Now Audiofonol, 2025; 14(4): 9–18
DOI: 10.17431/na/210370
CC BY-NC-ND 3.0 PL, © Autorzy

Nowa Audiofonologia®
Prace poglądowe

Przesłano do redakcji: 17.07.2025
Zaakceptowano po recenzji: 03.09.2025
Opublikowano: 08.01.2026

Postęp diagnostyki genetycznej a zagadka utraconej dziedziczności – gdzie skrywa się genetyczna przyczyna niewyjaśnionych molekularnie przypadków dziedzicznego niedosłuchu?

Advances in genetic diagnostics and the mystery of missing heredity: Where does the genetic cause of molecularly unexplained hereditary hearing loss hide?

Natalia Bałdyga[1,2A-F], Dominika Oziębło[1AC-F], Marcin Leja[1C-E], Henryk Skarżyński[3BEG], Monika Ołdak[1A-F]

[1] Instytut Fizjologii i Patologii Słuchu, Światowe Centrum Słuchu, Zakład Genetyki, Warszawa/Kajetany

[2] Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Szkoła Doktorska Medycyny Translacyjnej, Warszawa

[3] Instytut Fizjologii i Patologii Słuchu, Światowe Centrum Słuchu, Klinika Oto-Ryno-Laryngochirurgii, Warszawa/Kajetany

Wkład autorów:
A Projekt badania
B Gromadzenie danych
C Analiza danych
D Interpretacja danych
E Przygotowanie pracy
F Przegląd literatury
G Gromadzenie funduszy

Streszczenie

Niedosłuch (HL) może mieć zarówno podłoże genetyczne, jak i środowiskowe. Genetycznie uwarunkowany HL może występować jako cecha izolowana lub stanowić jeden z objawów zespołu genetycznie uwarunkowanego. Badania genetyczne odgrywają ważną rolę w identyfikowaniu przyczyn izolowanego i syndromicznego HL. Pomimo że z HL izolowanym powiązano ponad 150 genów oraz znanych jest ponad 400 zespołów, których charakterystycznym objawem jest HL, w wielu przypadkach nie udaje się ustalić molekularnej przyczyny HL. Zjawisko to określane jest jako utracona dziedziczność. Istnieje kilka różnych wyjaśnień nierozwiązanych genetycznie przypadków HL, które omówione zostały w poniższym artykule. W ostatnich latach znacząco wzrosły możliwości diagnostyki genetycznej pacjentów, możliwa jest jednoczesna analiza wielu genów dzięki zastosowaniu testów wysokoprzepustowych, takich jak sekwencjonowanie następnej generacji (NGS). Szybki postęp technologiczny w diagnostyce genetycznej chorób rzadkich niesie za sobą ogromne wyzwania w analizie i interpretacji otrzymywanych wyników, dlatego istotną rolę odgrywają także badania funkcjonalne z użyciem modeli komórkowych i zwierzęcych, w tym myszy i dania pręgowanego (*Danio rerio*). Istnieje nieustanna potrzeba badań w kierunku pełnego zrozumienia mechanizmów molekularnych powstawania chorób rzadkich, w tym dziedzicznego HL, z zastosowaniem najnowszych rozwiązań bioinformatycznych wspierających precyzyjną diagnozę.
Słowa kluczowe: dziedziczny niedosłuch • utracona dziedziczność • sekwencjonowanie następnej generacji • NGS • choroby rzadkie • diagnostyka genetyczna

Abstract

Hearing loss (HL) can have both genetic and environmental causes. Genetically determined HL may occur as an isolated trait or as one of the symptoms of a genetic syndrome. Genetic testing plays a crucial role in identifying causes of both isolated and syndromic

Autor korespondencyjny: Monika Ołdak, Zakład Genetyki, Światowe Centrum Słuchu, Instytut Fizjologii i Patologii Słuchu, ul. Mochnackiego 10, 02-042 Warszawa; email: m.oldak@ifps.org.pl

forms of HL. Although over 150 genes have been associated with non-syndromic HL and more than 400 syndromes are known to feature HL as a characteristic symptom, in many cases the molecular cause remains unknown. This phenomenon is referred to as missing heritability. Several explanations for genetically unresolved cases of HL are discussed in the article. In recent years, the capabilities of genetic diagnostics have significantly increased, with the ability to analyze many genes simultaneously through high-throughput tests such as next-generation sequencing (NGS). The rapid technological advancements in the genetic diagnosis of rare diseases bring major challenges in analyzing and interpreting the results. Therefore, functional studies using animal models such as mice and zebrafish (*Danio rerio*) also play a vital role. There is a continuous pressing need for research aimed at fully understanding the molecular mechanisms of rare diseases, including hereditary HL, using the latest bioinformatic tools to support precise diagnosis.
Keywords: hereditary hearing loss • missing heritability • next-generation sequencing • NGS • rare diseases •genetic diagnostics

Skrót	Rozwinięcie skrótu	Odpowiednik w języku polskim
ADHL	autosomal dominant hearing loss	niedosłuch autosomalny dominujący
ARHL	autosomal recessive hearing loss	niedosłuch autosomalny recesywny
BOR	branchio-oto-renal syndrome	zespół skrzelowo-uszno-nerkowy
CEVA	Caucasian EVA	haplotyp CEVA
CNV	copy number variants	warianty liczby kopii
EVA	enlarged vestibular aqueduct	poszerzony wodociąg przedsionka
HL	hearing loss	niedosłuch
HTS	high-throughput sequencing	sekwencjonowanie wysokoprzepustowe
NGS	next-generation sequencing	sekwencjonowanie następnej generacji
pz	pary zasad	–
RP	retinitis pigmentosa	zwyrodnienie barwnikowe siatkówki
SV	structural variants	warianty strukturalne
WES	whole exome sequencing	sekwencjonowanie całoeksomowe
WGS	whole genome sequencing	sekwencjonowanie całogenomowe
WHO	World Health Organization	Światowa Organizacja Zdrowia

Wprowadzenie

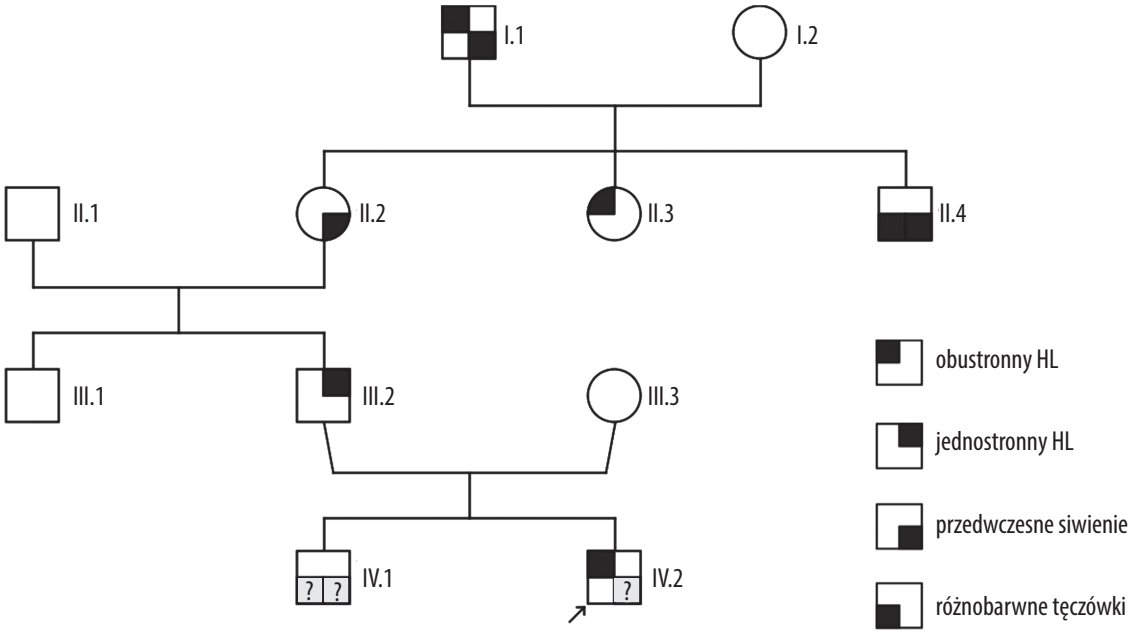
Genetyczne podłoże niedosłuchu w liczbach

Niedosłuch (ang. *hearing loss*, HL) jest najczęstszym zaburzeniem narządów zmysłów [1]. Według Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *World Health Organization*, WHO) problem ten dotyczy ok. 1,5 miliarda osób na świecie, co stanowi ok. 20% populacji, i z upływem lat dotyka coraz większej liczby osób.

Przyczyną HL mogą być czynniki środowiskowe oraz uwarunkowania genetyczne. Dziedziczny HL może występować w postaci izolowanej (izolowany HL) lub stanowić element różnych zespołów genetycznie uwarunkowanych (syndromiczny HL). Genetycznie uwarunkowany HL może być dziedziczony w sposób autosomalny recesywny (ARHL), dominujący (ADHL), sprzężony z chromosomem X oraz w linii matczynej (mtDNA). Typowo izolowany ARHL jest prelingwalny i nie postępuje wraz z wiekiem, natomiast ADHL często ma charakter postlingwalny i postępujący [1]. HL ujawniający się dopiero w kolejnych dekadach życia pacjenta również może mieć podłoże genetyczne. Dotychczas zidentyfikowano i powiązano z izolowanym HL 156 genów, w tym 88 genów z ARHL, 64 geny z ADHL oraz 6 genów z HL dziedziczonym w sposób sprzężony z chromosomem X [2]. Szacuje się, że uwarunkowany genetycznie, prelingwalny, izolowany HL w 70–80% dziedziczony jest w sposób autosomalny recesywny, 20–30% przypadków stanowi ADHL, natomiast dziedziczenie związane z chromosomem płci i wariantami patogennymi mitochondrialnego DNA (mtDNA) odpowiada za ok. 1–2% izolowanego HL [3].

Opracowano system nazewnictwa, tak zwany system DFN, dla loci chromosomowych związanych z izolowanym, dziedzicznym HL. DFN oznacza DeaFNess i zgodnie ze wzorcem dziedziczenia dodawana jest odpowiednia litera, a w kolejności odkrycia liczba: DFNA[#] (autosomalny dominujący), DFNB[#] (autosomalny recesywny), DFNX[#] (związany z chromosomem X), DFNY[#] (powiązany z chromosomem Y). Niektóre geny zostały powiązane zarówno z HL dziedziczonym w sposób autosomalny dominujący, jak i recesywny, np. gen *GJB2*, DFNB1A i DFNA3A lub gen *PTPRQ*, DFNA73 i DFNB84A.

Jak wspomniano wyżej, dziedziczny HL może występować wraz z objawami ze strony innych narządów, np. wzroku (zespół Ushera, zespół Sticklera), nerek (zespół skrzelowo-uszno-nerkowy, ang. *branchio-oto-renal syndrome*, BOR;



Rycina 1. Rola zmiennej ekspresji na przykładzie zespołu Waardenburga. Przykład zmiennej ekspresji – członkowie jednej rodziny z tą samą mutacją mogą prezentować różne objawy zespołu Waardenburga: od całkowitego HL po subtelne cechy jak przedwczesne siwienie lub różnobarwne tęczówki, co utrudnia jednoznaczną diagnozę genetyczną

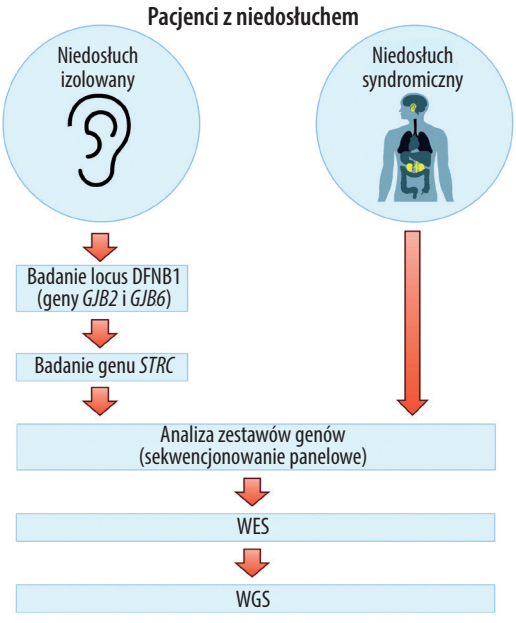
Figure 1. The role of variable expressivity in Waardenburg syndrome. An example of variable expressivity – members of the same family carrying the same mutation may exhibit different features of Waardenburg syndrome, ranging from profound hearing loss to subtle traits such as premature graying or heterochromia of the irises, which complicates clear genetic diagnosis

zespół Alporta), tarczycy (zespół Pendreda), narządów płciowych (zespół Parraulta) oraz innych. Na ten moment opisanych jest ponad 400 zespołów, w których jednym z charakterystycznych objawów jest HL [4]. Niedosłuch syndromiczny stanowi ok. 30% przypadków uwarunkowanego genetycznie, prelingwalnego HL [5]. Przykładem syndromicznego ADHL jest zespół Waardenburga, który dotyka kobiet i mężczyzn [6]. Zespół Waardenburga objawia się HL i zaburzeniami pigmentacji skóry, oczu i włosów [7,8]. Częstość występowania tego zespołu szacowana jest na 1/42 000 w populacji ogólnej, co stanowi aż 2–5% wszystkich pacjentów z wrodzonym HL i 0,9–2,8% pacjentów z głuchotą [9,10].

Na podstawie zespołu Waardenburga można dobrze zobrazować zjawisko zmiennej ekspresji. Oznacza ono, że u członków tej samej rodziny, którzy odziedziczyli mutację prowadzącą do rozwoju zespołu Waardenburga, mogą występować różne cechy tego zespołu (np. tylko HL, biały lok we włosach, przedwczesne siwienie włosów, różnobarwne tęczówki lub różne kombinacje tych cech). W związku z tym nie każda osoba z zespołem Waardenburga w danej rodzinie będzie miała HL (**rycina 1**). Co interesujące, HL w zespole Waardenburga występuje u ok. 63% pacjentów i może być obustronny lub jednostronny, w stopniu lekkim do głębokiego [11]. HL może dotyczyć niskich lub wysokich częstotliwości bądź krzywa audiometrii tonalnej może przypominać literę U.

Przykładem syndromicznego ARHL jest zespół Ushera i zespół Pendreda. Zespół Ushera charakteryzuje się HL i zwyrodnieniem barwnikowym siatkówki (ang. *retinitis pigmentosa*, RP) oraz dysfunkcją układu przedsionkowego u niektórych pacjentów. Zespół Ushera jest główną przyczyną łączonej utraty wzroku i słuchu. Odpowiada za ponad 50% przypadków współwystępowania HL i niedowidzenia. Częstość występowania zespołu Ushera jest szacowana na 4–17/100 000 osób na świecie [12–14]. Ponadto zespół Ushera stanowi 5% wszystkich przypadków wrodzonej głuchoty i 18% wszystkich przypadków RP [12,15]. Zespół Ushera jest klinicznie i genetycznie heterogenny i można go podzielić na cztery odrębne podtypy kliniczne związane z różnymi loci chromosomowymi. Dotychczas powiązano z zespołem Ushera około 15 genów, z czego za ponad 50% przypadków zespołu Ushera typu I odpowiadają warianty patogenne genu *MYO7A*, a w 80% przypadkach zespołu Ushera typu II identyfikowane są warianty genu *USH2A* [16,17]. Interesujący jest fakt, że dla pacjentów z zespołem Ushera, w przypadku których nie udało się ustalić genetycznej przyczyny choroby, dopiero sekwencjonowanie regionów kodujących (ang. *whole exome sequencing*, WES) lub całego genomu (ang. *whole genome sequencing*, WGS) pozwoliło zidentyfikować warianty strukturalne (obszerne delecje, duplikacje) oraz warianty umiejscowione głęboko w sekwencjach intronowych [18–20]. Jest zatem prawdopodobne, że kolejne nowe geny, warianty strukturalne lub głęboko intronowe zostaną zidentyfikowane, gdy genetycznie niewyjaśnione przypadki zostaną przeanalizowane za pomocą WGS (**rycina 2**).

Częstość występowania zespołu Pendreda szacuje się na 7,5 do 10 na 100 000 osób [21,22]. Zespół Pendreda stanowi do 10% przypadków wrodzonej głuchoty i obok zespołu Ushera jest jedną z najczęstszych przyczyn syndromicznego



Rycina 2. Strategie diagnostyczne pacjentów w dziedzicznym HL. Schemat przedstawia zróżnicowane ścieżki diagnostyczne stosowane u pacjentów z dziedzicznym HL. W przypadkach izolowanego HL, diagnostykę rozpoczyna się od analizy locus DFNB1 (geny *GJB2* i *GJB6*). Jeśli wynik jest negatywny, kolejnym krokiem jest badanie genu *STRC*, w szczególności u osób z HL w stopniu lekkim do umiarkowanego. W razie braku rozpoznania diagnostykę rozszerza się o panelowe sekwencjonowanie genów związanych z HL, a następnie – w przypadku dalszego braku diagnozy – o WES. Ostatecznym etapem może być zastosowanie WGS w poszukiwaniu wariantów głęboko intronowych i strukturalnych. W przypadku syndromicznego HL diagnostyka genetyczna najczęściej rozpoczyna się bezpośrednio od analiz NGS w zależności od fenotypu i podejrzenia konkretnego zespołu genetycznego

Figure 2. Diagnostic strategies for patients with hereditary HL. This diagram presents the diverse diagnostic pathways used for patients with hereditary HL. In cases of isolated HL, testing typically begins with analysis of the DFNB1 locus (*GJB2* and *GJB6* genes). If negative, the next step is to examine the *STRC* gene, especially in individuals with mild to moderate HL. When no diagnosis is found, testing is expanded to include HL-related gene panels, followed – if still inconclusive – by WES. The final step may involve WGS to identify deep intronic or structural variants. For syndromic HL, genetic diagnostics often begin directly with NGS-based analyses, depending on the clinical phenotype and suspected genetic syndrome

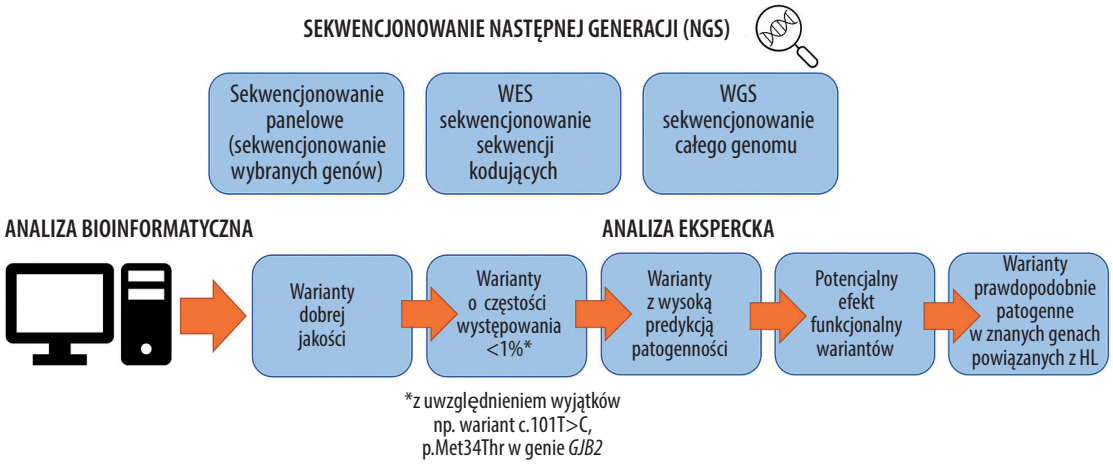
HL [23]. W przeciwieństwie do zespołu Ushera, który jest heterogenny genetycznie, zespół Pendreda jest wynikiem mutacji w jednym genie – *SLC26A4*. Patogenne warianty *SLC26A4* są związane z rozwojem niedosłuchu DFNB4 oraz zespołu Pendreda, w którym niedosłuchowi towarzyszą wady ucha wewnętrznego oraz wole, często z niedoczynnością tarczycy [24–27]. W populacji kaukaskiej tylko u ok. 25% pacjentów z HL i wadą ucha wewnętrznego bądź zespołem Pendreda identyfikowane są dwa biallelicznie (zlokalizowane na dwóch różnych allelach), patogenne warianty genu *SLC26A4* (grupa M2), u kolejnych 25% znajdowany jest jeden wariant w *SLC26A4* (grupa M1) [28–30]. W przypadku pozostałych 50% pacjentów nie jest znajdowany żaden patogenny wariant w regionach kodujących i miejscach składania transkryptu genu *SLC26A4* (grupa M0) [30]. Genetyczna przyczyna zespołu Pendreda jest nieznana w około 75% przypadków, dlatego niektórzy badacze sugerują, że u pacjentów z grupy M1 może występować niezidentyfikowany wariant w konfiguracji *in trans* z uszkodzonym allelem *SLC26A4* [31]. Taką rolę przypisuje się np. haplotypowi CEVA, opisanemu w 2017 roku w populacji kaukaskiej (ang. *Caucasian EVA*, CEVA). W skład CEVA wchodzi 12 polimorfizmów zlokalizowanych w regionie 5' genu *SLC26A4* [30]. Pacjenci z grupy M1, u których zidentyfikowano również haplotyp CEVA, cechują się lżejszym fenotypem w porównaniu z grupą M2. Podobną zależność wykazano w grupie polskich pacjentów z HL i towarzyszącą wadą ucha wewnętrznego [32].

Analizując dotychczasowe badania, zarówno dotyczące HL izolowanego, jak i przypadków HL syndromicznego, można zauważyć, że nawet pomimo charakterystycznego fenotypu i wyraźnie dziedzicznego charakteru HL, wciąż nie zawsze udaje się ustalić genetyczną przyczynę choroby. Nasuwa się zatem pytanie: gdzie i w jaki sposób poszukiwać patogennych wariantów genetycznych odpowiedzialnych za rozwój HL i towarzyszących objawów?

Rozwój diagnostyki genetycznej HL

W ostatnich latach coraz więcej genów zostało powiązanych z procesem słyszenia, a wzrost tej liczby jest efektem szerokiego zastosowania nowoczesnych metod analizy DNA, jak również projektów fenotypowania zwierząt modelowych, które to projekty umożliwiają lepsze zrozumienie mechanizmów molekularnych związanych z rozwojem niedosłuchu. Przed zakończeniem projektu sekwencjonowania ludzkiego genomu (2003 rok) identyfikacja genów powiązanych z HL opierała się głównie na mapowaniu regionów chromosomów u członków dużych rodzin obciążonych HL i typowaniu locus powiązanego z HL. Regiony te najczęściej obejmowały wiele genów. W związku z tym dzielono je na mniejsze obszary, które sekwencjonowano metodą Sangera w poszukiwaniu wariantu patogennego. Sekwencjonowanie DNA metodą Sangera jest pracochłonne i czasochłonne, i pozwala na analizę jedynie krótkich fragmentów DNA (zwykle <900 pz). Metoda ta nie pozwala jednak na identyfikację zmian strukturalnych, takich jak delecje, duplikacje czy translokacje chromosomowe.

W Europie za 11–57% genetycznie uwarunkowanego, izolowanego ARHL odpowiadają warianty patogenne w genie *GJB2* [33]. Ze względu na mały rozmiar tego genu i wysoki poziom nosicielstwa jego wariantów, w pierwszym etapie diagnostyki genetycznej pacjentów z HL wykonuje się sekwencjonowanie genu *GJB2* z zastosowaniem metody Sangera. Dawniej diagnostyka genetyczna HL oparta była głównie na poszukiwaniu wariantów sprawczych w genie *GJB2*. Obecnie znanych jest tak wiele genów związanych z procesem słyszenia, że jeszcze 20 lat temu ich pełna analiza byłaby niemożliwa. A zatem ograniczenie się dziś do sekwencjonowania jedynie genu *GJB2* nie jest już wystarczające, by wyjaśnić tło genetyczne HL.



Rycina 3. Proces analizy danych z sekwencjonowania następnej generacji (NGS) w diagnostyce HL. Etapy analizy eksperckiej danych NGS: od identyfikacji tysięcy wariantów po filtrowanie i interpretację. Złożoność analizy rośnie wraz z liczbą genów analizowanych jednocześnie, co podkreśla znaczenie integracji danych genetycznych z pełnym obrazem klinicznym pacjenta i zastosowaniem odpowiednich narzędzi bioinformatycznych. Każdy etap wiąże się z ryzykiem pominięcia wariantu sprawczego, np. ze względu na niejednoznaczne dane populacyjne, brak danych funkcjonalnych lub nietypowy fenotyp pacjenta

Figure 3. NGS data analysis workflow in the diagnostics of HL. Steps of expert NGS data analysis: from identifying thousands of variants to filtering and interpretation. The complexity of the analysis increases with the number of genes analyzed simultaneously, highlighting the importance of integrating genetic data with the patient's complete clinical picture and applying appropriate bioinformatic tools. Each step carries the risk of missing a causative variant, for example due to ambiguous population data, lack of functional evidence, or an atypical patient phenotype

Przełomowe osiągnięcia w genomice, postęp w bioinformatyce oraz ogromny wzrost mocy obliczeniowych pozwalają obecnie na analizę genetyczną wolną od hipotez. Dzięki temu możemy analizować jednocześnie: 1) sekwencje wielu genów powiązanych z chorobą (sekwencjonowanie panelu wybranych genów), 2) wszystkie regiony DNA kodujące białka w genomie człowieka (sekwencjonowanie całoeksomowe, WES), 3) a nawet cały genom człowieka (WGS).

W ostatnich latach metody sekwencjonowania wysokoprzepustowego (ang. *high-throughput sequencing*, HTS), takie jak sekwencjonowanie następnej generacji (NGS, ang. *next-generation sequencing*), stały się szeroko dostępne i pozwoliły na znaczny wzrost liczby nowo identyfikowanych genów. Efektem rozwoju tych technologii jest znaczna redukcja kosztów generowania danych sekwencjonowania oraz ogromny wzrost wydajności procesu sekwencjonowania DNA. Analiza wyników sekwencjonowania wysokoprzepustowego wymaga wielu kroków i złożonej interpretacji danych ze względu na liczbę nowych wariantów, identyfikowanych jednocześnie w wielu genach (**rycina 3**).

Analiza wyników sekwencjonowania w celu wytypowania wariantu sprawczego opiera się także na dokładnej ocenie fenotypu pacjenta i członków jego rodziny, dlatego zasadnicze znaczenie mają szczegółowe badania lekarskie i dokładana analiza dokumentacji medycznej. Najnowsze technologie sekwencjonowania szybko znalazły miejsce w diagnostyce genetycznej pacjentów z HL, np. w postaci ukierunkowanego sekwencjonowania panelu genów powiązanych z HL, badania WES czy WGS i analizy ich wyników dla znanych i kandydackich genów. Dużą zaletą tych metod jest możliwość ponownej analizy już istniejących zbiorów danych genetycznych w celu zidentyfikowania nowych genów powiązanych z HL u pacjentów, którzy nie mieli diagnozy molekularnej. Możliwe jest również znalezienie więcej niż jednej genetycznej przyczyny HL u pacjenta. To zjawisko, tzw. liczne diagnozy molekularne, staje się coraz bardziej powszechne dzięki szeroko zakrojonym badaniom genetycznym, które umożliwiają jednoczesną analizę wielu genów. W takich przypadkach może się okazać, że HL wynika z nakładających się efektów kilku wariantów genetycznych w różnych genach, z których każdy odpowiada za różne mechanizmy prowadzące do utraty słuchu. Ta wielowymiarowa analiza jest szczególnie ważna w diagnostyce pacjentów z nietypowym fenotypem [34].

Nierozwiązane przypadki HL – gdzie jeszcze należy szukać genetycznej przyczyny HL?

U wielu pacjentów z HL nie udaje się zidentyfikować genetycznej przyczyny choroby mimo obszernych badań molekularnych. Czy w takich przypadkach przyczyna HL na pewno kryje się w genach? A może są nią czynniki środowiskowe? Co w przypadku HL rodzinnego, występującego w wielu pokoleniach? Czy możliwe jest, że HL jest elementem wcześniej nieopisanego zespołu genetycznie uwarunkowanego?

Te pytania skłaniają do refleksji nad możliwościami współczesnych metod diagnostycznych. Genetyczna przyczyna HL mogła zostać pominięta w badaniach molekularnych z kilku powodów. Warianty sprawcze znajdują się w sekwencjach genów, które dotychczas nie były powiązane z HL. Genetyczne podłoże procesu słyszenia nadal

jest intensywnie badane zarówno u ludzi, jak i na modelach zwierzęcych [35–37]. Dane z szeroko zakrojonych badań na modelach zwierzęcych wskazują, że w proces słyszenia zaangażowanych jest około 1000 genów [38]. Co interesujące, istnieje wiele loci chromosomowych powiązanych z HL, dla których nie zidentyfikowano jeszcze genów sprawczych. Programy International Knockout Mouse Consortium (IKMC) i International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) nieustanie dostarczają informacji na temat ewentualnych nowych genów mogących powodować HL u człowieka, a tym samym udzielają wskazówek do identyfikowania genów i wariantów sprawczych w wysokoprzepustowych badaniach genetycznych [39,40]. Aby jednoznacznie wskazać warianty sprawcze w genach niepowiązanych z HL, oprócz informacji o fenotypach myszy z wprowadzoną mutacją genu kandydackiego, niezbędne jest przeprowadzenie szerokich analiz dużych grup pacjentów, skompletowanie odpowiednich grup kontrolnych osób zdrowych oraz włączenie do badania jak największej liczby krewnych pacjentów. Oprócz tych kroków należy pamiętać o przeprowadzeniu badań funkcjonalnych dla typowanych wariantów. W tym celu należy wykonać testy na modelach komórkowych i/lub zwierzęcych.

Oprócz badań funkcjonalnych na myszach coraz częściej wykonywane są badania z użyciem dania pręgowanego (łac. *Danio rerio*, ang. *zebrafish*). W porównaniu do myszy danio pręgowany ma o wiele większą liczbę potomstwa, przechodzi zewnętrzne zapłodnienie, ma szybszy rozwój embrionalny, jego larwy są przezroczyste, ale przede wszystkim dostępnych jest wiele bardzo wydajnych metod manipulacji jego genomem. Danio pręgowany jest wykorzystywany w badaniach nad komórkami rzęsatymi ucha wewnętrznego, które odgrywają kluczową rolę w procesie słyszenia i są wrażliwe na uszkodzenia genetyczne. Powyższe cechy czynią dania pręgowanego idealnym modelem do badania funkcji genów związanych z HL [41,42]. Warto podkreślić, że ok. 82% genów powiązanych z chorobami człowieka ma swój odpowiednik (ortolog) u dania pręgowanego [43].

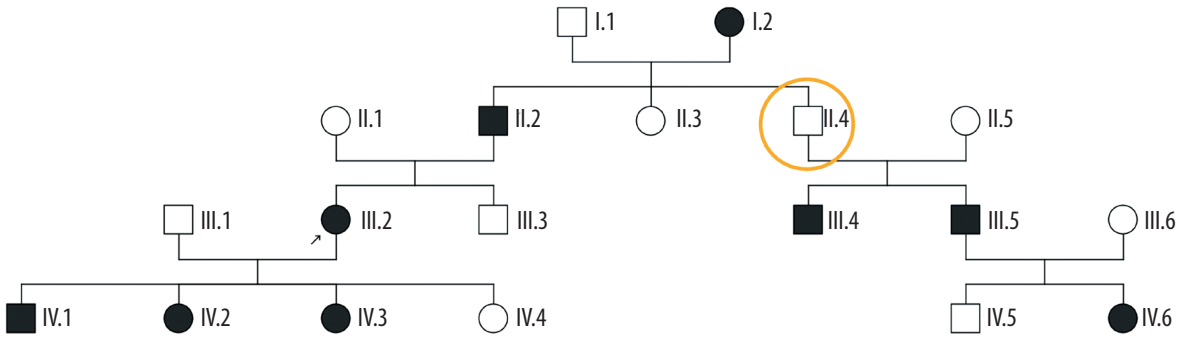
Oszacowanie, jak duży procent niewyjaśnionego molekularnie, dziedzicznego HL powodowany jest wariantami w genach dotychczas niepowiązanych z procesem słyszenia, jest nad wyraz trudne. Niemniej stale rosnąca liczba badań i artykułów na ten temat sugeruje, że analiza wariantów w „nowych" genach stanowi obiecujący kierunek w poszukiwaniu genetycznych przyczyn HL.

Niewykluczone, że warianty patogenne dla HL umiejscowione są głęboko w intronach lub regionach regulatorowych genów związanych z HL. Możliwe jest, że warianty sprawcze dotyczą nieznanych eksonów lub alternatywnych transkryptów, czyli eksonów niewchodzących w skład podstawowych transkryptów genów powiązanych z HL [44–47]. W DFNB1 powodowanym przez mutacje genu *GJB2* opisano patogenny wariant zlokalizowany w sekwencji promotora – mutacja ta prowadzi do znacznego zmniejszenia ekspresji genu [48]. Natomiast w przypadku DFNX2, za którego powstanie odpowiadają warianty w genie *POU3F4*, opisano obszerną delecję regionu regulatorowego w obszarze 5' UTR genu [49]. Kolejnym przykładem mutacji w regionach niekodujących są warianty umiejscowione głęboko w intronach, które powodują nieprawidłowe składanie transkryptu, a także te, które są zlokalizowane poza konserwatywnymi regionami składania transkryptów. Takie warianty mogą skutkować włączeniem pseudo-eksonów do mRNA. Pseudo-eksony mogą powodować zmianę ramki odczytu, co w konsekwencji prowadzi do skrócenia białka, jak opisano to dla genów *USH2A* [18–20] i *MYO6* [50]. DFNA5 powodowany jest intronowymi wariantami genu *GSDME*, które prowadzą do delecji ósmego eksonu w tanskrypcie. Skutkuje to nabyciem przez białko nowej funkcji (efekt *gain-of-function*) [51,52]. Prawdopodobnie niektóre sprawcze warianty mogą dotyczyć nieznanych eksonów znanych genów powiązanych z HL. Dokładna charakterystyka genomu ludzkiego wciąż nie jest kompletna, dlatego dodatkowe eksony znanych genów HL mogą nadal być niezidentyfikowane. W przypadku genu *MYO15A* odkryto nieopisany ekson, który jest alternatywnym miejscem startu transkrypcji [53]. W celu potwierdzenia patogenności typowanego wariantu w nieznanym eksonie genu HL powinno się określić, czy ekson ten jest transkrybowany w uchu wewnętrznym, przez co jego mutacje mogłyby uszkadzać słuch. Niestety liczba niezidentyfikowanych eksonów i ich znaczenie dla powstawania HL nie są znane, dlatego dalsze analizy transkryptomu ucha są niezbędne do poznania pełnej struktury genów i określenia ich roli w procesie słyszenia.

Nie można również wykluczyć, że prawdziwy wariant sprawczy został wykryty w badaniach molekularnych, ale pominięto go w trakcie analizy (np. warianty liczby kopii – CNV, ang. *copy number variants*, warianty strukturalne – SV, ang. *structural variants*) lub został błędnie zinterpretowany jako niepatogenny. Wydaje się, że niektóre tzw. warianty ciche nie wpływają na sekwencję aminokwasową kodowanego białka, ale mogą oddziaływać na składanie transkryptu, czego przykładem jest wariant c.5331G>A (p.Leu1777Leu) w genie *TECTA* (DFNA8/12), powodujący wykluczenie eksonu 16 z transkryptu i powstanie nieprawidłowej alfa-tektoryny [54]. Inne warianty ciche mogą wpływać na szybkość syntezy białka i powodować jego nieprawidłowe fałdowanie [55,56].

W trakcie analizy wyników NGS (sekwencjonowanie panelowe, WES, WGS) odrzucane są zmiany częste, tak zwane polimorfizmy (**rycina 3**). Polimorfizm to wariant genetyczny, który nie jest mutacją patogenną i występuje u więcej niż 1% populacji. W przeciwieństwie do tego warianty powodujące dziedziczny HL to w zdecydowanej większości warianty rzadkie, o częstości występowania w populacji ogólnej mniejszej niż 1%. Znane są jednak pewne prawdziwe warianty sprawcze dla HL, które mogą zostać pominięte w trakcie analizy, ponieważ ich częstość występowania w różnych subpopulacjach może przekraczać 1%, np. p.Gly12fs, p.Met34Thr i p.Val37Ile w genie *GJB2* lub haplotyp CEVA, którego identyfikacja prawdopodobnie wyjaśnia HL u dużego odsetka pacjentów z jedną zmianą w genie *SLC26A4* [30,57].

Istnieje też prawdopodobieństwo, że wariant sprawczy został zidentyfikowany, ale odrzucony ze względu np. na niepasujący fenotyp, niewystarczającą liczbę dowodów klinicznych, brak jednoznacznych danych populacyjnych czy złożone mechanizmy dziedziczenia. Interpretacja wyników badań genetycznych może być utrudniona przez opisane



Rycina 4. Niepełna penetracja na przykładzie rodziny z ADHL. Rodowód przedstawia rodzinę, w której dziedziczny niedosłuch nie ujawnia się u wszystkich nosicieli patogennego wariantu genetycznego. U pacjenta zaznaczonego kółkiem mutacja nie prowadzi do objawów klinicznych, co stanowi przykład niepełnej penetracji i może utrudniać interpretację dziedziczenia oraz diagnozę genetyczną; probanda oznaczono strzałką, czarne symbole oznaczają osoby z niedosłuchem, puste symbole osoby zdrowe

Figure 4. Incomplete penetrance in a family with ADHL. The pedigree depicts a family in which hereditary hearing loss does not manifest in all carriers of the pathogenic genetic variant. In the case of the individual marked with a circle, the mutation does not lead to clinical symptoms, representing an example of incomplete penetrance that can complicate inheritance interpretation and genetic diagnosis; index patient is marked by an arrow, black symbols indicate patients with hearing loss, empty symbols indicate healthy individuals

wcześniej zjawisko zmiennej ekspresji lub niepełnej penetracji. To ostatnie pojęcie odnosi się do sytuacji, w której osoba nosząca patogenny wariant genetyczny nie wykazuje objawów choroby (**rycina 4**). Jeśli liczba dostępnych członków rodziny, w przypadku których możliwe jest wykonanie analizy wyników badań genetycznych, jest ograniczona, istnieje ryzyko błędnej interpretacji danych. Jeśli dodatkowe informacje o objawach, takich jak nietypowe cechy fenotypowe u krewnych pacjenta, nie zostaną uwzględnione, wariant może zostać błędnie odrzucony. W takich sytuacjach pomocne może być porównanie wyników badań pozostałych członków rodziny oraz innych osób o podobnym obrazie klinicznym.

Prawdopodobnie HL w niektórych przypadkach może mieć inny od monogenowego sposób dziedziczenia. U takich pacjentów warianty w określonym genie muszą współwystępować z wariantami w jednym (dziedziczenie dwugenowe) lub kilku innych genach (dziedziczenie oligogenowe), aby spowodować chorobę. Patogenne warianty genetyczne mogą też znajdować się w regionach regulatorowych RNA. Znaczna część ludzkiego genomu jest transkrybowana na niekodujące RNA (ncRNA), które nie koduje białek, lecz pełni ważne funkcje regulatorowe. Wśród nich znajdują się mikroRNA (miRNA) oraz długie niekodujące RNA (lncRNA), które są intensywnie badane w kontekście funkcjonowania ucha wewnętrznego [58,59]. Mutacje w genach kodujących miRNA, takie jak w genie *MIR96*, zostały powiązane z utratą słuchu zarówno u ludzi, jak i u myszy [60,61]. Badania wykazały, że miRNA odgrywa główną rolę w regulacji genów niezbędnych do prawidłowego rozwoju ucha wewnętrznego [62]. Regiony kodujące miRNA i lncRNA są tylko częściowo uwzględniane w badaniu WES, które analizuje głównie regiony kodujące białka. LncRNA, które często są transkrybowane z regionów międzygenowych, mogą być w pełni zidentyfikowane dopiero za pomocą sekwencjonowania całogenomowego (WGS).

Z jednej strony ogromna liczba generowanych danych może prowadzić do pominięcia właściwego wariantu sprawczego, z drugiej – dopiero zastosowanie WGS daje szansę na odkrycie nowej genetycznej przyczyny HL.

Wnioski

Podsumowując, w ciągu ostatnich 20 lat możliwości diagnostyki genetycznej pacjentów z HL znacząco się rozwinęły. Jednak postęp technologiczny wiąże się z rosnącymi wymaganiami dotyczącymi analizy i interpretacji wyników.

Dziedziczny HL cały czas stanowi istotne wyzwanie diagnostyczne. Mimo wielkiego postępu technologicznego i dynamicznego rozwoju technik biologii molekularnej problem utraconej dziedziczności dotyczy dużej liczby pacjentów nie tylko z HL, lecz także innymi chorobami rzadkimi. Pojawienie się NGS zrewolucjonizowało diagnostykę genetyczną pacjentów, otworzyło dotychczas niedostępne możliwości identyfikowania molekularnych przyczyn chorób, ale jednocześnie przyniosło duże wyzwania związane z analizą i interpretacją otrzymywanych danych. Coraz częściej w Polsce i na świecie standardem stają się badania panelowe, WES, a nawet WGS. W dalszym ciągu niezbędne są również badania funkcjonalne oraz nieustanny rozwój narzędzi bioinformatycznych wspierających interpretację danych. Tylko kompleksowe podejście pozwala w pełni zrozumieć molekularne mechanizmy powstawania HL i chorób rzadkich.

Finansowanie

Niniejsze badania i artykuł nie otrzymały żadnej dotacji od agencji działających w sektorze publicznym, komercyjnym lub non-profit.

Piśmiennictwo

1. Hilgert N, Smith RJH, Van Camp G. Forty-six genes causing nonsyndromic hearing impairment: which ones should be analyzed in DNA diagnostics? Mutat Res, 2009; 681(2–3): 189–196; https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.08.002.
2. Hereditary Hearing Loss Homepage. Summary of genes identified to date: 19.02.2025. Pozyskano z: https://hereditaryhearingloss.org/ [dostęp: 10.07.2025].
3. Mahboubi H, Dwabe S, Fradkin M, Kimonis V, Djalilian HR. Genetics of hearing loss: where are we standing now? Eur Arch Otorhinolaryngol, 2012; 269(7): 1733–45; https://doi.org/10.1007/s00405-011-1910-6.
4. Tropitzsch A, Schade-Mann T, Gamerdinger P. [Hereditary hearing loss]. HNO, 2023; 71(2): 131–142 [w jęz. niemieckim]; https://doi.org/10.1007/s00106-022-01254-x.
5. Kalatzis V, Petit C. The fundamental and medical impacts of recent progress in research on hereditary hearing loss. Hum Mol Genet, 1998; 7(10): 1589–97; https://doi.org/10.1093/hmg/7.10.1589.
6. Nayak CS, Isaacson G. Worldwide distribution of Waardenburg syndrome. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2003; 112(9 Pt 1): 817–20; https://doi.org/10.1177/000348940311200913.
7. Marcus RE. Vestibular function and additional findings in Waardenburg's syndrome. Acta Otolaryngol, 1968: Suppl 229: 1–30.
8. Hildesheimer M, Maayan Z, Muchnik C, Rubinstein M, Goodman RM. Auditory and vestibular findings in Waardenburg's type II syndrome. J Laryngol Otol, 1989; 103(12): 1130–3; https://doi.org/10.1017/s0022215100111181.
9. Pingault V, Ente D, Dastot-Le Moal F, Goossens M, Marlin S, Bondurand N. Review and update of mutations causing Waardenburg syndrome. Hum Mutat, 2010; 31(4): 391–406; https://doi.org/10.1002/humu.21211.
10. Zaman A, Capper R, Baddoo W. Waardenburg syndrome: more common than you think! Clin Otolaryngol, 2015; 40(1): 44–8; https://doi.org/10.1111/coa.12312.
11. Newton VE. Clinical features of the Waardenburg syndromes. Adv Otorhinolaryngol, 2002; 61: 201–8; https://doi.org/10.1159/000066810.
12. Vernon M. Usher's syndrome – deafness and progressive blindness. Clinical cases, prevention, theory and literature survey. J Chronic Dis, 1969; 22(3): 133–51; https://doi.org/10.1016/0021-9681(69)90055-1.
13. Yoshimura H, Miyagawa M, Kumakawa K, Nishio SY, Usami S. Frequency of Usher syndrome type 1 in deaf children by massively parallel DNA sequencing. J Hum Genet, 2016; 61(5): 419–22; https://doi.org/10.1038/jhg.2015.168.
14. Fortnum HM, Summerfield AQ, Marshall DH, Davis AC, Bamford JM. Prevalence of permanent childhood hearing impairment in the United Kingdom and implications for universal neonatal hearing screening: questionnaire based ascertainment study. BMJ, 2001; 323(7312): 536–40; https://doi.org/10.1136/bmj.323.7312.536.
15. Marazita ML, Ploughman LM, Rawlings B, Remington E, Arnos KS, Nance WE. Genetic epidemiological studies of early–onset deafness in the U.S. school-age population. Am J Med Genet, 1993; 46(5): 486–91; https://doi.org/10.1002/ajmg.1320460504.
16. Toms M, Pagarkar W, Moosajee M. Usher syndrome: clinical features, molecular genetics and advancing therapeutics. Ther Adv Ophthalmol, 2020; 12: 2515841420952194; https://doi.org/10.1177/2515841420952194.
17. Bauwens M, De Man V, Audo I, Balikova I, Zein WM, Smirnov V i wsp. Expanding the genetic landscape of Usher syndrome type IV caused by pathogenic ARSG variants. Clin Genet, 2025; 107(1): 44–55; https://doi.org/10.1111/cge.14614.
18. Liquori A, Vache C, Baux D, Blanchet C, Hamel C, Malcolm S i wsp. Whole *USH2A* gene sequencing identifies several new deep intronic mutations. Hum Mutat, 2016; 37(2): 184–93; https://doi.org/10.1002/humu.22926.
19. Vache C, Besnard T, le Berre P, Garcia-Garcia G, Baux D, Larrieu Li wsp. Usher syndrome type 2 caused by activation of an USH2A pseudoexon: implications for diagnosis and therapy. Hum Mutat, 2012; 33(1): 104–8; https://doi.org/10.1002/humu.21634.
20. Reurink J, Weisschuh N, Garanto A, Dockery A, van den Born LI, Fajardy I i wsp. Whole genome sequencing for USH2A-associated disease reveals several pathogenic deep-intronic variants that are amenable to splice correction. HGG Adv, 2023; 4(2): 100181; https://doi.org/10.1016/j.xhgg.2023.100181.
21. Wemeau JL, Kopp P. Pendred syndrome. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2017; 31(2): 213–224; https://doi.org/10.1016/j.beem.2017.04.011.
22. Koffler T, Ushakov K, Avraham KB. Genetics of Hearing Loss: Syndromic. Otolaryngol Clin North Am, 2015; 48(6): 1041–61; https://doi.org/10.1016/j.otc.2015.07.007.
23. Rozenfeld J, Efrati E, Adler L, Tal O, Carrithers SL, Alper SLi wsp. Transcriptional regulation of the pendrin gene. Cell Physiol Biochem, 2011; 28(3): 385–96; https://doi.org/10.1159/000335100.
24. Everett LA, Glaser B, Beck JC, Idol JR, Buchs A, Heyman M i wsp. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). Nat Genet, 1997; 17(4): 411–22; https://doi.org/10.1038/ng1297–411.
25. Royaux IE, Suzuki K, Mori A, Katoh R, Everett LA, Kohn LD i wsp. 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, 2000; 141(2): 839–45; https://doi.org/10.1210/endo.141.2.7303.
26. Everett LA, Morsli H, Wu DK, Green ED. Expression pattern of the mouse ortholog of the Pendred's syndrome gene (Pds) suggests a key role for pendrin in the inner ear. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999; 96(17): 9727–32; https://doi.org/10.1073/pnas.96.17.9727.
27. Usami S, Abe S, Weston MD, Shinkawa H, Van Camp G, Kimberling WJ. Non–syndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct is caused by PDS mutations. Hum Genet, 1999; 104(2): 188–92; https://doi.org/10.1007/s004390050933.
28. Pryor SP, Madeo AC, Reynolds JC, Sarlis NJ, Arnos KS, Nance WE i wsp. SLC26A4/PDS genotype-phenotype correlation in hearing loss with enlargement of the vestibular aqueduct (EVA): evidence that Pendred syndrome and non-syndromic EVA are distinct clinical and genetic entities. J Med Genet, 2005; 42(2): 159–65; https://doi.org/10.1136/jmg.2004.024208.
29. Ito T, Choi BY, King KA, Zalewski CK, Muskett J, Chattaraj P i wsp. *SLC26A4* genotypes and phenotypes associated with enlargement of the vestibular aqueduct. Cell Physiol Biochem, 2011; 28(3): 545–52; https://doi.org/10.1159/000335119.
30. Chattaraj P, Munjal T, Honda K, Rendtorff ND, Ratay JS, Muskett JA i wsp. A common *SLC26A4*-linked haplotype underlying non-syndromic hearing loss with enlargement of the vestibular aqueduct. J Med Genet, 2017; 54(10): 665–673; https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2017-104721.

31. Choi BY, Madeo AC, King KA, Zalewski CK, Pryor SP, Muskett JA i wsp. Segregation of enlarged vestibular aqueducts in families with non-diagnostic SLC26A4 genotypes. J Med Genet, 2009; 46(12): 856–61; https://doi.org/10.1136/jmg.2009.067892.
32. Baldyga N, Ozieblo D, Gan N, Furmanek M, Leja ML, Skarzynski H i wsp. The genetic background of hearing loss in patients with EVA and cochlear malformation. Genes (Basel), 2023; 14(2); https://doi.org/10.3390/genes14020335.
33. Del Castillo I, Morin M, Dominguez–Ruiz M, Moreno-Pelayo MA. Genetic etiology of non-syndromic hearing loss in Europe. Hum Genet, 2022; 141(3–4): 683–696; https://doi.org/10.1007/s00439–021–02425–6.
34. Baldyga N, Sarosiak A, Ozieblo D, Furmanek M, Szulborski K, Szaflik JP i wsp. Complex phenotypic presentation of syndromic hearing loss deciphered as three separate clinical entities: how genetic testing guides final diagnosis. Audiol Neurootol, 2021; 26(4): 226–235; https://doi.org/10.1159/000510695.
35. Bowl MR, Brown SDM. Genetic landscape of auditory dysfunction. Hum Mol Genet, 2018; 27(R2): R130–R135; https://doi.org/10.1093/hmg/ddy158.
36. Bowl MR, Simon MM, Ingham NJ, Greenaway S, Santos L, Cater H i wsp. A large scale hearing loss screen reveals an extensive unexplored genetic landscape for auditory dysfunction. Nat Commun, 2017; 8(1): 886; https://doi.org/10.1038/s41467-017-00595-4.
37. de Angelis MH, Nicholson G, Selloum M, White J, Morgan H, Ramirez–Solis R i wsp. Analysis of mammalian gene function through broad–based phenotypic screens across a consortium of mouse clinics. Nat Genet, 2015; 47(9): 969–978; https://doi.org/10.1038/ng.3360.
38. Ingham NJ, Pearson SA, Vancollie VE, Rook V, Lewis MA, Chen J i wsp. Mouse screen reveals multiple new genes underlying mouse and human hearing loss. PLoS Biol, 2019; 17(4): e3000194; https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000194.
39. International Knockout Mouse Consortium (IKMC). Pozyskano z: https://www.mousephenotype.org/about-impc/about-ikmc/ [dostęp: 10.07.2025].
40. International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) Pozyskano z: https://www.mousephenotype.org/ [dostęp: 10.07.2025].
41. Varshney GK, Sood R, Burgess SM. Understanding and Editing the Zebrafish Genome. Adv Genet, 2015; 92: 1–52; https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2015.09.002.
42. Sarosiak A, Jedrychowska J, Ozieblo D, Gan NS, Baldyga N, Leja ML i wsp. Zebrafish in-vivo study reveals deleterious activity of human TBC1D24 genetic variants linked with autosomal dominant hearing loss. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2025; 1871(2): 167598; https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2024.167598.
43. Howe K, Clark MD, Torroja CF, Torrance J, Berthelot C, Muffato Mi wsp. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. Nature, 2013; 496(7446): 498–503; https://doi.org/10.1038/nature12111.
44. Bonev B, Cavalli G. Organization and function of the 3D genome. Nat Rev Genet, 2016; 17(12): 772; https://doi.org/10.1038/nrg.2016.147.
45. Diederichs S, Bartsch L, Berkmann JC, Frose K, Heitmann J, Hoppe C i wsp. The dark matter of the cancer genome: aberrations in regulatory elements, untranslated regions, splice sites, non–coding RNA and synonymous mutations. EMBO Mol Med, 2016; 8(5): 442–57; https://doi.org/10.15252/emmm.201506055.
46. Feuerborn A, Cook PR. Why the activity of a gene depends on its neighbors. Trends Genet, 2015; 31(9): 483–90; https://doi.org/10.1016/j.tig.2015.07.001.
47. Long HK, Prescott SL, Wysocka J. Ever-changing landscapes: transcriptional enhancers in development and evolution. Cell, 2016; 167(5): 1170–1187; https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.09.018.
48. Matos TD, Caria H, Simoes-Teixeira H, Aasen T, Nickel R, Jagger DJ i wsp. A novel hearing-loss-related mutation occurring in the *GJB2* basal promoter. J Med Genet, 2007; 44(11): 721–5; https://doi.org/10.1136/jmg.2007.050682.
49. Naranjo S, Voesenek K, de la Calle-Mustienes E, Robert-Moreno A, Kokotas H, Grigoriadou M i wsp. Multiple enhancers located in a 1–Mb region upstream of *POU3F4* promote expression during inner ear development and may be required for hearing. Hum Genet, 2010; 128(4): 411–9; https://doi.org/10.1007/s00439–010–0864–x.
50. Hilgert N, Topsakal V, van Dinther J, Offeciers E, Van de Heyning P, Van Camp G. A splice-site mutation and overexpression of *MYO6* cause a similar phenotype in two families with autosomal dominant hearing loss. Eur J Hum Genet, 2008; 16(5): 593–602; https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5202000.
51. Op de Beeck K, Van Camp G, Thys S, Cools N, Callebaut I, Vrijens K i wsp. The DFNA5 gene, responsible for hearing loss and involved in cancer, encodes a novel apoptosis-inducing protein. Eur J Hum Genet, 2011; 19(9): 965–73; https://doi.org/10.1038/ejhg.2011.63.
52. Van Laer L, Vrijens K, Thys S, Van Tendeloo VF, Smith RJ, Van Bockstaele DRi wsp. *DFNA5*: hearing impairment exon instead of hearing impairment gene? J Med Genet, 2004; 41(6): 401–6; https://doi.org/10.1136/jmg.2003.015073.
53. Rehman AU, Bird JE, Faridi R, Shahzad M, Shah S, Lee K i wsp. Mutational spectrum of *MYO15A* and the molecular mechanisms of DFNB3 human deafness. Hum Mutat, 2016; 37(10): 991–1003; https://doi.org/10.1002/humu.23042.
54. Collin RW, de Heer AM, Oostrik J, Pauw RJ, Plantinga RF, Huygen PL i wsp. Mid-frequency DFNA8/12 hearing loss caused by a synonymous *TECTA* mutation that affects an exonic splice enhancer. Eur J Hum Genet, 2008; 16(12): 1430–6; https://doi.org/10.1038/ejhg.2008.110.
55. Katsnelson A. Breaking the silence. Nat Med, 2011; 17(12): 1536–8; https://doi.org/10.1038/nm1211-1536.
56. Kimchi–Sarfaty C, Oh JM, Kim IW, Sauna ZE, Calcagno AM, Ambudkar SV i wsp. A „silent" polymorphism in the *MDR1* gene changes substrate specificity. Science, 2007; 315(5811): 525–8; https://doi.org/10.1126/science.1135308.
57. Chao JR, Chattaraj P, Munjal T, Honda K, King KA, Zalewski CK i wsp. *SLC26A4*-linked CEVA haplotype correlates with phenotype in patients with enlargement of the vestibular aqueduct. BMC Med Genet, 2019; 20(1): 118; https://doi.org/10.1186/s12881-019-0853-4.
58. Liu H, Pecka JL, Zhang Q, Soukup GA, Beisel KW, He DZ. Characterization of transcriptomes of cochlear inner and outer hair cells. J Neurosci, 2014; 34(33): 11085–95; https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1690-14.2014.
59. Ushakov K, Koffler–Brill T, Rom A, Perl K, Ulitsky I, Avraham KB. Genome-wide identification and expression profiling of long non-coding RNAs in auditory and vestibular systems. Sci Rep, 2017; 7(1): 8637; https://doi.org/10.1038/s41598–017–08320–3.

60. Lewis MA, Quint E, Glazier AM, Fuchs H, De Angelis MH, Langford C i wsp. An ENU-induced mutation of miR-96 associated with progressive hearing loss in mice. Nat Genet, 2009; 41(5): 614–8; https://doi.org/10.1038/ng.369.
61. Mencia A, Modamio-Hoybjor S, Redshaw N, Morin M, Mayo-Merino F, Olavarrieta L i wsp. Mutations in the seed region of human miR-96 are responsible for nonsyndromic progressive hearing loss. Nat Genet, 2009; 41(5): 609–13; https://doi.org/10.1038/ng.355.
62. Weston MD, Pierce ML, Rocha–Sanchez S, Beisel KW, Soukup GA. MicroRNA gene expression in the mouse inner ear. Brain Res, 2006; 1111(1): 95–104; https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.07.006.

Mgr inż. Natalia Bałdyga, email: n.baldyga@ifps.org.pl • 0000-0002-3140-8821
Dr n. med. i n. o zdr. Dominika Oziębło, email: d.ozieblo@ifps.org.pl • 0000-0002-3454-8002
Mgr Marcin Leja, email: m.leja@ifps.org.pl • 0000-0002-3856-8377
Prof. dr hab. med. dr h.c. multi Henryk Skarżyński, email: h.skarzynski@ifps.org.pl • 0000-0001-7141-9851
Prof. dr hab. n. med i n. o zdr. Monika Ołdak, email: m.oldak@ifps.org.pl • 0000-0002-4216-9141