosis of auditory cells via down-regulation of reactive oxygen species generation. *Free Radic Biol Med* 2006; **40(10)**: 1810-1819.
274. Kirschhofer K, Kenyon JB, Hoover DM, Franz P, Weipoltshammer K, Wachtler F, et al. Autosomal-dominant, prelingual, nonprogressive sensorineural hearing loss: localization of the gene (DFNA8) to chromosome 11q by linkage in an Austrian family. *Cytogenet Cell Genet* 1998; **82(1-2)**: 126-130.
275. Kitajiri S, Fukumoto K, Hata M, Sasaki H, Katsuno T, Nakagawa T, et al. Radixin deficiency causes deafness associated with progressive degeneration of cochlear stereocilia. *J Cell Biol* 2004; **166(4)**: 559-570.
276. Kitajiri S, Furuse M, Morita K, Saishin-Kiuchi Y, Kido H, Ito J, et al. Expression patterns of claudins, tight junction adhesion molecules, in the inner ear. *Hear Res* 2004; **187(1-2)**: 25-34.
277. Kivirikko KI. Collagens and their abnormalities in a wide spectrum of diseases. *Ann Med* 1993; **25(2)**: 113-126.
278. Knoll C, Smith RJ, Shores C, Blatt J. Hearing genes and cisplatin deafness: a pilot study. *Laryngoscope* 2006; **116(1)**: 72-74.
279. Konig O, Winter E, Fuchs J, Haupt H, Mazurek B, Weber N, et al. Protective effect of magnesium and MK 801 on hypoxia-induced hair cell loss in new-born rat cochlea. *Magnes Res* 2003; **16(2)**: 98-105.
280. Konings A, Van Laer L, Pawelczyk M, Carlsson PI, Bondeson ML, Rajkowska E, et al. Association between variations in CAT and noise-induced hearing loss in two independent noise-exposed populations. *Hum Mol Genet* 2007; **16(15)**: 1872-1883.
281. Kopke RD, Jackson RL, Coleman JK, Liu J, Bielefeld EC, Balough BJ. NAC for noise: from the bench top to the clinic. *Hear Res* 2007; **226(1-2)**: 114-125.
282. Kremer H, van Wijk E, Marker T, Wolfrum U, Roepman R. Usher syndrome: molecular links of pathogenesis, proteins and pathways. *Hum Mol Genet* 2006; **15 Review issue No 2**: R262-270.

283. Kros CJ, Marcotti W, van Netten SM, Self TJ, Libby RT, Brown SD, et al. Reduced climbing and increased slipping adaptation in cochlear hair cells of mice with *Myo7a* mutations. *Nat Neurosci* 2002; **5(1)**: 41-47.
284. Kubisch C, Schroeder BC, Friedrich T, Lutjohann B, El-Amraoui A, Marlin S, et al. KCNQ4, a novel potassium channel expressed in sensory outer hair cells, is mutated in dominant deafness. *Cell* 1999; **96(3)**: 437-446.
285. Kudo T, Kure S, Ikeda K, Xia AP, Katori Y, Suzuki M, et al. Transgenic expression of a dominant-negative connexin26 causes degeneration of the organ of Corti and non-syndromic deafness. *Hum Mol Genet* 2003; **12(9)**: 995-1004.
286. Kunst H, Marres H, Huygen P, van Duijnhoven G, Krebsova A, van der Velde S, et al. Non-syndromic autosomal dominant progressive non-specific mid-frequency sensorineural hearing impairment with childhood to late adolescence onset (DFNA21). *Clin Otolaryngol Allied Sci* 2000; **25(1)**: 45-54.
287. Kupka S, Toth T, Wrobel M, Zeissler U, Szyfter W, Szyfter K, et al. Mutation A1555G in the 12S rRNA gene and its epidemiological importance in German, Hungarian, and Polish patients. *Hum Mutat* 2002; **19(3)**: 308-309.
288. Kuppermann N, Fleisher GR, Jaffe DM. Predictors of occult pneumococcal bacteremia in young febrile children. *Ann Emerg Med* 1998; **31(6)**: 679-687.
289. Kurima K, Peters LM, Yang Y, Riazuddin S, Ahmed ZM, Naz S, et al. Dominant and recessive deafness caused by mutations of a novel gene, TMC1, required for cochlear hair-cell function. *Nat Genet* 2002; **30(3)**: 277-284.
290. Kurima K, Yang Y, Sorber K, Griffith AJ. Characterization of the transmembrane channel-like (TMC) gene family: functional clues from hearing loss and epidermodysplasia verruciformis. *Genomics* 2003; **82(3)**: 300-308.
291. Kuriyan J, Cowburn D. Modular peptide recognition domains in eukaryotic signaling. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1997; **26**: 259-288.
292. Kussel-Andermann P, El-Amraoui A, Safieddine S, Nouaille S, Perfettini I, Lecuit M, et al. Vezatin, a novel transmembrane protein, bridges myosin VIIA to the cadherin-catenins complex. *EMBO J* 2000; **19(22)**: 6020-6029.
293. Kuzmiak HA, Maquat LE. Applying nonsense-mediated mRNA decay research to the clinic: progress and challenges. *Trends Mol Med* 2006; **12(7)**: 306-316.

294. Lagziel A, Ahmed ZM, Schultz JM, Morell RJ, Belyantseva IA, Friedman TB. Spatiotemporal pattern and isoforms of cadherin 23 in wild type and waltzer mice during inner ear hair cell development. *Dev Biol* 2005; **280(2)**: 295-306.
295. Lalwani AK, Goldstein JA, Kelley MJ, Luxford W, Castelein CM, Mhatre AN. Human nonsyndromic hereditary deafness DFNA17 is due to a mutation in nonmuscle myosin MYH9. *Am J Hum Genet* 2000; **67(5)**: 1121-1128.
296. Lalwani AK, Linthicum FH, Wilcox ER, Moore JK, Walters FC, San Agustin TB, et al. A five-generation family with late-onset progressive hereditary hearing impairment due to cochleosaccular degeneration. *Audiol Neurootol* 1997; **2(3)**: 139-154.
297. Lathrop GM, Lalouel JM. Easy calculations of lod scores and genetic risks on small computers. *Am J Hum Genet* 1984; **36(2)**: 460-465.
298. Lautermann J, Frank HG, Jahnke K, Traub O, Winterhager E. Developmental expression patterns of connexin26 and -30 in the rat cochlea. *Dev Genet* 1999; **25(4)**: 306-311.
299. Lautermann J, ten Cate WJ, Altenhoff P, Grummer R, Traub O, Frank H, et al. Expression of the gap-junction connexins 26 and 30 in the rat cochlea. *Cell Tissue Res* 1998; **294(3)**: 415-420.
300. Le Prell CG, Yamashita D, Minami SB, Yamasoba T, Miller JM. Mechanisms of noise-induced hearing loss indicate multiple methods of prevention. *Hear Res* 2007; **226(1-2)**: 22-43.
301. Leal A, Ende S, Stengel C, Huehne K, Loetterle J, Barrantes R, et al. A novel myosin heavy chain gene in human chromosome 19q13.3. *Gene* 2003; **312**: 165-171.
302. Lefebvre PP, Malgrange B, Lallemand F, Staecker H, Moonen G, Van De Water TR. Mechanisms of cell death in the injured auditory system: otoprotective strategies. *Audiol Neurootol* 2002; **7(3)**: 165-170.
303. Legan PK, Lukashkina VA, Goodyear RJ, Kossl M, Russell IJ, Richardson GP. A targeted deletion in alpha-tectorin reveals that the tectorial membrane is required for the gain and timing of cochlear feedback. *Neuron* 2000; **28**: 273-285.
304. Legan PK, Lukashkina VA, Goodyear RJ, Lukashkin AN, Verhoeven K, Van Camp G, et al. A deafness mutation isolates a second role for the tectorial membrane in hearing. *Nat Neurosci* 2005; **8(8)**: 1035-1042.

305. Legan PK, Rau A, Keen JN, Richardson GP. The mouse tectorins. Modular matrix proteins of the inner ear homologous to components of the sperm-egg adhesion system. *J Biol Chem* 1997; **272(13)**: 8791-801.
306. Leon PE, Raventos H, Lynch E, Morrow J, King MC. The gene for an inherited form of deafness maps to chromosome 5q31. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; **89(11)**: 5181-5184.
307. Lerer I, Sagi M, Ben-Neriah Z, Wang T, Levi H, Abeliovich D. A deletion mutation in GJB6 cooperating with a GJB2 mutation in trans in non-syndromic deafness: A novel founder mutation in Ashkenazi Jews. *Hum Mutat* 2001; **18(5)**: 460.
308. Les Erickson F, Corsa AC, Dose AC, Burnside B. Localization of a class III myosin to filopodia tips in transfected HeLa cells requires an actin-binding site in its tail domain. *Mol Biol Cell* 2003; **14(10)**: 4173-4180.
309. Lesniak W, Pecoraro VL, Schacht J. Ternary complexes of gentamicin with iron and lipid catalyze formation of reactive oxygen species. *Chem Res Toxicol* 2005; **18(2)**: 357-364.
310. Leveque M, Marlin S, Jonard L, Procaccio V, Reynier P, Amati-Bonneau P, et al. Whole mitochondrial genome screening in maternally inherited non-syndromic hearing impairment using a microarray resequencing mitochondrial DNA chip. *Eur J Hum Genet* 2007; **15(11)**: 1145-1155.
311. Lezirovitz K, Pardon E, de Mello Auricchio MT, de Carvalho E, Silva FL, Lopes JJ, et al. Unexpected genetic heterogeneity in a large consanguineous Brazilian pedigree presenting deafness. *Eur J Hum Genet* 2008; **16(1)**: 89-96.
312. Li H, Liu H, Balt S, Mann S, Corrales CE, Heller S. Correlation of expression of the actin filament-bundling protein espin with stereociliary bundle formation in the developing inner ear. *J Comp Neurol* 2004; **468(1)**: 125-134.
313. Li HS, Montell C. TRP and the PDZ protein, INAD, form the core complex required for retention of the signalplex in *Drosophila* photoreceptor cells. *J Cell Biol* 2000; **150(6)**: 1411-1422.
314. Li X, Guan MX. A human mitochondrial GTP binding protein related to tRNA modification may modulate phenotypic expression of the deafness-associated mitochondrial 12S rRNA mutation. *Mol Cell Biol* 2002; **22(21)**: 7701-7711.

315. Li X, Li R, Lin X, Guan MX. Isolation and characterization of the putative nuclear modifier gene MTO1 involved in the pathogenesis of deafness-associated mitochondrial 12 S rRNA A1555G mutation. *J Biol Chem* 2002; **277(30)**: 27256-27264.
316. Li XC, Everett LA, Lalwani AK, Desmukh D, Friedman TB, Green ED, et al. A mutation in PDS causes non-syndromic recessive deafness. *Nature Genet* 1998; **18(3)**: 215-217.
317. Li Z, Li R, Chen J, Liao Z, Zhu Y, Qian Y, et al. Mutational analysis of the mitochondrial 12S rRNA gene in Chinese pediatric subjects with aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss. *Hum Genet* 2005; **117(1)**: 9-15.
318. Liang Y, Wang A, Belyantseva IA, Anderson DW, Probst FJ, Barber TD, et al. Characterization of the human and mouse unconventional myosin XV genes responsible for hereditary deafness DFNB3 and shaker 2. *Genomics* 1999; **61(3)**: 243-258.
319. Liberman MC, Gao J, He DZ, Wu X, Jia S, Zuo J. Prestin is required for electromotility of the outer hair cell and for the cochlear amplifier. *Nature* 2002; **419(6904)**: 300-304.
320. Liburd N, Ghosh M, Riazuddin S, Naz S, Khan S, Ahmed Z, et al. Novel mutations of MYO15A associated with profound deafness in consanguineous families and moderately severe hearing loss in a patient with Smith-Magenis syndrome. *Hum Genet* 2001; **109(5)**: 535-541.
321. Liepinsh E, Trexler M, Kaikkonen A, Weigelt J, Banyai L, Patthy L, et al. NMR structure of the LCCL domain and implications for DFNA9 deafness disorder. *EMBO J* 2001; **20(19)**: 5347-5353.
322. Liu XZ, Ouyang XM, Xia XJ, Zheng J, Pandya A, Li F, et al. Prestin, a cochlear motor protein, is defective in non-syndromic hearing loss. *Hum Mol Genet* 2003; **12(10)**: 1155-1162.
323. Liu XZ, Walsh J, Mburu P, Kendrick-Jones J, Cope MJ, Steel KP, et al. Mutations in the myosin VIIA gene cause non-syndromic recessive deafness. *Nat Genet* 1997; **16(2)**: 188-190.
324. Liu XZ, Xia XJ, Ke XM, Ouyang XM, Du LL, Liu YH, et al. The prevalence of connexin 26 (GJB2) mutations in the Chinese population. *Hum Genet* 2002; **111(4-5)**: 394-397.

325. Liu XZ, Xia XJ, Xu LR, Pandya A, Liang CY, Blanton SH, et al. Mutations in connexin31 underlie recessive as well as dominant non-syndromic hearing loss. *Hum Mol Genet* 2000; **9(1)**: 63-67.
326. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell JE. *Molecular Cell Biology*. 4th ed. New York: WH Freeman & Co; 2000.
327. Longo-Guess CM, Gagnon LH, Cook SA, Wu J, Zheng QY, Johnson KR. A missense mutation in the previously undescribed gene *Tmhs* underlies deafness in hurry-scurry (*hscy*) mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102(22)**: 7894-7899.
328. Loomis PA, Kelly AE, Zheng L, Changyaleket B, Sekerkova G, Mugnaini E, et al. Targeted wild-type and jerker espins reveal a novel, WH2-domain-dependent way to make actin bundles in cells. *J Cell Sci* 2006; **119(Pt 8)**: 1655-1665.
329. Loomis PA, Zheng L, Sekerkova G, Changyaleket B, Mugnaini E, Bartles JR. Espin cross-links cause the elongation of microvillus-type parallel actin bundles in vivo. *J Cell Biol* 2003; **163(5)**: 1045-1055.
330. Lopez-Bigas N, Arbones ML, Estivill X, Simonneau L. Expression profiles of the connexin genes, *Gjb1* and *Gjb3*, in the developing mouse cochlea. *Mech Dev* 2002; **119 Suppl 1**: S111-115.
331. Lopez-Bigas N, Olive M, Rabionet R, Ben-David O, Martinez-Matos JA, Bravo O, et al. Connexin 31 (*GJB3*) is expressed in the peripheral and auditory nerves and causes neuropathy and hearing impairment. *Hum Mol Genet* 2001; **10(9)**: 947-952.
332. Lopez-Bigas N, Rabionet R, de Cid R, Govea N, Gasparini P, Zelante L, et al. Splice-site mutation in the *PDS* gene may result in intrafamilial variability for deafness in Pendred syndrome. *Hum Mutat* 1999; **14(6)**: 520-526.
333. Loundon N, Marcolla A, Roux I, Rouillon I, Denoyelle F, Feldmann D, et al. Auditory neuropathy or endocochlear hearing loss? *Otol Neurotol* 2005; **26(4)**: 748-754.
334. Lupas A. Coiled coils: new structures and new functions. *Trends Biochem Sci* 1996; **21(10)**: 375-382.
335. Lynch DR, Guttman RP. Excitotoxicity: perspectives based on N-methyl-D-aspartate receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; **300(3)**: 717-723.

336. Lynch ED, Lee MK, Morrow JE, Welcsh PL, Leon PE, King MC. Nonsyndromic deafness DFNA1 associated with mutation of a human homolog of the Drosophila gene diaphanous. *Science* 1997; **278(5341)**: 1315-1318.
337. Mackler JM, Drummond JA, Loewen CA, Robinson IM, Reist NE. The C(2)B Ca(2+)-binding motif of synaptotagmin is required for synaptic transmission in vivo. *Nature* 2002; **418(6895)**: 340-344.
338. Macrae JH. Permanent threshold shift associated with overamplification by hearing aids. *J Speech Hear Res* 1991; **34(2)**: 403-414.
339. Madara JL. Regulation of the movement of solutes across tight junctions. *Annu Rev Physiol* 1998; **60**: 143-159.
340. Madden C, Rutter M, Hilbert L, Greinwald JH Jr, Choo DI. Clinical and audiological features in auditory neuropathy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; **128(9)**: 1026-1030.
341. Makishima T, Rodriguez CI, Robertson NG, Morton CC, Stewart CL, Griffith AJ. Targeted disruption of mouse Coch provides functional evidence that DFNA9 hearing loss is not a COCH haploinsufficiency disorder. *Hum Genet* 2005; **118(1)**: 29-34.
342. Malik SG, Pieter N, Sudoyo H, Kadir A, Marzuki S. Prevalence of the mitochondrial DNA A1555G mutation in sensorineural deafness patients in island Southeast Asia. *J Hum Genet* 2003; **48(9)**: 480-483.
343. Manolis EN, Yandavi N, Nadol JB, Eavey RD, McKenna M, Rosenbaum S, et al. A gene for non-syndromic autosomal dominant progressive postlingual sensorineural hearing loss maps to chromosome 14q12-13. *Hum Mol Genet* 1996; **5(7)**: 1047-1050.
344. Marcotti W, Kros CJ. Developmental expression of the potassium current IK_n contributes to maturation of mouse outer hair cells. *J Physiol* 1999; **520 Pt 3**: 653-660.
345. Marcus DC, Wu T, Wangemann P, Kofuji P. KCNJ10 (Kir4.1) potassium channel knockout abolishes endocochlear potential. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; **282(2)**: C403-407.
346. Marlin S, Feldmann D, Blons H, Loundon N, Rouillon I, Albert S, et al. GJB2 and GJB6 mutations: genotypic and phenotypic correlations in a large cohort of

- hearing-impaired patients. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2005; **131(6)**: 481-487.
347. Martinez-Monedero R, Oshima K, Heller S, Edge AS. The potential role of endogenous stem cells in regeneration of the inner ear. *Hear Res* 2007; **227(1-2)**: 48-52.
348. Masmoudi S, Charfedine I, Hmani M, Grati M, Ghorbel AM, Elgaied-Boulila A, et al. Pendred syndrome: phenotypic variability in two families carrying the same PDS missense mutation. *Am J Med Genet* 2000; **90(1)**: 38-44.
349. Masmoudi S, Elgaied-Boulila A, Kassab I, Ben Arab S, Blanchard S, Bouzouita JE, et al. Determination of the frequency of connexin26 mutations in inherited sensorineural deafness and carrier rates in the Tunisian population using DGGE. *J Med Genet* 2000; **37(11)**: e39.
350. Mathur NN, Roland PS. *Inner Ear, Noise-Induced Hearing Loss* (internet), 02.05.2007. Erişim 08.12.2007, eMedicine: <http://www.emedicine.com/ent/topic723.htm>.
351. Matter K, Balda MS. Signalling to and from tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; **4(3)**: 225-236.
352. Mburu P, Kikkawa Y, Townsend S, Romero R, Yonekawa H, Brown SD. Whirlin complexes with p55 at the stereocilia tip during hair cell development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; **103(29)**: 10973-10978.
353. Mburu P, Liu XZ, Walsh J, Saw D Jr, Cope MJ, Gibson F, et al. Mutation analysis of the mouse myosin VIIA deafness gene. *Genes Funct* 1997; **1(3)**: 191-203.
354. Mburu P, Mustapha M, Varela A, Weil D, El-Amraoui A, Holme RH, et al. Defects in whirlin, a PDZ domain molecule involved in stereocilia elongation, cause deafness in the whirler mouse and families with DFNB31. *Nat Genet* 2003; **34(4)**: 421-428.
355. McGuirt WT, Prasad SD, Griffith AJ, Kunst HP, Green GE, Shpargel KB, et al. Mutations in COL11A2 cause non-syndromic hearing loss (DFNA13). *Nat Genet* 1999; **23(4)**: 413-419.
356. McHugh RK, Friedman RA. Genetics of hearing loss: Allelism and modifier genes produce a phenotypic continuum. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2006; **288(4)**: 370-381.

357. MEB. *İşitme Engellilerin Eğitiminde Öğretmen El Kitabı*. Ankara: Milli Eğitim Bakanlığı (internette). Erişim 30.11.2007, <http://orgm.meb.gov.tr/yayinlar/isitmeengelliler/01kapak.htm>.
358. Melchionda S, Ahituv N, Bisceglia L, Sobe T, Glaser F, Rabionet R, et al. MYO6, the human homologue of the gene responsible for deafness in Snell'swaltzer mice, is mutated in autosomal dominant nonsyndromic hearing loss. *Am J Hum Genet* 2001; **69(3)**: 635-640.
359. Merchant SN, Linthicum FH, Nadol JB Jr. Histopathology of the inner ear in DFNA9. *Adv Otorhinolaryngol* 2000; **56**: 212-217.
360. Mermall V, Post PL, Mooseker MS. Unconventional myosins in cell movement, membrane traffic, and signal transduction. *Science* 1998; **279(5350)**: 527-533.
361. Mhatre AN, Li J, Kim Y, Coling DE, Lalwani AK. Cloning and developmental expression of nonmuscle myosin IIA (Myh9) in the mammalian inner ear. *J Neurosci Res* 2004; **76(3)**: 296-305.
362. Mhatre AN, Li Y, Atkin G, Maghnouj A, Lalwani AK. Expression of Myh9 in the mammalian cochlea: localization within the stereocilia. *J Neurosci Res* 2006; **84(4)**: 809-818.
363. Michalski N, Michel V, Bahloul A, Lefevre G, Barral J, Yagi H, et al. Molecular characterization of the ankle-link complex in cochlear hair cells and its role in the hair bundle functioning. *J Neurosci* 2007; **27(24)**: 6478-6488.
364. Michel V, Goodyear RJ, Weil D, Marcotti W, Perfettini I, Wolfrum U, et al. Cadherin 23 is a component of the transient lateral links in the developing hair bundles of cochlear sensory cells. *Dev Biol* 2005; **280(2)**: 281-294.
365. Migliosi V, Modamio-Hoybjor S, Moreno-Pelayo MA, Rodriguez-Ballesteros M, Villamar M, Telleria D, et al. Q829X, a novel mutation in the gene encoding otoferlin (OTOF), is frequently found in Spanish patients with prelingual non-syndromic hearing loss. *J Med Genet* 2002; **39(7)**: 502-506.
366. Minowa O, Ikeda K, Sugitani Y, Oshima T, Nakai S, Katori Y, et al. Altered cochlear fibrocytes in a mouse model of DFN3 nonsyndromic deafness. *Science* 1999; **285(5432)**: 1408-1411.
367. Mirghomizadeh F, Bardtke B, Devoto M, Pfister M, Oeken J, König E, et al. Second family with hearing impairment linked to 19q13 and refined DFNA4 localisation. *Eur J Hum Genet* 2002; **10(2)**: 95-99.

368. Mirghomizadeh F, Pfister M, Apaydin F, Petit C, Kupka S, Pusch CM, et al. Substitutions in the conserved C2C domain of otoferlin cause DFNB9, a form of nonsyndromic autosomal recessive deafness. *Neurobiol Dis* 2002; **10(2)**: 157-164.
369. Mitchem KL, Hibbard E, Beyer LA, Bosom K, Dootz GA, Dolan DF, et al. Mutation of the novel gene *Tmie* results in sensory cell defects in the inner ear of spinner, a mouse model of human hearing loss DFNB6. *Hum Mol Genet* 2002; **11(16)**: 1887-1898.
370. Modamio-Hoybjor S, Mencia A, Goodyear R, del Castillo I, Richardson G, Moreno F, et al. A mutation in *CCDC50*, a gene encoding an effector of epidermal growth factor-mediated cell signaling, causes progressive hearing loss. *Am J Hum Genet* 2007; **80(6)**: 1076-1089.
371. Modamio-Hoybjor S, Moreno-Pelayo MA, Mencia A, del Castillo I, Chardenoux S, Armenta D, et al. A novel locus for autosomal dominant nonsyndromic hearing loss (DFNA44) maps to chromosome 3q28-29. *Hum Genet* 2003; **112(1)**: 24-28.
372. Mohiddin SA, Ahmed ZM, Griffith AJ, Tripodi D, Friedman TB, Fananapazir L, et al. Novel association of hypertrophic cardiomyopathy, sensorineural deafness, and a mutation in unconventional myosin VI (*MYO6*). *J Med Genet* 2004; **41(4)**: 309-314.
373. Momiyama J, Hashimoto T, Matsubara A, Futai K, Namba A, Shinkawa H. Leupeptin, a calpain inhibitor, protects inner ear hair cells from aminoglycoside ototoxicity. *Tohoku J Exp Med* 2006; **209(2)**: 89-97.
374. Montell C. Physiology, phylogeny, and functions of the TRP superfamily of cation channels. *Sci STKE* 2001; **2001(90)**: RE1.
375. Mooseker MS, Cheney RE. Unconventional myosins. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1995; **11**: 633-675.
376. Morell RJ, Kim HJ, Hood LJ, Goforth L, Friderici K, Fisher R, et al. Mutations in the connexin 26 gene (*GJB2*) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness. *N Engl J Med* 1998; **339(21)**: 1500-1505.
377. Morita Y, Hirokawa S, Kikkawa Y, Nomura T, Yonekawa H, Shiroishi T, et al. Fine mapping of *Ahl3* affecting both age-related and noise-induced hearing loss. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; **355(1)**: 117-121.
378. Morton NE. Genetic epidemiology of hearing impairment. *Ann N Y Acad Sci* 1991; **630**: 16-31.

379. Morzaria S, Westerberg BD, Kozak FK. Systematic review of the etiology of bilateral sensorineural hearing loss in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2004; **68(9)**: 1193-1198.
380. Moser T, Brandt A, Lysakowski A. Hair cell ribbon synapses. *Cell Tissue Res* 2006; **326(2)**: 347-359.
381. Mount DB, Romero MF. The SLC26 gene family of multifunctional anion exchangers. *Pflugers Arch* 2004; **447(5)**: 710-721.
382. Mullin G, Campbell KCM. *Audiology, Pure-Tone Testing* (internet), 06.10.2006. Erişim 10.12.2007, eMedicine: <http://www.emedicine.com/ent/topic311.htm>.
383. Munroe PB, Olgunturk RO, Fryns JP, Van Maldergem L, Ziereisen F, Yuksel B, et al. Mutations in the gene encoding the human matrix Gla protein cause Keutel syndrome. *Nat Genet* 1999; **21(1)**: 142-144.
384. Murcia CL, Woychik RP. Expression of Pcdh15 in the inner ear, nervous system and various epithelia of the developing embryo. *Mech Dev* 2001; **105(1-2)**: 163-166.
385. Mustapha M, Chardenoux S, Nieder A, Salem N, Weissenbach J, el-Zir E, et al. A sensorineural progressive autosomal recessive form of isolated deafness, DFNB13, maps to chromosome 7q34-q36. *Eur J Hum Genet* 1998; **6(3)**: 245-250.
386. Mustapha M, Chouery E, Chardenoux S, Naboulsi M, Paronnaud J, Lemainque A, et al. DFNB31, a recessive form of sensorineural hearing loss, maps to chromosome 9q32-34. *Eur J Hum Genet* 2002; **10(3)**: 210-212.
387. Mustapha M, Weil D, Chardenoux S, Elias S, El-Zir E, Beckmann JS, et al. An alpha-tectorin gene defect causes a newly identified autosomal recessive form of sensorineural pre-lingual non-syndromic deafness, DFNB21. *Hum Mol Genet* 1999; **8(3)**: 409-412.
388. Myllyharju J, Kivirikko KI. Collagens and collagen-related diseases. *Ann Med* 2001; **33(1)**: 7-21.
389. Najmabadi H, Cucci RA, Sahebjam S, Kouchakian N, Farhadi M, Kahrizi K, et al. GJB2 mutations in Iranians with autosomal recessive non-syndromic sensorineural hearing loss. *Hum Mutat* 2002; **19(5)**: 572.
390. Nakashima T, Teranishi M, Hibi T, Kobayashi M, Umemura M. Vestibular and cochlear toxicity of aminoglycosides-a review. *Acta Otolaryngol* 2000; **120(8)**: 904-911.

391. Nal N, Ahmed ZM, Erkal E, Alper OM, Lüleci G, Dinc O, et al. Mutational spectrum of MYO15A: the large N-terminal extension of myosin XVA is required for hearing. *Hum Mutat* 2007; **28(10)**: 1014-1019.
392. Nance WE. The genetics of deafness. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2003; **9(2)**: 109-119.
393. Nance WE, Setleff R, McLeod A, Sweeney A, Cooper C, McConnell F. X-linked mixed deafness with congenital fixation of the stapedial footplate and perilymphatic gusher. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1971; **07(4)**: 64-69.
394. Napiontek U, Borck G, Muller-Forell W, Pfarr N, Bohnert A, Keilmann A, et al. Intrafamilial variability of the deafness and goiter phenotype in Pendred syndrome caused by a T416P mutation in the SLC26A4 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89(11)**: 5347-5351.
395. National Institute on Deafness and Other Communication Disorders (NIDCD). *NIDCD News&Events: NIDCD-funded Researchers Look to Nanotechnology to Build Smaller, Mightier Implantable Hearing Device*. (internette), 17.12.2002. Erişim 22.12.2007, http://www.nidcd.nih.gov/news/releases/02/12_17_02.htm.
396. Naz S, Alasti F, Mowjoodi A, Riazuddin S, Sanati MH, Friedman TB, et al. Distinctive audiometric profile associated with DFNB21 alleles of TECTA. *J Med Genet* 2003; **40(5)**: 360-363.
397. Naz S, Giguere CM, Kohrman DC, Mitchem KL, Riazuddin S, Morell RJ, et al. Mutations in a novel gene, TMIE, are associated with hearing loss linked to the DFNB6 locus. *Am J Hum Genet* 2002; **71(3)**: 632-636.
398. Naz S, Griffith AJ, Riazuddin S, Hampton LL, Battey JF Jr, Khan SN, et al. Mutations of ESPN cause autosomal recessive deafness and vestibular dysfunction. *J Med Genet* 2004; **41(8)**: 591-595.
399. Ng KP, Kambara T, Matsuura M, Burke M, Ikebe M. Identification of myosin III as a protein kinase. *Biochemistry* 1996; **35(29)**: 9392-9399.
400. Nicolson T, Rusch A, Friedrich RW, Granato M, Ruppertsberg JP, Nusslein-Volhard C. Genetic analysis of vertebrate sensory hair cell mechanosensation: the zebrafish circler mutants. *Neuron* 1998; **20(2)**: 271-283.
401. Niggli V, Rossy J. Ezrin/radixin/moesin: Versatile controllers of signaling molecules and of the cortical cytoskeleton. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; **doi:** 10.1016/j.biocel.2007.02.012.

402. Nollet F, Kools P, van Roy F. Phylogenetic analysis of the cadherin superfamily allows identification of six major subfamilies besides several solitary members. *J Mol Biol* 2000; **299(3)**: 551-572.
403. Norenberg MD, Rao KV. The mitochondrial permeability transition in neurologic disease. *Neurochem Int* 2007; **50(7-8)**: 983-997.
404. Nourry C, Grant SG, Borg JP. PDZ domain proteins: plug and play! *Sci. STKE* 2003; **2003(179)**: RE7.
405. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*. 6th ed. WB, ABD, Saunders Company Press; 2001.
406. O'Connell JR, Weeks DE. PedCheck: a program for identification of genotype incompatibilities in linkage analysis. *Am J Hum Genet* 1998; **63(1)**: 259-266.
407. Oestreicher E, Wolfgang A, Felix D. Neurotransmission of the cochlear inner hair cell synapse--implications for inner ear therapy. *Adv Otorhinolaryngol* 2002; **59**: 131-139.
408. Ohara T, Ikeda U, Muto S, Oguchi A, Tsuruya Y, Yamamoto K, et al. Thyroid hormone stimulates Na(+)-K(+)-ATPase gene expression in cultured rat mesangial cells. *Am J Physiol* 1993; **265(3 Pt 2)**: F370-376.
409. Oliver D, He DZ, Klocker N, Ludwig J, Schulte U, Waldegger S, et al. Intracellular anions as the voltage sensor of prestin, the outer hair cell motor protein. *Science* 2001; **292(5525)**: 2340-2343.
410. Oliver D, Knipper M, Derst C, Fakler B. Resting potential and submembrane calcium concentration of inner hair cells in the isolated mouse cochlea are set by KCNQ-type potassium channels. *J Neurosci* 2003; **23(6)**: 2141-2149.
411. Olusanya BO, Newton VE. Global burden of childhood hearing impairment and disease control priorities for developing countries. *Lancet* 2007; **369(9569)**: 1314-1317.
412. O'Neill ME, Marietta J, Nishimura D, Wayne S, Van Camp G, Van Laer L, et al. A gene for autosomal dominant late-onset progressive non-syndromic hearing loss, DFNA10, maps to chromosome 6. *Hum Mol Genet* 1996; **5(6)**: 853-856.
413. *Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM)* (internet), 27.02.2007. Erişim 14.12.2007, McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD) and National Center for Biotechnology

Information, National Library of Medicine (Bethesda, MD) World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>.

414. Oshima A, Suzuki S, Takumi Y, Hashizume K, Abe S, Usami S. CRYM mutations cause deafness through thyroid hormone binding properties in the fibrocytes of the cochlea. *J Med Genet* 2006; **43(6)**: e25.
415. Oshima T, Kudo T, Ikeda K. Point mutation of the mitochondrial genome in Japanese deaf-mutism. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2001; **63(6)**: 329-332.
416. Osman AA, Saito M, Makepeace C, Permutt MA, Schlesinger P, Mueckler M. Wolframin expression induces novel ion channel activity in endoplasmic reticulum membranes and increases intracellular calcium. *J Biol Chem* 2003; **278(52)**: 52755-52762.
417. OStergaard E, Montserrat-Sentis B, Gronskov K, Brondum-Nielsen K. The A1555G mtDNA mutation in Danish hearing-impaired patients: frequency and clinical signs. *Clin Genet* 2002; **62(4)**: 303-305.
418. Ott J. Computer-simulation methods in human linkage analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; **86(11)**: 4175-4178.
419. Oysu C, Aslan I, Ulubil A, Baserer N. Incidence of cochlear involvement in hyperbilirubinemic deafness. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002; **111(11)**: 1021-1025.
420. Özürlüler İdaresi Başkanlığı. *Ulusal Yenidoğan İşitme Taraması Projesi*. Ankara: T.C. Başbakanlık Özürlüler İdaresi Başkanlığı (internette). Erişim 30.11.2007, <http://www.ozida.gov.tr/projeler/isitmetaramasi.htm>.
421. Pallares-Ruiz N, Blanchet P, Mondain M, Claustres M, Roux AF. A large deletion including most of GJB6 in recessive non syndromic deafness: a digenic effect? *Eur J Hum Genet* 2002; **10(1)**: 72-76.
422. Park HJ, Hahn SH, Chun YM, Park K, Kim HN. Connexin26 mutations associated with nonsyndromic hearing loss. *Laryngoscope* 2000; **110(9)**: 1535-1538.
423. Parker MA, Corliss DA, Gray B, Anderson JK, Bobbin RP, Snyder EY, et al. Neural stem cells injected into the sound-damaged cochlea migrate throughout the cochlea and express markers of hair cells, supporting cells, and spiral ganglion cells. *Hear Res* 2007; **232(1-2)**: 29-43.
424. Parkinson N, Brown SD. Focusing on the genetics of hearing: you ain't heard nothin' yet. *Genome Biol* 2002; **3(6)**: COMMENT 2006.

425. Patel SD, Chen CP, Bahna F, Honig B, Shapiro L. Cadherin-mediated cell-cell adhesion: sticking together as a family. *Curr Opin Struct Biol* 2003; **13(6)**: 690-698.
426. Penengo L, Mapelli M, Murachelli AG, Confalonieri S, Magri L, Musacchio A, et al. Crystal structure of the ubiquitin binding domains of rabex-5 reveals two modes of interaction with ubiquitin. *Cell* 2006; **124(6)**: 1183-1195.
427. Peters LM, Anderson DW, Griffith AJ, Grundfast KM, San Agustin TB, Madeo AC, et al. Mutation of a transcription factor, TFCP2L3, causes progressive autosomal dominant hearing loss, DFNA28. *Hum Mol Genet* 2002; **11(23)**: 2877-2885.
428. Peters U, Preisler-Adams S, Hebeisen A, Hahn M, Seifert E, Lanvers C, et al. Glutathione S-transferase genetic polymorphisms and individual sensitivity to the ototoxic effect of cisplatin. *Anticancer Drugs* 2000; **11(8)**: 639-643.
429. Petersen MB, Willems PJ. Non-syndromic, autosomal-recessive deafness. *Clin Genet* 2006; **69(5)**: 371-392.
430. Petit C. Genes responsible for human hereditary deafness: symphony of a thousand. *Nat Genet* 1996; **14(4)**: 385-391.
431. Petit C, Levilliers J, Hardelin JP. Molecular genetics of hearing loss. *Annu Rev Genet* 2001; **35**: 589-646.
432. Pfister M, Toth T, Thiele H, Haack B, Blin N, Zenner HP, et al. A 4-bp insertion in the *eya*-homologous region (*eyaHR*) of *EYA4* causes hearing impairment in a Hungarian family linked to DFNA10. *Mol Med* 2002; **8(10)**: 607-611.
433. Phippard D, Heydemann A, Lechner M, Lu L, Lee D, Kyin T, et al. Changes in the subcellular localization of the *Brn4* gene product precede mesenchymal remodeling of the otic capsule. *Hear Res* 1998; **120(1-2)**: 77-85.
434. Phippard D, Lu L, Lee D, Saunders JC, Crenshaw EB 3rd. Targeted mutagenesis of the POU-domain gene *Brn4/Pou3f4* causes developmental defects in the inner ear. *J Neurosci* 1999; **19(14)**: 5980-5989.
435. Pirvola U, Xing-Qun L, Virkkala J, Saarma M, Murakata C, Camoratto AM, et al. Rescue of hearing, auditory hair cells, and neurons by CEP-1347/KT7515, an inhibitor of c-Jun N-terminal kinase activation. *J Neurosci* 2000; **20(1)**: 43-50.

436. Pirvola U, Ylikoski J, Palgi J, Lehtonen E, Arumae U, Saarma M. Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin 3 mRNAs in the peripheral target fields of developing inner ear ganglia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; **89(20)**: 9915-9919.
437. Porter JA, Montell C. Distinct roles of the *Drosophila* ninaC kinase and myosin domains revealed by systematic mutagenesis. *J Cell Biol* 1993; **122(3)**: 601-612.
438. Prezant TR, Agopian JV, Bohlman MC, Bu X, Oztas S, Qiu WQ, et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet* 1993; **4(3)**: 289-294.
439. Probst FJ, Fridell RA, Raphael Y, Saunders TL, Wang A, Liang Y, et al. Correction of deafness in shaker-2 mice by an unconventional myosin in a BAC transgene. *Science* 1998; **280(5368)**: 1444-1447.
440. Pryor SP, Madeo AC, Reynolds JC, Sarlis NJ, Arnos KS, Nance WE, et al. SLC26A4/PDS genotype-phenotype correlation in hearing loss with enlargement of the vestibular aqueduct (EVA): evidence that Pendred syndrome and non-syndromic EVA are distinct clinical and genetic entities. *J Med Genet* 2005; **42(2)**: 159-165.
441. Puel JL, Ruel J, Gervais d'Aldin C, Pujol R. Excitotoxicity and repair of cochlear synapses after noise-trauma induced hearing loss. *Neuroreport* 1998; **9(9)**: 2109-2114.
442. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia AS, McNamara JO, Williams SM. *Neuroscience*. 2nd ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.; 2001.
443. Quinn FB, Ryan MW, ed. *Dr. Quinn's Online Textbook of Otolaryngology: Ototoxicity* (internet). Erişim 12.12.2007, The University of Texas Medical Branch (UTMB), Department of Otolaryngology: <http://www.utmb.edu/otoref/grnds/Ototox-011107/Ototox-2001-11.htm>.
444. RamShankar M, Girirajan S, Dagan O, Ravi Shankar HM, Jalvi R, Rangasayee R, et al. Contribution of connexin26 (GJB2) mutations and founder effect to non-syndromic hearing loss in India. *J Med Genet* 2003; **40(5)**: e68.
445. Rau A, Legan PK, Richardson GP. Tectorin mRNA expression is spatially and temporally restricted during mouse inner ear development. *J Comp Neurol* 1999; **405(2)**: 271-280.

446. Reardon W, OMahoney CF, Trembath R, Jan H, Phelps PD. Enlarged vestibular aqueduct: a radiological marker of pendred syndrome, and mutation of the PDS gene. *QJM* 2000; **93(2)**: 99-104.
447. Reiners J, Marker T, Jurgens K, Reidel B, Wolfrum U. Photoreceptor expression of the Usher syndrome type 1 protein protocadherin 15 (USH1F) and its interaction with the scaffold protein harmonin (USH1C). *Mol Vis* 2005; **11**: 347-355.
448. Reiners J, Nagel-Wolfrum K, Jurgens K, Marker T, Wolfrum U. Molecular basis of human Usher syndrome: deciphering the meshes of the Usher protein network provides insights into the pathomechanisms of the Usher disease. *Exp Eye Res* 2006; **83(1)**: 97-119.
449. Reiners J, van Wijk E, Marker T, Zimmermann U, Jurgens K, te Brinke H, et al. Scaffold protein harmonin (USH1C) provides molecular links between Usher syndrome type 1 and type 2. *Hum Mol Genet* 2005; **14(24)**: 3933-3943.
450. Rendtorff ND, Zhu M, Fagerheim T, Antal TL, Jones M, Teslovich TM, et al. A novel missense mutation in ACTG1 causes dominant deafness in a Norwegian DFNA20/26 family, but ACTG1 mutations are not frequent among families with hereditary hearing impairment. *Eur J Hum Genet* 2006; **14(10)**: 1097-1105.
451. Resendes BL, Williamson RE, Morton CC. At the speed of sound: gene discovery in the auditory system. *Am J Hum Genet* 2001; **69(5)**: 923-935.
452. Riazuddin S, Ahmed ZM, Fanning AS, Lagziel A, Kitajiri S, Ramzan K, et al. Tricellulin is a tight-junction protein necessary for hearing. *Am J Hum Genet* 2006; **79(6)**: 1040-1051.
453. Riazuddin S, Castelein CM, Ahmed ZM, Lalwani AK, Mastroianni MA, Naz S, et al. Dominant modifier DFNM1 suppresses recessive deafness DFNB26. *Nat Genet* 2000; **26(4)**: 431-434.
454. Riazuddin S, Khan SN, Ahmed ZM, Ghosh M, Caution K, Nazli S, et al. Mutations in TRIOBP, which encodes a putative cytoskeletal-organizing protein, are associated with nonsyndromic recessive deafness. *Am J Hum Genet* 2006; **78(1)**: 137-143.
455. Riedemann L, Lanvers C, Deuster D, Peters U, Boos J, Jurgens H, et al. Megalin genetic polymorphisms and individual sensitivity to the ototoxic effect of cisplatin. *Pharmacogenomics J* 2008; **8(1)**: 23-28.

456. Rizo J, Sudhof TC. C2-domains, structure and function of a universal Ca²⁺-binding domain. *J Biol Chem* 1998; **273(26)**: 15879-15882.
457. Robbins J. KCNQ potassium channels: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Ther* 2001; **90(1)**: 1-19.
458. Robertson NG, Cremers CW, Huygen PL, Ikezono T, Krastins B, Kremer H, et al. Cochlin immunostaining of inner ear pathologic deposits and proteomic analysis in DFNA9 deafness and vestibular dysfunction. *Hum Mol Genet* 2006; **15(7)**: 1071-1085.
459. Robertson NG, Hamaker SA, Patriub V, Aster JC, Morton CC. Subcellular localisation, secretion, and post-translational processing of normal cochlin, and of mutants causing the sensorineural deafness and vestibular disorder, DFNA9. *J Med Genet* 2003; **40(7)**: 479-486.
460. Robertson NG, Lu L, Heller S, Merchant SN, Eavey RD, McKenna M, et al. Mutations in a novel cochlear gene cause DFNA9, a human nonsyndromic deafness with vestibular dysfunction. *Nat Genet* 1998; **20(3)**: 299-303.
461. Robertson NG, Resendes BL, Lin JS, Lee C, Aster JC, Adams JC, et al. Inner ear localization of mRNA and protein products of COCH, mutated in the sensorineural deafness and vestibular disorder, DFNA9. *Hum Mol Genet* 2001; **10(22)**: 2493-2500.
462. Rodriguez-Ballesteros M, del Castillo FJ, Martin Y, Moreno-Pelayo MA, Morera C, Prieto F, et al. Auditory neuropathy in patients carrying mutations in the otoferlin gene (OTOF). *Hum Mutat* 2003; **22(6)**: 451-456.
463. Roizen NJ. Nongenetic causes of hearing loss. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2003; **9(2)**: 120-127.
464. Rouillon I, Marcolla A, Roux I, Marlin S, Feldmann D, Couderc R, et al. Results of cochlear implantation in two children with mutations in the OTOF gene. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2006; **70(4)**: 689-696.
465. Roux I, Safieddine S, Nouvian R, Grati M, Simmler MC, Bahloul A, et al. Otoferlin, defective in a human deafness form, is essential for exocytosis at the auditory ribbon synapse. *Cell* 2006; **127(2)**: 277-289.
466. Royaux IE, Belyantseva IA, Wu T, Kachar B, Everett LA, Marcus DC, et al. Localization and functional studies of pendrin in the mouse inner ear provide

- insight about the etiology of deafness in pendred syndrome. *J Assoc Res Otolaryngol* 2003; **4(3)**: 394-404.
467. Ruf R, Rensing C, Topaloglu R, Guay-Woodford L, Klein C, Vollmer M, et al. Confirmation of the ATP6B1 gene as responsible for distal renal tubular acidosis. *Pediatr Nephrol* 2003; **18(2)**: 105-109.
468. Rybak LP, Whitworth CA. Ototoxicity: therapeutic opportunities. *Drug Discov Today* 2005; **10(19)**: 1313-1321.
469. Rybak LP, Whitworth CA, Mukherjea D, Ramkumar V. Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Hear Res* 2007; **226(1-2)**: 157-167.
470. Rzadzinska A, Schneider M, Noben-Trauth K, Bartles JR, Kachar B. Balanced levels of Espin are critical for stereociliary growth and length maintenance. *Cell Motil Cytoskeleton* 2005; **62(3)**: 157-165.
471. Saier MH Jr, Eng BH, Fard S, Garg J, Haggerty DA, Hutchinson WJ, et al. Phylogenetic characterization of novel transport protein families revealed by genome analyses. *Biochim Biophys Acta* 1999; **1422(1)**: 1-56.
472. Salam AA, Hafner FM, Linder TE, Spillmann T, Schinzel AA, Leal SM. A novel locus (DFNA23) for prelingual autosomal dominant nonsyndromic hearing loss maps to 14q21-q22 in a Swiss German kindred. *Am J Hum Genet* 2000; **66(6)**: 1984-1988.
473. Salt AN. Pharmacokinetics of Drug Entry into Cochlear Fluids. *Volta Rev* 2005; **105(3)**: 277-298.
474. Sano K, Tanihara H, Heimark RL, Obata S, Davidson M, St John T, et al. Protocadherins: a large family of cadherin-related molecules in central nervous system. *EMBO J* 1993; **12(6)**: 2249-2256.
475. Santos RL, El-Shanti H, Sikandar S, Lee K, Bhatti A, Yan K, et al. Novel sequence variants in the TMIE gene in families with autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment. *J Mol Med* 2006; **84(3)**: 226-231.
476. Santos RL, Hafner FM, Huygen PL, Linder TE, Schinzel AA, Spillmann T, et al. Phenotypic characterization of DFNA24: prelingual progressive sensorineural hearing impairment. *Audiol Neurootol* 2006; **11(5)**: 269-275.
477. Santos RL, Wajid M, Pham TL, Hussan J, Ali G, Ahmad W, et al. Low prevalence of Connexin 26 (GJB2) variants in Pakistani families with autosomal recessive non-syndromic hearing impairment. *Clin Genet* 2005; **67(1)**: 61-68.

478. Saris NE, Carafoli E. A historical review of cellular calcium handling, with emphasis on mitochondria. *Biochemistry (Mosc)* 2005; **70(2)**: 187-194.
479. Schneider ME, Belyantseva IA, Azevedo RB, Kachar B. Rapid renewal of auditory hair bundles. *Nature* 2002; **418**: 837-838.
480. Schneider ME, Dose AC, Salles FT, Chang W, Erickson FL, Burnside B, et al. A new compartment at stereocilia tips defined by spatial and temporal patterns of myosin IIIa expression. *J Neurosci* 2006; **26(40)**: 10243-10252.
481. Schrijver I. Hereditary non-syndromic sensorineural hearing loss: transforming silence to sound. *J Mol Diagn* 2004; **6(4)**: 275-284.
482. Schultz JM, Yang Y, Caride AJ, Filoteo AG, Penheiter AR, Lagziel A, et al. Modification of human hearing loss by plasma-membrane calcium pump PMCA2. *N Engl J Med* 2005; **352(15)**: 1557-1564.
483. Schwander M, Sczaniecka A, Grillet N, Bailey JS, Avenarius M, Najmabadi H, et al. A forward genetics screen in mice identifies recessive deafness traits and reveals that pejvakin is essential for outer hair cell function. *J Neurosci* 2007; **27(9)**: 2163-2175.
484. Scott DA, Karniski LP. Human pendrin expressed in *Xenopus laevis* oocytes mediates chloride/formate exchange. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; **278(1)**: C207-211.
485. Scott DA, Wang R, Kreman TM, Andrews M, McDonald JM, Bishop JR, et al. Functional differences of the PDS gene product are associated with phenotypic variation in patients with Pendred syndrome and non-syndromic hearing loss (DFNB4). *Hum Mol Genet* 2000; **9(11)**: 1709-1715.
486. Scott DA, Wang R, Kreman TM, Sheffield VC, Karniski LP. The Pendred syndrome gene encodes a chloride-iodide transport protein. *Nature Genet* 1999; **21(4)**: 440-443.
487. Scott HS, Kudoh J, Wattenhofer M, Shibuya K, Berry A, Chrast R, et al. Insertion of beta-satellite repeats identifies a transmembrane protease causing both congenital and childhood onset autosomal recessive deafness. *Nat Genet* 2001; **27(1)**: 59-63.
488. Seiler C, Ben-David O, Sidi S, Hendrich O, Rusch A, Burnside B, et al. Myosin VI is required for structural integrity of the apical surface of sensory hair cells in zebrafish. *Dev Biol* 2004; **272(2)**: 328-338.

489. Seiler C, Finger-Baier KC, Rinner O, Makhankov YV, Schwarz H, Neuhauss SC, et al. Duplicated genes with split functions: independent roles of protocadherin15 orthologues in zebrafish hearing and vision. *Development* 2005; **132(3)**: 615-623.
490. Seipel K, Medley QG, Kedersha NL, Zhang XA, O'Brien SP, Serra-Page C, et al. Trio amino-terminal guanine nucleotide exchange factor domain expression promotes actin cytoskeleton reorganization, cell migration and anchorage-independent cell growth. *J Cell Sci* 1999; **112 (Pt 12)**: 1825-1834.
491. Seipel K, O'Brien SP, Iannotti E, Medley QG, Streuli M. Tara, a novel F-actin binding protein, associates with the Trio guanine nucleotide exchange factor and regulates actin cytoskeletal organization. *J Cell Sci* 2001; **114(Pt 2)**: 389-399.
492. Sekerkova G, Freeman D, Mugnaini E, Bartles JR. Espin cytoskeletal proteins in the sensory cells of rodent taste buds. *J Neurocytol* 2005; **34(3-5)**: 171-182.
493. Sekerkova G, Zheng L, Loomis PA, Changyaleket B, Whitlon DS, Mugnaini E, et al. Espins are multifunctional actin cytoskeletal regulatory proteins in the microvilli of chemosensory and mechanosensory cells. *J Neurosci* 2004; **24(23)**: 5445-5456.
494. Sekerkova G, Zheng L, Loomis PA, Mugnaini E, Bartles JR. Espins and the actin cytoskeleton of hair cell stereocilia and sensory cell microvilli. *Cell Mol Life Sci* 2006; **63(19-20)**: 2329-2341.
495. Sekerkova G, Zheng L, Mugnaini E, Bartles JR. Differential expression of espin isoforms during epithelial morphogenesis, stereociliogenesis and postnatal maturation in the developing inner ear. *Dev Biol* 2006; **291(1)**: 83-95.
496. Sekiya T, Shimamura N, Hatayama T, Suzuki S. Effectiveness of preoperative administration of an N-methyl-D-aspartate antagonist to enhance cochlear neuron resistance to intraoperative traumatic stress: an experimental study. *J Neurosurg* 2000; **93(1)**: 90-98.
497. Self T, Mahony M, Fleming J, Walsh J, Brown SD, Steel KP. Shaker-1 mutations reveal roles for myosin VIIA in both development and function of cochlear hair cells. *Development* 1998; **125(4)**: 557-566.
498. Self T, Sobe T, Copeland NG, Jenkins NA, Avraham KB, Steel KP. Role of myosin VI in the differentiation of cochlear hair cells. *Dev Biol* 1999; **214(2)**: 331-341.

499. Sellers JR. Myosins: a diverse superfamily. *Biochim Biophys Acta* 2000; **1496(1)**: 3-22.
500. Sendowski I. Magnesium therapy in acoustic trauma. *Magnes Res* 2006; **19(4)**: 244-254.
501. Senften M, Schwander M, Kazmierczak P, Lillo C, Shin JB, Hasson T, et al. Physical and functional interaction between protocadherin 15 and myosin VIIa in mechanosensory hair cells. *J Neurosci* 2006; **26(7)**: 2060-2071.
502. Seviour KB, Hatamochi A, Stewart IA, Bykhovskaya Y, Allen-Powell DR, Fischel-Ghodsian N, et al. Mitochondrial A7445G mutation in two pedigrees with palmoplantar keratoderma and deafness. *Am J Med Genet* 1998; **75(2)**: 179-185.
503. Sha SH, Taylor R, Forge A, Schacht J. Differential vulnerability of basal and apical hair cells is based on intrinsic susceptibility to free radicals. *Hear Res* 2001; **155(1-2)**: 1-8.
504. Shabbir MI, Ahmed ZM, Khan SY, Riazuddin S, Waryah AM, Khan SN, et al. Mutations of human TMHS cause recessively inherited non-syndromic hearing loss. *J Med Genet* 2006; **43(8)**: 634-640.
505. Shah RK, Lotke M. *Hearing impairment* (internette), 31.05.2007. Erişim 07.12.2007, eMedicine: <http://www.emedicine.com/ped/topic931.htm>.
506. Shahin H, Walsh T, Sobe T, Abu Sa'ed J, Abu Rayan A, Lynch ED, et al. Mutations in a novel isoform of TRIOBP that encodes a filamentous-actin binding protein are responsible for DFNB28 recessive nonsyndromic hearing loss. *Am J Hum Genet* 2006; **78(1)**: 144-152.
507. Shaw G. The pleckstrin homology domain: an intriguing multifunctional protein module. *Bioessays* 1996; **18(1)**: 35-46.
508. Sheng M, Sala C. PDZ domains and the organization of supramolecular complexes. *Annu Rev Neurosci* 2001; **24**: 1-29.
509. Shpargel KB, Makishima T, Griffith AJ. 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* 2004; **124(3)**: 242-248.
510. Siemens J, Kazmierczak P, Reynolds A, Sticker M, Littlewood-Evans A, Muller U. The Usher syndrome proteins cadherin 23 and harmonin form a complex by

- means of PDZ-domain interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99(23)**: 14946-14951.
511. Silberstein M, Tzemach A, Dovgolevsky N, Fishelson M, Schuster A, Geiger D. Online system for faster multipoint linkage analysis via parallel execution on thousands of personal computers. *Am J Hum Genet* 2006; **78(6)**: 922-935.
512. Simon AM, Goodenough DA. Diverse functions of vertebrate gap junctions. *Trends Cell Biol* 1998; **8(12)**: 477-483.
513. Simsek E, Simsek T, Tekgul S, Hosal S, Seyrantepe V, Aktan G. Wolfram (DIDMOAD) syndrome: a multidisciplinary clinical study in nine Turkish patients and review of the literature. *Acta Paediatr* 2003; **92(1)**: 55-61.
514. Siritantikorn A, Johansson K, Ahlen K, Rinaldi R, Suthiphongchai T, Wilairat P, et al. Protection of cells from oxidative stress by microsomal glutathione transferase 1. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; **355(2)**: 592-596.
515. Sirmaci A, Akcayoz-Duman D, Tekin M. The c.IVS1+1G>A mutation in the GJB2 gene is prevalent and large deletions involving the GJB6 gene are not present in the Turkish population. *J Genet* 2006; **85(3)**: 213-216.
516. Skowron JF, Bement WM, Mooseker MS. Human brush border myosin-I and myosin-Ic expression in human intestine and Caco-2BBE cells. *Cell Motil Cytoskeleton* 1998; **41(4)**: 308-324.
517. Skowron JF, Mooseker MS. Cloning and characterization of mouse brush border myosin-I in adult and embryonic intestine. *J Exp Zool* 1999; **283(3)**: 242-257.
518. *SLC26A4 Mutation Database* (internet). Erişim 24.12.2007, Molecular Otolaryngology Research Laboratory (MORL) Pendred and BOR Homepage: <http://www.healthcare.uiowa.edu/labs/pendredandbor/slcMutations.htm>
519. Smith RJ, Bale JF Jr, White KR. Sensorineural hearing loss in children. *Lancet* 2005; **365(9462)**: 879-890.
520. Snoeckx RL, Huygen PL, Feldmann D, Marlin S, Denoyelle F, Waligora J, et al. GJB2 mutations and degree of hearing loss: a multicenter study. *Am J Hum Genet* 2005; **77(6)**: 945-957.
521. Sobel E, Lange K. Descent graphs in pedigree analysis: applications to haplotyping, location scores, and marker-sharing statistics. *Am J Hum Genet* 1996; **58(6)**: 1323-1337.

522. Soleimani M, Greeley T, Petrovic S, Wang Z, Amlal H, Kopp P, et al. Pendrin: an apical Cl⁻/OH⁻/HCO₃⁻ exchanger in the kidney cortex. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; **280(2)**: F356-364.
523. Songyang Z, Fanning AS, Fu C, Xu J, Marfatia SM, Chishti AH, et al. Recognition of unique carboxyl-terminal motifs by distinct PDZ domains. *Science* 1997; **275(5296)**: 73-77.
524. Steel KP, Bock GR. The nature of inherited deafness in deafness mice. *Nature* 1980; **288(5787)**: 159-161.
525. Steel KP, Marcotti W, Erven A, Johnson SL, Kros CJ. Cochlear function in Beethoven mouse mutants. Association of Research of Otolaryngology Winter Meeting Daytona Beach, Florida; 2003. pp.1063.
526. Stinckens C, Standaert L, Casselman JW, Huygen PL, Kumar S, Van de Wallen J, et al. The presence of a widened vestibular aqueduct and progressive sensorineural hearing loss in the branchio-oto-renal syndrome. A family study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2001; **59(3)**: 163-172.
527. Stover EH, Borthwick KJ, Bavalia C, Eady N, Fritz DM, Rungroj N, et al. Novel ATP6V1B1 and ATP6V0A4 mutations in autosomal recessive distal renal tubular acidosis with new evidence for hearing loss. *J Med Genet* 2002; **39(11)**: 796-803.
528. Strachan T, Read A. *Human Molecular Genetics*. 3rd ed. London: Garland Science Publishing; 2005.
529. Strasnick B, Antonio SM, Hoffmann KK. *Inner Ear, Syndromic Sensorineural Hearing Loss* (internet), 30.04.2007. Erişim 16.12.2007, eMedicine: <http://www.emedicine.com/ent/topic225.htm>.
530. Street VA, Kallman JC, Robertson NG, Kuo SF, Morton CC, Phillips JO. A novel DFNA9 mutation in the vWFA2 domain of COCH alters a conserved cysteine residue and intrachain disulfide bond formation resulting in progressive hearing loss and site-specific vestibular and central oculomotor dysfunction. *Am J Med Genet A* 2005; **139(2)**: 86-95.
531. Sudhof TC. The synaptic vesicle cycle. *Annu Rev Neurosci* 2004; **27**: 509-547.
532. Sun J, Ahmad S, Chen S, Tang W, Zhang Y, Chen P, et al. Cochlear gap junctions coassembled from Cx26 and 30 show faster intercellular Ca²⁺ signaling than homomeric counterparts. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; **288(3)**: C613-623.

533. Suzuki ST. Recent progress in protocadherin research. *Exp Cell Res* 2000; **261(1)**: 13-18.
534. Takeda K, Inoue H, Tanizawa Y, Matsuzaki Y, Oba J, Watanabe Y, et al. WFS1 (Wolfram syndrome 1) gene product: predominant subcellular localization to endoplasmic reticulum in cultured cells and neuronal expression in rat brain. *Hum Mol Genet* 2001; **10(5)**: 477-484.
535. Takei D, Ishihara H, Yamaguchi S, Yamada T, Tamura A, Katagiri H, et al. WFS1 protein modulates the free Ca(2+) concentration in the endoplasmic reticulum. *FEBS Lett* 2006; **580(24)**: 5635-5640.
536. Talaska AE, Schacht J, Fischel-Ghodsian N. Molecular and genetic aspects of aminoglycoside-induced hearing loss. *Drug Discovery Today* 2006; **3(1)**: 119-124.
537. Tamagawa Y, Ishikawa K, Ishikawa K, Ishida T, Kitamura K, Makino S, et al. Phenotype of DFNA11: a nonsyndromic hearing loss caused by a myosin VIIA mutation. *Laryngoscope* 2002; **112(2)**: 292-297.
538. Tashiro K, Konishi H, Sano E, Nabeshi H, Yamauchi E, Taniguchi H. Suppression of the ligand-mediated down-regulation of epidermal growth factor receptor by Ymer, a novel tyrosine-phosphorylated and ubiquitinated protein. *J Biol Chem* 2006; **281(34)**: 24612-24622.
539. Tatham AS, Shewry PR. Elastomeric proteins: biological roles, structures and mechanisms. *Trends Biochem Sci* 2000; **25(11)**: 567-571.
540. Tekin M, Akar N, Cin S, Blanton SH, Xia XJ, Liu XZ, et al. Connexin 26 (GJB2) mutations in the Turkish population: implications for the origin and high frequency of the 35delG mutation in Caucasians. *Hum Genet* 2001; **108(5)**: 385-389.
541. Tekin M, Akcayoz D, Incesulu A. A novel missense mutation in a C2 domain of OTOF results in autosomal recessive auditory neuropathy. *Am J Med Genet A* 2005; **138(1)**: 6-10.
542. Tekin M, Arnos KS, Pandya A. Advances in hereditary deafness. *Lancet* 2001; **358(9287)**: 1082-1090.
543. Tekin M, Bogoclu G, Arican ST, Orman MN, Tastan H, Elsobky E, et al. Evidence for single origins of 35delG and delE120 mutations in the GJB2 gene in Anatolia. *Clin Genet* 2005; **67(1)**: 31-37.

544. Tekin M, Duman T, Bogoclu G, Incesulu A, Comak E, Fitoz S, et al. Frequency of mtDNA A1555G and A7445G mutations among children with prelingual deafness in Turkey. *Eur J Pediatr* 2003; **162(3)**: 154-158.
545. Tessa A, Carbone I, Matteoli MC, Bruno C, Patrono C, Patera IP, et al. Identification of novel WFS1 mutations in Italian children with Wolfram syndrome. *Hum Mutat* 2001; **17(4)**: 348-349.
546. Teubner B, Michel V, Pesch J, Lautermann J, Cohen-Salmon M, Sohl G, et al. Connexin30 (Gjb6)-deficiency causes severe hearing impairment and lack of endocochlear potential. *Hum Mol Genet* 2003; **12(1)**: 13-21.
547. Tlili A, Mannikko M, Charfedine I, Lahmar I, Benzina Z, Ben Amor M, et al. A novel autosomal recessive non-syndromic deafness locus, DFNB66, maps to chromosome 6p21.2-22.3 in a large Tunisian consanguineous family. *Hum Hered* 2005; **60(3)**: 123-128.
548. Topfer-Petersen E, Calvete JJ. Sperm-associated protein candidates for primary zona pellucida-binding molecules: structure-function correlations of boar spermadhesins. *J Reprod Fertil Suppl* 1996; **50**: 55-61.
549. Torchinsky C, Messana EP, Arsura M, Cotanche DA. Regulation of p27Kip1 during gentamicin mediated hair cell death. *J Neurocytol* 1999; **28(10-11)**: 913-924.
550. Tranebjaerg L, Schwartz C, Eriksen H, Andreasson S, Ponjavic V, Dahl A, et al. A new X linked recessive deafness syndrome with blindness, dystonia, fractures, and mental deficiency is linked to Xq22. *J Med Genet* 1995; **32(4)**: 257-263.
551. Trexler M, Banyai L, Patthy L. The LCCL module. *Eur J Biochem* 2000; **267(18)**: 5751-5757.
552. Tsai HT, Wang YP, Chung SF, Lin HC, Ho GM, Shu MT. A novel mutation in the WFS1 gene identified in a Taiwanese family with low-frequency hearing impairment. *BMC Med Genet* 2007; **8**: 26.
553. Tsukita S, Furuse M. The structure and function of claudins, cell adhesion molecules at tight junctions. *Ann N Y Acad Sci* 2000; **915**: 129-135.
554. Tsukita S, Furuse M, Itoh M. Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; **2(4)**: 285-293.
555. Tuckwell D. Evolution of von Willebrand factor A (VWA) domains. *Biochem Soc Trans* 1999; **27(6)**: 835-840.

556. Turunen O, Wahlsreom T, Vaheri A. Ezrin has a COOH-terminal actin-binding site that is conserved in the ezrin protein family. *J Cell Biol* 1994; **126(6)**: 1445-1453.
557. Tuxworth RI, Titus MA. Unconventional myosins: anchors in the membrane traffic relay. *Traffic* 2000; **1(1)**: 11-18.
558. Tyska MJ, Mackey AT, Huang JD, Copeland NG, Jenkins NA, Mooseker MS. Myosin-1a is critical for normal brush border structure and composition. *Mol Biol Cell* 2005; **16(5)**: 2443-2457.
559. Unal M, Tamer L, Dogruer ZN, Yildirim H, Vayisoglu Y, Camdeviren H. N-acetyltransferase 2 gene polymorphism and presbycusis. *Laryngoscope* 2005; **115(12)**: 2238-2241.
560. Usami S, Abe S, Weston MD, Shinkawa H, Van Camp G, Kimberling WJ. Non-syndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct is caused by PDS mutations. *Hum Genet* 1999; **104(2)**: 188-192.
561. Uyguner O, Emiroglu M, Uzumcu A, Hafiz G, Ghanbari A, Baserer N, et al. Frequencies of gap- and tight-junction mutations in Turkish families with autosomal-recessive non-syndromic hearing loss. *Clin Genet* 2003; **64(1)**: 65-69.
562. Üzümcü A. Non-sendromik duyma kaybı ile ilişkili olan genlerin tanımlanması ve mutasyonlarının saptanması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2002.
563. Vahava O, Morell R, Lynch ED, Weiss S, Kagan ME, Ahituv N, et al. Mutation in transcription factor POU4F3 associated with inherited progressive hearing loss in humans. *Science* 1998; **279(5358)**: 1950-1954.
564. Vale RD, Milligan RA. The way things move: looking under the hood of molecular motor proteins. *Science* 2000; **288(5463)**: 88-95.
565. Van Camp G, Coucke P, Balemans W, van Velzen D, van de Bilt C, van Laer L, et al. Localization of a gene for non-syndromic hearing loss (DFNA5) to chromosome 7p15. *Hum Mol Genet* 1995; **4(11)**: 2159-2163.
566. Van Camp G, Smith RJH. *Hereditary Hearing Loss Homepage* (internette) 16.07.2006. Erişim 15.01.2008, URL: <http://webhost.ua.ac.be/hhh>.
567. van der Wees J, van Looij MA, de Ruiter MM, Elias H, van der Burg H, Liem SS, et al. Hearing loss following Gata3 haploinsufficiency is caused by cochlear disorder. *Neurobiol Dis* 2004; **16(1)**: 169-178.

568. Van Eyken E, Van Camp G, Fransen E, Topsakal V, Hendrickx JJ, Demeester K, et al. Contribution of the N-acetyltransferase 2 polymorphism NAT2*6A to age-related hearing impairment. *J Med Genet* 2007; **44(9)**: 570-578.
569. Van Eyken E, Van Laer L, Fransen E, Topsakal V, Hendrickx JJ, Demeester K, et al. The contribution of GJB2 (Connexin 26) 35delG to age-related hearing impairment and noise-induced hearing loss. *Otol Neurotol* 2007; **28(7)**: 970-975.
570. Van Ham M, Hendriks W. PDZ domains-glue and guide. *Mol Biol Rep* 2003; **30(2)**: 69-82.
571. Van Hauwe P, Everett LA, Coucke P, Scott DA, Kraft ML, Ris-Stalpers C, et al. Two frequent missense mutations in Pendred syndrome. *Hum Mol Genet* 1998; **7(7)**: 1099-1104.
572. Van Itallie CM, Anderson JM. Claudins and epithelial paracellular transport. *Annu Rev Physiol* 2006; **68**: 403-429.
573. Van Laer L, Carlsson PI, Ottuschytsch N, Bondeson ML, Konings A, Vandeveldel A, et al. The contribution of genes involved in potassium-recycling in the inner ear to noise-induced hearing loss. *Hum Mutat* 2006; **27(8)**: 786-795.
574. Van Laer L, Coucke P, Mueller RF, Caethoven G, Flothmann K, Prasad SD, et al. A common founder for the 35delG GJB2 gene mutation in connexin 26 hearing impairment. *J Med Genet* 2001; **38(8)**: 515-518.
575. Van Laer L, Huizing EH, Verstreken M, van Zuijlen D, Wauters JG, Bossuyt PJ, et al. Nonsyndromic hearing impairment is associated with a mutation in DFNA5. *Nat Genet* 1998; **20(2)**: 194-197.
576. Van Laer L, McGuirt WT, Yang T, Smith RJ, Van Camp G. Autosomal dominant nonsyndromic hearing impairment. *Am J Med Genet* 1999; **89(3)**: 167-174.
577. Van Laer L, Van Eyken E, Fransen E, Huyghe JR, Topsakal V, Hendrickx JJ, et al. The grainyhead like 2 gene (GRHL2), alias TFCP2L3, is associated with age-related hearing impairment. *Hum Mol Genet* 2008; **17(2)**: 159-169.
578. Van Laer L, Vrijens K, Thys S, Van Tendeloo VF, Smith RJ, Van Bockstaele DR, et al. DFNA5: hearing impairment exon instead of hearing impairment gene? *J Med Genet* 2004; **41(6)**: 401-406.
579. van Wijk E, Krieger E, Kemperman MH, De Leenheer EM, Huygen PL, Cremers CW, et al. A mutation in the gamma actin 1 (ACTG1) gene causes autosomal dominant hearing loss (DFNA20/26). *J Med Genet* 2003; **40(12)**: 879-884.

580. van Wijk E, van der Zwaag B, Peters T, Zimmermann U, Te Brinke H, Kersten FF, et al. The DFNB31 gene product whirlin connects to the Usher protein network in the cochlea and retina by direct association with USH2A and VLRG1. *Hum Mol Genet* 2006; **15(5)**: 751-765.
581. Varga R, Avenarius MR, Kelley PM, Keats BJ, Berlin CI, Hood LJ, et al. OTOF mutations revealed by genetic analysis of hearing loss families including a potential temperature sensitive auditory neuropathy allele. *J Med Genet* 2006; **43(7)**: 576-581.
582. Varga R, Kelley PM, Keats BJ, Starr A, Leal SM, Cohn E, et al. Non-syndromic recessive auditory neuropathy is the result of mutations in the otoferlin (OTOF) gene. *J Med Genet* 2003; **40(1)**: 45-50.
583. Vargas-Poussou R, Houillier P, Le Pottier N, Strompf L, Loirat C, Baudouin V, et al. A. Genetic investigation of autosomal recessive distal renal tubular acidosis: evidence for early sensorineural hearing loss associated with mutations in the ATP6V0A4 gene. *J Am Soc Nephrol* 2006; **17(5)**: 1437-1443.
584. Vazza G, Picelli S, Bozzato A, Mostacciuolo ML. Identification and characterization of C3orf6, a new conserved human gene mapping to chromosome 3q28. *Gene* 2003; **314**: 113-120.
585. Verhagen WI, Huygen PL, Gabreels-Festen AA, Engelhart M, van Mierlo PJ, van Engelen BG. Sensorineural hearing impairment in patients with Pmp22 duplication, deletion, and frameshift mutations. *Otol Neurotol* 2005; **26(3)**: 405-414.
586. Verhoeven K, Van Camp G, Govaerts PJ, Balemans W, Schatteman I, Verstreken M, et al. A gene for autosomal dominant nonsyndromic hearing loss (DFNA12) maps to chromosome 11q22-24. *Am J Hum Genet* 1997; **60(5)**: 1168-1173.
587. Verhoeven K, Van Laer L, Kirschhofer K, Legan PK, Hughes DC, Schatteman I, et al. Mutations in the human alpha-tectorin gene cause autosomal dominant non-syndromic hearing impairment. *Nat Genet* 1998; **19(1)**: 60-62.
588. Verpy E, Leibovici M, Zwaenepoel I, Liu XZ, Gal A, Salem N, et al. A defect in harmonin, a PDZ domain-containing protein expressed in the inner ear sensory hair cells, underlies Usher syndrome type 1C. *Nat Genet* 2000; **26(1)**: 51-55.

589. Verpy E, Masmoudi S, Zwaenepoel I, Leibovici M, Hutchin TP, Del Castillo I, et al. Mutations in a new gene encoding a protein of the hair bundle cause non-syndromic deafness at the DFNB16 locus. *Nat Genet* 2001; **29(3)**: 345-349.
590. Veske A, Oehlmann R, Younus F, Mohyuddin A, Muller-Myhsok B, Mehdi SQ, et al. Autosomal recessive non-syndromic deafness locus (DFNB8) maps on chromosome 21q22 in a large consanguineous kindred from Pakistan. *Hum Mol Genet* 1996; **5(1)**: 165-168.
591. Vie MP, Evrard C, Osty J, Breton-Gilet A, Blanchet P, Pomerance M, et al. Purification, molecular cloning, and functional expression of the human nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate-regulated thyroid hormone-binding protein. *Mol Endocrinol* 1997; **11(11)**: 1728-1736.
592. Villamar M, del Castillo I, Valle N, Romero L, Moreno F. Deafness locus DFNB16 is located on chromosome 15q13-q21 within a 5-cM interval flanked by markers D15S994 and D15S132. *Am J Hum Genet* 1999; **64(4)**: 1238-1241.
593. Vreugde S, Erven A, Kros CJ, Marcotti W, Fuchs H, Kurima K, et al. Beethoven, a mouse model for dominant, progressive hearing loss DFNA36. *Nat Genet* 2002; **30(3)**: 257-258.
594. Wada T, Wakabayashi Y, Takahashi S, Ushiki T, Kikkawa Y, Yonekawa H, et al. A point mutation in a cadherin gene, *Cdh23*, causes deafness in a novel mutant, Waltzer mouse *niigata*. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; **283(1)**: 113-117.
595. Wallace DC. Mitochondria and cancer: Warburg addressed. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2005; **70**: 363-374.
596. Walsh T, Walsh V, Vreugde S, Hertzano R, Shahin H, Haika S, et al. From flies' eyes to our ears: mutations in a human class III myosin cause progressive nonsyndromic hearing loss DFNB30. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99(11)**: 7518-7523.
597. Wang A, Liang Y, Fridell RA, Probst FJ, Wilcox ER, Touchman JW, et al. Association of unconventional myosin MYO15 mutations with human nonsyndromic deafness DFNB3. *Science* 1998; **280(5368)**: 1447-1451.
598. Wang J, Ding D, Shulman A, Stracher A, Salvi RJ. Leupeptin protects sensory hair cells from acoustic trauma. *Neuroreport* 1999; **10(4)**: 811-816.

599. Wang J, Ladrech S, Pujol R, Brabet P, Van De Water TR, Puel JL. Caspase inhibitors, but not c-Jun NH₂-terminal kinase inhibitor treatment, prevent cisplatin-induced hearing loss. *Cancer Res* 2004; **64(24)**: 9217-9224.
600. Wang J, Van De Water TR, Bonny C, de Ribaupierre F, Puel JL, Zine A. A peptide inhibitor of c-Jun N-terminal kinase protects against both aminoglycoside and acoustic trauma-induced auditory hair cell death and hearing loss. *J Neurosci* 2003; **23(24)**: 8596-8607.
601. Wang YC, Kung CY, Su MC, Su CC, Hsu HM, Tsai CC, et al. Mutations of Cx26 gene (GJB2) for prelingual deafness in Taiwan. *Eur J Hum Genet* 2002; **10(8)**: 495-498.
602. Wang Z, Petrovic S, Mann E, Soleimani M. Identification of an apical Cl⁻/HCO₃⁻ exchanger in the small intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; **282(3)**: G573-579.
603. Wangemann P. K⁽⁺⁾ cycling and the endocochlear potential. *Hear Res* 2002; **165(1-2)**: 1-9.
604. Wangemann P. Supporting sensory transduction: cochlear fluid homeostasis and the endocochlear potential. *J Physiol* 2006; **576(Pt 1)**: 11-21.
605. Wangemann P, Itza EM, Albrecht B, Wu T, Jabba SV, Maganti RJ, et al. Loss of KCNJ10 protein expression abolishes endocochlear potential and causes deafness in Pendred syndrome mouse model. *BMC Med* 2004; **2**: 30.
606. Washington NL, Ward S. FER-1 regulates Ca²⁺ -mediated membrane fusion during *C. elegans* spermatogenesis. *J Cell Sci* 2006; **119(Pt 12)**: 2552-2562.
607. Watanabe N, Madaule P, Reid T, Ishizaki T, Watanabe G, Kakizuka A, et al. p140mDia, a mammalian homolog of *Drosophila* diaphanous, is a target protein for Rho small GTPase and is a ligand for profilin. *EMBO J* 1997; **16(11)**: 3044-3056.
608. Wattanasirichaigoon D, Limwongse C, Jariengprasert C, Yenchitsomanus PT, Tocharoenthanaphol C, Thongnoppakhun W, et al. High prevalence of V37I genetic variant in the connexin-26 (GJB2) gene among non-syndromic hearing-impaired and control Thai individuals. *Clin Genet* 2004; **66(5)**: 452-460.
609. Wattenhofer M, Di Iorio MV, Rabionet R, Dougherty L, Pampanos A, Schwede T, et al. Mutations in the Tmprss3 gene are a rare cause of childhood nonsyndromic deafness in Caucasian patients. *J Mol Med* 2002; **80(2)**: 124-131.

610. Wattenhofer M, Sahin-Calapoglu N, Andreasen D, Kalay E, Caylan R, Braillard B, et al. A novel TMPRSS3 missense mutation in a DFNB8/10 family prevents proteolytic activation of the protein. *Hum Genet* 2005; **117(6)**: 528-535.
611. Wayne S, Robertson NG, DeClau F, Chen N, Verhoeven K, Prasad S, et al. Mutations in the transcriptional activator EYA4 cause late-onset deafness at the DFNA10 locus. *Hum Mol Genet* 2001; **10(3)**: 195-200.
612. Wegner M, Drolet DW, Rosenfeld MG. POU-domain proteins: structure and function of developmental regulators. *Curr Opin Cell Biol* 1993; **5(3)**: 488-498.
613. Wei X, Zhao L, Liu J, Dodel RC, Farlow MR, Du Y. Minocycline prevents gentamicin-induced ototoxicity by inhibiting p38 MAP kinase phosphorylation and caspase 3 activation. *Neuroscience* 2005; **131(2)**: 513-521.
614. Weil D, El-Amraoui A, Masmoudi S, Mustapha M, Kikkawa Y, Laine S, et al. Usher syndrome type I G (USH1G) is caused by mutations in the gene encoding SANS, a protein that associates with the USH1C protein, harmonin. *Hum Mol Genet* 2003; **12(5)**: 463-471.
615. Weil D, Kussel P, Blanchard S, Levy G, Levi-Acobas F, Drira M, et al. The autosomal recessive isolated deafness, DFNB2, and the Usher 1B syndrome are allelic defects of the myosin-VIIA gene. *Nat Genet* 1997; **16(2)**: 191-193.
616. Wells AL, Lin AW, Chen LQ, Safer D, Cain SM, Hasson T, et al. Myosin VI is an actin-based motor that moves backwards. *Nature* 1999; **401(6752)**: 505-508.
617. Wes PD, Xu XZ, Li HS, Chien F, Doberstein SK, Montell C. Termination of phototransduction requires binding of the NINAC myosin III and the PDZ protein INAD. *Nat Neurosci* 1999; **2(5)**: 447-453.
618. *WFS1 Gene Mutation and Polymorphism Database - Low-Frequency Hearing Loss* (internet). Kresge Hearing Research Institute. Erişim 28.09.2007, http://www.khri.med.umich.edu/research/lesperance_lab/low_freq.php.
619. Wilanowski T, Tuckfield A, Cerruti L, O'Connell S, Saint R, Parekh V, et al. A highly conserved novel family of mammalian developmental transcription factors related to Drosophila grainyhead. *Mech Dev* 2002; **114(1-2)**: 37-50.
620. Wilcox ER, Burton QL, Naz S, Riazuddin S, Smith TN, Ploplis B, et al. Mutations in the gene encoding tight junction claudin-14 cause autosomal recessive deafness DFNB29. *Cell* 2001; **104(1)**: 165-172.

621. Wilcox ER, Everett LA, Li XC, Lalwani AK, Green ED. The PDS gene, Pendred syndrome and non-syndromic deafness DFNB4. *Adv Otorhinolaryngol* 2000; **56**: 145-151.
622. Wilcox SA, Saunders K, Osborn AH, Arnold A, Wunderlich J, Kelly T, et al. High frequency hearing loss correlated with mutations in the GJB2 gene. *Hum Genet* 2000; **106(4)**: 399-405.
623. Willecke K, Eiberger J, Degen J, Eckardt D, Romualdi A, Guldenagel M, et al. Structural and functional diversity of connexin genes in the mouse and human genome. *Biol Chem* 2002; **383(5)**: 725-737.
624. Wilson SM, Householder DB, Coppola V, Tessarollo L, Fritsch B, Lee EC, et al. Mutations in Cdh23 cause nonsyndromic hearing loss in waltzer mice. *Genomics* 2001; **74(2)**: 228-233.
625. Witte RJ, Lane JI, Driscoll CL, Lundy LB, Bernstein MA, Kotsenas AL, et al. Pediatric and adult cochlear implantation. *Radiographics* 2003; **23(5)**: 1185-1200.
626. Wu WJ, Sha SH, Schacht J. Recent advances in understanding aminoglycoside ototoxicity and its prevention. *Audiol Neurootol* 2002; **7(3)**: 171-174.
627. Xia A, Katori Y, Oshima T, Watanabe K, Kikuchi T, Ikeda K. Expression of connexin 30 in the developing mouse cochlea. *Brain Res* 2001; **898(2)**: 364-367.
628. Xia A, Kikuchi T, Hozawa K, Katori Y, Takasaka T. Expression of connexin 26 and Na,K-ATPase in the developing mouse cochlear lateral wall: functional implications. *Brain Res* 1999; **846(1)**: 106-111.
629. Xia AP, Ikeda K, Katori Y, Oshima T, Kikuchi T, Takasaka T. Expression of connexin 31 in the developing mouse cochlea. *Neuroreport* 2000; **11(11)**: 2449-2453.
630. Xia AP, Kikuchi T, Minowa O, Katori Y, Oshima T, Noda T, et al. Late-onset hearing loss in a mouse model of DFN3 non-syndromic deafness: morphologic and immunohistochemical analyses. *Hear Res* 2002; **166(1-2)**: 150-158.
631. Xia JH, Liu CY, Tang BS, Pan Q, Huang L, Dai HP, et al. Mutations in the gene encoding gap junction protein beta-3 associated with autosomal dominant hearing impairment. *Nat Genet* 1998; **20(4)**: 370-373.
632. Xiang M, Gao WQ, Hasson T, Shin JJ. Requirement for Brn-3c in maturation and survival, but not in fate determination of inner ear hair cells. *Development* 1998; **125(20)**: 3935-3946.

633. Xiang M, Maklad A, Pirvola U, Fritzsche B. Brn3c null mutant mice show long-term, incomplete retention of some afferent inner ear innervation. *BMC Neurosci* 2003; **4(1)**: 2.
634. Xiao S, Yu C, Chou X, Yuan W, Wang Y, Bu L, et al. Dentinogenesis imperfecta 1 with or without progressive hearing loss is associated with distinct mutations in DSPP. *Nat Genet* 2001; **27(2)**: 201-204.
635. Xing G, Chen Z, Cao X. Mitochondrial rRNA and tRNA and hearing function. *Cell Res* 2007; **17(3)**: 227-239.
636. Yamane H, Nakai Y, Takayama M, Konishi K, Iguchi H, Nakagawa T, et al. The emergence of free radicals after acoustic trauma and strial blood flow. *Acta Otolaryngol Suppl* 1995; **519**: 87-92.
637. Yan D, Li F, Hall ML, Sage C, Hu WH, Giallourakis C, et al. An isoform of GTPase regulator DOCK4 localizes to the stereocilia in the inner ear and binds to harmonin (USH1C). *J Mol Biol* 2006; **357(3)**: 755-764.
638. Yan Q, Bykhovskaya Y, Li R, Mengesha E, Shohat M, Estivill X, et al. Human TRMU encoding the mitochondrial 5-methylaminomethyl-2-thiouridylate-methyltransferase is a putative nuclear modifier gene for the phenotypic expression of the deafness-associated 12S rRNA mutations. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; **342(4)**: 1130-1136.
639. Yan Q, Li X, Faye G, Guan MX. Mutations in MTO2 related to tRNA modification impair mitochondrial gene expression and protein synthesis in the presence of a paromomycin resistance mutation in mitochondrial 15 S rRNA. *J Biol Chem* 2005; **280(32)**: 29151-29157.
640. Yang M, Tan H, Yang Q, Wang F, Yao H, Wei Q, et al. Association of hsp70 polymorphisms with risk of noise-induced hearing loss in Chinese automobile workers. *Cell Stress Chaperones* 2006; **11(3)**: 233-239.
641. Yang M, Tan H, Zheng JR, Jiang CZ. Relationship between GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms and noise induced hearing loss in Chinese workers. *Wei Sheng Yan Jiu* 2005; **34(6)**: 647-649.
642. Yang M, Tan H, Zheng JR, Wang F, Jiang C, He M, et al. Association of cadherin CDH23 gene polymorphisms with noise induced hearing loss in Chinese workers. *Wei Sheng Yan Jiu* 2006; **35(1)**: 19-22.

643. Yang Q, Li G, Singh SK, Alexander EA, Schwartz JH. Vacuolar H⁺-ATPase B1 subunit mutations that cause inherited distal renal tubular acidosis affect proton pump assembly and trafficking in inner medullary collecting duct cells. *J Am Soc Nephrol* 2006; **17(7)**: 1858-1866.
644. Yang T, Pfister M, Blin N, Zenner HP, Pusch CM, Smith RJ. Genetic heterogeneity of deafness phenotypes linked to DFNA4. *Am J Med Genet A* 2005; **139(1)**: 9-12.
645. Yang T, Wei S, DeWan AT, Morell RJ, Efenbein JL, Fisher RA, et al. Mutations in the gamma-actin gene (ACTG1) are associated with dominant progressive deafness (DFNA20/26). *Am J Hum Genet* 2003; **73**: 1082-1091.
646. Yasunaga S, Grati M, Chardenoux S, Smith TN, Friedman TB, Lalwani AK, et al. OTOF encodes multiple long and short isoforms: genetic evidence that the long ones underlie recessive deafness DFNB9. *Am J Hum Genet* 2000; **67(3)**: 591-600.
647. Yasunaga S, Grati M, Cohen-Salmon M, El-Amraoui A, Mustapha M, Salem N, et al. A mutation in OTOF, encoding otoferlin, a FER-1-like protein, causes DFNB9, a nonsyndromic form of deafness. *Nat Genet* 1999; **21(4)**: 363-369.
648. Ylikoski J, Xing-Qun L, Virkkala J, Pirvola U. Blockade of c-Jun N-terminal kinase pathway attenuates gentamicin-induced cochlear and vestibular hair cell death. *Hear Res* 2002; **166(1-2)**: 33-43.
649. Yoshino T, Sato E, Nakashima T, Nagashima W, Teranishi MA, Nakayama A, et al. The immunohistochemical analysis of pendrin in the mouse inner ear. *Hear Res* 2004; **195(1-2)**: 9-16.
650. Yoshino T, Sato E, Nakashima T, Teranishi M, Yamamoto H, Otake H, et al. Distribution of pendrin in the organ of Corti of mice observed by electron immunomicroscopy. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2006; **263(8)**: 699-704.
651. Young TL, Ives E, Lynch E, Person R, Snook S, MacLaren L, et al. Nonsyndromic progressive hearing loss DFNA38 is caused by heterozygous missense mutation in the Wolfram syndrome gene WFS1. *Hum Mol Genet* 2001; **10(22)**: 2509-2514.
652. Young WY, Zhao L, Qian Y, Li R, Chen J, Yuan H, et al. Variants in mitochondrial tRNAGlu, tRNAArg, and tRNAThr may influence the phenotypic manifestation of deafness-associated 12S rRNA A1555G mutation in three Han Chinese families with hearing loss. *Am J Med Genet A* 2006; **140(20)**: 2188-2197.

653. Yu C, Meng X, Zhang S, Zhao G, Hu L, Kong X. A 3-nucleotide deletion in the polypyrimidine tract of intron 7 of the DFNA5 gene causes nonsyndromic hearing impairment in a Chinese family. *Genomics* 2003; **82(5)**: 575-579.
654. Zdanski CJ, Prazma J, Petrusz P, Grossman G, Raynor E, Smith TL, et al. Nitric oxide synthase is an active enzyme in the spiral ganglion cells of the rat cochlea. *Hear Res* 1994; **79(1-2)**: 39-47.
655. Zelante L, Gasparini P, Estivill X, Melchionda S, D'Agruma L, Govea N, et al. Connexin26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans. *Hum Mol Genet* 1997; **6(9)**: 1605-1609.
656. Zhang Y, Tang W, Ahmad S, Sipp JA, Chen P, Lin X. Gap junction-mediated intercellular biochemical coupling in cochlear supporting cells is required for normal cochlear functions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102(42)**: 15201-15206.
657. Zhao H, Li R, Wang Q, Yan Q, Deng JH, Han D, et al. Maternally inherited aminoglycoside-induced and nonsyndromic deafness is associated with the novel C1494T mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene in a large Chinese family. *Am J Hum Genet* 2004; **74(1)**: 139-152.
658. Zhao HB. Connexin26 is responsible for anionic molecule permeability in the cochlea for intercellular signalling and metabolic communications. *Eur J Neurosci* 2005; **21(7)**: 1859-1868.
659. Zhao HB, Kikuchi T, Ngezahayo A, White TW. Gap junctions and cochlear homeostasis. *J Membr Biol* 2006; **209(2-3)**: 177-186.
660. Zheng J, Du GG, Matsuda K, Orem A, Aguinaga S, Deak L, et al. The C-terminus of prestin influences nonlinear capacitance and plasma membrane targeting. *J Cell Sci* 2005; **118(Pt 13)**: 2987-2996.
661. Zheng J, Long KB, Matsuda KB, Madison LD, Ryan AD, Dallos PD. Genomic characterization and expression of mouse prestin, the motor protein of outer hair cells. *Mamm Genome* 2003; **14(2)**: 87-96.
662. Zheng J, Long KB, Shen W, Madison LD, Dallos P. Prestin topology: localization of protein epitopes in relation to the plasma membrane. *Neuroreport* 2001; **12(9)**: 1929-1935.
663. Zheng J, Shen W, He DZ, Long KB, Madison LD, Dallos P. Prestin is the motor protein of cochlear outer hair cells. *Nature* 2000; **405(6783)**: 149-155.

664. Zheng JL, Gao WQ. Overexpression of Math1 induces robust production of extra hair cells in postnatal rat inner ears. *Nat Neurosci* 2000; **3(6)**: 580-586.
665. Zheng L, Sekerkova G, Vranich K, Tilney LG, Mugnaini E, Bartles JR. The deaf jerker mouse has a mutation in the gene encoding the espin actin-bundling proteins of hair cell stereocilia and lacks espins. *Cell* 2000; **102(3)**: 377-385.
666. Zheng QY, Rozanas CR, Thalmann I, Chance MR, Alagramam KN. Inner ear proteomics of mouse models for deafness, a discovery strategy. *Brain Res* 2006; **1091(1)**: 113-121.
667. Zhu M, Yang T, Wei S, DeWan AT, Morell RJ, Elfenbein JL, et al. Mutations in the gamma-actin gene (ACTG1) are associated with dominant progressive deafness (DFNA20/26). *Am J Hum Genet* 2003; **73(5)**: 1082-1091.
668. Zou D, Silvius D, Rodrigo-Blomqvist S, Enerback S, Xu PX. Eya1 regulates the growth of otic epithelium and interacts with Pax2 during the development of all sensory areas in the inner ear. *Dev Biol* 2006; **298(2)**: 430-441.
669. Zuo J, Rarey KE. Responsiveness of alpha 1 and beta 1 cochlear Na, KATPase isoforms to thyroid hormone. *Acta Otolaryngol* 1996; **116(3)**: 422-428.
670. Zwaenepoel I, Mustapha M, Leibovici M, Verpy E, Goodyear R, Liu XZ, et al. 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 USA* 2002; **99(9)**: 6240-6245.

FORMLAR

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

MOLEKÜLER ARAŞTIRMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Proje Adı: Kalıtsal Duyma Kayıplarına Neden Olan Genlerin; Haritalama, Kritik Bölge Analizi ve Mutasyon Tarama Yöntemleri ile Saptanması

Hastalık adı:

Tarih:

Bu araştırma, kalıtsal bir hastalığı bulunan hastalar ile ailelerini ilgilendiren bir çalışmadır. Böylesi bir çalışmaya katılma kararı vermeden önce sizleri çalışmanın amacı, riskleri ve yararları konusunda bilgilendirmek istiyoruz. Aşağıdaki **Moleküler Araştırmalar için Bilgilendirilmiş Onay Formunu** okuduktan sonra çalışmaya katılma kararı verirseniz formu lütfen imzalayınız.

1.Yapılacak işlemin tanımı:

Araştırmanın amacı sizde/ aile bireylerinizde yukarıda belirtilen genetik hastalığa yol açan genetik faktörleri tanımlamaktır. Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü Tıbbi Genetik Bilim Dalı tarafından yürütülecektir.

Yapılan epidemiyolojik ve genetik çalışmalar, bu hastalığa genetik faktörlerin yol açabileceğini düşündürmektedir. Hastalığa neden olan gen ve genlerin tanımlanabilmesi amacı ile yapılacak analizler için sizden ve ailenizin etkilenmiş ve etkilenmemiş üyelerinden kan örnekleri almamız gerekecektir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmada gönüllü katılım esas alınmıştır. Bu çalışma için sizden alınan kanlardan elde edilecek DNA örnekleri başka bir çalışma için kullanılmayacaktır.

2. Olası riskler ve faydalar :

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: (1) İğne-batmasına bağlı olarak az bir acı duyulması. (2) İğne batması sonrasında çok nadiren enfeksiyon gelişebilir.

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilgi kesinlikle gizli kalacaktır. Ancak yaptığımız testlerin sizin veya ailenizin bir bireyinin gelecekte bu genetik hastalıktan etkileneceğini ortaya çıkarabileceğini belirtmek isteriz. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizde psikolojik sorun da yaratabilir. Sizde böyle bir gen bulunduğunu saptadığımızda bulgularımızı istediğiniz takdirde size bildireceğiz. Ancak bu bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninizle olacaktır. Genetik testlerin önemli bir riski de bu testler sonucunda anne yada babanın biyolojik kimliğinin saptanmasıdır. Bu durumlarda da gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır.

Çocuklarla ilgili açıklamalar: Çalışmalarımız sonlandığında çocuklarınızın bu geni taşıdığını ve bunun ilerdeki kuşaklar için bir risk oluşturduğunu bulabiliriz. Bu bulgularımız çocuklara erişkin çağa ulaşmaya kadar anlatılmayacak ve onlarla tartışılmayacaktır. Erişkin dönemlerinde kendi arzuları doğrultusunda bilgi ve genetik danışma sağlanacaktır. Bu açıklamalar doğrultusunda çocuğunuzun bu çalışmaya katılması için tercihen her iki ebeveynin, eğer mevcut değilse bir tanesinin izin formunu imzalaması gerekmektedir.

Olası yararlar: Bu çalışmanın esas amacı ailenizde saptanan genetik hastalığa neden olan veya ortaya çıkmasını kolaylaştıran genetik faktörleri öğrenmektir. Biz bu aşamada size veya çocuğunuza doğrudan yada dolaylı bir yararının olup olmayacağını henüz bilmiyoruz. Fakat kesin olan bu hastalığın nedenleri konusunda daha çok şey öğrenebileceğimiz ve böylece gelecekte diğer hastalara daha çok yardımcı olabileceğimizeyizdir.

Diğer seçenekler: Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz.

Uygulanacak işlemin yapısı ve amacı hakkında, olası riskleri ve yararları tarafımdan ,

(Doktor Adı)

hastaya, -----

(Aile Adı)

anlatılmıştır. Sorulan sorular tarafımdan cevaplandırılmış ve cevaplandırılmaya devam edilecektir.

Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek yeni riskler ve/veya yararlar tarafımdan katılımcıya iletilecektir.

Tarih :

Doktorun imzası:

Kontak kurulabilecek kişiler: Prof. Dr. Seher BAŞARAN

Uzm. Bio. Abdullah ÜZÜMCÜ

Ulaşılabilir Tel. No.'ları: Direk hat: (0 212) 631 13 63

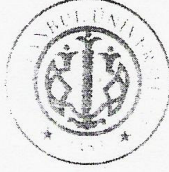
Dahili hat: (0 212) 414 20 00 - 32327

Ulaşım Adresi: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi

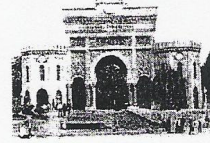
Çocuk Sağlığı Enstitüsü Tıbbi Genetik Bilim Dalı

Millet Cad. 34390 Çapa – İSTANBUL

Elektronik Posta Adresi: uzumcu@pretam.com



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI
Yerel Etik Kurulu



Sayı : 1579

Tarih : 20/10/2005

Konu : Prof.Dr.Seher Başaran hk.

Sayın Prof.Dr.Seher Başaran
Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü
Öğretim Üyesi

İlgi : 07.09.2005 tarih,1208 sayılı yazınıza cevaben.

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Genetik Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi Abdullah Üzümcü'nün yürüteceği 2005/1376 dosya no'lu "Kalıtsal duyma kayıplarına neden olan genlerin; haritalama, kritik bölge analizi ve mutasyon tarama yöntemleri ile saptanması" başlıklı doktora tezi etik kurulumuzun 12.10.2005 tarih,10 sayılı toplantısında onaylandığına dair tutanağımız ekte sunulmuştur. Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.

Prof.Dr. Zafer ARI
İstanbul Tıp Fakültesi
Etik Kurul Başkanı

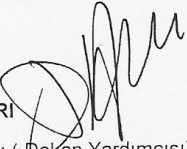
Eki: Tutanak




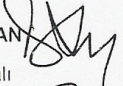
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
YEREL ETİK KURUL TUTANAĞI

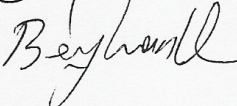
Toplantı Tarihi : 12/10/2005
Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Pembe Salon
Toplantı Sayısı : 10

Sorumlu araştırmacılığını Fakültemiz Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Öğretim Üyesi Prof.Dr. Seher Başaran'ın üstlendiği ve Genetik Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi Abdullah Uzümcü'nün yürüteceği 2005/1376 protokol numaralı "Kalıtsal duyma kayıplarına neden olan genlerin; haritalama, kritik bölge analizi ve mutasyon tarama yöntemleri ile saptanması" başlıklı doktora tezi etik kurulumuzda incelendi etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü,uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof.Dr. Zafer ARI 
Etik Kurul Başkanı (Dekan Yardımcısı)

Prof.Dr. Aykan CANBERK 
Farmakoloji ve Kli.F. A.D

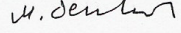
Prof.Dr. Berrin UMMAN 
Kardiyoloji Anabilim Dalı

Prof.Dr. Beyhan ÖMER 
Biyokimya A.D

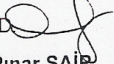
Prof.Dr. Cahide GÖKKUŞU
Biokimya A.D

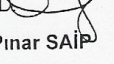
Prof.Dr. Kamil PEMBEÇİ
Anesteziyoloji A.D.

Prof.Dr. Mübeccel DEMİRKOL

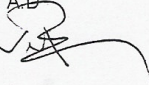
Çocuk Sağ. Ve Hast. A.D 

Prof.Dr. Nuran YILDIRIM
Deontoloji ve Tıp Tarihi A.D

Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN
Nöroloji A.D 

Prof.Dr. Pınar SAIĞI 
İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Prof.Dr. Selim BADUR
Mikrobiyoloji ve Kli.Mik. A.D

Prof.Dr. Veli UYSAL 
Patoloji A.D

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Abdullah	Soyadı	ÜZÜMCÜ
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	27.01.1979
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	30913622556
Email	a.uzumcu@gmail.com	Tel	0505 456 67 61

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniv. Sağlık Bilimleri Ens. Genetik Programı	2008
Yük.Lis.	İstanbul Üniv. Sağlık Bilimleri Ens. Genetik Programı	2002
Lisans	Marmara Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Bölümü	2000
Lise	Küçükyalı Kadir Has Süper Lisesi	1996

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	91.250	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
ALES Puanı	83.314	82.063	80.542

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok iyi

Yayınları

- Kalay E, **Uzumcu A**, Krieger E, Caylan R, Uyguner O, Ulubil-Emiroglu M, Erdol H, Kayserili H, Hafiz G, Başerer N, Heister AJ, Hennies HC, Nürnberg P, Başaran S, Brunner HG, Cremers CW, Karaguzel A, Wollnik B, Kremer H. **MYO15A (DFNB3) mutations in Turkish hearing loss families and functional modeling of a novel motor domain mutation.** Am J Med Genet A. 2007; 143(20): 2382-2389.
- Kalay E, Li Y, **Uzumcu A**, Uyguner O, Collin RW, Caylan R, Ulubil-Emiroglu M, Kersten FF, Hafiz G, van Wijk E, Kayserili H, Rohmann E, Wagenstaller J, Hoefsloot LH, Strom TM, Nürnberg G, Baserer N, den Hollander AI, Cremers FP, Cremers CW, Becker C, Brunner HG, Nürnberg P, Karaguzel A, Basaran S, Kubisch C, Kremer H, Wollnik B. **Mutations in the lipoma HMGIC fusion partner-like 5 (LHFPL5) gene cause autosomal recessive nonsyndromic hearing loss.** Hum Mutat. 2006; 27(7): 633-639.
- Rohmann E, Brunner HG, Kayserili H, Uyguner O, Nürnberg G, Lew ED, Dobbie A, Eswarakumar VP, **Uzumcu A**, Ulubil-Emiroglu M, Leroy JG, Li Y, Becker C, Lehnerdt K, Cremers CW, Yüksel-Apak M, Nürnberg P, Kubisch C, Schlessinger J, van Bokhoven H, Wollnik B. **Mutations in different components of FGF signaling in LADD syndrome.** Nat Genet. 2006; 38(4): 414-417.
- **Uzumcu A**, Norgett EE, Dindar A, Uyguner O, Nisli K, Kayserili H, Sahin SE, Dupont E, Severs NJ, Leigh IM, Yüksel-Apak M, Kelsell DP, Wollnik B. **Loss of desmoplakin isoform I causes early onset cardiomyopathy and heart failure in a Naxos-like syndrome.** J Med Genet. 2006; 43(2): e5.
- Tükel T, **Uzumcu A**, Gezer A, Kayserili H, Yüksel-Apak M, Uyguner O, Gültekin SH, Hennies HC, Nürnberg P, Desnick RJ, Wollnik B. **A new syndrome, congenital extraocular muscle fibrosis with ulnar hand anomalies, maps to chromosome 21qter.** J Med Genet. 2005; 42(5): 408-415.
- Uyguner O, Emiroglu M, **Uzumcu A**, Hafiz G, Ghanbari A, Baserer N, Yüksel-Apak M, Wollnik B. **Frequencies of gap- and tight-junction mutations in Turkish families with autosomal-recessive non-syndromic hearing loss.** Clin Genet. 2003; 64(1): 65-69.