

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Biologie

MOBIBO



Denisa Stoklásková

Populačně genetické a evoluční aspekty lidské hluchoty
Population genetic and evolutionary aspects of human deafness

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Roman Šolc, Ph.D.

Praha, 2022

Poděkování:

Tímto bych ráda poděkovala svému vedoucímu práce RNDr. Romanu Šolcovi, Ph.D. za trpělivost a ochotu. Za cenné rady, nápady a nepostradatelnou zpětnou vazbu a pomoc při zpracování této práce.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 04. 08. 2022

Podpis

Abstrakt

Lidská hluchota je nejčastější smyslová porucha na světě, která se vyskytuje u více než půl miliardy lidí a předpokládá se, že do roku 2050 se jejich počet zvýší na 900 milionů. Jedná se o monogenně dědičné onemocnění, které je extrémně heterogenní. Díky vysoké různorodosti se dá hluchota klasifikovat hned do několika kategorií. Tato práce pojednává zejména o geneticky populačních a evolučních aspektech nesyndromatické autozomálně dominantní či recesivní hluchoty. Zaměřuje se na souvislost asortativního páření a vysoké frekvence recesivních mutančních alel v populaci a zároveň snaží se poukázat na možné fenotypové výhody pro nositele dané mutace.

Klíčová slova

nesyndromatická hluchota, evoluce, populace, epidemiologie, konexin, sekvenování nové generace, environmentální aspekty,

Abstract

Human deafness is the world's most common sensory disorder, affecting more than half a billion people and is expected to increase to 900 million by 2050. It is a monogenically inherited disease that is extremely heterogeneous. Due to its high heterogeneity, deafness can be classified into several categories. This thesis will mainly discuss the genetic population and evolutionary aspects of non-syndromic autosomal dominant or recessive deafness. It focuses on the connection between assortative mating and the high frequency of recessive mutant alleles in the population and also tries to point out possible phenotypic advantages for carriers of the mutation.

Key words

nonsyndromatic deafness, evolution, population, epidemiology, connexin, next generation sequencing, environmental aspects

Seznam zkratek

ARNSHL	autozomálně recesivní nesyndromatická ztráta sluchu
ATP	adenosintrifosfát
DFN	DeaFNess, označení lokusu, na kterém byl nalezen gen, související s lidskou hluchotou
DFN (číslice)	označení hluchoty na pohlaví vázané, gen na chromozomu X
DFNA	označení pro autozomálně dominantní hluchotu
DFNB	označení pro autozomálně recesivní hluchota
DNA	deoxyribonukleová kyselina
FISH	fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace
CHL	<i>conductive hearing loss</i> (převodní ztráta sluchu)
IHC	inner hair cell (vnitřní vlásková buňka)
NGS	<i>next generation sequencing</i> (sekvenování nové generace)
NICU	<i>neonatal intensive care unit</i> (jednotka intenzivní péče pro novorozence)
NSRD	nesyndromatická recesivní hluchota
OHC	<i>outer hair cell</i> (vnější vlásková buňka)
RNA	ribonukleová kyselina
rRNA	ribosomální ribonukleová kyselina
SNHL	<i>sensorineural hearing loss</i> (senzorieurální ztráta sluchu)
WGS	<i>whole genom sequencing</i> (sekvenování celého genomu)

Obsah

1	Úvod	1
2	Geny spojené s nesyndromatickou hluchotou	2
2.1	CDH23 a adheze	4
2.2	TMPRSS3	4
2.3	GJB2 a mezerové spoje	5
2.4	KCNQ4 a iontové kanály, pumpy a transportéry	6
2.5	SLC26A4	7
2.6	MYH9 a myozinové motory	8
2.7	OTOF a neurální či synaptická funkce	8
2.8	POU3F4 a regulátory transkripce	8
3	NSHL v různých populacích	10
3.1	Iran	10
3.2	Japonsko	10
3.3	Česká republika	12
4	Hluchota a její udržení v populaci	13
4.1	Asortativní páření a relaxovaná selekce	13
4.2	Lepší sociální podmínky pro neslyšící	15
4.3	Fenotypová výhoda pro nositele mutace	15
4.4	Aminoglykosidy – environmentální faktor	16
5	Ztráta sluchu na pohlaví vázaná	17
6	Next-generation sequencing	18
7	Závěr	19
8	Přehled použité literatury	21

1 Úvod

Ztráta sluchu je celosvětově nejčastější smyslový deficit, který postihuje více než půl miliardy lidí (Smith et al., 2005; Wilson et al., 2017). Normální sluch je definován jako sluchový práh ≤ 25 dB na obou uších. Stupně ztráty sluchu se poté klasifikují jako lehký (26 dB až 40 dB), mírný (41 dB až 55 dB), středně těžký (56 dB až 70 dB), těžký (71 dB až 90 dB) nebo hluboký (≥ 91 dB) (Koffler et al. 2015). Přestože neexistuje jasné vymezení hluchoty, někdy se termín „nedoslýchavost“ (*hard of hearing*) používá jako označení pro osoby s lehkou až středně těžkou ztrátou sluchu, zatímco „neslyšící“ (*deaf*) je častěji spojováno s osobami s hlubokým sluchovým postižením (Smith et al., 2005).

Díky velké různorodosti tohoto postižení existuje i mnoho způsobů, jak kategorizovat a popsat ztrátu sluchu. Z hlediska anatomických vad existují dvě široké kategorie: převodní ztráta sluchu (CHL) a senzorineurální ztráta sluchu (SNHL). Etiologicky založenou klasifikaci poruchy sluchu lze obecně rozdělit na genetickou a negenetickou (Shibata et al., 2014).

Genetickou ztrátu sluchu poté lze rozdělit na dědičnost mendelovskou versus komplexní dědičnost. Mendelovskými dědičnými ztrátami sluchu se dále dělí na syndromickou a nesyndromickou, a to na základě přítomnosti či nepřítomnosti koincidenčních anomálií. Tyto stavy se následně dělí podle vzorce dědičnosti: autozomálně dominantní, autozomálně recesivní, X-vázané a mitochondriální (Shibata et al., 2014).

Vysoká heterogenita hluchoty vylučuje sdružování mnoha malých rodin do velké genetické studie, a spolu s častým výskytem asortativního páření je tak nevhodné využít studium vazeb (van Camp et al., 1997). Různé překážky, které bránily v minulosti studiím vazby u NSHL, byly překonány na počátku 90. let 20. století, kdy k mapování autozomálně recesivních genů NSHL byly použity vícegenerační rodokmeny z izolovaných oblastí. U těchto rodin se vyskytuje mnoho postižených jedinců, a vzhledem k jejich izolovanému prostředí je vysoká šance, že rodinnou ztrátu sluchu způsobuje jediný gen. Typickým příkladem tohoto přístupu je mapování genu DFNB3 na chromozomu 17p11.2, které provedli Friedman et al. (1995).

Ačkoli je zřejmé, že hluchotu může způsobovat velké množství genů, právě mutace v jediném lokusu, *GJB2* nebo konexin 26, způsobující autozomálně recesivní ztrátu sluchu, představuje více než polovinu všech genetických případů ve většině populací. Vysoká frekvence může souviset s výrazně lepšími sociálními, vzdělávacími a ekonomickými podmínkami neslyšících, které začaly se zavedením znakového jazyka před 300–400 lety, spolu s vysokou četností sňatků mezi neslyšícími v mnoha zemích (Nance, 2003).

2 Geny spojené s nesyndromatickou hluchotou

Hluchota je etiologicky heterogenní monogenní porucha s mnoha genetickými a environmentálními příčinami. Genetické faktory mají za následek minimálně polovinu všech případů hluboké vrozené hluchoty (Nance, 2003).

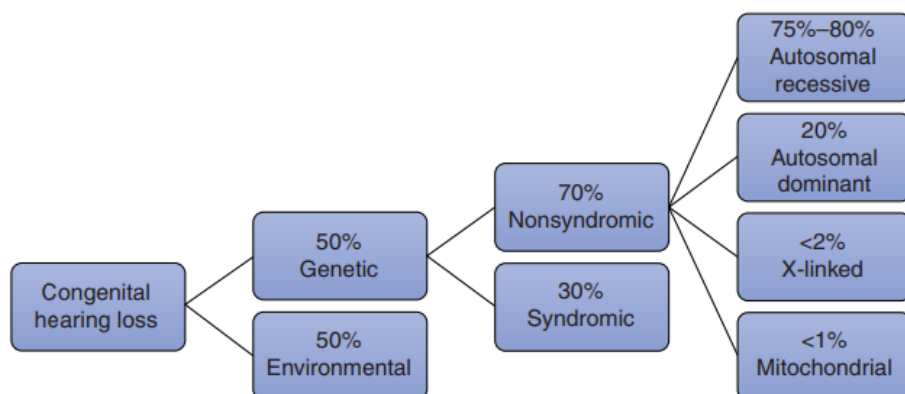
Jak se můžeme z odborné literatury dozvědět, až 1 % z přibližně 30 000 lidských genů je nepostradatelné pro správné fungování sluchu (Friedman & Griffith, 2003).

Příčinou vysoké míry genetické heterogenity lidské hluchoty je velká rozmanitost specializovaných proteinů, které jsou nutné pro vnímání zvuku. K objevení těchto poznatků napomohlo studium spontánních, indukovaných i cílených mutací, způsobujících poruchy sluchu u myši, jelikož, sluchový systém myši je, co do vývoje a struktury, dosti podobný lidskému (Ahituv & Avraham, 2002; Anagnostopoulos, 2002).

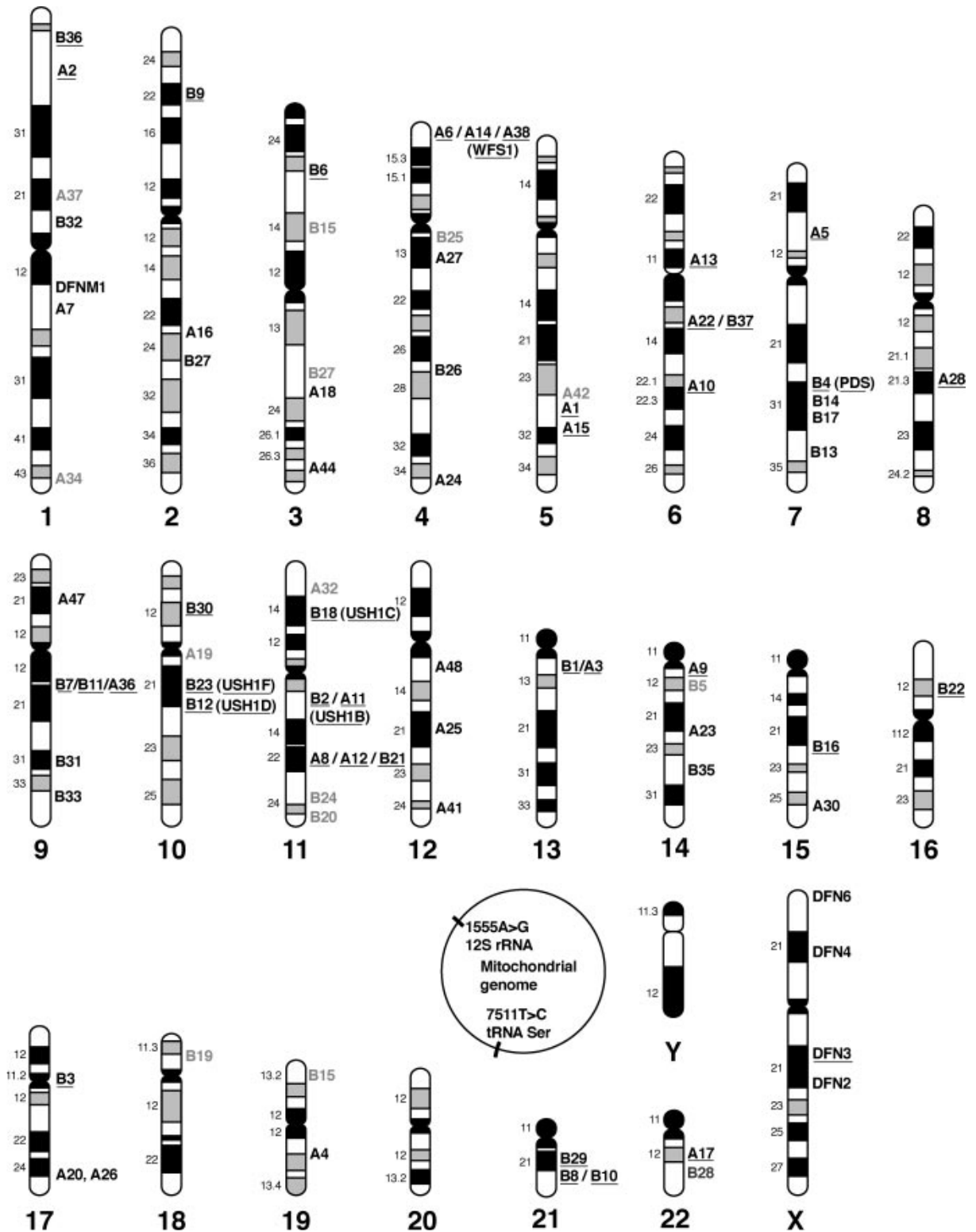
Označit mutantní alelu jako „nesyndromatickou“ je velice obtížné, a to i přesto, že je gen identifikován a je znám i jeho prostorový expresní vzorec. Proto by mělo být toto pojmenování pouze předběžné. Molekulární studie dokonce ukázala, že v rámci jednoho lokusu mohou být přítomny různé mutace, které zapříčiňují vznik odlišných fenotypů, a mohou tak mít za následek vznik jak nesyndromatické ztráty sluchu, tak syndromatické. (Friedman & Griffith, 2003).

Klasifikace nesyndromatických lokusů je matoucí. Všechny lokusy byly klasifikovány jako DFN (pro *DeafNess*), za nimiž následuje číslo označující chronologické pořadí identifikace lokusu. Nesyndromatické genetické lokusy pro ztrátu sluchu jsou pojmenovány konvencí DFN# (autozomálně recesivní), DFNA# (autozomálně dominantní) a DFNX# (vázané na X) (viz **Obrázek 2**).

Nejčastější dědičnost vrozené nesyndromické SNHL je autozomálně recesivní (~75-80 %). Autozomálně dominantní SNHL představuje ~20 %, X-vázaná <2 % a mitochondriální <1 % (viz **Obrázek 1**) (Shibata et al., 2014).



Obrázek 1: Celkový celosvětový přehled vlivu prostředí a genetiky na vrozenou ztrátu sluchu a přehled výskytu jednotlivých typů ztráty sluchu. Procenta se mění v konkrétních zemích (viz (Smith et al., 2005)).



Obrázek 2: Cytogenetická mapa pozic lokusů nesyndromatické lidské hluchoty. Pokud je gen znám, lokus pro hluchotu je podtržen. Tučným černým písmen jsou psány ty lokusy, které jsou publikovány se statisticky významnými daty pro vazbu s hluchotou. Šedým písmem jsou v této mapě vyznačené ty lokusy, které představují možnou vazbu s hluchotou, avšak nejsou o nich publikovány žádná významná data, kterou by tuto vazbu potvrdily. DNF je symbol lokusu pro hluchotu. Je to pouze kořen, a následující přípony rozdělují tyto lokusy více specificky. Přípona A nebo B, označují mutantní alely, které segregují jako autozomálně dominantní nebo autozomálně recesivní. Naopak číselné přípony označují nesyndromatickou hluchotu vázanou na pohlaví. Pokud mutace na lokusu

nesyndromatické hluchoty způsobuje i syndromatickou hluchotu, je symbol pro tento syndrom uveden v závorce. *DFNM1* na chromozomu 1q24 je dominantním modifikátorem *DFNB26* na chromozomu 4q31. Mutantní alely mohou tvořit základ pro 2 a více lokusů, které se překrývají. Takovým příkladem mohou být třeba mutantní alely *TMC1*, které byly nalezeny v populacích, které definovaly tři překrývající se lokusy (*DFNB7*, *DFNB11*, *DFNA36*) a jsou reprezentovány jako B7/B11/A36. Ty lokusy, které byly mapovány právě do překrývajících se intervalů, a ty geny které nebyly identifikovány, jsou zapsány na stejném řádku odděleny čárkou (například A20, A60), (viz (Friedman & Griffith, 2003)).

2.1 *CDH23* a adheze

CDH23 kóduje kadherin 23 a jeho mutace způsobuje, jak nesyndromatickou hluchotu *DFNB12* (Bork et al., 2001a), tak Usherův syndrom *USH1D* (Bolz et al., 2001; Bork et al., 2001a). Kadheriny jsou membránově vázané glykoproteinové receptory, které fungují při kontaktu dvou buněk na adhezenčních spojích (Nagafuchi, 2001), a pravděpodobně vytvářejí extracelulární spojení mezi sousedními stereociliemi vláskových buněk. Kadheriny se také seskupují na základě tandemových repetičí extracelulárního kadherin-specifického motivu (EC doména) (Nollet et al., 2000; Suzuki, 1996), a mají obvykle jedinou předpokládanou membránově se rozprostírající doménu s cytoplazmatickou doménou, jež se podílí na vazbě na cytoskelet.

Mutace v tomto genu zapříčiňuje nesyndromatickou recesivní hluchotou, a její lokus *DFNB12* byl mapován na chromozomové oblasti 10q21-q22 (Chaïb et al., 1996). Dále bylo zjištěno, že druh mutace rozhoduje o tom, jakým typem hluchoty daný jedinec bude trpět. U pacientů trpících nesyndromatickou recesivní ztrátou sluchu byla zjištěna *missense* mutace v alelách genu *CDH23*, naopak u pacientů, vykazujících fenotyp Usherova syndromu, byla objevena v genu *CDH23* *nonsense* mutace (Astuto et al., 2002; Bork et al., 2001a).

Největší izoforma *CDH23* se skládá z 69 exonů kódujících protein složený z 3354 aminokyselin. Exon 68 je exprimován přednostně ve vnitřním uchu, ne však v mozku nebo v sítnici (Boëda et al., 2002; Bolz et al., 2001; Bork et al., 2001b; Siemens et al., 2002). Z více kombinujících se studií, se přišlo na to, že kadherin 23 interaguje s proteinem zvaným harmonin, který je spojený s myosinem VIIA, a angažuje se v organizaci stereocilií vláskových buněk, pravděpodobně prostřednictvím homofilních interakcí na sousedních stereociliích (Boëda et al., 2002; Siemens et al., 2002). Byla prokázána hybridizace v jazyku a čichových bulbech, vláskových buňkách vestibulárního sensorického epitelu a buňkách obsahujících Reissnerovu membránu, také i kochleární vnitřní a vnější vláskové buňky, a to za použití embryonální tkáně z 18. dne analýzou exprese *in situ* za použití sondy *Cdh23* (Wilson et al., 2001).

2.2 *TMPRSS3*

Tento gen kóduje transmembránovou proteázu, serin 3. Její mutace způsobuje nesyndromatickou hluchotu s nástupem v dětství, kterou můžeme najít u pákistánské populace (Veske et al., 1996), a zároveň má za následek vrozenou hluchotu v palestinské populaci (Bonné-Tamir et al., 1996). Mutace tohoto genu vyvolává u postiženého jedince recesivní nesyndromatickou hluchotu. Po

důkladném mapování lokusů DFNB8 a DFNB10, byla zjištěna vazba obou lokusů na chromosom 21q22.3.

TMPRSS3 obsahuje nejméně 12 kódujících exonů a bylo popsáno několik sestřihových izoform (Ben-Yosef et al., 2001a; Masmoudi et al., 2001; Scott et al., 2001). Jeho kódovaný protein má vazbu na endoplazmatické retikulum a má konzervovanou sekvenci serinové proteázy na C-konci (Guipponi et al., 2002).

Za základě různých fenotypů byly DFNB8 a DFNB10 považovány za odlišné lokusy. Při studii obou populací a jejich příslušných lokusech byly zjištěny i odlišné mutace. Zatímco pákistánští občané s lokusy DFNB8 vykazovali mutaci v místě sestřihu pro *TMPRSS3*, jedinci palestínské populace nesli β -satelitní inzerci/deleci (Pfister et al., 2002). Ačkoli mutace *TMPRSS3* představují až 6 % nesyndromatické hluchoty u pákistánské populace, jedná se pouze o zlomek příčin recesivní hluchoty v severoamerické populaci (Ben-Yosef et al., 2001b).

EnaC, epiteliální sodíkový kanál, který je exprimován v mnoha tkáních absorbujících sodík, včetně vnitřního ucha, a je regulován membránově vázanými serinovými proteázami aktivujícími kanál, se ukázal být možným substrátem pro *TMPRSS3*. Tyto kanály se ve vnitřním uchu podílejí na homeostáze sodíku v endolymfě (Gründer et al., 2001). Přesto, že není přesný mechanismus znám, bylo zjištěno, že v oocytech *Xenopus laevis* byl proteolytický proces *TMPRSS3* spojen se zvýšením sodíkových proudů spojených s koexprimovanými podjednotkami krysího EnaC. Naproti tomu jedinci s *TMPRSS3* *missense* alelou nevykazovali proteolytickou aktivitu a EnaC postrádalo svou aktivitu (Guipponi et al., 2002). Bohužel je třeba provést v budoucnu dostatek studií pro potvrzení této hypotézy a pro potvrzení, že za ztrátu proteázové aktivity je opravdu zodpovědná patogeneze hluchoty DFNB8/B10.

2.3 GJB2 a mezerové spoje

Mezerové spoje (*gap junctions*) jsou kanály, které umožňují spojení cytoplazmatických kompartmentů sousedních buněk, a jsou tvořené polokanály – konexony. Ty jsou složeny ze 6 podjednotek proteinu zvaném konexin (Bruzzone et al., 1996; Goodenough et al., 1996). Podrobné studium struktury naznačilo, že přítomné mezerové spoje jsou důležité pro mezibuněčnou komunikaci a homeostázi ve vnitřním uchu. Také jsou zde zodpovědné za signalizaci mezi buňkami a transport vody a iontů mezi sousedními buňkami (Kikuchi et al., 1995).

GJB2 kóduje konexin 26, protein podílející se na struktuře mezerových spojů. Proto se tento gen také někdy označuje jako *Cx26*. *GJB2* je spojován s nesyndromatickou recesivní hluchotou (NSRD), která se vyskytuje ve dvou navzájem si příbuzných rodin z Tuniska, a jejich mapováním pomocí analýzy vazby se přišlo na lokus DFNB1 v chromozómové oblasti 13q12 (Guilford et al., 1994). Studium příbuzných i nepříbuzných rodin z různých populací, kde se též objevilo spojení NSRD s DFNB1, se

dospělo k závěru, že lokus DFNB1 je hlavním faktorem příčiny těžkých případů dědičné hluchoty v mnoha populacích (Brown et al., 1996; Gasparini et al., 1997; Kelsell et al., 1997; Maw et al., 1995; Scott et al., 1995).

Tento gen je složen ze 2 exonů, a to z exonu 1, který kóduje nepřekládanou oblast a exonu 2, který obsahuje celý otevřený čtecí rámec kódující 208 aminokyselin. Tento fakt zjednodušuje celou analýzu mutací, jelikož většina mutací je lokalizována právě v exonu 2 (Carrasquillo et al., 1997; Scott et al., 1998). V některých populacích, jako jsou například etnické skupiny v jižní Evropě nebo aškenázští Židé, představuje mutace *GJB2* drtivou většinu příčin nesyndromatické hluchoty. Statistická čísla pacientů s mutací v tomto genu se pohybují oko 50-80 % (Estivill et al., 1998).

Bohužel i přes veškeré snahy a pokroky v pochopení molekulární patogeneze DFNB1 hluchoty, stále není úplně jasné, proč se u postižených jedinců vyskytuje pouze jedna recesivní mutantní alela *GJB2*. To bylo díky nedávnému objevu alespoň částečně rozluštěno, v podobě identifikování delece o rozsahu 342 kb, v genu kódujícím konexin 30 (*GJB6*). Což je protein, který je exprimován společně s konexinem 26 (*GJB2*) ve vnitřním uchu. Delece se distálně rozšířila i na *GJB2*, avšak nenarušila jeho integritu (del Castillo et al., 2002; Lerer et al., 2001). Údaje vědců naznačují, že mutace v komplexním lokusu DFNB1, který obsahuje dva geny (*GJB2* a *GJB6*), mohou vést k monogennímu nebo digennímu vzoru dědičnosti prelingvální hluchoty (del Castillo et al., 2002).

Tato delece byla také zjištěna v populacích, pro které je hluchota DFNB1 běžná: u španělských, kubánských, francouzských a aškenázských Židů (del Castillo et al., 2002; Lerer et al., 2001; Pallares-Ruiz et al., 2002). Důležitou otázkou, kterou se vědci zabývají, je, jak to, že někteří jedinci, kteří jsou homozygotní v mutaci 35delG (pravděpodobně s nefunkčním konexinem 26) trpí pouze mírnou nebo postupnou ztrátou sluchu (Cohn et al., 1999). Z pozorování tohoto jevu vyplývá, že ztráta funkce konexinu 26 ve sluchovém ústrojí některých jedinců, musí být kompenzována (Kelsell et al., 1997).

2.4 *KCNQ4* a iontové kanály, pumpy a transportéry

KCNQ4 je gen, patřící do rodiny napěťově řízených draslíkových kanálů. Byl funkčně klonován a dále mapován pomocí metody FISH na chromosom 1p34, čímž byl stanoven jako potenciální gen, který je základem pro DFNA2 (Kubisch et al., 1999).

Díky rentgenové krystalografii dobře známa struktura i funkce napěťově řízených draslíkových kanálů (A et al., 1998). Víme tedy, že jsou složeny z homo-, či heterotetramerního komplexu, kdy každá ze čtyř podjednotek obsahuje 6 transmembránových domén s cytoplazmatickými N- a C- konci a konzervovaný segment pór-smyčka (*pore-loop*) mezi pátou a šestou doménou (Coucke et al., 1999a).

Mutantní alela tohoto genu má za následek nesyndromatickou autozomálně dominantní ztrátu sluchu (DFNA2), která byla mapována na dříve zmíněný chromozom 1p34. Kromě indonéské rodiny je tento typ hluchoty spojován s dalšími rodinami, s podobnými fenotypy vázanými na stejný

chromozomální region (van Camp et al., 1997). Coucke et al. (1999) identifikovali jednu delecii, posuvnou mutaci a tři *missense* mutace ve čtyřech z pěti postižených rodin. Dále Kubisch et al. našli *missense* mutaci (G285S). Tato mutace G285S ruší proudy draslíku *KCNQ4* a má negativní efekt na *wild-type* (divoký typ) *KCNQ4*, to pravděpodobně díky jeho spojení s *wild-type* *KCNQ4* do nefunkčního tetramerního komplexu (Coucke et al., 1999; Kubisch et al., 1999). I další objevené *missense* mutace se shlukovaly v oblasti pórů, jež zprostředkovávaly selektivitu draselných iontů (Coucke et al., 1994; Hauwe et al., 1999).

Bylo zjištěno, že funkční deficit způsoben mutací, je cílen na blanitý hlemýžď (Bom et al., 2001; Kharkovets et al., 2000), a to díky faktu, že si postižený jedinec relativně zachoval rozpoznávání řeči, a zpracovávání řeči ovlivňuje centrální sluchový systém. Z těchto informací plynou dva možné závěry o úloze *KCNQ4* v hlemýždi: a to ovlivňování elektrických vlastností vláskových buněk, nebo zajištění úniku draslíku z vláskových buněk a celkovou recyklaci draslíku do podpůrných buněk a pojivové tkáně.

2.5 *SLC26A4*

SLC26A4 se skládá z 21 exonů kódujících polypeptid nazývaný pendrin, velký 86 kDa. Ten je exprimován ve štítné žláze, ledvinách a také v blanitém hlemýždi (Everett et al., 1997). Dále víme, že pendrin je transmembránový protein, který má alespoň 9 membránově spřažených domén, bohužel jeho topologie nebyla experimentálně stanovena. Exprimovaný pendrin může transportovat iodidy, chloridy, hydrogenuhličitan, mravenčany a dusičnany přes cytoplazmatickou membránu nezávisle na energii či sodíku (Scott et al., 1999). Naneštěstí pro nás, transportní substráty ve vnitřním uchu nejsou doposud známy (Royaux et al., 2000; Sheffield et al., 1996).

Alelické poruchy v tomto genu tedy způsobují autozomálně recesivní hluchotu DFNB4, mapovanou na chromozomu 7q22-33.1 (Everett et al., 1997; Li et al., 1998). Tato mutace může být příčinou až 10 % dědičné hluchoty u různých populací, mezi které patří východní a jižní Asiaté (Park et al., 2003). Je též možné pozorovat diverzitu mutantních alel v různých etnických populacích, avšak vždy s jednou či několika málo zakladatelskými a převládajícími mutacemi (Park et al., 2003; van Hauwe et al., 1998).

Existují jedinci se stejným genotypem *SLC26A4*, kteří vykazují interfamiliární a intrafamiliární variabilitu fenotypu štítné žlázy (Kopp et al., 1999; López-Bigas et al., 2001; van Hauwe et al., 1998), což může být příčinou vlivu prostředí nebo jejich kombinací (např. záměnná terapie hormonů štítné žlázy atd.), spolu s poruchami štítné žlázy, genetickým pozadím a stochastickou variabilitou. Korelace fenotypu transportu aniontů s klinickým fenotypem štítné žlázy nebyla prokázána, a to proto, že patogenní potenciál alespoň některých DFNB4 alel není znám, a zároveň snížená ale detekovatelná aktivita transportu není důkazem patogenity (Griffith et al., 2000; Scott et al., 2000).

2.6 *MYH9* a myozinové motory

Myoziny jsou cytoskeletární proteinové motory, které umožňují pohyb buněčných komponent. Tyto proteiny váží cytoskeletární aktin a hydrolyzují adenosintrifosfát (ATP), čímž získají potřebnou energii pro posun aktinového vlákna či jednosměrný pohyb podél nich (Thompson & Langford, 2002).

Gen *MYH9* je jeden z mnoha genů kódujících myoziny a pouze jedna jeho *missense* mutace je spojována s autozomálně dominantní nesyndromatickou ztrátou sluchu (DFNA17). Ta byla objevena v jedné pětigenerační severoamerické rodině, kde se nacházelo 9 postižených jedinců. Bližším zkoumáním jednoho z probandů byla odhalena degenerace *stria vascularis* (víceřadý vaskularizovaný epitel, tvoří endolymfu) a Cortiho orgánu a zhroucenou Reissnerovu membránu, na druhé straně *utricleum* a ampuly byly zcela v pořádku (Lalwani et al., 1997). Tento fenotyp, který je spojován s lokusem DFNA17, byl mapován na chromozomální oblasti 22q12.2-q13.3 (Lalwani et al., 2000).

2.7 *OTOF* a neurální či synaptická funkce

OTOF patří nově do rodiny savčích genů příbuzných genu háďátka obecného (*Ceanorhabditis elegans*) *fer-1*, který funguje jako faktor spermatogeneze. Pomocí *in situ* hybridizačních sond byli objeveny nejsilnější signály v myších kochleárních IHC a vestibulárních vláskových buňkách typu 1 (Yasunaga et al., 1999).

Souvislost tohoto genu s nesyndromatickou hluchotou byla prokázána díky velké libanonské rodině a dalšími třemi nepříbuznými rodinami, u kterých byla nalezena *nonsense* mutace v *OTOF*, která byla mapována na chromozomální oblasti 2p23-p22, na kde byl identifikován lokus DFNB9 (Chaïb et al., 1996; Yasunaga et al., 1999). Tato mutace je také běžkou příčinou ztráty sluchu u španělských jedinců (Migliosi et al., 2002).

Další zajímavost je, že tyto mutace jsou údajně asociovány s unikátním typem nesyndromatické autozomálně recesivní ztráty sluchu zvané sluchová neuropatie (Varga et al., 2003), u které je otoakustická emise zachována, spolu s funkcí kochleárních OHC, jejichž inervace je obvykle eferentní. Tento fenotyp se shoduje s esenciální rolí otoferlinu v aferentním akustickém systému, a to buď v IHC nebo neuronech spinálního ganglia, kde byl zaznamenán slabý, přesto detekovatelný hybridizační signál RNA *Otof* (Yasunaga et al., 1999).

2.8 *POU3F4* a regulátory transkripce

Gen *POU3F4*, hrající roli v transkripční regulaci, je jeden z mála, který je spojován s nesyndromatickou hluchotou vázanou na pohlaví. Mutace způsobující tento druh hluchoty, byla pomocí vazebné analýzy ve velkých rodinách mapována na Xq21.1, který je tedy označován jako DFN3. U postižených jedinců dochází k rychlému toku perilymfatické tekutiny z předsíně známé jako

„perilymfatic gusher“ (výron, abnormální tok perilymfy při perforování patky třmínků) (Brunner et al., 1988; Wallis et al., 1988).

Mutace v lokusu DFN3 jsou na jednu stranu nejčastější příčinou pohlavně vázané hluchoty, na druhou stranu tvoří pouze malé procento pohlavně vázané nesyndromatické hluchoty. Cytogeneticky bylo specifikováno, že se jedná o překrývající se delece a mikrolece, vykazující fenotyp charakterizující jedince s DFN3 (Brunner et al., 1988; Wallis et al., 1988). Na rozdíl od ostatních oblastí X chromozomu je delece v Xq21 slučitelná s životem. Také byla objevena existence několika nevysvětlitelných normálně slyšících jedinců s delecí v Xq21 (Bach et al., 1992; Huber et al., 1994).

Všechny zaznamenané mutace byly nalezeny v jediném kódujícím exonu *POU3F4* (POU doména, transkripční faktor 4). Tato POU DNA-vazebná doména se skládá ze 2 subdomén POU5 a POUH, z nichž druhá zmíněná sekvence je prakticky klasický homeobox (Bitner-Glindzicz et al., 1995; Cremers et al., 2000; Sturm & Herr, 1988). U dalších postižených pacientů s DFN3 vykazující stejný fenotyp jako pacienti s bodovými mutacemi v *POU3F4*, byla nalezena chromozomální aberace o velikosti 900 kb, proximálně od *POU3F4* (Cremers et al., 2000b; Kleinjan & van Heyningen, 1998). Za předpokladu, že chromozomová oblast Xq21.1 neobsahuje žádný další gen vykazující fenotyp DFN3 (de Kok et al., 1996), by tento fakt mohl znamenat, že strukturální přestavby spojené s fenotypem DFN3, jsou buď pozičním efektem změněné struktury chromatinu ovlivňující expresi *POU3F4* (Cremers et al., 2000b; de Kok et al., 1996; Kleinjan & van Heyningen, 1998), a nebo mutacemi ve vzdáleném regulačním řídicím prvku *POU3F4* (Carter et al., 2002).

Typ lidské hluchoty	Gen (označení)	Lokus	Kóduje
Autozomálně recesivní	<i>CDH23</i>	DNB12	Kadherin 23
	<i>TMPRSS3</i>	DNB8, DNB10	Transmembránová proteáza
	<i>GJB2</i>	DNB1	Konexin
	<i>OTOF</i>	DFNB9	Otoferlin
	<i>SLC26A4</i>	DFNB4	Pendrin
Autozomálně dominantní	<i>KCNQ4</i>	DFNA2	Draslíkové kanály (napětově řízené)
	<i>MYH9</i>	DFNA17	Myozin
Na pohlaví vázaná	<i>POU3F4</i>	DFN3	Doména POU, třída 3, transkripční faktor 4

Tabulka 1: Souhrnný přehled genů způsobující lidskou nesyndromatickou hluchotu

3 NSHL v různých populacích

Příčin sluchového postižení je celá řada. Můžeme je rozdělit do dvou velkých skupin: genetické či environmentální. Relativní podíl těchto dvou složek je v určitých populacích určen sociálními faktory, jako jsou struktura populace a příbuzenské vztahy, kontrola infekcí a imunizace a poskytování novorozenecké poporodní lékařské péče (MORTON, 1991). V neprůmyslových zemích tak mohou environmentální příčiny hluchoty převažovat nad těmi, které jsou podmíněné geneticky, zatímco ve vyspělých zemích se význam genetického podílu ztráty sluchu stává zřetelnějším (Sheffield & Smith, 2019).

V rámci této bakalářské práce jsem vybrala tři zástupce zemí a jejich populací, na kterých bych ráda ukázala procentuální rozdělení druhů ztrát sluchu, možné důvody výskytu určitého typu alely. Parametry, podle kterých tyto populace byly vybrány jsou: příbuzenské sňatky, větší počet vzorků, vyspělost dané země, možná rozmanitost dané populace. Také mají tyto země sloužit k potvrzení domněnky o udržování recesivní hluchoty v populacích.

3.1 Írán

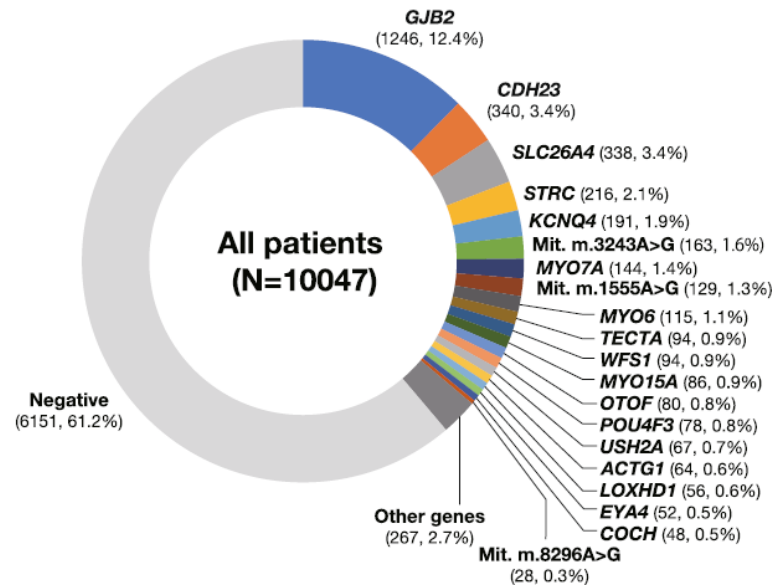
Hluchota je v Íránu druhým nejčastějším zdravotním postižením. Toto postižení, jehož příčinou jsou jak genetické faktory, tak faktory prostředí, se v Íránu vykytuje u 3 dětí na 1000 obyvatel. (Morton & Nance, 2006). V roce 2016 byla provedena studie, v níž bylo dokončeno komplexní klinické genetické testování využívající masivní paralelní sekvenování u 1119 pacientů s SNHL. Bylo zjištěno, že u pacientů, trpících hluchotou s genetickou příčinou, se nachází přibližně 70 % subjektů s původem z Blízkého východu (Sloan-Heggen et al., 2016). Takové vysoké procento je důvodem vyššího koeficientu inbreedingu v „příbuzenském pásu“, který je tvořen zeměmi od severní Afriky přes Blízký východ až po Indii, a je tak příčinou obohacení populace o mnohočetná recesivní onemocnění, včetně nesyndromatické ztráty sluchu. V Íránu se četnost příbuzenských sňatků pohybuje od 15,9 % v severních provinciích, až po 47 % ve východních provinciích. Extrémní heterogenita ARNSHL a přítomnost nových mutací v homozygotnosti odpovídá vysokému koeficientu inbreedingu a vytváří tak velmi bohaté spektrum genetických příčin nesyndromatické hluchoty (Saadat et al., 2004). Nejčastější příčinou nesyndromatické ztráty sluchu je mutace v genu *GJB2* s prevalencí až 38,3 %, ta se ale mění spolu se zeměpisnou šířkou. Druhou nejčastější příčinou je mutace v genu *SLC26A4*, jehož prevalence se pohybuje od 4,8 % do 18 % (Najmabadi et al., 2002; Sloan-Heggen et al., 2015).

3.2 Japonsko

V Japonsku se spojilo 102 zdravotnických center a shromáždili více než 10 000 vzorků, které následně zkoumaly a provedly jejich komplexní ověření analytickými metodami. To umožnil nedávný

pokrok v cíleném resekvenování genomu pomocí masivního paralelního sekvenování DNA (MPS), který přinesl novou strategii, a znamenal revoluci v objasňování genetických vad způsobujících monogenní poruchy (Usami & Nishio, 2022a).

U japonských obyvatel se ukázalo, že nejrozšířenější příčinou nesyndromatické hluchoty je mutace v genu *GJB2* a spolu s dalšími běžně se vyskytujícími mutacemi genu způsobuje 30-35 % hluchoty (Usami & Nishio, 2022a). Vědci předpokládají, že mít mutace v *GJB2* bylo pro přežití výhodné. Je také známo, že *GJB2* je exprimován na kůži, která tvoří jakou si bariéru proti invazi patogenů, či bodnutí hmyzem, a to bylo přínosné pro přežití spojené s evolucí člověka (Meyer et al., 2002). Ačkoli je mutace v *GJB2* nejčastější příčinou nesyndromatické hluchoty, a to i napříč etnickými skupinami, najdou se zde i výjimky. Jde například o geny *MYO15A* a *TMC1*, které převažují u egyptských rodin a sefardských Židů (Brownstein et al., 2020; Budde et al., 2020). Tento jev je zřejmě způsoben příbuzenskými sňatky, které jsou v těchto oblastech běžné. Studium japonské populace byly odhaleny určité opakující se mutace (Miyagawa et al., 2014; Ohtsuka et al., 2003). Obecně se má zato, že k opakujícím se genetickým mutacím dochází díky dvěma mechanismům. Jedním je efekt zakladatele (tj. starobylá mutace, která se rozšířila pravděpodobně díky nějaké nedefinované výhodě heterozygotů) (van Laer et al., 2001) a druhým je mutační „*hot spot*“ (horké místo). Nejsnáze pochopitelným příkladem je *GJB2*, který má nejvyšší četnost v populaci. V jednotlivých populacích jsou frekvence alel s mutacemi *GJB2* různé, odráží tak efekt zakladatele a silně ovlivňuje stav genu *GJB2* v populaci osob s poruchou sluchu (Tsukada et al., 2015). Jelikož se některé mutace zjevně vyskytují pouze v limitujícím počtu etnických populací, lze předpovědět, že právě tyto mutace jsou důsledkem efektu zakladatele. U japonských pacientů s poruchou sluchu se vyskytuje šest nejčastějších variant genu (tj. c.235delC, p.Val37Ile, p.[Gly45Glu; Tyr136Ter], p.Arg143Trp, c.176_191del a c.299_300delAT), vědci došli k závěru, za pomoci pozorování specifických haplotypů, že všech šest variant pochází z efektu zakladatele. Dále předpokládají, že varianta c.235delC se poprvé objevila přibližně před 6500 lety (Shinagawa et al., 2020). Jejich analýza specifických haplotypů spolu s jejich distribučními vzorci naznačila, že varianty p.Arg143Trp a p.Val37Ile se mohly vyskytnout jako vícenásobné události, což naznačuje, že se na těchto variantách může podílet jak efekt zakladatele, tak „*hot spot*“ (Shinagawa et al., 2020). Celým experimentem se vědci snažili prokázat, že ačkoli existují etnické rozdíly v mutačním spektru, genetická epidemiologie a klinické rysy obsahují obecné pravidlo, které přesahuje etnické difference hluchoty.



Obrázek 3 Geny zodpovědné za ztrátu sluchu u 10 047 testovaných subjektů (viz Usami & Nishio, 2022)).

3.3 Česká republika

Nejčastější příčinou celosvětově diagnostikované ztráty sluchu je patogenní mutace c.35delG, která je jednou z variant genu *GJB2*, jenž způsobuje autozomálně recesivní ztrátu sluchu. Tato varianta byla často identifikována v evropské, severo-africké, asijské i v americké populaci. (Tsukada et al., 2015). V České republice tomu není jinak a mezi pacienty se ztrátou sluchu činí varianta c.35delG dokonce 82,8 % všech patogenních variant *GJB2* (Seeman et al., 2004).

V české populaci se nachází jedna etnická skupina, která má vyšší riziko recesivních poruch, a tudíž se u ní vyskytuje vyšší pravděpodobnost výskytu právě autozomálně recesivní ztráty sluchu. Touto skupinou jsou Romové (Morar et al., 2004).

Většina romských pacientů trpící NSHL (nesyndromální ztráta sluchu) je homozygotní pro zakladatelskou mutaci p.Trp24x (W24X) v genu *GJB2* (Álvarez et al., 2005; Minarik et al., 2003; Seeman et al., 2004). Šafka Brožková et al. (2012) mapovali homozygotitu ve 20 romských neslyšících rodinách bez mutace v genu *GJB2*, a v jedné z největších homozygotních oblastí na chromozomu 5 našli pouze jeden gen dříve spojený se ztrátou sluchu, a to *MARVELD2*. Sekvenování všech šesti kódujících exonů a doprovodných intronových částí genu *MARVELD2* u romského pacienta odhalila *splice-site* mutaci c.1331+2 T>C (IVS 4+2 T>C). Mutace byla nalezena pouze u homozygotních pacientů. Testování dalších 19 českých neslyšících Romů bez mutace *GJB2* odhalilo stejné výsledky, což ukazuje, že DFNB49 je pravděpodobně důležitou příčinou hluchoty v romské populaci. Pro zjištění souvislosti mutace v *MARVELD2* s populací českou a středoevropskou bylo provedeno další testování 40 neromských pacientů s nesyndromickou prelingvální ztrátou sluchu, bez mutace genu *GJB2*. Nebyla odhalena žádná

jiná mutace genu *MARVELD2*, tudíž DFNB49 je velmi vzácnou příčinou hluchoty u česko-slovenské populace (Šafka Brožková et al., 2012).

4 Hluchota a její udržení v populaci

Nesyndromická ztráta sluchu (NSHL) je geneticky velmi různorodá, ale v naprosté většině případů se dědí autozomálně recesivně (AR) (Rabionet et al., 2000). Analýzou velkého množství dat bylo zjištěno, že mezi veškerými případy genetické hluchoty, tvoří autozomálně recesivní právě 75 – 80 % (Mishra et al., 2018) *GJB2* je spojeno jak s recesivní hluchotou, tak s dominantní hluchotou v lokusech DFNB1 a DFNA3 (Denoyelle et al., 1998). Ale autozomálně dominantní hluchota je nejčastěji spjata s kožními fenotypy a syndromy (Richard et al., 2002).

Jelikož je výskyt autozomálně recesivní ztráty sluchu natolik vysoký, věnuji se v následující kapitole důvodům vysoké frekvence alel recesivní hluchoty, a též možnosti určité výhody pro nositele těchto alel.

4.1 Asortativní páření a relaxovaná selekce

V mnoha populacích je nejčastější příčinou DFNB1 mutace v lokusech 13q11-q12, kde se nacházejí geny *GJB2* a *GJB6*, které kódují konexiny 26 a 30. Proto se také tento typ DFNB1 nazývá konexinová hluchota (Forge et al., 2003).

Na začátku experimentů odborníci předpokládali, že kombinace účinků uvolněné selekce a jazykové homogamie, by mohla vysvětlovat vysokou frekvenci konexinové hluchoty, a taky by mohla být příčinou zdvojnásobení výskytu za posledních 200 let. Celou tuto domněnku se snažili potvrdit počítačovou simulací, a ukázat, že assortativní páření může velmi urychlit genetickou odpověď na uvolněnou selekci (Nance & Kearsey, 2004).

Nance a Kearsey (2004) zvolili cestu, kdy se nesnažili simulovat současně účinky uvolněné selekce a assortativního páření u všech známých lokusů pro hluchotu, naopak se zabývali účinky těchto proměnných na jeden až tři recesivní lokusy. V jejich virtuálním modelu se slyšící jedinci páří zcela náhodně s ohledem na geny zprostředkovávající sluch, ale předpokládá se, že se hluší jedinci nerozmnožují. Mutantní alely pak nabývají frekvencí založených na mutačně-selekční rovnováze, a pokud by byl ignorován genetický drift, rozdíly v počátečních fenotypových frekvencích by reflektovaly rozdíly v základních mutačních rychlostech, které zůstávají konstantní po dobu 150 generací simulace. Simulační studie ukázala, že během pěti generací počáteční fitness vzroste z 0 na 1, kdežto assortativní páření se během stejné doby zvýšilo z 0 % na 90 %. Nárůst frekvence fenotypu v závislosti na assortativní páření se výrazně urychluje, a tudíž tato informace vysvětluje zdvojnásobení výskytu DFNB1 za posledních 200 let. Důležitým rysem celého experimentu je, že mechanismus urychlení reakce na selekci není specifický pro daný lokus, tudíž frekvence mutací způsobujících hluchotu by mohla být

zvýšena v jakémkoli lokusu, pokud by tyto mutace determinovaly nejčastější formu recesivní hluchoty pro specifikovanou populaci. Celý experiment potvrdil prvotní domněnky o vysoké frekvenci DNFB1 ve vyspělých zemích. Kombinace asortativního páření a relaxované selekce způsobí zvýšení frekvence DNFB1 (Nance & Kearsley, 2004).

Nance a Kearsley (2004) také ve své práci vysvětlili, co způsobilo takové rozšíření v mnoha velkých populacích. Poukazují na fakt, že v době počátku relaxované selekce a asortativního páření byla tato forma hluchoty nejčastější, a to pravděpodobně díky vyšší mutační rychlosti. Naopak v malých populacích, jako je například Benkala a beduínská komunita, vedl genový drift a příbuzenství k počáteční expresi dalších genů recesivní hluchoty, jejichž frekvence se následně zvýšila kombinací efektů uvolněné selekce a nenáhodného párování obou kmenů (Nance & Kearsley, 2004).

Vzhledem k tomu, že výše popsaný genový mechanismus není lokusově specifický, Nance a Kearsley (2004) do jejich výzkumu zahrnuli zajímavou hypotézu o zapojení do evoluce řeči (Nance & Kearsley, 2004). O procesu, jakým způsobem se vyvíjel jazyk existují dva názory. Někteří odborníci poukazují na postupné zvětšování mozku primátů a evoluci člověka považují za jakési rozšíření tohoto pomalého procesu (Holloway, 1983). Jiní věří, že osvojení jazyka odstartovalo prudké urychlení evoluce lidského mozku (Klein, 1992). Tento názor podporují fosilní záznamy o vytlačení potencionálního předka moderního člověka nástupem Homo sapiens. V neposlední řadě nálezy kulturních artefaktů, jako jsou ozdoby, nástroje, sofistikované zbraně a jiné, svědčí o kulturní komplexnosti, kterou si lze jen těžce představit bez nějaké formy jazyka (Klein, 1992). S těmito představami vzniklými v minulosti se nadále pracovalo a vycházejí z nich i odborníci Nance a Kearsley (2004).

Následně americký paleoantropolog Stephen Gould popularizoval dodnes kontroverzní koncept „přerušované rovnováhy“, tedy myšlenku, že se tempo evolučních změn v organismu může náhle zrychlit během určitého období (Gould & Eldredge, 1993). Ačkoli jeho návrhy byly převážně popisné bez jakéhokoli specifického mechanismu, zdá se být pravděpodobné, že jakmile se objeví v populaci první mutace zlepšující orální komunikaci, přežije a projeví se fenotypově, dojde k intenzivní lingvistické homogamii, stejně jako se to stalo po zavedení znakové řeči pro neslyšící. Z toho plyne, že příčinou urychlení evoluce člověka má jak genetický základ, tak podstatnou kulturní složku, což změnilo strukturu páření v populaci. Asortativní páření urychluje jak selekci relaxovanou proti genetické letalitě, tak pozitivní selekci pro příznivou novou mutaci. Z obou forem pak pravděpodobně pokročí k fixaci genu pouze ta pozdější. Jedinečným rysem tohoto typu páření je potenciál pro vytváření nerovnoměrných gametických fází, pomocí spojování vzácných kombinací genů s podobnými a potenciálně synergistickými efekty na fenotyp (Crow & Kimura, 1970). To znamená, že jakmile by se první mutace řeči blížila fixaci, poskytla by změněné genetické pozadí potřebné k podpoře selekce a potenciální fixaci dalších genů souvisejících s řečí. Tímto principem mohla lingvistická homogamie vést k urychlené fixaci mnoha mutací a znaků, jenž nás odlišují od primátů (Lai et al., 2001).

4.2 Lepší sociální podmínky pro neslyšící

Zajímavé je, že jednou z možností, proč je mutace konexinů tak častou příčinou hluchoty, je důsledek výrazně lepších sociálních a ekonomických podmínek neslyšících, v kombinaci s intenzivním asortativním pářením neslyšících. Oba tyto trendy totiž začaly zavedením speciálních škol pro neslyšící zhruba před 300 lety. Analýzou dat přišli vědci na to, že se během 200 let frekvence výskytu zdvojnásobila (Nance et al., 2000). Právě sňatky mezi jedinci se stejným typem recesivní hluchoty zapříčinily zplození potomka, který se vždy narodí hluchý. Příčinou selektivního posílení nejběžnější formy recesivní hluchoty je tedy kombinace efektů lepší plodnosti (tj. genetické zdatnosti) a asortativního páření (Nance et al., 2002). Můžeme tedy říct, že v zemích bez dlouhé tradice znakového jazyka, či bez sňatků mezi neslyšícími, jako je Indie a Mongolsko, se mutace *CX26* spolu s konexinovou hluchotou vyskytují, ale s velmi nízkou frekvencí (Friedman et al., 1995).

4.3 Fenotypová výhoda pro nositele mutace

Zkoumáním histologie kůže se odhalilo, že jedinci homozygotní a heterozygotní pro běžnou africkou mutaci *GJB2* (R143W) měli výrazně silnější epidermis, spolu s vyšší produkcí sodíkových a chloridových iontů v potu, než členové *wild type* rodiny (Meyer et al., 2002). Autoři se tudíž domnívají, že tyto epidermální fenotypy spojené s *GJB2* mohou poskytnout ochranu před invazí patogenů. I když se u těchto ani jiných alel NSHL (nesyndromatická ztráta sluchu) nenašla klinicky definovaná kožní onemocnění, je třeba poznamenat, že specifické dominantní mutace *GJB2* vedou k ektodermálním poruchám, u nichž je hyperkeratóza běžným rysem (Richard, 2003).

Ačkoli je zvýšená buněčná smrt spojena s mutacemi konexinu asociovanými s kožními chorobami (Di WL 2002), buňky transfekované mutacemi *GJB2* související s hluchotou vedly ke snížení apoptózy keratinocytů ve srovnání s *wild type* proteinem *Cx26* a dramaticky méně než u *GJB2* asociované s kožními chorobami. Tento pozorovaný buněčný mechanismus podporuje domněnku o selektivní epidermální výhodě pro mutace *Cx26*, spojené se ztrátou sluchu v různých populacích. Snížená buněčná smrt tak může prodloužit terminální diferenciaci keratinocytů, což má za následek mírně silnější epidermis. Vzhledem k tomu, že tyto studie byly prováděny i u fibroblastů s obdobnými výsledky, vědci si troufají tvrdit, že snížená buněčná smrt může vytvářet fenotypové výhody i v jiných tkáních. Při bližším zkoumání dominantní NSHL mutace T5M v genu *GJB6*, která kóduje *Cx30*, byla objevena snížená buněčná smrt, což naznačuje, že odlišné kanálové vlastnosti kanálů *Cx30*, ať už homomerních nebo heteromerních, nemusí přinášet stejnou selektivní výhodu jako kanály *Cx26* (Common et al., 2004).

Tato navrhovaná výhoda heterozygotů je pozorována u dalšího recesivního onemocnění, cystické fibrózy, kde je postižený jedinec chráněn, díky poškozeným chloridovým kanálům před invazí

bakterie *Salmonella typhi* (Pier et al., 1998). Tuto hypotézu, pokud jde o kůži, je zapotřebí prozkoumat a posoudit, zda ztlustění epidermis a ztráta funkce kanálů *Cx26* skutečně snižuje bakteriální invazi u heterozygotů *GJB2* (Common et al., 2004).

4.4 Aminoglykosidy – environmentální faktor

Zatímco většina genetického materiálu je obsažena v jádře buňky v podobě 46 chromozomů, každá ze stovek mitochondriálních organel nese také několik malých molekul mitochondriální DNA. Jejich funkcí je kódovat 13 polypeptidů, které se podílejí na oxidativní fosforylaci, což je proces, při kterém vzniká energie ve formě adenosintrifosfátu (ATP). Dále mitochondriální DNA kóduje geny pro ribozomální a transferovou ribonukleovou kyselinu (RNA) (Anderson et al., 1981).

Poprvé byla mutace A1555G v mitochondriálním genu pro 12S ribozomální RNA prokázána, jako příčina hluchoty ve velkém arabsko-izraelském rodokmenu s matrilineárním přenosem těžké až úplné ztráty sluchu, která se obvykle projevila v kojeneckém a raném věku dítěte (Jaber et al., 1992). Následné molekulární testy odhalily substituci v genu 12S ribozomální RNA. Podobné rodokmeny se stejnou mutací byly hlášeny ve Španělsku, kde se tato mutace jeví jako pozoruhodně častá příčina hluchoty (Estivill et al., 1998). Pak také z Itálie, ale nástup hluchoty se zde objevuje později. V jiných státech jako jsou Spojené státy, Čína, Jihoafrická republika a Mongolsko byla hluchota způsobena mutací A1555G prakticky omezena pouze na jedince, kteří byli vystaveni aminoglykosidovým antibiotikům. Později bylo zjištěno, že v mitochondriálním genu 12S ribozomální RNA (*MT-RNR1*) se nacházejí varianty (A1555G, C1494T, T1095C, 961delT+C(n)), které jsou náchylnější k ototoxicitě vyvolané aminoglykosidy. Tyto varianty totiž činí strukturu lidské 12S rRNA více podobnou bakteriální rRNA, která je cílem aminoglykosidů (Ealy et al., 2011). Prevalence ztráty sluchu po léčbě aminoglykosidy se pohybuje od 2 do 25 % (O'Sullivan et al., 2017). Téměř u 100 % pacientů s mutací A1555G v *MT-RNR1* se vyvine ztráta sluchu po vystavení aminoglykosidu, dokonce i po jediné dávce (Usami et al., 1998).

Po zjištění nežádoucích účinků se vyspělé státy snaží regulovat používání tohoto typu antibiotik, nicméně v rozvojových zemích jsou stále hojně používána kvůli jejich nízké ceně a nízkému výskytu rezistence (O'Sullivan et al., 2017). Tato antimikrobiální látka se také využívá na novorozeneckých jednotkách intenzivní péče (NICUs), jako prvotní empirická terapie novorozenecké sepse. S tímto faktem pracovali ve své studii odborníci v roce 2011, kde testovali varianty *MT-RNR1* u pacientů NICU a zjistili prevalenci 1,85 %, což se významně neliší od prevalence v běžné populaci (Ealy et al., 2011).

5 Ztráta sluchu vázaná na pohlaví

Další neopomenutelnou kapitolou této bakalářské práce je hluchota vázaná na chromozom X.

Nizozemští vědci zkoumali jev pohlavní nevyváženosti v oblasti hluchoty. U více než 3000 zkoumaných vzorků se ukázalo, že převládá mužské zastoupení, které činilo 54 % a ženy byly v zastoupení pouze 46 %. Několik autorů uvádí, že u dětské hluchoty dochází k mužské predominanci.

Při zkoumání autozomálně dominantní formy dětské hluchoty byla pozorována významná převaha mužského pohlaví, ale bohužel vzhledem k malému počtu jedinců se tento výsledek mohl považovat za pouhou náhodu. Při bližším zkoumání rodin postižených jedinců nebyl nalezen jediný přenos z muže na muže a tudíž X-dominantní vzorec dědičnosti nemůže vysvětlit převahu mužů. Naopak X-recesivní dědičnost, kdy jsou ženy přenašečky a většinou nejsou postiženy, by mohl vést k mužské převaze mezi postiženými jedinci. Tento fakt by mohl být jedním z příčin mužské převahy u dětské nesyndromatické hluchoty (Cremers et al., 1994).

První jaderný gen, podílející se na nesyndromatické hluchotě byl identifikován v roce 1995 a ukázalo se, že se jedná o gen *POU3F4* lokalizovaný na chromozomu X (Tranebjaerg et al., 1995). Zajímavé je, že ačkoli se na nesyndromatické hluchotě podílí obdivuhodné množství jaderných genů, žádný druhý gen lokalizovaný na chromozomu X nebyl nikdy identifikován. William Wilde, specialista na ušní, nosní a krční medicínu a otec Oscara Wilda, si jako první všiml nadměrného počtu mužských hluchých jedinců (Wilde, 1853). Reanalýza těchto dat přivedlo Reardona (Reardon, 1990) k závěru, že 5 % prelingvální hluchoty u mužů je vázáno na chromozomu X. Naopak Fraser (FRASER, 1965a) tvrdí, že 6 % mužské prelingvální genetické hluchoty a 1,7 % všech prelingválních typů hluchot je vázáno na chromozom X. Celkově můžeme říct, že 1-5 % nesyndromatické hluchoty je vázáno na pohlaví. Existuje mnoho zpráv o rodokmenech s nesyndromatickou na pohlaví vázanou hluchotou, většina těchto rodin však zůstává nezařazena, kvůli neprovedené analýze vazby. Také se ukázalo, že mnoho z těchto rodin má typické radiologické změny spánkové kosti, a to díky mutacím v genu *POU3F4* (FRASER, 1965; Dow & Poynter, 1930; Wellesley & Goldblatt, 1992).

Lokus DFN2 byl objeven ve třech různých rodinách s těžkou formou ztráty sluchu a následně byl mapován na regionu Xq13-q24. Byla popsána britsko-americká rodina s vrozenou ztrátou sluchu, kde se u mužů objevovala naprostá hluchota a u žen pouze mírná ztráta sluchu postihující vysoké frekvence (Tyson et al., 1996a). Manolis et al. informovali o velké americké rodině s fenotypem podobným tomu, o němž informovali Tyson et al. (Manolis et al., 1999; Tyson et al., 1996b). V neposlední řadě byla zdokumentována velká čínská rodina s mnoha postiženými muži s těžkou formou vrozené ztráty sluchu všech tónů (Cui et al., 2004).

Lokus DFN3 je definován přibližně u 50 % všech rodin s nesyndromatickou poruchou sluchu vázanou na chromozom X (Bach et al. 1992; Reardon et al., 1991). Je to jediná forma, která vykazuje

anatomické anomálie spánkové kosti. Tyto abnormality zahrnují dilataci laterálního konce vnitřního sluchového ústrojí, nedostatek nebo úplnou absenci kosti mezi laterálním koncem vnitřního zvukovodu a bazálním obratem hlemýždě, což má za příčinu abnormálně širokou píštělovou komunikaci mezi těmito dvěma částmi, dále anomálii oválného okénka a stapediální ploténky ohrožující pohyblivost ossikulárního řetězce a částečnou hypoplazii hlemýždě označenou jako pseudo-Mondiniho dysplazie. Všechny tyto anomálie jsou spojené s genem *POU3F4* a ztrátou sluchu (Arellano et al., 2000; Phelps et al., 1991; Vore et al., 2005).

I v případě ostatních lokusů je v rodinách postižen muž, a žena je buď naprosto zdravá přenašečka, nebo trpí nedoslýchavostí ve vysokých frekvencích (del Castillo et al., 1996, 2000; Lalwani et al., 1994).

Wilde se zabýval pohlavní nevyvážeností a zkoumal ji dopodrobna (Wilde, 1853). Ve 122 navzájem si příbuzných rodinách byli postiženi pouze muži, kdežto jenom v 65 rodinách byli hluché pouze ženy. Takovýto nadbytek hluchých mužů je zvláště patrný u 287 sourozenců se dvěma hluchými dětmi (muži:ženy 97:48). Jak Fraser (1965) naznačoval, část tohoto přebytku může mít jak environmetální, tak genetické příčiny (FRASER, 1965). Wilde zjistil převahu mužů nad ženami 1,3:1, Fraser tvrdil, že poměr je 1,18:1 (Martin et al., 1981). Převaha mužského pohlaví nad ženským je rysem tohoto typu hluchoty. Přesná příčina této pohlavní nevyváženosti není zcela známá. Nejspíš se, stejně jako u jiných recesivních onemocnění, jedná o dědičnost, kdy matky bývají pouhé přenašečky mutace a vyskytuje se u nich buď nedoslýchavost na velmi nízké úrovni, nebo jsou naprosto zdravé (Cremers et al., 1994).

6 Next-generation sequencing

V neposlední řadě bych ráda v této práci vyzvedla metodu, která hrála velkou roli v objevení mnoha nových genů pro jak nesyndromatickou ztrátu sluchu, tak syndromatickou (NGS NSD, WES NSD).

Next generation sequencing (NGS) přinesl v posledních 10 letech mimořádně výkonný nástroj pro vyhledávání v genetické oblasti. NGS umožňuje sekvenovat velmi velké množství fragmentů DNA současně v rámci jedné reakce, což generuje obrovské kvantum dat v extrémně krátkém čase. Nejkomplexnější technikou NGS je sekvenování celého genomu (WGS), která sekvenuje celý genom jedince a dokáže identifikovat jak kódující, tak nekódující oblasti. Zásadní roli ve zkoumání mutací způsobujících onemocnění, hraje sekvenování celého exomu (WES), které mapuje pouze oblasti kódující proteiny v genomu, které s největší pravděpodobností obsahují přibližně 85 % těchto mutací (Rabbani et al., 2012).

V případě lidské hluchoty se využívá tzv. panel cílových genů (TPG), což je typ sekvenování, kde cílovou skupinou je pouze určitá kohorta genů. Používá se pro k mapování všech známých genů

hluchoty, které tvoří pouze 0,014 % celého genomu. Výjimkou pak může být pacient, který má mutaci v genu, který doposud nebyl spojen se sensorineurální ztrátou sluchu. V tomto případě je přínosné zvážit využití metody WES, u níž jsou náklady a analytická náročnost relativně nízká, vzhledem k tomu, že obsah exonů v genomu činí pouhá 2 % (Shearer et al., 2010).

I přes to, že je NGS bioinformaticky náročný z hlediska vysoké výkonnosti a generování velkého množství dat, bylo identifikování genů sensorineurální ztráty sluchu úspěšné a vedlo ke zvýšení diagnostické míry na přibližně 40 % (Sloan-Heggen & Smith, 2016).

7 Závěr

Lidská hluchota patří celosvětově mezi nejrozšířenější smyslové onemocnění, které v budoucnu vzroste na číslech. Nesyndromatická hluchota tvoří okolo 70 % všech případů ztráty sluchu způsobené genetickými aspekty.

Předmětem této práce bylo seznámit se s obecným kategorizováním ztráty sluchu, se světovým rozšířením, s geny týkajícími se tohoto postižení, dále pak s důvodem vysoké frekvence výskytu mutantních alel a v neposlední řadě vazbě na pohlaví.

Vzhledem vysoké komplexnosti sluchového aparátu vyžadující neskápné množství proteinů, není překvapením najít velké množství genů týkajících se lidské hluchoty. Díky tomu také není možné globalizovat procento výskytu určitých genů, jelikož je pro každou populaci unikátní. Co ale můžeme říct je, že nejčastějším typem hluchoty je autozomálně recesivní, která tvoří okolo 80 % celkového počtu jedinců postižených nesyndromatickou hluchotou. I přes veškeré moderní technologie je stále velká část molekulárních mechanismů vysvětlujících funkci genů v rámci sluchového ústrojí neznáma. Či v jiných případech nebyla zjištěna jejich biologická funkce.

Dále můžeme pozorovat značné rozdíly v míře sluchu mezi vyspělými a rozvojovými zeměmi. Což je pravděpodobně způsobeno i nedostatkem údajů o výskytu a příčinách sluchových vad v rozvojových zemích, a to díky značnému nedostatku programů pro screening novorozenců a nemožnost celkového vyšetření sluchu.

Bylo zjištěno, že nejčastěji se vyskytující geny způsobující lidskou nesyndromatickou hluchotu jsou geny, kódující proteiny, podílející se na struktuře mezerových spojů. Jedná se o geny *GJB2*. Mutace v těchto genech má za následek vznik autozomálně recesivní hluchoty. Po bližším prozkoumání bylo objeveno několik teorií, proč je frekvence těchto alel natolik vysoká a proč převažuje výskyt tohoto typu ztráty sluchu převažuje nad ostatními. Nejčastěji opakujícím se názorem je kombinace asortativní páření a relaxovaná selekce. Studie na počítačových simulacích potvrdila, že kombinací efektu asortativního páření a relaxované selekce došlo ke zdvojnásobení výskytu konexinové hluchoty za posledních 200 let. S tímto poznatek je spjata i další teorie vysoké frekvence konexinové hluchoty, a to

lepší sociální podmínky pro neslyšící. Díky zavedení speciálních škol pro neslyšící a zlepšení jejich postavení ve společnosti docházelo ke sňatkům mezi jedinci se stejným recesivním onemocněním, tudíž takoví jedinci zplodili zase potomka se stejnou genetickou vadou. Další zajímavou teorií, proč je v populaci vysoká frekvence alel *GJB2*, je možnost poskytnout nositeli těchto mutací fenotypovou výhodu. Byla odhalena africká mutace *GJB2* (R143W), která měla za následky tvorbu výrazně silnější epidermis. Tento fenotyp by mohl poskytoval nositeli mutace lepší ochranu před vnějším prostředím a zabezpečoval tak efektivnější obranu proti patogenům a okolním vlivům. Při bližším zkoumání, zda je nesyndromatická hluchota ovlivňována i environmentálními faktory se došlo k závěru, že existuje speciální případ ztráty sluchu, způsobené mutací v mitochondriálním genu, ke které jsou náchylnější lidé, vystavení aminoglykosidům. Ty se dříve používaly při výrobě antibiotik, ale dnes jsou v dosti státech zakázány.

V neposlední řadě je třeba odpovědět na otázku pohlavního rozložení. Převaha mužského pohlaví nad ženským je rysem tohoto typu hluchoty. Přesná příčina této pohlavní nevyváženosti není zcela známá.

Téma této bakalářské práce se ukázalo být velice rozsáhlé a složité, a proto jsou některé kapitoly zmíněny jen okrajově a nejsou rozebrány na takovou úroveň, jakou by si zasloužily. Limitací této práce je podle mne nedostatek nových poznatků a statistik, kdy se novější studia stále vrací k starým experimentům a teoriím, ze kterých následně vycházejí ve svém výzkumu. Stejně jako nedostatek informací z rozvojových zemích, tento fakt zabraňuje úplnému pochopení dané problematiky.

8 Přehled použité literatury

* Sekundární citace jsou označeny hvězdičkou

- A, D. D., Morais, C. J., A, P. R., Anling, K., M, G. J., L, C. S., T, C. B., & Roderick, M. (1998). The Structure of the Potassium Channel: Molecular Basis of K⁺ Conduction and Selectivity. *Science*, 280(5360), 69–77. <https://doi.org/10.1126/science.280.5360.69>
- Ahituv, N., & Avraham, K. (2002). Mouse models for human deafness: Current tools for new fashions. *Trends in Molecular Medicine*, 8, 447–451. [https://doi.org/10.1016/S1471-4914\(02\)02388-2](https://doi.org/10.1016/S1471-4914(02)02388-2)
- Álvarez, A., del Castillo, I., Villamar, M., Aguirre, L. A., González-Neira, A., López-Nevot, A., Moreno-Pelayo, M. A., & Moreno, F. (2005). High prevalence of the W24X mutation in the gene encoding connexin-26 (GJB2) in Spanish Romani (gypsies) with autosomal recessive non-syndromic hearing loss. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 137A(3), 255–258. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30884>
- Anagnostopoulos, A. v. (2002). A compendium of mouse knockouts with inner ear defects. *TRENDS in Genetics*, 18(10), S21–S38.
- Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H. L., Coulson, A. R., Drouin, J., Eperon, I. C., Nierlich, D. P., Roe, B. A., Sanger, F., Schreier, P. H., Smith, A. J. H., Staden, R., & Young, I. G. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290(5806), 457–465. <https://doi.org/10.1038/290457a0>
- Arellano, B., Camacho, R. R., Berrocal, J. R. G., Villamar, M., del Castillo, I., & Moreno, F. (2000). Sensorineural hearing loss and Mondini dysplasia caused by a deletion at locus DFN3. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 126(9), 1065–1069.
- Astuto, L. M., Bork, J. M., Weston, M. D., Askew, J. W., Fields, R. R., Orten, D. J., Ohliger, S. J., Riazuddin, S., Morell, R. J., Khan, S., Riazuddin, S., Kremer, H., van Hauwe, P., Moller, C. G., Cremers, C. W. R. J., Ayuso, C., Heckenlively, J. R., Rohrschneider, K., Spandau, U., ... Kimberling, W. J. (2002). CDH23 mutation and phenotype heterogeneity: a profile of 107 diverse families with Usher syndrome and nonsyndromic deafness. *American Journal of Human Genetics*, 71(2), 262–275. <https://doi.org/10.1086/341558>
- Bach, I., Brunner, H. G., Beighton, P., Ruvalcaba, R. H. A., Reardon, W., Pembrey, M. E., van der Velde-Visser, S. D., Bruns, G. A. P., Cremers, C., & Cremers, F. P. M. (1992). Microdeletions in patients with gusher-associated, X-linked mixed deafness (DFN3). *American Journal of Human Genetics*, 51(1), 38.
- Bach, I., Brunner, H. G., Beighton, P., Ruvalcaba, R. H., Reardon, W., Pembrey, M. E., van der Velde-Visser, S. D., Bruns, G. A., Cremers, C. W., Cremers, F. P., & al., et. (1992). Microdeletions in patients with gusher-associated, X-linked mixed deafness (DFN3). *American Journal of Human Genetics*, 51(1), 38–44. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1609803>
- Ben-Yosef, T., Wattenhofer, M., Riazuddin, S., Ahmed, Z. M., Scott, H. S., Kudoh, J., Shibuya, K., Antonarakis, S. E., Bonne-Tamir, B., Radhakrishna, U., Naz, S., Ahmed, Z., Riazuddin, S., Pandya, A., Nance, W. E., Wilcox, E. R., Friedman, T. B., & Morell, R. J. (2001a). Novel mutations of

- TMPRSS3 in four DFNB8/B10 families segregating congenital autosomal recessive deafness. *Journal of Medical Genetics*, 38(6), 396–400. <https://doi.org/10.1136/jmg.38.6.396>
- Ben-Yosef, T., Wattenhofer, M., Riazuddin, S., Ahmed, Z. M., Scott, H. S., Kudoh, J., Shibuya, K., Antonarakis, S. E., Bonne-Tamir, B., Radhakrishna, U., Naz, S., Ahmed, Z., Riazuddin, S., Pandya, A., Nance, W. E., Wilcox, E. R., Friedman, T. B., & Morell, R. J. (2001b). Novel mutations of *TMPRSS3* in four DFNB8/B10 families segregating congenital autosomal recessive deafness. *Journal of Medical Genetics*, 38(6), 396. <https://doi.org/10.1136/jmg.38.6.396>
- Bitner-Glindzicz, M., Turnpenny, P., Höglund, P., Kääriäinen, H., Sankila, E.-M., van der Maarel, S. M., de Kok, Y. J. M., Ropers, H.-H., Cremers, F. P. M., Pembrey, M., & Malcolm, S. (1995). Further mutations in Brain 4 (POU3F4) clarify the phenotype in the X-linked deafness, DFN3. *Human Molecular Genetics*, 4(8), 1467–1469. <https://doi.org/10.1093/hmg/4.8.1467>
- Boëda, B., El-Amraoui, A., Bahloul, A., Goodyear, R., Daviet, L., Blanchard, S., Perfettini, I., Fath, K. R., Shorte, S., Reiners, J., Houdusse, A., Legrain, P., Wolfrum, U., Richardson, G., & Petit, C. (2002). Myosin VIIa, harmonin and cadherin 23, three Usher I gene products that cooperate to shape the sensory hair cell bundle. *The EMBO Journal*, 21(24), 6689–6699. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdf689>
- Bolz, H., von Brederlow, B., Ramírez, A., Bryda, E. C., Kutsche, K., Nothwang, H. G., Seeliger, M., Cabrera, M. del C.-S., Vila, M. C., Molina, O. P., Gal, A., & Kubisch, C. (2001). Mutation of CDH23, encoding a new member of the cadherin gene family, causes Usher syndrome type 1D. *Nature Genetics*, 27(1), 108–112. <https://doi.org/10.1038/83667>
- Bom, S. J. H., de Leenheer, E. M. R., Lemaire, F. X., Kemperman, M. H., Verhagen, W. I. M., Marres, H. A. M., Kunst, H. P. M., Ensink, R. J. H., Bosman, A. J., van Camp, G., Cremers, F. P. M., Huygen, P. L. M., & Cremers, C. W. R. J. (2001). Speech Recognition Scores Related to Age and Degree of Hearing Impairment in DFNA2/KCNQ4 and DFNA9/COCH. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 127(9), 1045–1048. <https://doi.org/10.1001/archotol.127.9.1045>
- Bonné-Tamir, B., DeStefano, A. L., Briggs, C. E., Adair, R., Franklyn, B., Weiss, S., Korostishevsky, M., Frydman, M., Baldwin, C. T., & Farrer, L. A. (1996). Linkage of congenital recessive deafness (gene DFNB10) to chromosome 21q22.3. *American Journal of Human Genetics*, 58(6), 1254–1259. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8651303>
- Bork, J. M., Peters, L. M., Riazuddin, S., Bernstein, S. L., Ahmed, Z. M., Ness, S. L., Polomeno, R., Ramesh, A., Schloss, M., Srisailpathy, C. R., Wayne, S., Bellman, S., Desmukh, D., Ahmed, Z., Khan, S. N., Kaloustian, V. M., Li, X. C., Lalwani, A., Riazuddin, S., ... Morell, R. J. (2001a). Usher syndrome 1D and nonsyndromic autosomal recessive deafness DFNB12 are caused by allelic mutations of the novel cadherin-like gene CDH23. *American Journal of Human Genetics*, 68(1), 26–37. <https://doi.org/10.1086/316954>
- Bork, J. M., Peters, L. M., Riazuddin, S., Bernstein, S. L., Ahmed, Z. M., Ness, S. L., Polomeno, R., Ramesh, A., Schloss, M., Srisailpathy, C. R., Wayne, S., Bellman, S., Desmukh, D., Ahmed, Z., Khan, S. N., Kaloustian, V. M., Li, X. C., Lalwani, A., Riazuddin, S., ... Morell, R. J. (2001b). Usher syndrome 1D and nonsyndromic autosomal recessive deafness DFNB12 are caused by allelic

- mutations of the novel cadherin-like gene CDH23. *American Journal of Human Genetics*, 68(1), 26–37. <https://doi.org/10.1086/316954>
- Brown, K. A., Janjua, A. H., Karbani, G., Parry, G., Noble, A., Crockford, G., Bishop, D. T., Newton, V. E., Markham, A. F., & Mueller, R. F. (1996). Linkage Studies of Non-Syndromic Recessive Deafness (NSRD) in a Family Originating from the Mirpur Region of Pakistan Maps DFNB1 Centromeric to D13S175. *Human Molecular Genetics*, 5(1), 169–173. <https://doi.org/10.1093/hmg/5.1.169>
- Brownstein, Z., Gulsuner, S., Walsh, T., Martins, F. T. A., Taiber, S., Isakov, O., Lee, M. K., Bordeynik-Cohen, M., Birkan, M., Chang, W., Casadei, S., Danial-Farran, N., Abu-Rayyan, A., Carlson, R., Kamal, L., Arnthórsson, A. Ö., Sokolov, M., Gilony, D., Lipschitz, N., ... Avraham, K. B. (2020). Spectrum of genes for inherited hearing loss in the Israeli Jewish population, including the novel human deafness gene ATOH1. *Clinical Genetics*, 98(4), 353–364. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/cge.13817>
- Brunner, H. G., van Bennekom, C. A., Lambermon, E. M. M., Oei, T. L., Cremers, C. W. R. J., Wieringa, B., & Ropers, H.-H. (1988). The gene for X-linked progressive mixed deafness with perilymphatic gusher during stapes surgery (DFN3) is linked to PGK. *Human Genetics*, 80(4), 337–340.
- Bruzzone, R., White, T. W., & Paul, D. L. (1996). Connections with Connexins: the Molecular Basis of Direct Intercellular Signaling. *European Journal of Biochemistry*, 238(1), 1–27. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1996.0001q.x>
- Budde, B. S., Aly, M. A., Mohamed, M. R., Breß, A., Altmüller, J., Motameny, S., Kawalia, A., Thiele, H., Konrad, K., Becker, C., Toliat, M. R., Nürnberg, G., Sayed, E. A. F., Mohamed, E. S., Pfister, M., & Nürnberg, P. (2020). Comprehensive molecular analysis of 61 Egyptian families with hereditary nonsyndromic hearing loss. *Clinical Genetics*, 98(1), 32–42. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/cge.13754>
- Carrasquillo, M. M., Zlotogora, J., Barges, S., & Chakravarti, A. (1997). Two Different Connexin 26 Mutations in an Inbred Kindred Segregating Non-Syndromic Recessive Deafness: Implications for Genetic Studies in Isolated Populations. *Human Molecular Genetics*, 6(12), 2163–2172. <https://doi.org/10.1093/hmg/6.12.2163>
- Carter, D., Chakalova, L., Osborne, C. S., Dai, Y., & Fraser, P. (2002). Long-range chromatin regulatory interactions in vivo. *Nature Genetics*, 32(4), 623–626. <https://doi.org/10.1038/ng1051>
- Chaïb, H., Place, C., Salem, N., Chardenoux, S., Vincent, C., Weissenbach, J., El-Zir, E., Loiselet, J., & Petit, C. (1996). A Gene Responsible for a Sensorineural Nonsyndromic Recessive Deafness Maps to Chromosome 2p22–23. *Human Molecular Genetics*, 5(1), 155–158. <https://doi.org/10.1093/hmg/5.1.155>
- Cohn, E. S., Kelley, P. M., Fowler, T. W., Gorga, M. P., Lefkowitz, D. M., Kuehn, H. J., Schaefer, G. B., Gobar, L. S., Hahn, F. J., Harris, D. J., & Kimberling, W. J. (1999). Clinical Studies of Families With Hearing Loss Attributable to Mutations in the Connexin 26 Gene (GJB2/DFNB1). *Pediatrics*, 103(3), 546–550. <https://doi.org/10.1542/peds.103.3.546>

- Common, J. E. A., Di, W. L., Davies, D., & Kelsell, D. P. (2004). Further evidence for heterozygote advantage of GJB2 deafness mutations: A link with cell survival. *Journal of Medical Genetics*, *41*(7), 573–575. <https://doi.org/10.1136/jmg.2003.017632>
- Coucke, P. J., van Hauwe, P., Kelley, P. M., Kunst, H., Schatteman, I., van Velzen, D., Meyers, J., Ensink, R. J., Verstreken, M., Declau, F., Marres, H., Kastury, K., Bhasin, S., McGuirt, W. T., Smith, R. J. H., Cremers, C. W. R. J., van de Heyning, P., Willems, P. J., Smith, S. D., & van Camp, G. (1999). Mutations in the KCNQ4 Gene Are Responsible for Autosomal Dominant Deafness in Four DFNA2 Families. *Human Molecular Genetics*, *8*(7), 1321–1328. <https://doi.org/10.1093/hmg/8.7.1321>
- Coucke, P., van Camp, G., Djoyodiharjo, B., Smith, S. D., Frants, R. R., Padberg, G. W., Darby, J. K., Huizing, E. H., Cremers, C., Kimberling, W. J., Oostra, B. A., van de Heyning, P. H., & Willems, P. J. (1994). Linkage of Autosomal Dominant Hearing Loss to the Short Arm of Chromosome 1 in Two Families. *New England Journal of Medicine*, *331*(7), 425–431. <https://doi.org/10.1056/NEJM199408183310702>
- * Cremers, C. W. R. J., van Rijn, P. M., & Huygen, P. L. M. (1994). The sex-ratio in childhood deafness, an analysis of the male predominance. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, *30*(2), 105–110. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0165-5876\(94\)90192-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0165-5876(94)90192-9)
- Cremers, F. P. M., Cremers, C. W. R. J., & Ropers, H.-H. (2000). The Ins and Outs of X-Linked Deafness Type 3. In *Advances in Oto-Rhino-Laryngology* (Vol. 56, pp. 184–195). <https://doi.org/10.1159/000059101>
- Crow, J. F., & Kimura, M. (1970). An introduction to population genetics theory Harper & Row Publishers. Inc., New York.
- Cui, B., Zhang, H., Zhong, W., Pei, G., & Kong, X. (2004). Refinement of the locus for non-syndromic sensorineural deafness (DFN2). In *Journal of Genetics* (Vol. 83, Issue 1). http://www.marshfieldclinic.org/research/genetics/Map_
- de Kok, Y. J. M., Vossenaar, E. R., Cremers, C. W. R. J., Dahl, N., Laporte, J., Jia Hu, L., Lacombe, D., Fischel-Ghodsian, N., Friedman, R. A., Parnes, L. S., Thorpe, P., Bitner-Glindzicz, M., Pander, H.-J., Heilbronner, H., Graveline, J., den Dunnen, J. T., Brunner, H. G., Ropers, H.-H., & Cremers, F. P. M. (1996). Identification of a Hot Spot for Microdeletions in Patients with X-linked Deafness Type 3 (DFN3) 900 kb Proximal to the DFN3 gene POU3F4. *Human Molecular Genetics*, *5*(9), 1229–1235. <https://doi.org/10.1093/hmg/5.9.1229>
- del Castillo, I., Rodriguez, M., Tapia, M. C., & Moreno, F. (2000). X-linked non-syndromic sensorineural deafness: the DFN6 locus. *Advances in Otorhinolaryngology*, *56*, 200–202.
- del Castillo, I., Villamar, M., Moreno-Pelayo, M. A., del Castillo, F. J., Álvarez, A., Tellería, D., Menéndez, I., & Moreno, F. (2002). A Deletion Involving the Connexin 30 Gene in Nonsyndromic Hearing Impairment. *New England Journal of Medicine*, *346*(4), 243–249. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa012052>

- del Castillo, I., Villamar, M., Sarduy, M., Romero, L., Herraiz, C., Javier Hernández, F., Rodríguez, M., Borrás, I., Montero, Á., & Bellón, J. (1996). A novel locus for non-syndromic sensorineural deafness (DFN6) maps to chromosome Xp22. *Human Molecular Genetics*, 5(9), 1383–1387.
- Denoyelle, F., Lina-Granade, G., Plauchu, H., Bruzzone, R., Chaïb, H., Lévi-Acobas, F., Weil, D., & Petit, C. (1998). Connexin 26 gene linked to a dominant deafness. *Nature*, 393(6683), 319–320.
<https://doi.org/10.1038/30639>
- Dow, G. S., & Poynter, C. I. (1930). The dar family. *Eugen. News*, 15, 128–130.
- Ealy, M., Lynch, K. A., Meyer, N. C., & Smith, R. J. H. (2011). The prevalence of mitochondrial mutations associated with aminoglycoside-induced sensorineural hearing loss in an NICU population. *The Laryngoscope*, 121(6), 1184–1186.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/lary.21778>
- Estivill, X., Fortina, P., Surrey, S., Rabionet, R., Melchionda, S., D’Agruma, L., Mansfield, E., Rappaport, E., Govea, N., Milà, M., Zelante, L., & Gasparini, P. (1998). Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. *The Lancet*, 351(9100), 394–398.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)11124-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)11124-2)
- Estivill, X., Govea, N., Barceló, A., Perelló, E., Badenas, C., Romero, E., Moral, L., Scozzari, R., D’Urbano, L., Zeviani, M., & Torroni, A. (1998). Familial Progressive Sensorineural Deafness Is Mainly Due to the mtDNA A1555G Mutation and Is Enhanced by Treatment with Aminoglycosides. *The American Journal of Human Genetics*, 62(1), 27–35.
<https://doi.org/10.1086/301676>
- Everett, L. A., Glaser, B., Beck, J. C., Idol, J. R., Buchs, A., Heyman, M., Adawi, F., Hazani, E., Nassir, E., Baxevanis, A. D., Sheffield, V. C., & Green, E. D. (1997). Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nature Genetics*, 17(4), 411–422.
<https://doi.org/10.1038/ng1297-411>
- Forge, A., Becker, D., Casalotti, S., Edwards, J., Marziano, N., & Nevill, G. (2003). Gap junctions in the inner ear: Comparison of distribution patterns in different vertebrates and assesment of connexin composition in mammals. *Journal of Comparative Neurology*, 467(2), 207–231.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cne.10916>
- * FRASER, G. R. (1965). Sex-linked recessive congenital deafness and the excess of males in profound childhood deafness. *Annals of Human Genetics*, 29(2), 171–196.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1965.tb00512.x>
- * Friedman, T. B., & Griffith, A. J. (2003). Human Nonsyndromic Sensorineural Deafness. In *Annual Review of Genomics and Human Genetics* (Vol. 4, pp. 341–402).
<https://doi.org/10.1146/annurev.genom.4.070802.110347>
- Friedman, T. B., Liang, Y., Weber, J. L., Hinnant, J. T., Barber, T. D., Winata, S., Arhya, I. N., & Asher, J. H. (1995). A gene for congenital, recessive deafness DFNB3 maps to the pericentromeric region of chromosome 17. *Nature Genetics*, 9(1), 86–91.

- Gasparini, P., Estivill, X., Volpini, V., Totaro, A., Castellvi-Bel, S., Govea, N., Mila, M., della Monica, M., Ventruto, V., & de Benedetto, M. (1997). Linkage of DFNB1 to non-syndromic neurosensory autosomal-recessive deafness in Mediterranean families. *European Journal of Human Genetics*, *5*, 83–88.
- Goodenough, D. A., Goliger, J. A., & Paul, D. L. (1996). CONNEXINS, CONNEXONS, AND INTERCELLULAR COMMUNICATION. *Annual Review of Biochemistry*, *65*(1), 475–502. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.65.070196.002355>
- Gould, S. Jay, & Eldredge, N. (1993). Punctuated equilibrium comes of age. *Nature*, *366*(6452), 223–227. <https://doi.org/10.1038/366223a0>
- Griffith, A. J., Chowdhry, A. A., Kurima, K., Hood, L. J., Keats, B., Berlin, C. I., Morell, R. J., & Friedman, T. B. (2000). Autosomal recessive nonsyndromic neurosensory deafness at DFNB1 not associated with the compound-heterozygous GJB2 (connexin 26) genotype M34T/167delT. *American Journal of Human Genetics*, *67*(3), 745–749. <https://doi.org/10.1086/303045>
- Gründer, S., Müller, A., & Ruppertsberg, J. P. (2001). Developmental and cellular expression pattern of epithelial sodium channel α , β and γ subunits in the inner ear of the rat. *European Journal of Neuroscience*, *13*(4), 641–648. <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2001.01426.x>
- Guilford, P., Arab, S. ben, Blanchard, S., Levilliers, J., Weissenbach, J., Belkahia, A., & Petit, C. (1994). A non-syndromic form of neurosensory, recessive deafness maps to the pericentromeric region of chromosome 13q. *Nature Genetics*, *6*(1), 24–28. <https://doi.org/10.1038/ng0194-24>
- Guipponi, M., Vuagniaux, G., Wattenhofer, M., Shibuya, K., Vazquez, M., Dougherty, L., Scamuffa, N., Guida, E., Okui, M., Rossier, C., Hancock, M., Buchet, K., Reymond, A., Hummler, E., Marzella, P. L., Kudoh, J., Shimizu, N., Scott, H. S., Antonarakis, S. E., & Rossier, B. C. (2002). The transmembrane serine protease (TMPRSS3) mutated in deafness DFNB8/10 activates the epithelial sodium channel (ENaC) in vitro. *Human Molecular Genetics*, *11*(23), 2829–2836. <https://doi.org/10.1093/hmg/11.23.2829>
- Hauwe, P. van, Coucke, P. J., Declau, F., Kunst, H., Ensink, R. J., Marres, H. A., Cremers, C. W. R. J., Djelantik, B., Smith, S. D., Kelley, P., Heyning, P. H. van de, & Camp, G. van. (1999). Deafness linked to DFNA2: one locus but how many genes? *Nature Genetics*, *21*(3), 263. <https://doi.org/10.1038/6778>
- Holloway, R. L. (1983). Human brain evolution: a search for units, models and synthesis. *Canadian Journal of Anthropology*, *3*(2), 215–229.
- Huber, I., Bitner-Glindzicz, M., de Kok, Y. J. M., van der Maarel, S. M., Ishikawa-Brush, Y., Monaco, A. P., Robinson, D., Malcolm, S., Pembrey, M. E., Brunner, H. G., Cremers, F. P. M., & Ropers, H.-H. (1994). X-linked mixed deafness (DFN3): cloning and characterization of the critical region allows the identification of novel microdeletions. *Human Molecular Genetics*, *3*(7), 1151–1154. <https://doi.org/10.1093/hmg/3.7.1151>

- Jaber, L., Shohat, M., Bu, X., Fischel-Ghodsian, N., Yang, H. Y., Wang, S. J., & Rotter, J. I. (1992). Sensorineural deafness inherited as a tissue specific mitochondrial disorder. *Journal of Medical Genetics*, 29(2), 86. <https://doi.org/10.1136/jmg.29.2.86>
- Kelsell, D. P., Dunlop, J., Stevens, H. P., Lench, N. J., Liang, J. N., Parry, G., Mueller, R. F., & Leigh, I. M. (1997). Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. *Nature*, 387(6628), 80–83. <https://doi.org/10.1038/387080a0>
- Kharkovets, T., Hardelin, J. P., Safieddine, S., Schweizer, M., El-Amraoui, A., Petit, C., & Jentsch, T. J. (2000). KCNQ4, a K⁺ channel mutated in a form of dominant deafness, is expressed in the inner ear and the central auditory pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(8), 4333–4338. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.8.4333>
- Kikuchi, T., Kimura, R. S., Paul, D. L., & Adams, J. C. (1995). Gap junctions in the rat cochlea: immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Anatomy and Embryology*, 191(2), 101–118. <https://doi.org/10.1007/bf00186783>
- Klein, R. G. (1992). The archeology of modern human origins. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, 1(1), 5–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/evan.1360010105>
- Kleinjan, D.-J., & van Heyningen, V. (1998). Position Effect in Human Genetic Disease. *Human Molecular Genetics*, 7(10), 1611–1618. <https://doi.org/10.1093/hmg/7.10.1611>
- Kopp, P., Arseven, O. K., Sabacan, L., Kotlar, T., Dupuis, J., Cavaliere, H., Santos, C. L. S., Jameson, J. L., & Medeiros-Neto, G. (1999). Phenocopies for Deafness and Goiter Development in a Large Inbred Brazilian Kindred with Pendred's Syndrome Associated with a Novel Mutation in the PDS Gene1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(1), 336–341. <https://doi.org/10.1210/jcem.84.1.5398>
- Kubisch, C., Schroeder, B. C., Friedrich, T., Lütjohann, B., El-Amraoui, A., Marlin, S., Petit, C., & Jentsch, T. J. (1999). KCNQ4, a Novel Potassium Channel Expressed in Sensory Outer Hair Cells, Is Mutated in Dominant Deafness. *Cell*, 96(3), 437–446. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80556-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80556-5)
- Lai, C. S. L., Fisher, S. E., Hurst, J. A., Vargha-Khadem, F., & Monaco, A. P. (2001). A forkhead-domain gene is mutated in a severe speech and language disorder. *Nature*, 413(6855), 519–523.
- Lalwani, A. K., Brister, J. R., Fex, J., Grundfast, K. M., Pikus, A. T., Ploplis, B., San Agustin, T., Skarka, H., & Wilcox, E. R. (1994). A new nonsyndromic X-linked sensorineural hearing impairment linked to Xp21. 2. *American Journal of Human Genetics*, 55(4), 685.
- Lalwani, A. K., Goldstein, J. A., Kelley, M. J., Luxford, W., Castelein, C. M., & Mhatre, A. N. (2000). Human nonsyndromic hereditary deafness DFNA17 is due to a mutation in nonmuscle myosin MYH9. *American Journal of Human Genetics*, 67(5), 1121–1128. [https://doi.org/10.1016/S0002-9297\(07\)62942-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9297(07)62942-5)
- Lalwani, A. K., Linthicum, F. H., Wilcox, E. R., Moore, J. K., Walters, F. C., San Agustin, T. B., Mislinski, J., Miller, M. R., Sinninger, Y., Attaie, A., & Luxford, W. M. (1997). A Five-Generation Family with

- Late-Onset Progressive Hereditary Hearing Impairment Due to Cochleosaccular Degeneration. *Audiology and Neurotology*, 2(3), 139–154. <https://doi.org/10.1159/000259237>
- Lerer, I., Sagi, M., Ben-Neriah, Z., Wang, T., Levi, H., & Abeliovich, D. (2001). A deletion mutation in GJB6 cooperating with a GJB2 mutation in trans in non-syndromic deafness: A novel founder mutation in Ashkenazi Jews. *Human Mutation*, 18(5), 460. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/humu.1222>
- Li, X. C., Everett, L. A., Lalwani, A. K., Desmukh, D., Friedman, T. B., Green, E. D., & Wilcox, E. R. (1998). A mutation in PDS causes non-syndromic recessive deafness. *Nature Genetics*, 18(3), 215–217. <https://doi.org/10.1038/ng0398-215>
- López-Bigas, N., Melchionda, S., de Cid, R., Grifa, A., Zelante, L., Govea, N., Arbonés, M. L., Gasparini, P., & Estivill, X. (2001). Identification of five new mutations of PDS/SLC26A4 in Mediterranean families with hearing impairment. *Human Mutation*, 18(6), 548. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/humu.1238>
- Manolis, E. N., Eavey, R. D., Sangwatanaroj, S., Halpin, C., Rosenbaum, S., Watkins, H., Jarcho, J., Seidman, C. E., & Seidman, J. G. (1999). Hereditary postlingual sensorineural hearing loss mapping to chromosome Xq21. *The American Journal of Otology*, 20(5), 621–626.
- Martin, J. A. M., Bentzen, O., Colley, J. R. T., Hennebert, D., Holm, C., Iurato, S., de Jonge, G. A., McCullen, O., Meyer, M. L., Moore, W. J., & Morgon, A. (1981). Childhood Deafness in the European Community. *Scandinavian Audiology*, 10(3), 165–174. <https://doi.org/10.3109/01050398109076177>
- Masmoudi, S., Antonarakis, S. E., Schwede, T., Ghorbel, A. M., Gratri, M., Pappasavas, M.-P., Drira, M., Elgaied-Boulila, A., Wattenhofer, M., Rossier, C., Scott, H. S., Ayadi, H., & Guipponi, M. (2001). Novel missense mutations of TMPRSS3 in two consanguineous Tunisian families with non-syndromic autosomal recessive deafness. *Human Mutation*, 18(2), 101–108. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/humu.1159>
- Maw, M. A., Allen-Powell, D. R., Goodey, R. J., Stewart, I. A., Nancarrow, D. J., Hayward, N. K., & Gardner, R. J. (1995). The contribution of the DFNB1 locus to neurosensory deafness in a Caucasian population. *American Journal of Human Genetics*, 57(3), 629–635. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7668291>
- Meyer, C. G., Amedofu, G. K., Brandner, J. M., Pohland, D., Timmann, C., & Horstmann, R. D. (2002). Selection for deafness? *Nature Medicine*, 8(12), 1332–1333. <https://doi.org/10.1038/nm1202-1332>
- Migliosi, V., Modamio-Høybjør, S., Moreno-Pelayo, M. A., Rodríguez-Ballesteros, M., Villamar, M., Tellería, D., Menéndez, I., Moreno, F., & del Castillo, I. (2002). Q829X, a novel mutation in the gene encoding otoferlin (OTOF), is frequently found in Spanish patients with prelingual non-syndromic hearing loss. *Journal of Medical Genetics*, 39(7), 502–506. <https://doi.org/10.1136/jmg.39.7.502>

- Minarik, G., Ferak, V., Ferakova, E., Ficek, A., Polakova, H., & Kadasi, L. (2003). High frequency of GJB2 mutation W24X among Slovak Romany (Gypsy) patients with non-syndromic hearing loss (NSHL). *General Physiology and Biophysics*, 22(4), 549–556.
- Mishra, S., Pandey, H., Srivastava, P., Mandal, K., & Phadke, S. R. (2018). Connexin 26 (GJB2) Mutations Associated with Non-Syndromic Hearing Loss (NSHL). *The Indian Journal of Pediatrics*, 85(12), 1061–1066. <https://doi.org/10.1007/s12098-018-2654-8>
- Miyagawa, M., Nishio, S., & Usami, S. (2014). Mutation spectrum and genotype–phenotype correlation of hearing loss patients caused by SLC26A4 mutations in the Japanese: a large cohort study. *Journal of Human Genetics*, 59(5), 262–268.
- Morar, B., Gresham, D., Angelicheva, D., Tournev, I., Gooding, R., Guergueltcheva, V., Schmidt, C., Abicht, A., Lochmüller, H., Tordai, A., Kalmár, L., Nagy, M., Karcagi, V., Jeanpierre, M., Herczegfalvi, A., Beeson, D., Venkataraman, V., Warwick Carter, K., Reeve, J., ... Kalaydjieva, L. (2004). Mutation History of the Roma/Gypsies. *The American Journal of Human Genetics*, 75(4), 596–609. <https://doi.org/10.1086/424759>
- Morton, C. C., & Nance, W. E. (2006). Newborn Hearing Screening — A Silent Revolution. *New England Journal of Medicine*, 354(20), 2151–2164. <https://doi.org/10.1056/NEJMra050700>
- MORTON, N. E. (1991). Genetic Epidemiology of Hearing Impairment. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 630(1), 16–31. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1991.tb19572.x>
- Nagafuchi, A. (2001). Molecular architecture of adherens junctions. *Current Opinion in Cell Biology*, 13(5), 600–603. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(00\)00257-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0955-0674(00)00257-X)
- Najmabadi, H., Cucci, R. A., Sahebjam, S., Kouchakian, N., Farhadi, M., Kahrizi, K., Arzhang, S., Daneshmandan, N., Javan, K., & Smith, R. J. H. (2002). GJB2 mutations in Iranians with autosomal recessive non-syndromic sensorineural hearing loss. *Human Mutation*, 19(5), 572. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/humu.9033>
- * Nance, W. E. (2003). The genetics of deafness. In *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews* (Vol. 9, Issue 2, pp. 109–119). <https://doi.org/10.1002/mrdd.10067>
- Nance, W. E., Cunningham, G. C., Davis, J. G., Morton, C. C., Elsas, L. J., Finitzo, T., Falk, R. E., Ing, P. S., Pandya, A., & McCabe, E. R. B. (2000). Statement of the American College of Medical Genetics on universal newborn hearing screening. *Genetics in Medicine*, 2(2), 149–150.
- Nance, W. E., & Kearsy, M. J. (2004). Relevance of Connexin Deafness (DFNB1) to Human Evolution
*. *The American Journal of Human Genetics*, 74(6), 1081–1087. <https://doi.org/10.1086/420979>
- Nance, W., Xia, X., Gupta, V., Arnos, K., Welch, K., Landa, B., Dobrowolski, S., Blanton, S., & Pandya, A. (2002). Frequency of the Connexin 30 deletion (Cx30del) in deaf probands from the US and its occurrence of cis with Connexin 26 (Cx26) mutations. *American Journal of Human Genetics*, 71(4), 510.

- Nollet, F., Kools, P., & van Roy, F. (2000). Phylogenetic analysis of the cadherin superfamily allows identification of six major subfamilies besides several solitary members¹¹Edited by M. Yaniv. *Journal of Molecular Biology*, *299*(3), 551–572. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.3777>
- Ohtsuka, A., Yuge, I., Kimura, S., Namba, A., Abe, S., van Laer, L., van Camp, G., & Usami, S. (2003). GJB2 deafness gene shows a specific spectrum of mutations in Japan, including a frequent founder mutation. *Human Genetics*, *112*(4), 329–333. <https://doi.org/10.1007/s00439-002-0889-x>
- O’Sullivan, M. E., Perez, A., Lin, R., Sajjadi, A., Ricci, A. J., & Cheng, A. G. (2017). Towards the Prevention of Aminoglycoside-Related Hearing Loss. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *11*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2017.00325>
- Pallares-Ruiz, N., Blanchet, P., Mondain, M., Claustres, M., & Roux, A.-F. (2002). A large deletion including most of GJB6 in recessive non syndromic deafness: a digenic effect? *European Journal of Human Genetics*, *10*(1), 72–76. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200762>
- Park, H.-J., Shaukat, S., Liu, X.-Z., Hahn, S. H., Naz, S., Ghosh, M., Kim, H.-N., Moon, S.-K., Abe, S., Tukamoto, K., Riazuddin, S., Kabra, M., Erdenetungalag, R., Radnaabazar, J., Khan, S., Pandya, A., Usami, S.-I., Nance, W. E., Wilcox, E. R., ... Griffith, A. J. (2003). Origins and frequencies of SLC26A4 (PDS) mutations in east and south Asians: global implications for the epidemiology of deafness. *Journal of Medical Genetics*, *40*(4), 242–248. <https://doi.org/10.1136/jmg.40.4.242>
- Pfister, M., Tóth, T., Thiele, H., Haack, B., Blin, N., Zenner, H.-P., Sziklai, I., Nürnberg, P., & Kupka, S. (2002). A 4-bp insertion in the *eya*-homologous region (*eyaHR*) of *EYA4* causes hearing impairment in a Hungarian family linked to DFNA10. *Molecular Medicine (Cambridge, Mass.)*, *8*(10), 607–611. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12477971>
- Phelps, P. D., Reardon, W., Pembrey, M., Bellman, S., & Luxon, L. (1991). X-linked deafness, stapes gushers and a distinctive defect of the inner ear. *Neuroradiology*, *33*(4), 326–330.
- Pier, G. B., Grout, M., Zaidi, T., Meluleni, G., Mueschenborn, S. S., Banting, G., Ratcliff, R., Evans, M. J., & Colledge, W. H. (1998). Salmonella typhi uses CFTR to enter intestinal epithelial cells. *Nature*, *393*(6680), 79–82. <https://doi.org/10.1038/30006>
- Rabbani, B., Mahdieh, N., Hosomichi, K., Nakaoka, H., & Inoue, I. (2012). Next-generation sequencing: impact of exome sequencing in characterizing Mendelian disorders. *Journal of Human Genetics*, *57*(10), 621–632. <https://doi.org/10.1038/jhg.2012.91>
- Rabionet, R., Gasparini, P., & Estivill, X. (2000). Molecular genetics of hearing impairment due to mutations in gap junction genes encoding beta connexins. *Human Mutation*, *16*(3), 190–202. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1098-1004\(200009\)16:3<190::AID-HUMU2>3.0.CO;2-I](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1098-1004(200009)16:3<190::AID-HUMU2>3.0.CO;2-I)
- Reardon, W. (1990). Sex linked deafness: Wilde revisited. *Journal of Medical Genetics*, *27*(6), 376–379. <https://doi.org/10.1136/jmg.27.6.376>
- Reardon, W., Middleton-Price, H. R., Sandkuijl, L., Phelps, P., Bellman, S., Luxon, L., Pembrey, M. E., & Malcolm, S. (1991). A multipedigree linkage study of X-linked deafness: Linkage to Xq13-q21

- and evidence for genetic heterogeneity. *Genomics*, 11(4), 885–894.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0888-7543\(91\)90011-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0888-7543(91)90011-3)
- Richard, G. (2003). Connexin gene pathology. *Clinical and Experimental Dermatology*, 28(4), 397–409.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1365-2230.2003.01312.x>
- Richard, G., Rouan, F., Willoughby, C. E., Brown, N., Chung, P., Ryyänen, M., Jabs, E. W., Bale, S. J., DiGiovanna, J. J., Uitto, J., & Russell, L. (2002). Missense Mutations in *GJB2* Encoding Connexin-26 Cause the Ectodermal Dysplasia Keratitis-Ichthyosis-Deafness Syndrome. *The American Journal of Human Genetics*, 70(5), 1341–1348. <https://doi.org/10.1086/339986>
- Royaux, I. E., Suzuki, K., Mori, A., Katoh, R., Everett, L. A., Kohn, L. D., & Green, E. D. (2000). Pendrin, the Protein Encoded by the Pendred Syndrome Gene (PDS), Is an Apical Porter of Iodide in the Thyroid and Is Regulated by Thyroglobulin in FRTL-5 Cells. *Endocrinology*, 141(2), 839–845.
<https://doi.org/10.1210/endo.141.2.7303>
- Saadat, M., Ansari-Lari, M., & Farhud, D. D. (2004). Short Report Consanguineous marriage in Iran. *Annals of Human Biology*, 31(2), 263–269. <https://doi.org/10.1080/03014460310001652211>
- Šafka Brožková, D., Laštůvková, J., Štěpánková, H., Krůtová, M., Trková, M., Myška, P., & Seeman, P. (2012). DFNB49 is an important cause of non-syndromic deafness in Czech Roma patients but not in the general Czech population. *Clinical Genetics*, 82(6), 579–582.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2011.01817.x>
- Scott, D. A., Carmi, R., Elbedour, K., Duyk, G. M., Stone, E. M., & Sheffield, V. C. (1995). Nonsyndromic autosomal recessive deafness is linked to the DFNB1 locus in a large inbred Bedouin family from Israel. *American Journal of Human Genetics*, 57(4), 965–968.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7573061>
- Scott, D. A., Kraft, M. L., Stone, E. M., Sheffield, V. C., & Smith, R. J. H. (1998). Connexin mutations and hearing loss. *Nature*, 391(6662), 32. <https://doi.org/10.1038/34079>
- Scott, D. A., Wang, R., Kreman, T. M., Andrews, M., McDonald, J. M., Bishop, J. R., Smith, R. J. H., Karniski, L. P., & Sheffield, V. C. (2000). Functional differences of the PDS gene product are associated with phenotypic variation in patients with Pendred syndrome and non-syndromic hearing loss (DFNB4). *Human Molecular Genetics*, 9(11), 1709–1715.
<https://doi.org/10.1093/hmg/9.11.1709>
- Scott, D. A., Wang, R., Kreman, T. M., Sheffield, V. C., & Karniski, L. P. (1999). The Pendred syndrome gene encodes a chloride-iodide transport protein. *Nature Genetics*, 21(4), 440–443.
<https://doi.org/10.1038/7783>
- Scott, H. S., Kudoh, J., Wattenhofer, M., Shibuya, K., Berry, A., Chrast, R., Guipponi, M., Wang, J., Kawasaki, K., Asakawa, S., Minoshima, S., Younus, F., Mehdi, S. Q., Radhakrishna, U., Pappasavvas, M.-P., Gehrig, C., Rossier, C., Korostishevsky, M., Gal, A., ... Antonarakis, S. E. (2001). Insertion of β -satellite repeats identifies a transmembrane protease causing both congenital and childhood onset autosomal recessive deafness. *Nature Genetics*, 27(1), 59–63.
<https://doi.org/10.1038/83768>

- Seeman, P., Malíková, M., Rašková, D., Bendová, O., Groh, D., Kubáľková, M., Sakmaryová, I., Seemanová, E., & Kabelka, Z. (2004). Spectrum and frequencies of mutations in the GJB2 (Cx26) gene among 156 Czech patients with pre-lingual deafness. *Clinical Genetics*, *66*(2), 152–157. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2004.00283.x>
- Shearer, A. E., DeLuca, A. P., Hildebrand, M. S., Taylor, K. R., Gurrola 2nd, J., Scherer, S., Scheetz, T. E., & Smith, R. J. H. (2010). Comprehensive genetic testing for hereditary hearing loss using massively parallel sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*(49), 21104–21109. <https://doi.org/10.1073/pnas.1012989107>
- * Sheffield, A. M., & Smith, R. J. H. (2019). The epidemiology of deafness. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *9*(9). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a033258>
- Sheffield, V. C., Kraiem, Z., Beck, J. C., Nishimura, D., Stone, E. M., Salameh, M., Sadeh, O., & Glaser, B. (1996). Pendred syndrome maps to chromosome 7q21-34 and is caused by an intrinsic defect in thyroid iodine organification. *Nature Genetics*, *12*(4), 424–426. <https://doi.org/10.1038/ng0496-424>
- Shibata, S. B., Shearer, A. E., & Smith, R. J. H. (2014). Genetic sensorineural hearing loss. *Cummings Otolaryngology—Head and Neck Surgery*. 6th Ed. Philadelphia, PA: Saunders, an Imprint of Elsevier, 2285–2300.
- Shinagawa, J., Moteki, H., Nishio, S., Noguchi, Y., & Usami, S. (2020). Haplotype analysis of GJB2 mutations: founder effect or mutational hot spot? *Genes*, *11*(3), 250.
- Siemens, J., Kazmierczak, P., Reynolds, A., Sticker, M., Littlewood-Evans, A., & Müller, U. (2002). The Usher syndrome proteins cadherin 23 and harmonin form a complex by means of PDZ-domain interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*(23), 14946–14951. <https://doi.org/10.1073/pnas.232579599>
- Sloan-Heggen, C. M., Babanejad, M., Beheshtian, M., Simpson, A. C., Booth, K. T., Ardalani, F., Frees, K. L., Mohseni, M., Mozafari, R., Mehrjoo, Z., Jamali, L., Vaziri, S., Akhtarkhavari, T., Bazazzadegan, N., Nikzat, N., Arzhangi, S., Sabbagh, F., Otukesh, H., Seifati, S. M., ... Najmabadi, H. (2015). Characterising the spectrum of autosomal recessive hereditary hearing loss in Iran. *Journal of Medical Genetics*, *52*(12), 823. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2015-103389>
- Sloan-Heggen, C. M., Bierer, A. O., Shearer, A. E., Kolbe, D. L., Nishimura, C. J., Frees, K. L., Ephraim, S. S., Shibata, S. B., Booth, K. T., Campbell, C. A., Ranum, P. T., Weaver, A. E., Black-Ziegelbein, E. A., Wang, D., Azaiez, H., & Smith, R. J. H. (2016). Comprehensive genetic testing in the clinical evaluation of 1119 patients with hearing loss. *Human Genetics*, *135*(4), 441–450. <https://doi.org/10.1007/s00439-016-1648-8>
- Sloan-Heggen, C. M., & Smith, R. J. H. (2016). Navigating genetic diagnostics in patients with hearing loss. *Current Opinion in Pediatrics*, *28*(6), 705–712. <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000410>
- Smith, R. J. H., Bale, J. F., & White, K. R. (2005). Sensorineural hearing loss in children. *The Lancet*, *365*(9462), 879–890. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)71047-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)71047-3)

- Sturm, R. A., & Herr, W. (1988). The POU domain is a bipartite DNA-binding structure. *Nature*, 336(6199), 601–604. <https://doi.org/10.1038/336601a0>
- Suzuki, S. T. (1996). Structural and functional diversity of cadherin superfamily: Are new members of cadherin superfamily involved in signal transduction pathway? *Journal of Cellular Biochemistry*, 61(4), 531–542. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4644\(19960616\)61:4<531::AID-JCB6>3.0.CO;2-P](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4644(19960616)61:4<531::AID-JCB6>3.0.CO;2-P)
- Thompson, R. F., & Langford, G. M. (2002). Myosin superfamily evolutionary history. *The Anatomical Record*, 268(3), 276–289. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ar.10160>
- Tranebjaerg, L., Schwartz, C., Eriksen, H., Andreasson, S., Ponjavic, V., Dahl, A., Stevenson, R. E., May, M., Arena, F., Barker, D., & al., et. (1995). A new X linked recessive deafness syndrome with blindness, dystonia, fractures, and mental deficiency is linked to Xq22. *Journal of Medical Genetics*, 32(4), 257–263. <https://doi.org/10.1136/jmg.32.4.257>
- Tsukada, K., Nishio, S., Hattori, M., & Usami, S. (2015). Ethnic-Specific Spectrum of GJB2 and SLC26A4 Mutations: Their Origin and a Literature Review. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*, 124(1_suppl), 61S-76S. <https://doi.org/10.1177/0003489415575060>
- Tyson, J., Bellman, S., Newton, V., Simpson, P., Malcolm, S., Pembrey, M. E., & Bitner-Glindzicz, M. (1996). Mapping of DFN2 to Xq22. *Human Molecular Genetics*, 5(12), 2055–2060. <https://doi.org/10.1093/hmg/5.12.2055>
- Usami, S., & Nishio, S. (2022). The genetic etiology of hearing loss in Japan revealed by the social health insurance-based genetic testing of 10K patients. *Human Genetics*, 141(3), 665–681. <https://doi.org/10.1007/s00439-021-02371-3>
- Usami, S.-I., Abe, S., Shinkawa, H., & Kimberling, W. J. (1998). Sensorineural hearing loss caused by mitochondrial dna mutations: Special reference to the a1555g mutation. *Journal of Communication Disorders*, 31(5), 423–435. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0021-9924\(98\)00014-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0021-9924(98)00014-8)
- van Camp, G., Coucke, P. J., Kunst, H., Schatteman, I., van Velzen, D., Marres, H., van Ewijk, M., Declau, F., van Hauwe, P., Meyers, J., Kenyon, J., Smith, S. D., Smith, R. J. H., Djelantik, B., Cremers, C. W. R. J., van de Heyning, P. H., & Willems, P. J. (1997). Linkage Analysis of Progressive Hearing Loss in Five Extended Families Maps the DFNA2 Gene to a 1.25-Mb Region on Chromosome 1p. *Genomics*, 41(1), 70–74. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/geno.1997.4624>
- van Camp, G., Willems, P. J., & Smith, R. J. (1997). Nonsyndromic hearing impairment: unparalleled heterogeneity. *American Journal of Human Genetics*, 60(4), 758.
- van Hauwe, P., Everett, L. A., Coucke, P., Scott, D. A., Kraft, M. L., Ris-Stalpers, C., Bolder, C., Otten, B., de Vijlder, J. J. M., Dietrich, N. L., Ramesh, A., Srisailapathy, S. C. R., Parving, A., Cremers, C. W. R. J., Willems, P. J., Smith, R. J. H., Green, E. D., & van Camp, G. (1998). Two Frequent Missense Mutations in Pendred Syndrome. *Human Molecular Genetics*, 7(7), 1099–1104. <https://doi.org/10.1093/hmg/7.7.1099>

- van Laer, L., Coucke, P., Mueller, R. F., Caethoven, G., Flothmann, K., Prasad, S. D., Chamberlin, G. P., Houseman, M., Taylor, G. R., van de Heyning, C. M., Fransen, E., Rowland, J., Cucci, R. A., Smith, R. J. H., & van Camp, G. (2001). A common founder for the 35delG &em&GJB2&em&gene mutation in connexin 26 hearing impairment. *Journal of Medical Genetics*, 38(8), 515. <https://doi.org/10.1136/jmg.38.8.515>
- Varga, R., Kelley, P. M., Keats, B. J., Starr, A., Leal, S. M., Cohn, E., & Kimberling, W. J. (2003). Non-syndromic recessive auditory neuropathy is the result of mutations in the otoferlin (&em&OTOF&em&) gene. *Journal of Medical Genetics*, 40(1), 45. <https://doi.org/10.1136/jmg.40.1.45>
- Veske, A., Oehlmann, R., Younus, F., Mohyuddin, A., Müller-Myhsok, B., Qasim Mehdi, S., & Gal, A. (1996). Autosomal Recessive Non-Syndromic Deafness Locus (DFNB8) Maps on Chromosome 21Q22 in a Large Consanguineous Kindred from Pakistan. *Human Molecular Genetics*, 5(1), 165–168. <https://doi.org/10.1093/hmg/5.1.165>
- Vore, A. P., Chang, E. H., Hoppe, J. E., Butler, M. G., Forrester, S., Schneider, M. C., Smith, L. L. H., Burke, D. W., Campbell, C. A., & Smith, R. J. H. (2005). Deletion of and novel missense mutation in POU3F4 in 2 families segregating X-linked nonsyndromic deafness. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 131(12), 1057–1063.
- Wallis, C., Ballo, R., Wallis, G., Beighton, P., & Goldblatt, J. (1988). X-linked mixed deafness with stapes fixation in a Mauritian kindred: Linkage to Xq probe pDP34. *Genomics*, 3(4), 299–301. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0888-7543\(88\)90119-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0888-7543(88)90119-X)
- Wellesley, D., & Goldblatt, J. (1992). A new form of X-linked, high-frequency, sensorineural deafness. *Clinical Genetics*, 41(2), 79–81. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.1992.tb03637.x>
- Wilde, W. R. W. (1853). *Practical observations on aural surgery and the nature and treatment of diseases of the ear*. London : Churchill. <https://books.google.bf/books?id=phkDAAAAQAAJ>
- Wilson, B. S., Tucci, D. L., Merson, M. H., & O’Donoghue, G. M. (2017). Global hearing health care: new findings and perspectives. *The Lancet*, 390(10111), 2503–2515. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31073-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31073-5)
- Wilson, S. M., Householder, D. B., Coppola, V., Tessarollo, L., Fritzsich, B., Lee, E.-C., Goss, D., Carlson, G. A., Copeland, N. G., & Jenkins, N. A. (2001). Mutations in Cdh23 Cause Nonsyndromic Hearing Loss in waltzer Mice. *Genomics*, 74(2), 228–233. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/geno.2001.6554>
- Yasunaga, S., Grati, M., Cohen-Salmon, M., El-Amraoui, A., Mustapha, M., Salem, N., El-Zir, E., Loiselet, J., & Petit, C. (1999). A mutation in OTOF, encoding otoferlin, a FER-1-like protein, causes DFNB9, a nonsyndromic form of deafness. *Nature Genetics*, 21(4), 363–369. <https://doi.org/10.1038/7693>