



VNIVERSITAT  
E VALÈNCIA [ (ò) 人 ]  
Facultat de **M**edicina i **O**dontologia

Programa de doctorado 3139 de Medicina  
Línea de investigación Otorrinolaringología

# SCREENING MUTACIONAL EN PACIENTES CON HIPOACUSIA

## TESIS DOCTORAL

Presentada por:  
M<sup>a</sup> Piedad García Díaz

Dirigida por:  
Dr. Carlos de Paula Vernetta  
Dra. Elena Aller Mañas  
Prof. Miguel Armengot Carceller

Valencia, Septiembre 2023



INFORME DIRECTORES/AS Y TUTOR/A PARA DEPÓSITO DE TESIS

CARLOS DE PAULA VERNETTA, Facultativo Especialista en Otorrinolaringología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia y Doctor en Medicina y Cirugía y Profesor Asociado del Departamento de Cirugía de la Facultat de Medicina i Odontologia de la Universitat de València,

ELENA ALLER MAÑAS, Facultativa en la Unidad de Genética del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, Licenciada en Biología y Doctora en Biología molecular y genética y

MIGUEL ARMENGOT CARCELLER, Jefe de Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia y Catedrático de Otorrinolaringología de la Universitat de València.

Directores/as y tutor/a, respectivamente, de la tesis doctoral: "SCREENING MUTACIONAL EN PACIENTES CON HIPOACUSIA" de D/Dña. M<sup>a</sup> Piedad García Díaz, estudiante del Programa de Doctorado **3139 Medicina** (RD99/2011) en Medicina de la Universitat de València, emiten informe favorable para la realización del depósito y la defensa de la tesis doctoral.

Fecha: 19 de abril de 2023

CARLOS DE PAULA VERNETTA  
Firmado digitalmente por CARLOS DE PAULA VERNETTA  
Fecha: 2023.04.25 09:17:20 +02'00'  
Director/a

ELENA MARIA ALLER MAÑAS  
Firmado digitalmente por ELENA MARIA ALLER MAÑAS  
NIF:52788357E  
Fecha: 2023.04.21 10:19:51 +02'00'  
Director/a

Miguel Armengot Carceller  
Firmado digitalmente por Miguel Armengot Carceller  
Fecha: 2023.04.19 21:09:05 +02'00'  
Director/a





La realización de esta Tesis Doctoral no hubiese sido posible sin la ayuda de muchas personas, a las que me gustaría mostrar mi agradecimiento:

Al Dr. De Paula, por impulsarme y motivarme a la creación de este trabajo. Gracias por todo lo que me has enseñado, profesional y personalmente y las oportunidades que me has concedido.

A la Dra. Aller agradecerle su disponibilidad incondicional, su implicación en este proyecto ayudándome con cada detalle y sobre todo guiarme en el apasionante mundo de la Genética.

Al Dr. Armengot por haber contribuido en mi formación como Otorrinolaringóloga y haberme apoyado en la realización de esta tesis doctoral.

A mis compañeros del Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, en especial a Laura Cavallé por incentivar me y confiar en mí para realizar este proyecto desde el principio, por su docencia y generosidad para aprender de ella cada día. Y a los residentes por aportar su granito de arena de forma desinteresada en el desarrollo del presente proyecto.

A mi hermano Paco por animarme a iniciar este estudio, aconsejarme, escucharme y sobre todo estar siempre de forma incondicional.

A mi familia (mis padres, Alejandra, mi abuela Piedad) por su apoyo, motivarme y comprenderme día tras día.

A los pacientes y profesionales del servicio de Otorrinolaringología y Genética del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, por ser su aportación una parte fundamental e imprescindible en el desarrollo de este trabajo.

A todo el resto de personas que, en algún momento u otro, y de un modo u otro me han ayudado en el desarrollo de esta tesis doctoral: mi grupo de amigas de Sevilla, Jordi, Irene, Carmen, etc.



# **ÍNDICE:**

<b>1. INTRODUCCIÓN:</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DEL OÍDO</b> .....	<b>1</b>
1.1.1 Anatomía general del oído .....	1
1.1.2 Fisiología de la audición .....	5
<b>1.2 CLASIFICACIÓN DE LAS HIPOACUSIAS</b> .....	<b>10</b>
1.2.1 Clasificación de la hipoacusia según el grado de pérdida auditiva:.....	10
1.2.2 Clasificación de la hipoacusia según la configuración del audiograma: .....	11
1.2.3 Clasificación de la hipoacusia según la localización de la lesión: .....	12
1.2.4 Clasificación de la hipoacusia según la etiología:.....	13
1.2.5 Clasificación de la hipoacusia según el momento de aparición: .....	15
<b>1.3 HIPOACUSIA HEREDITARIA</b> .....	<b>16</b>
1.3.1 Hipoacusia hereditaria sindrómica.....	20
1.3.2 Hipoacusia hereditaria no sindrómica.....	27
1.3.3 Diagnóstico genético de las hipoacusias .....	31
<b>2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS:</b> .....	<b>36</b>
<b>3 MATERIAL Y MÉTODOS:</b> .....	<b>38</b>
<b>3.1 PACIENTES</b> .....	<b>38</b>
<b>3.2 ESTUDIO AUDIOLÓGICO Y EVALUACIÓN CLÍNICA</b> .....	<b>39</b>
<b>3.3 PANEL DE GENES DISEÑADO</b> .....	<b>41</b>
<b>3.4 SECUENCIACIÓN Y ANÁLISIS INFORMÁTICO</b> .....	<b>52</b>
3.4.1 Secuenciación mediante el panel NGS .....	52
3.4.2 Análisis bioinformático.....	54
3.4.3 Análisis CNVs: .....	55
<b>3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b> .....	<b>58</b>
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>59</b>
<b>4.1 Pacientes con hipoacusia Autosómico recesiva:</b> .....	<b>86</b>
<b>4.2 Pacientes con hipoacusia autosómica dominante:</b> .....	<b>87</b>
<b>4.3 Pacientes con hipoacusia ligada al cromosoma X:</b> .....	<b>88</b>
<b>4.4 Pacientes con hipoacusia sindrómica:</b> .....	<b>89</b>

<b>5</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>91</b>
<b>5.1</b>	<b>Hipoacusias no sindrómicas .....</b>	<b>96</b>
5.1.1	Herencia Autosómico-recesiva.....	96
5.1.2	Herencia Autosómico-dominante: .....	112
5.1.3	Herencia ligada al cromosoma X: .....	128
<b>5.2</b>	<b>Hipoacusias sindrómicas .....</b>	<b>133</b>
5.2.1	Síndrome de Usher .....	133
5.2.2	Síndrome de Waardenburg (SW) .....	138
5.2.3	Síndrome braquiootorrenal (BOR).....	139
5.2.4	Síndrome de Stickler .....	143
5.2.5	Síndrome de Sordera-Infertilidad.....	144
<b>5.3</b>	<b>El presente y el futuro de la hipoacusia hereditaria:.....</b>	<b>145</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>150</b>
<b>7</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>152</b>



# 1. INTRODUCCIÓN:

## 1.1 ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL OÍDO

### 1.1.1 *Anatomía general del oído*

El oído está dividido en tres partes: el oído externo, el oído medio y el oído interno.

El **oído externo** es el primer órgano acústico y consta de dos elementos: el pabellón auricular y el conducto auditivo externo (CAE). Tiene una doble función, protectora del oído medio y, sobre todo, amplificación del sonido. El pabellón se localiza detrás de la articulación temporomandibular y de la región parotídea y tiene un papel importante en la recepción de los sonidos. El CAE es la continuación del pabellón auricular y está formado por un esqueleto fibroso y cartilaginoso en su parte lateral y óseo en la medial, se encarga de conducir el sonido a la membrana timpánica. Por ello, cualquier patología del oído externo repercute en el audiograma tonal liminar (Thomassin and Barry, 2016).

El **oído medio** consta de tres regiones: las celdillas mastoideas que ocupan la parte posterior, la caja del tímpano junto con el sistema timpanoosicular y la trompa auditiva que se une hacia delante con la rinofaringe. La caja del tímpano es una cavidad de seis caras que contiene los huesecillos del oído y

sus anexos (articulaciones, ligamentos, músculos), los cuales se encargan de transmitir la onda sonora del mundo exterior hasta el oído interno (Thomassin et al., 2008).

El **oído interno** está constituido por una cavidad ósea irregular denominada laberinto óseo. Este laberinto óseo consta de dos órganos principales: el órgano del equilibrio (vestíbulo y conductos semicirculares) y el órgano de la audición (cóclea).

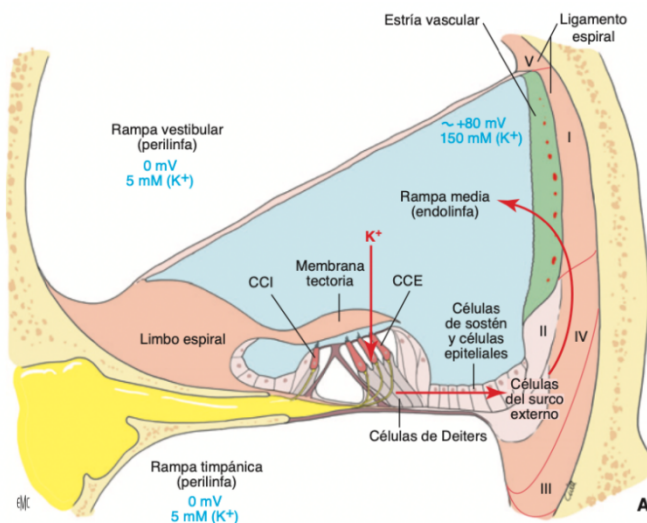
La cóclea se encarga de traducir una señal física (el sonido) en señales bioeléctricas (potenciales de acción en el nervio coclear). Se trata de un conducto espiral enrollado alrededor de un cono óseo denominado modiolo. La parte ósea externa se denomina cápsula ótica que presenta dos aberturas: la ventana redonda y la ventana oval. Está tabicado por la lámina espiral en dos partes: la rampa vestibular y la rampa timpánica. La rampa vestibular finaliza en la ventana oval, mientras que la rampa timpánica lo hace en la ventana redonda. Esta lámina espiral está recorrida por las neuronas auditivas primarias, cuyo ganglio (ganglio espiral) se sitúa en el interior del modiolo (Saroul et al., 2016).

El laberinto óseo contiene en su interior el laberinto membranoso, el cual, está revestido por un epitelio sensorial. En su corte, su aspecto es aproximadamente triangular, con una pared inferior o membrana basilar constituida por el órgano de Corti, en su parte superior por la membrana



vestibular o membrana de Reissner y en el centro la rampa media donde se encuentra la estraía vascular y el ligamento espiral. Estas dos últimas estructuras tienen un papel importante en la producción del potencial endococlear y en los transportes iónicos (Saroul et al., 2016). Figura 1.

La cóclea es un órgano relleno de líquido. Se distinguen dos líquidos muy diferentes: la perilinfa que ocupa las rampas timpánica y vestibular, y la endolinfa que está contenida en la rampa media o conducto coclear (Saroul et al., 2016).



**Figura 1. Representación esquemática de un corte coronal de la cóclea (Saroul et al., 2016).**

El órgano de Corti se sitúa sobre la membrana basilar, la cual separa la rampa media de la rampa timpánica, proyectándose hacia la rampa media.

Está constituido por la membrana tectoria y multitud de tipos celulares, distinguiéndose dos grandes grupos: las células ciliadas (o células receptoras) y las células de sostén. Las células ciliadas reciben su nombre por la presencia en su polo apical de estereocilios y existen dos tipos: las células ciliadas externas (CCE), dispuestas en tres filas, y las células ciliadas internas (CCI) que se disponen en una única fila sobre la membrana basilar. Resaltar que sólo el cilio más alto, que es un quinocilio o verdadero cilio con estructura tubular 9+2, contacta con la membrana tectoria, lo que explica la importancia de todas las uniones entre ellos para la deflexión del conjunto de estereocilios durante una estimulación auditiva. Las células de sostén o células de Dieters sirven de soporte a las células receptoras y se encargan de captar el K<sup>+</sup> liberado durante la activación de las células ciliadas. Este K<sup>+</sup> es transportado a través de las uniones comunicantes GAP hasta la estría vascular. Las moléculas que forman estas uniones comunicantes se denominan conexinas (Saroul et al., 2016).

Las células del ganglio espiral son los cuerpos celulares de las primeras neuronas de las vías auditivas. Las proyecciones hacia los centros se hacen mediante la raíz coclear del nervio cocleovestibular. Esta raíz está formada por los axones de las células del ganglio espiral. El nervio atraviesa el conducto auditivo interno, constituido por un gran número de finos fascículos ordenados en espiral, de manera que las fibras que vienen del ápex de la cóclea (codificador de las frecuencias graves) sean centrales y las que vienen de la base coclear (codificador de las frecuencias agudas) están

en la periferia del nervio. La raíz coclear del nervio cocleovestibular entra entonces en los núcleos cocleares que constituyen el primer relevo obligatorio de las vías auditivas centrales.

El núcleo coclear se encuentra en la cara dorsolateral del tronco cerebral y reproduce la tonotopía coclear. Las fibras codificadoras de las frecuencias graves se proyectan en las regiones ventrales del núcleo, mientras que las fibras codificadoras de las frecuencias agudas se proyectan en las regiones dorsales. Esta tonotopía es uno de los elementos claves de la anatomía y de la fisiología de los centros auditivos, que se encuentra en todos los relevos auditivos centrales.

Las aferencias procedentes del tronco cerebral se dirigen al mesencéfalo auditivo, es decir, el colliculus inferior. Se trata de un centro de gran integración del mensaje auditivo. A continuación, el siguiente relevo auditivo es el diencefalo auditivo o cuerpo geniculado medial y, por último, la vía auditiva termina en el cortex auditivo, dentro de la profundidad de la cisura del Silvio (Biacabe et al., 2000).

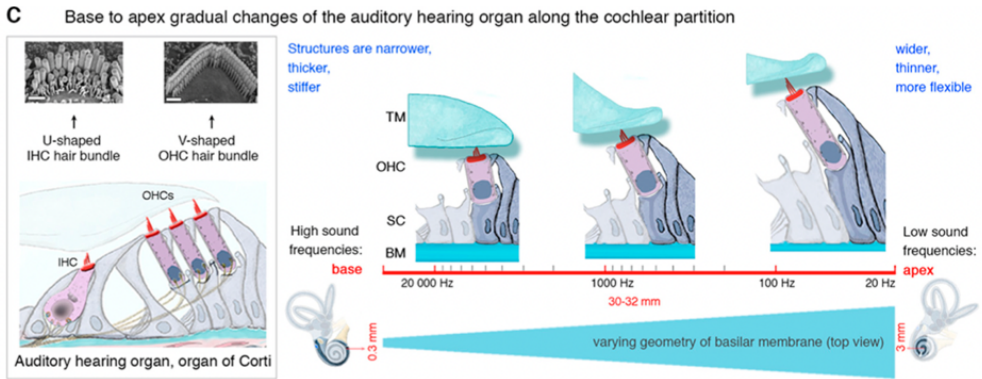
### *1.1.2 Fisiología de la audición*

El conocimiento de la fisiología del oído interno se ha desarrollado en los últimos años gracias a los estudios de la hipoacusia de causa genética. Se han identificado multitud de mutaciones nuevas que han ayudado a conocer

con mayor exactitud la función de moléculas involucradas en la fisiología de la audición.

El mecanismo de la audición comienza cuando las ondas sonoras llegan al pabellón auricular hasta el tímpano, a través del conducto auditivo externo. La membrana timpánica comienza a vibrar transmitiéndose el movimiento a la cadena de huesecillos, martillo, yunque y estribo. La platina del estribo descansa sobre la ventana oval. El movimiento de la propia ventana va a generar una onda de fluido en la perilinfa de la rampa vestibular. Esta onda se transmite a través de la membrana de Reissner a la endolinfa de la rampa media produciéndose el movimiento de la membrana basilar.

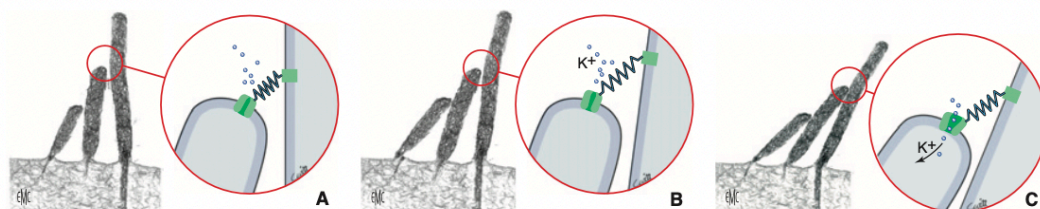
Las frecuencias acústicas se deben a esta actividad de la membrana basilar, debido a que el movimiento será diferente en función de la frecuencia del estímulo. Esta onda que se produce a lo largo de la membrana basilar se propaga desde la base hacia el vértice de la cóclea. Durante su desplazamiento, la amplitud de esta onda aumenta, alcanza un máximo y, después, disminuye. Por tanto, el vértice coclear presenta un máximo de amplitud de vibraciones para las frecuencias bajas, mientras que la base presenta un máximo de amplitud para las frecuencias altas (Saroul et al., 2016). Figura 2.



**Figura 2. Estructura del oído interno.** En la imagen de la izquierda podemos observar la morfología de las células ciliadas internas (IHC) y las células ciliadas externas (OHC) y en la imagen de la derecha el mapa tonotópico. Cada frecuencia se analiza en un sitio específico a lo largo de la cóclea. En la base de la cóclea, donde las OHC son más cortas y rígidas, analizan los sonidos agudos; mientras que, en el ápice, donde las OHC son más largas y flexibles, se analizan las frecuencias graves (Delmaghani and El-Amraoui, 2020).

El desplazamiento de la membrana basilar pone en movimiento todo el órgano de Corti. La interacción entre el órgano de Corti y la membrana tectoria provoca que los estereocilios de las células ciliadas comiencen a desplazarse provocando la apertura de canales para la entrada de potasio (figura 3), se despolariza la célula ciliada y se abren los canales para la entrada de calcio. De esta manera, las células ciliadas son capaces de transformar las vibraciones producidas por los sonidos en impulsos

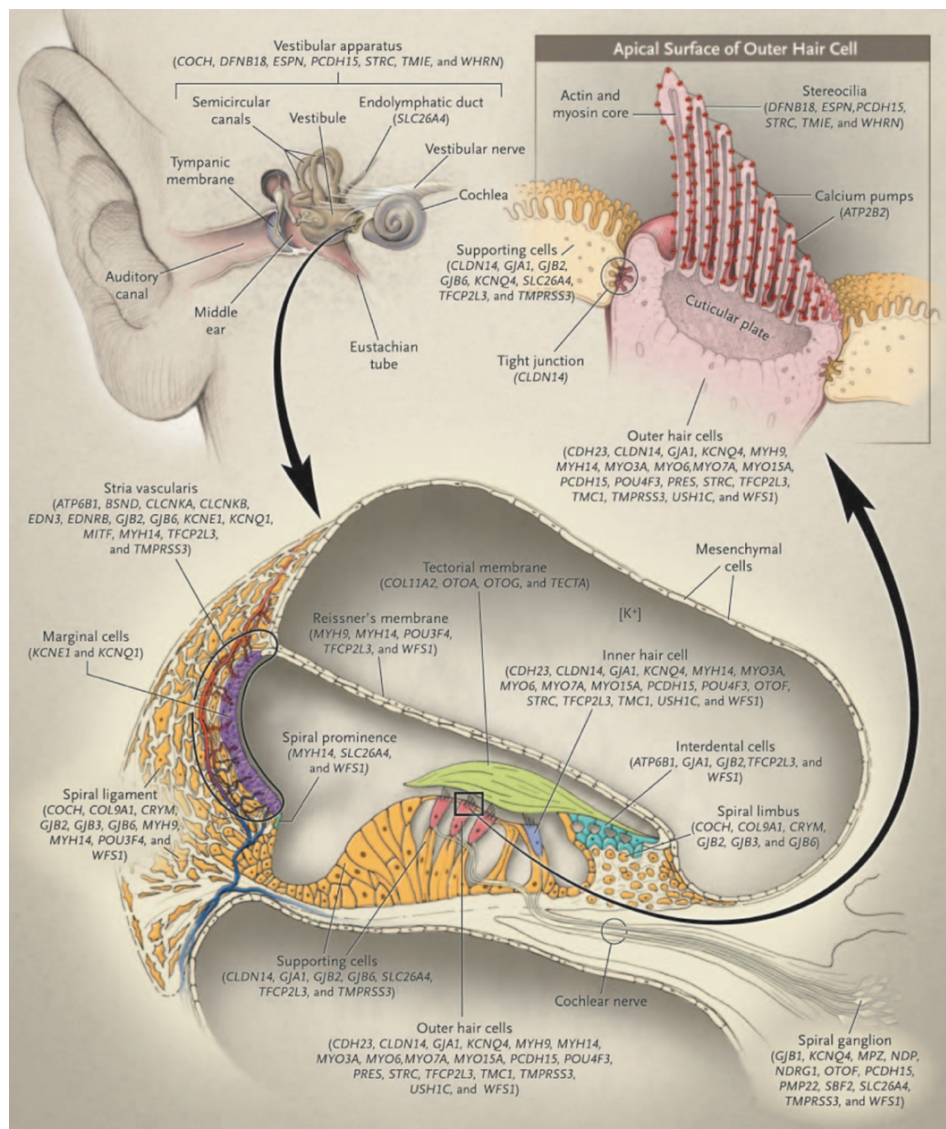
nerviosos que serán transmitidos a través del nervio coclear hasta el sistema nervioso central (Korver et al., 2017).



**Figura 3. Representación esquemática de la apertura de un canal de mecanotransducción de una célula coclear durante una estimulación auditiva.** El desplazamiento del quincilio determina finalmente el estímulo (Saroul et al., 2016).

Tanto las células ciliadas externas (CCE) como las internas (CCI), realizan esta mecanotransducción gracias a un mecanismo similar, pero con un resultado final diferente. Sólo las CCI contribuyen significativamente a la creación de potenciales de acción en el nervio coclear. En las CCE, la transducción mecanoeléctrica está acoplada a una etapa de transducción electromecánica (amplificación y filtrado de las vibraciones sonoras), realizando una amplificación mecánica máxima para los sonidos muy débiles. Además, los penachos de estereocilios de las CCE distorsionan las ondas sonoras al añadir componentes que no estaban presentes en el estímulo: las otoemisiones acústicas (Saroul et al., 2016).

Como observamos en la imagen inferior se han identificado multitud de genes que codifican proteínas relacionadas con la fisiología coclear. Figura 4.



**Figura 4. Imagen del oído externo, medio e interno, con corte transversal del conducto coclear y las células ciliadas (Morton and Nance, 2006).**

## 1.2 CLASIFICACIÓN DE LAS HIPOACUSIAS

La hipoacusia puede clasificarse en función de diversos criterios:

- Según el grado de pérdida auditiva
- Según la configuración del audiograma
- Según la localización de la lesión
- Según la etiología
- Según el momento de aparición

### 1.2.1 *Clasificación de la hipoacusia según el grado de pérdida auditiva:*

La hipoacusia se clasifica según los valores audiométricos medios expresados en dB, comparados con los niveles de audición normal (dB HL) según las normas ISO.

Se define **audición normal** cuando la pérdida media tonal es inferior a 20dB. La **hipoacusia leve** se define cuando la pérdida media tonal se encuentra entre 21 y 40dB, es decir, dificultad para la audición de la voz baja o lejana.

La **hipoacusia moderada** se divide en dos grados:

- Primer grado: pérdida media tonal entre 41 y 55 dB



- Segundo grado: pérdida media tonal entre 56 y 70 dB

La **hipoacusia severa** también se divide en dos grados:

- Primer grado: pérdida media tonal entre 71 y 80 dB
- Segundo grado: pérdida media tonal entre 81 y 90 dB

La **hipoacusia profunda** se divide en tres grados:

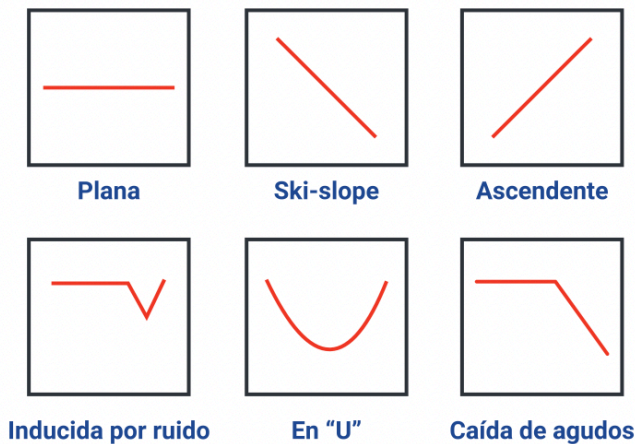
- Primer grado: pérdida media tonal entre 91 y 100 dB.
- Segundo grado: pérdida media tonal entre 101 y 110 dB
- Tercer grado: pérdida media tonal entre 111 y 119 dB

Por último, se define cofosis o pérdida total cuando la pérdida media tonal es superior a 120 dB.

### *1.2.2 Clasificación de la hipoacusia según la configuración del audiograma: (Figura 5)*

- Plana: los umbrales auditivos a lo largo de todas las frecuencias son uniformes, con diferencias no superiores a los 20dB entre ellos.
- En cascada (ski-slope): los umbrales auditivos en graves están conservados, las frecuencias medias muestran una pérdida severa y las agudas una profunda.
- Ascendente: el umbral de las frecuencias agudas es mejor que las graves.

- Inducida por ruido: la pérdida auditiva afecta a las frecuencias entre 3.000 y 6.000Hz, mientras que las frecuencias más graves y agudas se mantienen.
- En cuchara o en "U": con mayor afectación de las frecuencias medias y conservación de graves y agudos.
- Pérdida de alta frecuencia: pérdida de audición que solo afecta a los tonos agudos.



**Figura 5. Configuración de la pérdida auditiva (Alshuaib et al., 2015).**

### 1.2.3 Clasificación de la hipoacusia según la localización de la lesión:

- Hipoacusia de conducción o transmisión: lesión en el mecanismo de transmisión de la energía sonora hacia la cóclea. Puede estar afecto el oído externo o el oído medio.

- Hipoacusia neurosensorial: se produce por lesión en la cóclea o en el nervio auditivo.
- Hipoacusia mixta: el oído medio y la cóclea están afectados al mismo tiempo.
- Hipoacusia central: se produce por lesiones a nivel del tronco o en el córtex cerebral.
- Neuropatía auditiva: alteraciones en la célula ciliada interna de la cóclea, concretamente, en la sinapsis de la célula ciliada interna con el nervio auditivo o en el propio nervio auditivo. Por tanto, presentarán otoemisiones acústicas y/o microfónicos cocleares normales debido al correcto funcionamiento de la célula ciliada externa de la cóclea. Por el contrario, los potenciales evocados auditivos del tronco cerebral estarán afectados (Madden et al., 2002).

#### *1.2.4 Clasificación de la hipoacusia según la etiología:*

Uno de cada quinientos (1/500) recién nacidos vivos presenta hipoacusia prelingual, siendo, aproximadamente, en un 80% de los casos de **causa genética** y en un 20% de los casos de **causa ambiental o adquirida** (Shearer et al., 1999).

### Hipoacusia ambiental o adquirida:

Dentro de las causas ambientales, resaltar las **infecciones** como el citomegalovirus y el virus de la rubeola.

Además de la etiología infecciosa, la hipoacusia puede ser debida a *ototoxicidad* (cisplatino, aminoglucósidos), *metaboloopatías* (diabetes gestacional), *enfermedades vasculares y hematológicas* (complicaciones asociadas con el factor Rh), *infecciones del oído* (otitis, meningitis), *traumatismos* (fractura de hueso temporal, fístula perilinfática, posquirúrgica), *exposición a ambiente ruidoso, causas inflamatorias y tumores* (Organization, 2016)(Rabach and Kveton, n.d.).

La infección congénita por citomegalovirus tiene una incidencia del 0,2-2,2% y una prevalencia entre el 15-33% en los países desarrollados, causando hipoacusia neurosensorial pre o postlingual. Produce una inflamación y laberintitis viral que provoca una hipoacusia unilateral o bilateral de grado moderado a profundo. Se ha demostrado que fármacos como el ganciclovir o valganciclovir disminuyen la progresión y estabilizan la hipoacusia (Korver et al., 2017).

El virus de la rubeola causa hipoacusia neurosensorial congénita en un 60-100% de los casos debido al daño y posterior muerte celular de las células del órgano de Corti y la estría vascular. La hipoacusia suele ser bilateral de

grado moderado-severo. Actualmente, no hay disponible ningún tratamiento específico (Korver et al., 2017).

No debemos olvidarnos que la presencia de una causa ambiental no excluye la existencia de una predisposición genética subyacente.

### *1.2.5 Clasificación de la hipoacusia según el momento de aparición:*

Podemos clasificarlas en aquellas que están presentes en el nacimiento (**Hipoacusia congénita**) o aquella que aparece a lo largo de la vida (**Hipoacusia tardía**). Otra forma de ordenarlas sería según su relación con la adquisición del lenguaje oral, en este caso tenemos tres grandes grupos:

1. Hipoacusias prelocutivas o prelinguales: aparecen antes de que se desarrolle el lenguaje. Se incluyen tanto las hipoacusias congénitas como las que se desarrollan a lo largo de los primeros dos años de vida.
2. Hipoacusias perilinguales o perilocutivas: aparecen entre los dos y los cinco años de edad. En este caso ha existido estimulación auditiva y por tanto el desarrollo del lenguaje puede continuar con tratamiento auditivo.

3. Hipoacusias poslinguales o poslocutivas: aparecen cuando el paciente ya tiene estructurado el lenguaje. (Manrique Rodríguez MJ, Romero Panadero MD., 2002)

### 1.3 HIPOACUSIA HEREDITARIA

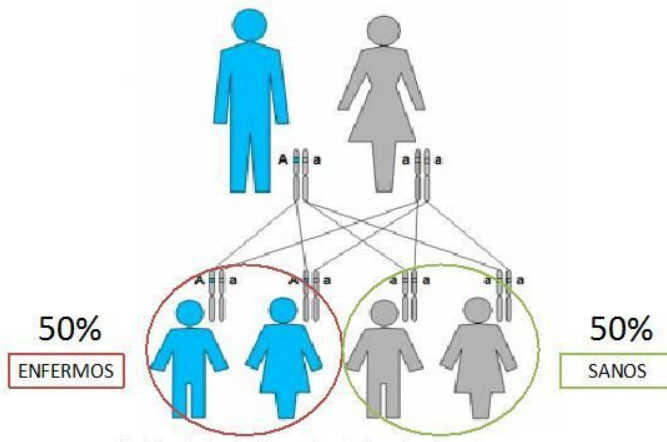
En el ser humano existen alrededor de 20.000-25.000 genes en 23 pares de cromosomas. En total, se ha descrito que 18.000 genes codifican proteínas. Hasta la fecha, han sido identificadas más de 6.000 variantes en 124 genes causantes de hipoacusia no sindrómica (Hereditary Hearing Loss Homepage: <https://hereditaryhearingloss.org/>).

Aproximadamente, el 80% de la hipoacusia prelingual es de causa genética (Shearer et al., 1999).

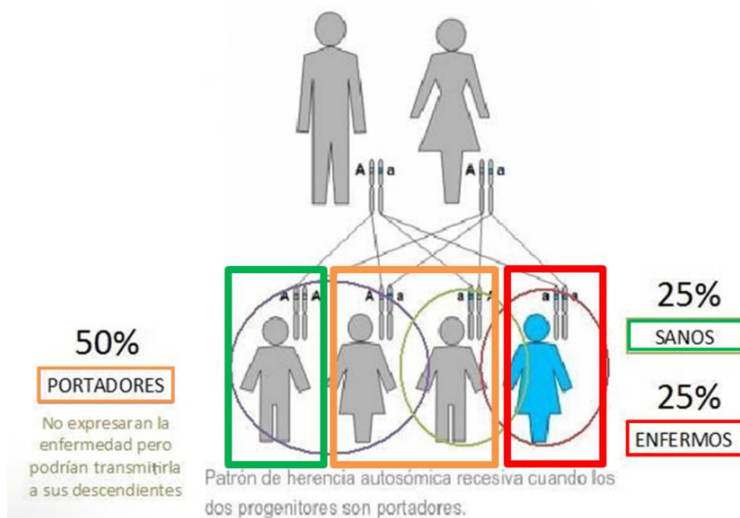
La hipoacusia hereditaria no está causada por un único gen, sino que presenta una gran heterogeneidad genética. Hasta la fecha, hay más de 220 genes descritos relacionados con hipoacusia (Deafness Variation Database <https://deafnessvariationdatabase.org/>).

Se clasifica en hipoacusia hereditaria **sindrómica** (20-30%), cuando la hipoacusia se asocia a otros problemas médicos y en hipoacusia hereditaria **no sindrómica** (70-80%), en las que la hipoacusia aparece de forma aislada. Además, la hipoacusia tiene diferentes modos de herencia dependiendo del

gen causante, pudiendo ser autosómica recesiva (AR) en un 80% de los casos o autosómica dominante aproximadamente en el 20% restante. También, en menos del 1% de los casos, su modo de herencia será ligado al cromosoma X o de herencia mitocondrial. La herencia autosómica dominante se caracteriza porque el gen con la mutación se encuentra en uno de los 22 cromosomas no sexuales o autosomas y además, con una simple copia del gen mutado es suficiente para que se exprese la enfermedad (figura 6). En cambio, en la herencia autosómica recesiva, el gen con la mutación también se encuentra en uno de los 22 autosomas, sin embargo, son necesarias las dos copias del gen mutadas para que se exprese la enfermedad (figura 7). Por otro lado, la herencia ligada al X Dominante tiene lugar cuando por una parte el gen alterado domina sobre el normal, por lo que una sola copia del mismo es suficiente para que se desarrolle la enfermedad, y, además, se encuentra en el cromosoma X (figura 8). En cuanto a la herencia ligada al X recesiva, habitualmente, son los varones los que manifiestan la enfermedad (poseen un único cromosoma X), mientras que las mujeres son portadoras sanas de la enfermedad (poseen dos cromosomas X y el gen alterado sólo está en uno de los dos cromosomas) (figura 9). Por último, la herencia mitocondrial, solo se transmite de madres a hijos e hijas, ya que se debe a alteraciones en el material genético mitocondrial, las cuales proceden del óvulo durante el desarrollo del cigoto (Shearer et al., 1999).

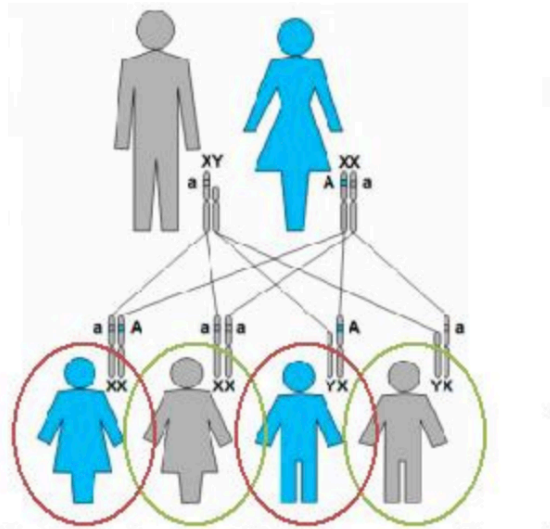


**Figura 6. Herencia Autosómica Dominante.** En azul el progenitor afectado.  
*A= gen mutado , a= gen normal*

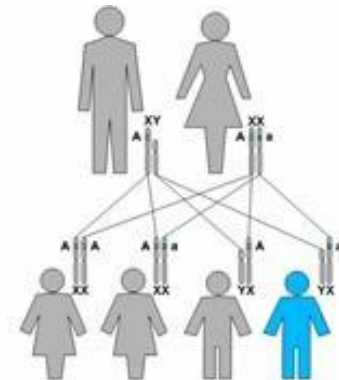


**Figura 7. Herencia Autosómica Recesiva.** Mostramos de forma ilustrativa un ejemplo cuando los dos progenitores son portadores de la enfermedad. *A= gen normal, a= gen mutado*





**Figura 8. Herencia ligada al cromosoma X dominante cuando la madre está afectada (azul). A= gen mutado, a= gen normal**



**Figura 9. Herencia ligada al cromosoma X recesiva cuando la madre es portadora sana. En color azul el hijo enfermo. A= gen normal, a= gen mutado**

Este es el motivo por el cual el diagnóstico genético de estos pacientes es complejo, pues hay una gran cantidad de genes responsables y los datos clínicos basados en el fenotipo suelen ser escasos.

### 1.3.1 Hipoacusia hereditaria sindrómica

Se han descrito más de 400 síndromes genéticos que presentan pérdida auditiva (Bolz, 2016).

La hipoacusia sindrómica está asociada con malformaciones del oído externo, en otros órganos y con patologías médicas de otros sistemas. Dentro de la **hipoacusia sindrómica**, entre las más comunes podemos encontrar el Síndrome de Usher, Síndrome de Waardenburg, Síndrome Branquio-Oto-Renal, Síndrome de Jervell y Lange-Nielsen, Síndrome de Pendred, Síndrome de CHARGE y el Síndrome de Wolfram. (Tabla 1)

Síndrome	Genes codificantes	Características clínicas
Usher	Tipo 1: <i>MYO7A, USH1C, CDH23, PCDH15, USH1G</i> y <i>CIB2</i> Tipo 2: <i>USH2A, ADGRV1, WHRN, CEP250</i> Tipo 3: <i>CLRN1</i>	Retinosis pigmentaria

Waardenburg	<i>PAX3, MITF, EDN3, EDNRB, SNAI2, SOX10</i>	Anomalías pigmentarias de la piel, cabello e iris
Branquio-Oto-Renal	<i>EYA1, SIX1 y SIX5</i>	Quistes branquiales o fistulas, anomalías en el oído externo y medio y anomalías renales
Jervell y Lange-Nielsen	<i>KCNE1 y KCNQ1</i>	Arritmia cardíaca (Intervalo QT largo)
Pendred	<i>SLC26A4</i>	Acueducto vestibular dilatado y bocio tiroideo
CHARGE	<i>CHD7</i>	Coloboma, defectos cardíacos, atresia de coanas, retraso de crecimiento y genitales hipoplásicos
Wolfram	<i>WFS1, CISD2</i>	Diabetes mellitus, diabetes insípida, atrofia del nervio óptico, alteraciones del tracto urinario y degeneración neural progresiva

**Tabla 1. Genes frecuentes de hipoacusia sindrómica**

Síndrome de Usher:

El síndrome de Usher es una de las causas más frecuentes de hipoacusia sindrómica de herencia autosómica recesiva. Se caracteriza por retinosis pigmentaria asociado a pérdida de audición.

Se clasifica en tres grupos diferentes según el fenotipo basándose en el tipo y grado de hipoacusia, en la presencia o ausencia de afectación vestibular y en la edad de aparición de la retinosis pigmentaria (Casazza and Meier, 2017). Las características clínicas de los tres grupos las resumimos en la tabla adjunta a continuación.

Tipo	Características audiológicas	Clínica vestibular	Retinosis pigmentaria
Tipo I	Hipoacusia congénita <b>severo-profunda</b>	<b>Severa</b> desde la <b>infancia</b>	Inicio en la 1ª década de la vida
Tipo II	Hipoacusia congénita <b>moderada-severa</b> Frecuencias agudas	<b>Ausente</b>	Inicio entre la 1ª y la 2ª década de la vida
Tipo III	Hipoacusia progresiva <b>grado variable</b>	<b>Variable</b> y aparición en la <b>edad adulta</b>	Variable (adolescentes-adultos)

**Tabla 2. Clasificación clínica del Síndrome de Usher** (Hereditary Hearing Loss Homepage: <https://hereditaryhearingloss.org/>).

### Síndrome de Waardenburg:

Es la causa más frecuente de hipoacusia hereditaria sindrómica (Casazza and Meier, 2017) (Cohen and John A. Phillips III, 2012). Se hereda de forma autosómica dominante y tiene una expresión clínica variable. Los síntomas típicos son la distopia cantorum (desplazamiento lateral del canto interno

del ojo), anormalidades pigmentarias en el pelo, ojos y piel (poliosis y heterocromia de iris, entre otros) e hipoacusia neurosensorial. Se clasifica en cuatro grupos clínicos:

Grupo	Características clínicas
Grupo I (más frecuente)	Distopia cantorum
Grupo II	Ausencia de distopia cantorum
Grupo III (Síndrome Klein-Waardenburg)	Grupo I + patología columna cervical
Grupo IV (Síndrome Waardenburg-Shah)	Grupo II + Enfermedad de Hirschsprung

**Tabla 3. Clasificación Clínica del Síndrome de Waardenburg** (Hereditary Hearing Loss Homepage: <https://hereditaryhearingloss.org/>).

La pérdida de audición es frecuente en los cuatro grupos, pero la prevalencia varía en cada uno de ellos (Grupo I: 52.3%, Grupo II: 91.6%, Grupo III: 57.1% y Grupo IV: 83.5%) (Casazza and Meier, 2017). Además, las malformaciones del oído medio e interno como el acueducto vestibular dilatado, menor tamaño modiolar y la fijación del estribo, son detectadas en las pruebas de imagen de estos pacientes (Casazza and Meier, 2017)(Jonathan M. Melzer et al., 2016).

Se han descrito seis genes relacionados con este síndrome (*PAX3*, *MITF*, *EDNRB*, *EDN3*, *SOX10* Y *SNAI2*). Concretamente, *SOX10*, *MITF* y *SNAI2* han sido asociados con mayor frecuencia cuando existen alteraciones auditivas (Song et al., 2016)(Casazza and Meier, 2017).

### Síndrome Branquio-Oto-Renal (BOR):

Presenta una incidencia de 1 de cada 40.000 nacidos y afecta al 2% de los niños con sordera profunda (Lucía Borreguero Escribano, 2016). Por tanto, se considera la segunda causa más frecuente de hipoacusia hereditaria sindrómica (Cohen and John A. Phillips III, 2012). Es una enfermedad de herencia autosómica dominante. Las manifestaciones clínicas características son la hipoacusia, anomalías renales, y anomalías morfológicas en los arcos branquiales, como fositas y apéndices preauriculares (Lucía Borreguero Escribano, 2016). La hipoacusia puede ser conductiva, neurosensorial o mixta y varía desde moderada a profunda (Cohen and John A. Phillips III, 2012). La atresia del conducto auditivo externo y las malformaciones de la cadena osicular causarán una hipoacusia conductiva, mientras que las deformidades del oído interno, que incluyen hipoplasia coclear, displasia vestibular, acueducto vestibular dilatado e hipoplasia del nervio coclear, pueden provocar una hipoacusia neurosensorial y disfunción vestibular (Casazza and Meier, 2017).

Las mutaciones en el gen *EYA1* se presentan en el 40% de los pacientes y las mutaciones en los genes *SIX1* y *SIX5* también son causantes, aunque en menor proporción. Tiene una elevada penetrancia, pero una expresividad variable (Lucía Borreguero Escribano, 2016).

### Síndrome de Jervell y Lange-Nielsen:

Es la tercera causa de hipoacusia sindrómica de herencia autosómica recesiva (Cohen and John A. Phillips III, 2012). Se caracteriza por una hipoacusia neurosensorial congénita y alteraciones en el electrocardiograma como el intervalo QT largo. No se relaciona con malformaciones del oído interno y su diagnóstico es clínico (Casazza and Meier, 2017). También se pueden observar disfunción vestibular con alteración del equilibrio y retraso motor (Lisbeth Tranebjærg et al., 2017). El 90% aproximadamente, es causado por mutaciones en el gen *KCNQ1* y el 10% restante es debido a mutaciones en el gen *KCNE1*. Estos genes traducen proteínas que conforman los canales de potasio voltaje-dependiente (Casazza and Meier, 2017).

### Síndrome de Pendred:

Se caracteriza por hipoacusia neurosensorial moderada-profunda, disfunción vestibular y bocio eutiroideo (Casazza and Meier, 2017). El 50% de los pacientes, presentan mutaciones en el gen *SLC26A4*, el cual traduce proteínas transportadoras de yodo-cloro (Rose et al., 2017). El acueducto vestibular dilatado es patognomónico de este síndrome y parece ser el responsable de la hipoacusia postlingual en estos pacientes. Además, las dimensiones del acueducto vestibular presentan correlación clínica con el grado de hipoacusia de transmisión observado en la audiometría, debido a

la producción de una tercera ventana en el oído interno (Casazza and Meier, 2017).

### Síndrome de CHARGE:

CHARGE representa las siglas de coloboma, defectos cardíacos, atresia de coanas, retraso de crecimiento, genitales hipoplásicos y alteraciones en la audición. La hipoacusia puede ser de transmisión, neurosensorial o mixta (Casazza and Meier, 2017). Aproximadamente, 2/3 de los pacientes presentan mutaciones en el gen *CHD7* (Koffler et al., 2015). Las malformaciones del oído externo como la microtia o la implantación baja del pabellón están presentes en el 95-100% de los pacientes (Huang et al., 2012). También son frecuentes las malformaciones en el oído interno como la aplasia del canal semicircular superior, alteraciones de la cadena de huesecillos e hipoplasia vestibular (Yoon Chan Rah, MD et al., 2016).

### Síndrome de Wolfram:

Es un síndrome de herencia autosómica recesiva caracterizado por presentar diabetes mellitus, diabetes insípida, atrofia del nervio óptico, alteraciones del tracto urinario y degeneración neural progresiva (Urano, 2016). La mayoría de los pacientes presentan mutaciones recesivas en el gen *WFS1*, concretamente en el cromosoma 4p16.1 (Karzon et al., 2018). Entre el 65-70% de los pacientes desarrollan hipoacusia neurosensorial,



presentándose al nacimiento como una pérdida auditiva severa o de inicio en la adolescencia como una hipoacusia leve progresiva, siendo esta última el debut más frecuente. Al inicio afecta a las frecuencias graves y posteriormente a las frecuencias agudas (Karzon and Hullar, 2013). No debemos confundir la hipoacusia del Síndrome de Wolfram con la hipoacusia debida a la mutación en el gen *WFS1* de herencia autosómica dominante, la cual afecta únicamente a las frecuencias graves y no estará asociada a otros signos o síntomas característicos de este síndrome (Urano, 2016).

### *1.3.2 Hipoacusia hereditaria no sindrómica*

La hipoacusia hereditaria no sindrómica se clasifica y nombra según el gen involucrado (ej. *OTOF*) o por el locus genético (ej. *DFNB9*). Los *loci* de este tipo de hipoacusia se denominan con las siglas DFN (DeaFNees-sordera en inglés) y dependiendo del modo de herencia, se añadirá al final la sigla correspondiente. Es decir, DFNA para los *loci* con herencia autosómica dominante, DFNB a los de herencia autosómica recesiva y DFNX a los ligados al cromosoma X. Como vemos en el ejemplo anterior, a los acrónimos se les añade un índice numérico que hace referencia al orden en que se ha identificado ese gen (Shearer et al., 1999).

En la fisiología del oído interno están involucrados muchos genes, los cuales codifican proteínas con multitud de funciones, unas conocidas y otras aún

por determinar. El mecanismo y la estructura del oído interno son únicos y distintos a otras ubicaciones anatómicas, lo que provoca una gran sensibilidad a las mutaciones en los loci genéticos de este órgano (Egilmez and Kalcioğlu, 2016).

Hasta la fecha, se han relacionado con la hipoacusia no sindrómica un total de 124 genes; en concreto, 51 autosómicos dominantes (AD), 78 autosómicos recesivos (AR) y 5 ligados al cromosoma X (Hereditary Hearing Loss Homepage: <https://hereditaryhearingloss.org/>).

En el 80% de los casos, la hipoacusia no sindrómica prelingual es de carácter autosómico recesivo, el 18% autosómico dominante y entre 1%-2% es de herencia ligada al X o mitocondrial. Por el contrario, la mayoría de las hipoacusias no sindrómicas postlinguales son debidas a mutaciones autosómicas dominantes (Shearer et al., 1999).

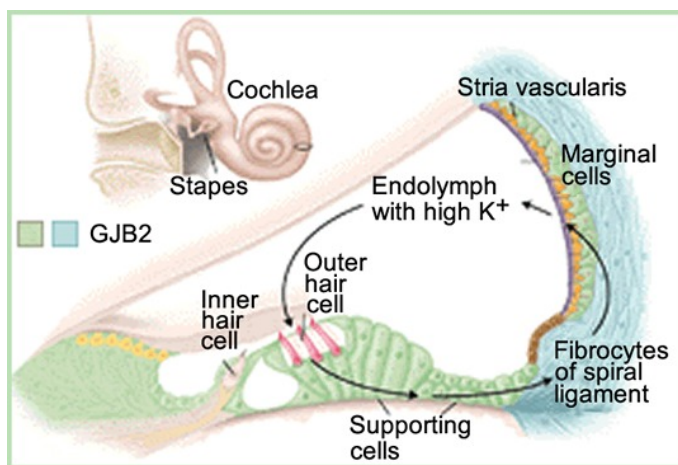
Clínicamente, la hipoacusia de carácter recesivo suele aparecer de forma congénita o prelingual y presentar un grado severo, mientras que la mayoría de las hipoacusias autosómicas dominantes, debutan de forma postlingual siendo lentamente progresivas (Dominguez Laura M and Dodson, 2012).

Mutaciones en el gen *GJB2* son la causa más frecuente de hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva de carácter severo-profundo en la

población mundial y mutaciones en el gen *STRC*, la más frecuente autosómica recesiva de grado leve-moderado (Sloan-Heggen et al., 2016).

*GJB2* es un gen que presenta una marcada heterogeneidad alélica. En múltiples ocasiones, se encuentra una mutación en heterocigosis (es decir, es uno solo de los alelos) de *GJB2* en combinación con una delección en heterocigosis de *GJB6*. Esta combinación ocasiona el mismo tipo de hipoacusia recesiva no sindrómica (DFN1B) (del Castillo, 2005).

El gen *GJB2* codifica una proteína denominada Conexina 26. Esta proteína se encuentra en las uniones gap transportadoras de iones  $K^+$  en el oído interno, concretamente en el conducto coclear (figura 10) (Korver et al., 2017).



**Figura 10. Corte transversal del conducto coclear. Ubicación de la proteína Conexina 26.**

Por otra parte, *STRC* codifica la proteína estereocilina, la cual sirve de conexión de los estereocilios a la membrana tectoria (Hilgert et al., 2009).

Otro gen relevante en la población española que provoca hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva es *OTOF* que codifica la proteína otoferlina, la cual, se encarga de la exocitosis de vesículas sinápticas para la transducción de la estimulación sonora en impulsos nerviosos. Concretamente en España, la variante patogénica c.2485C>T/p. (Gln829\*), es la tercera causa más frecuente de hipoacusia prelingual en la población española (Migliosi, 2002).

En cuanto a la hipoacusia de carácter dominante, el gen *TECTA* es el gen mayoritario en nuestra población y codifica la proteína  $\alpha$ -tectorina que se expresa en la membrana tectoria de la cóclea y participa en la transmisión y amplificación del sonido (Hilgert et al., 2009).

Puede ocurrir que diferentes mutaciones en un mismo gen presenten patrones hereditarios distintos como por ejemplo *TECTA* (hay mutaciones de carácter dominante y mutaciones de carácter recesivo) y provoquen manifestaciones clínicas diferentes como por ejemplo mutaciones en el gen *GJB2* (la mayoría de mutaciones producen pérdida severo-profunda; pero algunas excepciones se asocian a formas leves). Además, diferentes mutaciones en un gen determinado se puede asociar en ocasiones a

hipoacusia no sindrómica y a hipoacusia sindrómica (por ejemplo, el gen *COL11A2* que está asociado a pérdida de audición tipo DFNA13 y al Síndrome de Stickler (Dominguez Laura M and Dodson, 2012).

### *1.3.3 Diagnóstico genético de las hipoacusias*

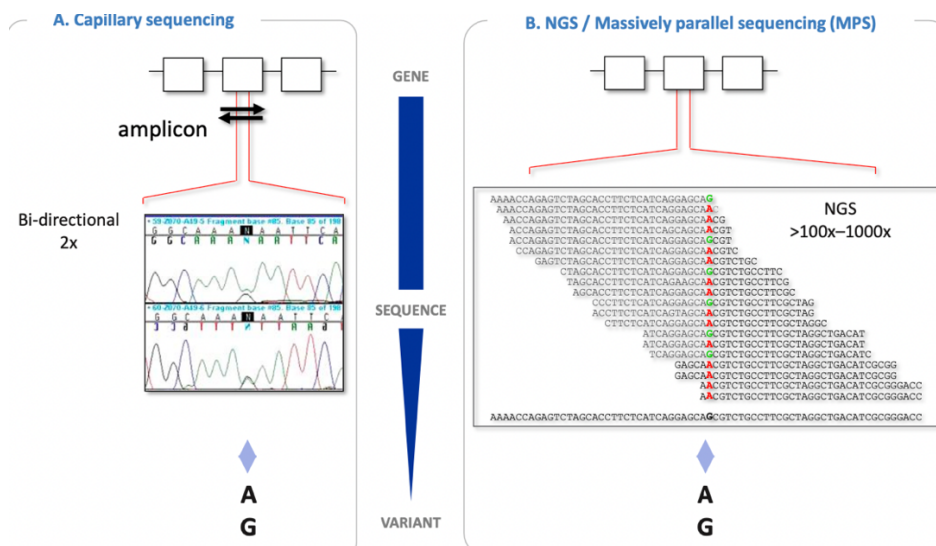
El estudio genético representa en la actualidad la prueba clínica con mayor rendimiento diagnóstico cuando no se identifica en la historia clínica una causa evidente de su hipoacusia, tanto en los niños como en los adultos (Lin et al., 2011)(Yaeger et al., 2006). Por ello la Comisión para la Detección Precoz de la Hipoacusia (CODEPEH), ha incluido el estudio genético como primer paso diagnóstico en las hipoacusias perceptivas no sindrómicas (Núñez-Batalla et al., 2020).

Como hemos comentado previamente, es importante el diagnóstico genético de la hipoacusia mediante paneles de secuenciación multigénica debido, entre otras cosas, a la gran heterogeneidad genética existente en esta patología.

Hasta el año 2010 aproximadamente, el diagnóstico genético de las hipoacusias se realizaba mediante secuenciación Sanger (Sanger et al., 1977). Esta técnica sólo permite secuenciar genes individuales y en primer lugar es necesario amplificar las regiones de interés del ADN mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y a continuación secuenciarlas.

Este método tiene una gran sensibilidad y especificidad, sin embargo, su rendimiento es bajo y tiene un alto coste, ya que el estudio se hace exón a exón de cada gen (Shearer and Smith, 2015).

En la actualidad, se utiliza la secuenciación de nueva generación (NGS), gracias a la cual se puede llevar a cabo el análisis de muchos genes simultáneamente por un precio asequible y en poco tiempo. Además, permite analizar varios pacientes a la vez y seleccionar los genes que queramos; de manera que podemos priorizar los genes que nos interesen porque ya hayan sido descritos como causantes de la enfermedad y también explorar posibles genes candidatos (Shearer and Smith, 2012).



**Figura 11. A la izquierda observamos esquemáticamente la técnica Sanger y a la derecha la técnica NGS.**

Para el diagnóstico de la hipoacusia hereditaria se han elaborado paneles de genes que han permitido identificar la mutación causante, en aproximadamente el 50% de los casos (Tekin et al., 2016). Ya que tenemos que tener en cuenta que no todas las mutaciones que encontramos en la secuenciación genética van a ser relevantes y causantes de esta patología.

Según las recomendaciones publicadas por el Colegio Americano de Genética Médica y Genómica y la Asociación de Patología Molecular, podemos clasificar las mutaciones en cinco grupos: variantes patogénicas, variante probablemente patogénica, variante con significado clínico incierto (VOUS), variante probablemente benigna y variante benigna. Una mutación se considera **patogénica** cuando el cambio en esa secuencia genética repercute directamente en el desarrollo de la enfermedad. Algunas variantes patogénicas no tienen penetrancia completa. Se denomina **variante probablemente patogénica** cuando el cambio en la secuencia es muy probable que contribuya al desarrollo de la enfermedad, sin embargo, actualmente la evidencia científica es insuficiente para probar esto de manera concluyente. Las **variantes con significado clínico incierto** son aquellas mutaciones de las que actualmente no hay suficiente información para apoyar o descartar su implicación patológica. Determinamos **variante probablemente benigna** cuando no se espera que este cambio de secuencia tenga un efecto importante sobre la enfermedad, sin embargo, ahora la evidencia científica es insuficiente para probar esto de manera concluyente.

Por último, una variante es **benigna** cuando ese cambio de secuencia no es causante de la enfermedad (Sue Richards et al., 2015).

Otra cuestión importante como clínicos es saber cuándo hay que solicitar un análisis genético a un paciente. Para ello es imprescindible una completa anamnesis en la consulta médica sobre los antecedentes familiares audiológicos del paciente; las características familiares del paciente como es el tipo de paternidad, si ha sido adoptado o ha sido un embarazo biológico, la existencia de consanguinidad, la nacionalidad y etnia del enfermo; los antecedentes personales del paciente tanto prenatales como postnatales como la exposición a ciertos antibióticos, infecciones previas, la existencia de patologías y el neurodesarrollo del enfermo. Además, es necesario un examen físico minucioso principalmente a nivel otorrinolaringológico, para valorar la existencia de una posible hipoacusia hereditaria sindrómica. La realización de pruebas complementarias, dependiendo de la edad y el tipo de hipoacusia de nuestro paciente, como son la audiometría tonal u otras **pruebas audiológicas** (otoemisiones, potenciales de tronco cerebral y/o estado estable), **Resonancia Magnética Nuclear (RMN)**, la **Tomografía Computerizada (TC)**, serología, ecografía, análisis sanguíneo y orina, electrocardiograma, entre otras.

Conocer las mutaciones causantes de la hipoacusia genética nos serán de utilidad tanto en la **prevención**: al identificar síndromes concretos y de hipersensibilidad a factores ambientales; en el **diagnóstico** para la posterior



rehabilitación y para evitar pruebas innecesarias; en el **pronóstico** y por tanto el seguimiento de estos pacientes; en el **tratamiento** ayudándonos en la toma de decisiones a la hora de implantar a un paciente o recomendar de entrada prótesis auditivas y también en el **consejo genético** y en las decisiones reproductivas familiares. Por último, el desarrollo de la **terapia génica** para las hipoacusias, está evolucionando a gran velocidad en los últimos años gracias al descubrimiento de nuevas mutaciones relacionadas con esta patología (Teresa Rivera-Rodríguez, Carlos Escobar Sánchez, Justo R. Gómez Martínez, Laura Cavalle Garrido, 2022).

## 2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS:

### Hipótesis:

En los últimos 11 años (de 2006 a 2017, el análisis genético de pacientes con hipoacusia en nuestro hospital terciario, estaba restringido a detectar las variantes patogénicas más frecuentes responsables de hipoacusia neurosensorial hereditaria en España, en concreto, la secuencia codificante completa del gen *GJB2*, las deleciones D13S1830 y delD13S1854 en el gen *GJB6*, la variante *OTOF* p.Q829X y la mutación m.3243A > G en el gen mitocondrial MT-TL1. Este diagnóstico genético se basaba en amplificación mediante PCR, reacción en cadena de la polimerasa y secuenciación convencional de Sanger.

Desde el año 2017-2018, el diagnóstico genético de la hipoacusia lo realizamos con un panel de secuenciación de nueva generación (NGS), que nos permite realizar el análisis de muchos genes simultáneamente.

La hipótesis de nuestro estudio es que con este análisis detectaremos más y nuevas mutaciones que nos permitirá mejorar el manejo clínico de nuestros pacientes, así como abrir y ampliar posibilidades de investigación en campos emergentes como la terapia molecular de estas hipoacusias.

## Objetivos:

- Determinar el rendimiento diagnóstico de nuestro panel NGS en pacientes con hipoacusia Neurosensorial y/o Mixta Bilateral.
- Identificar los genes más prevalentes en nuestra muestra.
- Conocer si existe alguna relación estadísticamente significativa entre los datos clínicos revisados de nuestros pacientes y el diagnóstico de hipoacusia hereditaria.
- Analizar los resultados obtenidos para determinar la correlación genotipo-fenotipo de hipoacusia, que nos ayude a mejorar e individualizar el diagnóstico y tratamiento de la misma.

### **3 MATERIAL Y MÉTODOS:**

Este estudio cumple todos los requisitos éticos requeridos. Ha sido aprobado por el CEIM del Hospital Universitario y Politécnico la Fe de Valencia, con Nº de registro: 2021-358-1 y firmado el 30/06/2021.

#### **3.1 PACIENTES**

Los pacientes incluidos en este estudio fueron diagnosticados de hipoacusia neurosensorial bilateral sindrómica y no sindrómica, en las consultas de Otorrinolaringología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia o derivados a la Unidad de Genética de este Hospital desde diferentes Servicios de Otorrinolaringología de la Comunidad Valenciana, desde enero de 2018 a diciembre de 2020.

Por una parte, se incluyeron pacientes con:

- Diagnóstico de HNS bilateral, tanto en edad pediátrica como adulta.
- Historia clínica-audiológica sugestiva de causa genética (antecedentes familiares de sordera, audiometría tonal liminar con hipoacusia bilateral simétrica).
- Pacientes entre 0 y 1 año de edad, que no pasaron el screening auditivo al nacimiento.

Hemos revisado la historia clínica de un total de 185 pacientes con edades comprendidas entre los 0 y los 50 años de edad (Media= 14 años). Se recogieron los siguientes datos:

- Sexo
- Edad
- Antecedentes familiares de hipoacusia
- Examen físico
- Características audiológicas
- Síntomas asociados
- Pruebas de imagen complementarias
- Tratamiento de la hipoacusia
- Genes y mutaciones identificadas

Se les ofrecía realizar la extracción de su ADN para el análisis de 59 genes relacionados con la hipoacusia hereditaria. Una vez firmado el consentimiento informado, acudían a que les realizasen la extracción de sangre periférica a partir de la cual se obtuvo el ADN genómico con un extractor automático.

### **3.2 ESTUDIO AUDIOLÓGICO Y EVALUACIÓN CLÍNICA**

Dentro del estudio audiológico registramos las siguientes características audiológicas: comienzo de la hipoacusia, tipo, grado, evolución, frecuencias afectas y tratamiento considerado para cada uno de los pacientes.

El comienzo de la hipoacusia lo clasificamos en prelingual (previa al desarrollo del lenguaje) y postlingual (posterior al desarrollo del lenguaje).

El tipo, las frecuencias afectas y el grado de hipoacusia lo determinamos según los potenciales de estado estable o la audiometría tonal realizada a cada uno de los pacientes en función de la edad. Clasificamos los grados en leve-moderado (entre 25 y 69 dB) y en severo-profundo (a partir de 70dB).

La evolución de la hipoacusia la registramos según el desarrollo en el tiempo (mínimo un año de evolución) de las pruebas audiológicas, clasificándola en estable (si no se han observado cambios) y progresiva (si ha existido empeoramiento a lo largo del tiempo)

A todos los pacientes se les realizó en función de la edad o las características del paciente, o bien una audiometría tonal, otoemisiones o unos potenciales evocados de estado estable para el diagnóstico de la hipoacusia a los 3, 6, 9 y 12 meses.

El diagnóstico audiológico es diferente en niños y adultos.

En el caso de los niños menores de 3-4 años, se realizan pruebas objetivas como son las otoemisiones, la timpanometría, reflejo estapedial, potenciales evocados automáticos de troncoencéfalo y potenciales evocados de estado estable. Cuando los niños colaboran, normalmente a partir de los 3-4 años

de edad, se realizan audiometrías tonales y verbales, al igual que en el caso de los adultos.

Además, de la exploración física y la otoscopia, a todos los pacientes diagnosticados de hipoacusia bilateral, se les realizó una prueba de imagen (TAC de Peñascos y/o RMN de Conducto auditivo interno). Los niños fueron derivados a Cardiología Infantil, Oftalmología (posibilidad de hipoacusia sintomática) e Infecciosas, para valoración de pruebas diagnósticas frente al Citomegalovirus.

### 3.3 PANEL DE GENES DISEÑADO

En este estudio se ha aplicado un Panel NGS que ha sido diseñado mediante la herramienta SureDesign de Agilent Technologies para el análisis de hipoacusias hereditarias. Los genes que se han incluido en este panel han sido seleccionados a partir de los resultados de diferentes estudios y se han elegido los genes que tienen una mayor prevalencia en nuestra población (Cabanillas et al., 2018)(Sloan-Heggen et al., 2016)(Yan et al., 2017). Finalmente, el panel contiene las regiones codificantes y las regiones intrónicas flanqueantes (+/- 25pb) de 59 genes (Tabla 4). El panel también incluyó cinco regiones intrónicas profundas del gen *USH2A* donde se han descrito previamente la presencia de mutaciones patológicas (Liquori et al., 2016).

A continuación, vamos a desarrollar cada uno de los genes sindrómicos y no sindrómicos que hemos incluido en nuestro estudio, al igual que hemos realizado con los síndromes en el apartado anterior.



<i>Gen</i>	Locus	Tipo herencia	Proteína	Función en el oído	Inicio clínico	Características audiológicas/fenotipo
<i>ACTG1</i>	DFNA20/26	AD	Gamma-actina	Filamento del citoesqueleto	Postlingual	Progresiva, grado moderado, frecuencias agudas
<i>CDH23*</i>	DFNB12	AR	Cadherina-23	Uniones entre estereocilios y quinocilio	Prelingual	Estable, grado severo-profundo, frecuencias agudas
	Sd Usher Tipo 1	AR				
<i>CIB2</i>	DFNB48	AR	CIB2	Unión a calcio e integrinas, estereocilios	Prelingual	Severo-profunda
	Sd Usher Tipo 1	AR				
<i>CLDN14</i>	DFNB29	AR	Claudina-14	Uniones intercelulares estrechas	Prelingual	Estable, grado severo-profundo

<i>COCH</i>	DFNA9 DFNB110	AD AR	Cocлина	Células fusiformes de las fibras nerviosas entre el ganglio auditivo y el epitelio sensorial	Postlingual (2ª década)	Progresiva, frecuencias agudas Afectación vestibular
<i>COL11A2</i>	DFNA13	AD	Colágeno XI, $\alpha 2$	Membrana tectoria	Postlingual (2ª década)	Frecuencias medias
	DFNB53	AR			Prelingual	Estable, grado severo-profundo
<i>GSDME</i>	DFNA5	AD	Gasdermin	Estria vascular	Prelingual/p ostlingual	Progresiva Grado moderado-severo Frecuencias agudas
<i>WHRN*</i>	DFNB31	AR	Whirlina	Alargamiento y mantenimiento estereocilios	Prelingual	Grado profundo
	Sd Usher Tipo 2	AR				
<i>PJVK</i>	DFNB59	AR	Pejvakina	Celulas ciliadas interna y nervio auditivo	Prelingual	Neuropatía auditiva Progresiva Grado severo-profundo Todas las frecuencias

<i>ESPN</i>	DFNB36	AR	Espina	Citoesqueleto de los estereocilios	Prelingual	Posibilidad afectación vestibular Grado profundo
<i>EYA4</i>	DFNA10	AD	EYA4	Órgano de Corti	Postlingual (3ª-4ª década)	Progresiva Grado moderado-severo Todas frecuencias
<i>GJB2</i>	DFNA3A	AD	Conexina 26	Células de soporte cocleares (C. de sosten, fibrocitos del ligamento espiral y c. del limbo espiral)  Homeostasis del K+ en la cóclea	Prelingual	Progresiva Grado moderado-profundo Frecuencias agudas Estable
	DFNB1A	AR			Prelingual	
<i>GJB6</i>	DFNA3B	AD	Conexina30	Células de soporte del oído interno	Prelingual	Progresiva, frecuencias agudas y medias  Estable
	DFNB1B	AR			Prelingual	

<i>KCNQ4</i>	DFNA2A	AD	KCNQA	Canal K+ voltaje dependiente Células ciliadas externas	Postlingual (2ª década)	Progresiva, grado moderado, frecuencias agudas Afectación vestibular
<i>LHFPL5</i>	DFNB67	AR	<i>LHFPL5</i>	Proteína transmembrana de las células ciliadas	Prelingual	Estable, grado severo-profundo Afectación vestibular
<i>LOXHD1</i>	DFNB77	AR	LOXHD1	Citoesqueleto estereocilios	Postlingual	Progresiva, Grado moderado- profundo
<i>LRTOMT</i>	DFNB63	AR	LRTOMT1 y LRTOMT2	Catecol-O-metiltransferasa	Prelingual	Estable, grado severo-profundo
<i>MYH9</i>	DFNA17	AD	Miosina 9	Citoesqueleto estereocilios Estría vascular	Postlingual	Progresiva, grado moderado- profundo, frecuencias agudas
<i>MYH14</i>	DFNA4	AD	TMIE	Citoesqueleto estereocilios	Postlingual	Fluctuante, progresiva Grado moderado-profundo Todas frecuencias
<i>MYO6</i>	DFNA22	AD	Miosina 6	Citoesqueleto de los estereocilios	Postlingual (5ª década)	Progresiva, grado moderado- profundo, frecuencias agudas
	DFNB37	AR		Sinapsis auditiva	Prelingual	Grado profundo Afectación vestibular

<i>MYO7A*</i>	DFNA11	AD	Miosina 7A	Citoesqueleto de los estereocilios	Postlingual (1ª-6ª década)	Progresiva Grado moderado-severo Frecuencias agudas
	DFNB2 Sd Usher Tipo I	AR			Prelingual	Grado profundo Afectacion del equilibrio
<i>MYO15A</i>	DFNB3	AR	Miosina XVA	Citoesqueleto de los estereocilios	Prelingual	Estable, Grado Severo-profundo
<i>OTOA</i>	DFNB22	AR	Otoancorina	Matriz extracelular	Prelingual	Estable, Grado Severo-profundo
<i>OTOF</i>	DFNB9	AR	Otoferlina	Exocitosis vesiculas sinápticas Células ciliadas externas	Prelingual	Estable, Grado severo-profundo OEA presentes PEATC ausentes Neuropatia auditiva
<i>OTOG</i>	DFNB18B	AR	Otogelina	Membrana tectoria	Prelingual	Estable, Grado leve-moderado
<i>OTOGL</i>	DFNB84	AR	Prot. Similar a otogelina	Membrana tectoria	Prelingual	Estable, frecuencias agudas

<i>PCDH15*</i>	DFNB23	AR	Proto-cadherina 15	Adhesión celular (estereocilio con quinocilio)	Prelingual	Estable, Grado Severo-profundo
	Sd Usher Tipo I	AR				
<i>POU4F3</i>	DFNA15	AD	POU4F3 (Factor de transcripción 4 clase 3)	Se expresa durante la embriogénesis en la vesícula ótica	Postlingual	Progresiva, frecuencias agudas
<i>PTPRQ</i>	DFNB84	AR	PTPRQ	Citoesqueleto de los estereocilios	Prelingual	Progresiva, Grado moderado-profundo
	DFNA73	AD				
<i>SLC26A4*</i>	DFNB4	AR	Pendrina	Transportador de aniones en la cóclea, laberinto vestibular y saco endolinfático.	Prelingual, postlingual	Estable o progresiva Grado moderado a profundo Acueducto vestibular dilatado (Sd Pendred)
	Sd Pendred	AR				
<i>SMPX</i>	DFNX4	XLD	SMPX	Adhesión celular	Postlingual	Progresiva, Grado moderado a profundo, frecuencias agudas

<i>STRC</i>	DFNB16	AR	Estereocilina	Conexión de estereocilios a la membrana tectoria	Prelingual	Estable, Grado leve-moderado Frecuencias agudas
<i>TECTA</i>	DFNA8/12	AD	$\alpha$ - tectorina	Membrana tectoria	Prelingual	Frecuencias medias Estable, Grado severo-profundo
	DFNB21	AR				
<i>TIMM8A</i>	DFNX		DDP	Membrana interna mitocondrial	Postlingual	Progresiva Grado Severo Frecuencias graves
<i>TMC1</i>	DFNA36	AD	GRHL2	Componente del canal de mecanotransducción	Postlingual	Todas frecuencias Estable, Grado Severo-profundo
	DFNB7/11	AR	TMC1		Prelingual	
<i>TMPRSS3</i>	DFNB8/10	AR	TMPRSS3	Enzima proteolítica	Postlingual, prelingual	Progresiva o estable
<i>TPRN</i>	DFNB79	AR	Taperina	¿Citoesqueleto de los estereocilios?	Prelingual	Estable, Grado Severo-profundo
<i>TRIOBP</i>	DFNB28	AR	TRIOBP	Citoesqueleto de los estereocilios	Prelingual	Estable, Grado Severo-profundo

<i>USH1C*</i>	DFNB18	AR	Harmonina	Citoesqueleto de los estereocilios	Prelingual	Estable, Grado Severo-profundo
	Sd Usher Tipo I	AR				
<i>USH1G</i>	Sd Usher	AR	SANS	Citoesqueleto de los estereocilios		
<i>WFS1*</i>	DFNA6/14 /38	AD	Wolframin	Canal de Ca <sup>2+</sup>	Prelingual	Progresiva, grado moderado-severo, frecuencias graves Tinnitus
	Sd Wolfram	AR				

1



**Tabla 5. Genes incluidos en nuestro estudio.** Los genes señalados con un asterisco son aquellos que causan tanto hipoacusias no sindrómicas como sindrómicas. AR: autosómico recesivo; AD: autosómica dominante; XLD: Ligado al cromosoma X dominante; XLR: ligado al cromosoma X recesivo (Hereditary Hearing Loss Homepage: <https://hereditaryhearingloss.org/>), (Online Mendelian Inheritance in Man: <https://omim.org/>).

Intentamos incluir algunas sondas adicionales para las regiones de genes *ESPN*, *OTOA* y *STRC* que muestran una alta homología con sus pseudogenes, además de las sondas predeterminadas generadas por el software SureDesign. Se diseñaron e incluyeron tres sondas adicionales para *ESPN* (chr1:6500314-6500500, chr1:6500686-6500868, chr1:6505724-6505995) y siete para *OTOA* (chr16:21742158-21742251, chr16:21752042-21752229, chr16:21756202-21756357, chr16:21763256-21763398, chr16:21763690-21763826, chr16:21768403-21768598, chr16:21771791-21772050). Sin embargo, las herramientas bioinformáticas no lograron diseñar sondas adicionales para *STRC*, debido al hecho de que *STRC* es 99,6% idéntico a su pseudogen (*pSTRC*).

Este panel fue validado con las muestras de tres individuos control que ya habían sido analizados previamente. Uno de los controles es heterocigoto para la mutación c.35delG del gen *GJB2* y heterocigoto para la delección D1351830 en *GJB6*; el segundo es heterocigoto para la delección de *STRC* y

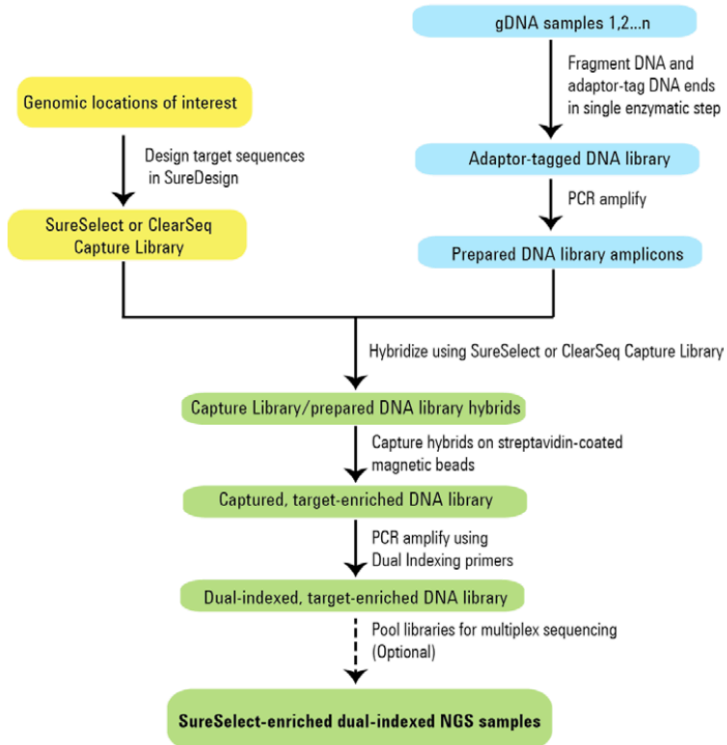
CATSPER2; y, por último, el tercer control es heterocigoto para la mutación c.2465C>T del gen *OTOF*.

## 3.4 SECUENCIACIÓN Y ANÁLISIS INFORMÁTICO

### 3.4.1 *Secuenciación mediante el panel NGS*

La preparación de las librerías y la secuenciación se llevó a cabo siguiendo el protocolo de Bravo NGS SureSelectQXT Automated Target Enrichment for Illumina Multiplexed Sequencing de Agilent para plataformas Miseq de Illumina. (Figura 12 y 13).

## SureSelect<sup>QXT</sup> NGS Target Enrichment Workflow



**Figura 12. Protocolo de Bravo NGS SureSelect<sup>QXT</sup> Automated Target Enrichment for Illumina Multiplexed Sequencing de Agilent.**



**Figura 13. Robot de Agilent para la realización del protocolo Bravo.**

### *3.4.2 Análisis bioinformático*

Los datos obtenidos de la secuenciación, se analizaron con el software Alissa-Agilent Technologies con respecto al ensamblaje humano GRCh37/hg19. Este software realiza la alineación y filtrado de las variantes. Estas variantes se filtraron de acuerdo con un valor de referencia MAF (Minor Allele Frequency)  $\leq 0,02$ . La frecuencia de las variantes se exploró en la base de datos Exome Aggregation Consortium (ExAC), genomeAD (<https://gnomad.broadinstitute.org/>) y en 1000 genomes (<https://www.internationalgenome.org/>).

Para clasificar las variantes también se tuvo en cuenta su anotación en dbSNP ([www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/)), su descripción en ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), Varsome (<https://Varsome.com/>), HGMD (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/>), LOVD (<https://www.lovd.nl/>) y Deafness Variation Database (<http://deafnessvariationdatabase.org/>), además del tipo de variante.

Se evaluaron nuevas variantes con los predictores incluidos en la web Varsome y el software Alissa (BayesDel\_addAF, DANN, DEOGEN2, EIGEN, FATHMM-MKL, M-CAP, MVP, MutationAssessor, MutationTaster, REVEL and SIFT). Para predecir el efecto potencial de las variantes en el “splicing” o procesamiento de ARN, utilizamos las herramientas bioinformáticas MaxEnt y Splice AI.

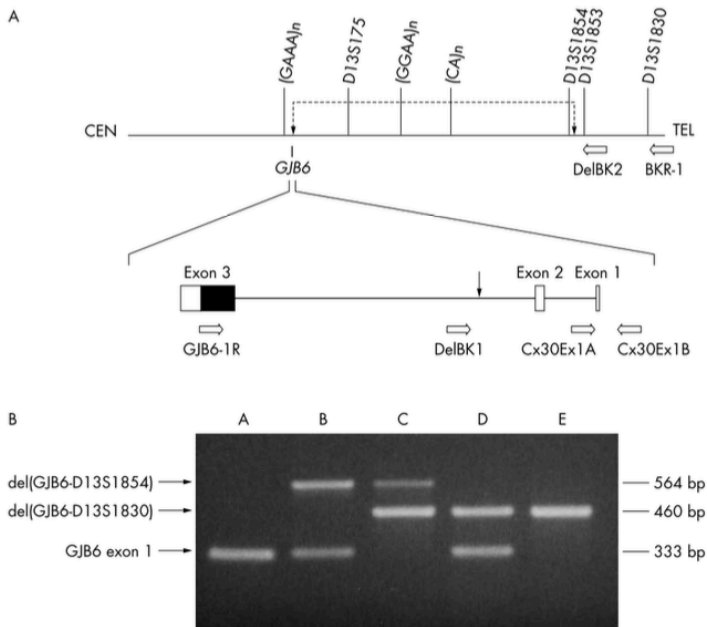
Tanto para el análisis de segregación familiar como para confirmar las mutaciones patogénicas y/o probablemente patogénicas responsables de la hipoacusia, se llevó a cabo la secuenciación Sanger.

### 3.4.3 *Análisis CNVs:*

Para detectar variaciones en el número de copias (CNVs), llevamos a cabo un análisis con el programa DECoN v1.0.2. de libre acceso en <https://github.com/RahmanTeam/DECoN>. Es una herramienta que detecta las variantes en el número de copias a partir de las secuencias alineadas,

basándose en el número de lecturas de cada posición. Las deleciones/duplicaciones obtenidas se comprobaron mediante la técnica de MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification).

Las deleciones descritas anteriormente que afectan al locus DFNB1 se confirmaron mediante PCR múltiple (del Castillo, 2005). Esta PCR tiene como objetivo llevar a cabo la amplificación del exón 1 de *GJB6* y las deleciones del (GJB6-D13S1830) y del (GJB6-D13S1854). Las condiciones para llevar a cabo esta PCR se obtuvieron del trabajo original donde se puso a punto (del Castillo, 2005). (Figura 15).



**Figura 15. PCR multiplex para la detección de del (GJB6-D13S1830) y del (GJB6-D12S1854).** (A) En el esquema observamos la posición de cada uno de los primers. (B) Como resultado de esta PCR podemos obtener bandas de 3 tamaños diferentes, las cuales corresponden a cada uno de los amplificadas. El pocillo A de esta electroforesis correspondería a un paciente que no presenta ninguna delección; el B sería heterocigoto para del (GJB6-D12S1854); el C sería heterocigoto para ambas delecciones; el D sería heterocigoto para del (GJB6-D13S1830); y el E sería homocigoto para del(GJB6-D13S1830).

### 3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

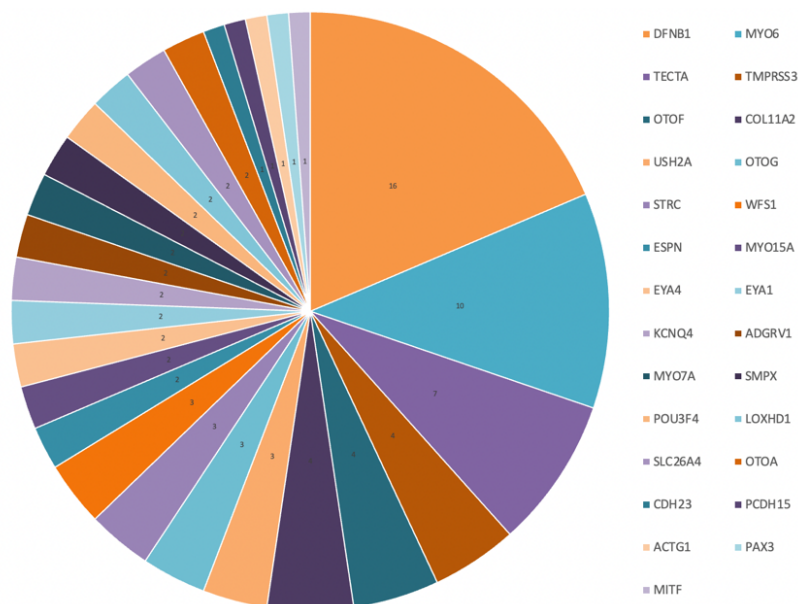
Los datos clínicos y fenotípicos se registraron en el software Microsoft Excel. El análisis descriptivo de las variables se representó en tablas de contingencia; mientras que el comparativo se realizó mediante chi-cuadrado considerando significativo con  $p < 0,05$ . Asimismo, la estimación de probabilidades de diagnóstico genético se llevo a término mediante regresión logística, haciendo uso del método “backward” para la selección del mejor modelo. Para el análisis estadístico previamente descrito, se empleó el RStudio (versión 4.2.2), haciendo uso de los paquetes básicos del software.



## 4 RESULTADOS

Hemos diagnosticado genéticamente un total de 84 pacientes (72 familias) de los 185 pacientes analizados mediante la secuenciación de este panel NGS, obteniendo una ratio de eficacia del 45,40%.

Hemos encontrado mutaciones en 27 de los 59 genes analizados: Locus DFNB1 (*gen GJB2 y GJB6*), *genes MYO6, TECTA, TMPRSS3, OTOF, USH2A, COL11A2, ESPN, OTOG, STRC, WFS1, MYO15A, EYA4, EYA1, KCNQ4, ADGRV1, MYO7A, SMPX, POU3F4, LOXHD1, SLC26A4, OTOA, CDH23, PCDH15, ACTG1, PAX3, MITF.* (Figura 15)



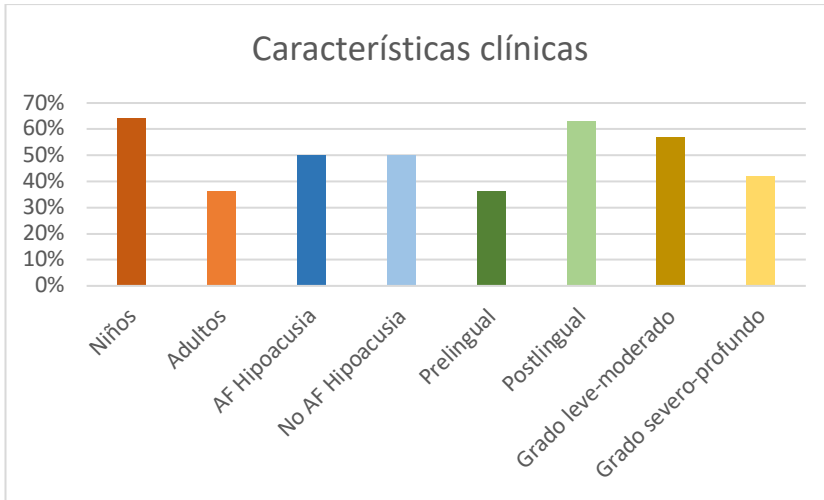
**Figura 16. Número de pacientes diagnosticados genéticamente tras el análisis NGS.**

En la figura 17 se resumen algunas características clínicas de los pacientes.

La media de edad de nuestros pacientes es 14.85 (0-50 años), concretamente, el 64% (118/185 pacientes) son niños menores de 15 años y el 36% (66/185 pacientes) son adultos; siendo el 55.14% (102 pacientes) del sexo femenino y el 44.86% (83/185 pacientes) del sexo masculino.

El 50.27% (92/185 pacientes) tienen antecedentes familiares de hipoacusia. En 117 pacientes (63.24%) el inicio de la hipoacusia fue postlingual y en 68 pacientes (36.76%), el inicio fue prelingual.

El 98.91% (183/185 pacientes) de los pacientes fueron diagnosticados de una hipoacusia neurosensorial y sólo 2 pacientes (1,65%) de una hipoacusia mixta. El 85.56% (154/185 pacientes) presentan una hipoacusia bilateral simétrica, siendo el 57,46% (104/185 pacientes) de un grado leve-moderado, y el 42,54% (77/185 pacientes) con un grado severo-profundo.



**Figura 17. Características clínicas de los pacientes.** Podemos observar el porcentaje de pacientes con algunas de las características clínicas analizadas. AF: antecedentes familiares.

El 41,48% (73/185 pacientes) presentaban una hipoacusia progresiva y el 57,95% (102/185 pacientes) una hipoacusia estable. En 121 pacientes (67,98%) la sordera afectaba a frecuencias agudas y graves, en 50 pacientes (28,09%) sólo las frecuencias agudas y en 7 pacientes (3,93%) sólo las frecuencias graves.

El 60% (110/185) de los pacientes eran portadores de prótesis auditivas y el 20% (17/185) de implante coclear.

Analizamos por separado los pacientes con un diagnóstico genético positivo y negativo. El 65% (52/84 pacientes) de los pacientes con un diagnóstico genético positivo tiene antecedentes familiares de hipoacusia, por el contrario, sólo el 38,83% (40/101 pacientes) de los pacientes no diagnosticados genéticamente los presentaban.

Mediante un análisis estadístico chi-cuadrado, comprobamos la relación positiva entre tener antecedentes familiares de hipoacusia y diagnosticarla genéticamente, por lo que podemos afirmar que **existe una relación estadísticamente significativa (p valor=0.0007) entre presentar antecedentes familiares de hipoacusia y diagnosticar la causa genética de la misma.**

Además, detectamos que el 44% (36/84 pacientes) de los pacientes diagnosticados genéticamente tenían una hipoacusia de inicio prelingual, por el contrario, del grupo de pacientes no diagnosticados, sólo el 31% (32/101 pacientes) tenían un inicio prelingual de la clínica.

Cuando realizamos el análisis estadístico chi-cuadrado, también obtuvimos **una relación positiva estadísticamente significativa (p valor= 0.0075) entre los pacientes con antecedentes familiares e hipoacusia prelingual y el diagnóstico genético**, confirmando que diagnosticamos genéticamente más pacientes con antecedentes familiares e hipoacusia prelingual que pacientes con antecedentes familiares e hipoacusia postlingual. En cambio, no

obtuvimos un resultado estadísticamente significativo cuando analizamos el resultado genético positivo con la variable “inicio de la hipoacusia” por sí sola.

En ambos grupos la hipoacusia neurosensorial bilateral simétrica fue predominante (el 87% /84 de los pacientes diagnosticados genéticamente y el 84% /101 de los pacientes no diagnosticados) al igual que el grado leve-moderado (58% /84 y 57% /101, respectivamente) y la afectación de ambas frecuencias (72% /84 y 64% /101, respectivamente). Sí que obtuvimos diferencias entre ambos grupos, aunque no estadísticamente significativas, en la variable “*progresión de la hipoacusia*”, ya que el 68% (55/84 pacientes) de los pacientes con diagnóstico genético positivo presentaban una hipoacusia estable, por el contrario, el 51% (51/101 pacientes) de los pacientes no diagnosticados genéticamente presentaban una hipoacusia progresiva.

Realizamos una regresión logística para estimar la probabilidad de diagnosticar genéticamente la hipoacusia según las variables estudiadas de nuestros pacientes. Como vemos en la tabla inferior (Tabla 6), obtuvimos que **los pacientes con antecedentes familiares de hipoacusia (afsi), tienen 3.5 veces más de probabilidad de confirmarse la causa genética de su hipoacusia, al igual, que los pacientes con hipoacusia de inicio prelingual (inicioprelingual), tienen 2.5 veces más de probabilidad de diagnosticarlos genéticamente; siendo ambos datos estadísticamente significativos (p**

valor  $<0,05$ ). Para el resto de variables no obtuvimos significación estadística.

Si analizamos sólo a los pacientes con 0 años que no pasaron el screening auditivo al nacimiento, es decir, prospectivos, obtuvimos un total de 38 pacientes, siendo en 28 de ellos el resultado genético positivo. Es decir, un ratio de eficacia del 73,68%. Con este dato, podemos reafirmar que **realizar el panel de genes en los pacientes con hipoacusia congénita o prelingual tiene mayor eficacia diagnóstica que si se realiza a los pacientes con hipoacusia prelingual y postlingual de forma conjunta**. El gen más frecuente detectado en este grupo de pacientes también ha sido el locus DFNB1 en 11 pacientes, seguido de los genes *TECTA*, *OTOF* y *SLC26A4*, detectados en dos pacientes en cada uno de ellos.

<b>Variables</b>	<b>Estimate</b>	<b>Std..Error</b>	<b>OR</b>	<b>Lower.95.</b>	<b>Upper.95.</b>	<b>P.value</b>
(Intercept)	-1.339	0.543	0.262	0.087	0.74	0.014
<b>afsi</b>	<b>1.261</b>	<b>0.346</b>	<b>3.528</b>	<b>1.821</b>	<b>7.106</b>	<b>&lt;0.001</b>
edad_catadultos	-0.008	0.402	0.992	0.451	2.194	0.984
audiometriasimetria	0.067	0.456	1.07	0.441	2.68	0.883
<b>inicioprelingual</b>	<b>0.918</b>	<b>0.417</b>	<b>2.505</b>	<b>1.124</b>	<b>5.809</b>	<b>0.028</b>
AIC	235.678					

**Tabla 6. Regresión logística.** Las filas señaladas en negrita son las variable “antecedentes familiares de hipoacusia” (afsi) y la variable “inicio prelingual” (inicioprelingual). Variable edad categorizada en niños y adultos (Edad\_catadultos). Variable audiometría simétrica/asimétrica (audiometriasimetria). OR: Odds Ratio; P.value: p valor.

En las tablas 7A, 7B y 7C, detallamos los datos clínicos y genéticos de los pacientes diagnosticados genéticamente.

<b>(A) Pacientes diagnosticados de Hipoacusia Autosómica Recesiva</b>									
<b>Fa mi lia</b>	<b>Pacie nte</b>	<b>Código</b>	<b>Sexo</b>	<b>Edad</b>	<b>Diagnóstico</b>	<b>Gen</b>	<b>Alelo 1</b>	<b>Alelo 2</b>	<b>Fenotipo</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>33311</b>	<b>M</b>	<b>1</b>	<b>HNS</b>	<i>GJB2</i> NM_004004.5	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	HN bilateral, simétrica, prelingual, severa, estable
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>35961</b>	<b>F</b>	<b>2</b>	<b>HNS</b>	<i>GJB2</i> NM_004004.5	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	HN bilateral, simétrica, prelingual, moderada, estable
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>39026</b>	<b>F</b>	<b>0</b>	<b>HNS</b>	<i>GJB2</i> NM_004004.5	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	HN bilateral, simétrica, prelingual, severa- profunda, estable



4	4	39611	F	5	HNS	<i>GJB2</i> NM_004004.5	c.596C>T/p.(Ser199Phe) (Green, 1999)	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	HN bilateral, simétrica, postlingual, severa, estable
5	5	40372	M	5	HNS	<i>GJB2</i> NM_004004.5	c.617A>G/p.(Asn206Ser) (Marlin et al., 2001)	c.269dup/p.(Val91Serfs*1 1) (Denoyelle et al., 1999)	HN bilateral, simétrica, postlingual, leve- moderada, estable
6	6	42105	M	0	HNS	<i>GJB2</i> NM_004004.5	c.101T>C/p.(Met34Thr) (D. P. Kelsell, J. Dunlop, H.P.Stevens, N.J. Lench, J.N. Liang, G. Parry, R.F. Mueller & I. M. Leigh, 1997)	c.427C>T/p.(Arg143Trp) (Kenneson et al., 2002)	HN bilateral, simétrica, prelingual, moderada, estable
7	7	28981	M	0	HNS	<i>GJB2</i> NM_004004.5	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	del((GJB6-D13S1830) (del Castillo et al., 2002)	HN bilateral, simétrica, prelingual, profunda, estable
						<i>GJB6</i> NM_001110219.2			
8	8	34307	M	0	HNS	<i>GJB2</i> NM_004004.5	c.269dup/p.(Val91Serfs*11) (Denoyelle et al., 1999)		HN bilateral, simétrica, prelingual, profunda, estable

						<i>GJB6</i> NM_001110219.2		del( <i>GJB6</i> -D13S1830) (del Castillo et al., 2002)	
<b>9</b>	<b>9</b>	37468	M	1	HNS	<i>GJB2</i> NM_004004.5	c.617A>G/p.(Asn206Ser) (Marlin et al., 2001)		HN, bilateral, simétrica, prelingual, profunda, estable
						<i>GJB6</i> NM_001110219.2		del( <i>GJB6</i> -D13S1830) (del Castillo et al., 2002)	
<b>10</b>	10	42714	F	7	HNS	<i>GJB2</i>	c.269dupT/p.(Val91Serf*11) (Denoyelle et al., 1999)	c.-23+1G>A (del Castillo et al., 2002)	HN OD moderada y H Mixta OI severa, postlingual, progresiva
<b>11</b>	11	42750	M	0	HNS	<i>GJB2</i>	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	HN bilateral, simétrica, prelingual, profunda, estable  TC: CSLD hipoplásico + casi estenóticos

<b>1 2</b>	12	46964	F	3	HNS	<i>GJB2</i>	c.427C>T/p. (Arg143Trp) (Kenneson et al., 2002)	c.596C>T/p.(Ser199Phe) (Green, 1999)	HN bilateral, postlingual, severa-profunda, progresiva + vértigo
<b>1 3</b>	13	47355	F	1	HNS	<i>GJB2</i>	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	c.358_360delGAG (Najmabadi et al., 2005)	HN bilateral prelingual moderada, estable
<b>1 4</b>	14	47997	F	0	HNS	<i>GJB2</i>	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	HN bilateral, prelingual, severa, estable
<b>1 5</b>	15	46035	M	0	HNS	<i>GJB2</i>	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	HN bilateral, prelingual, severo-profunda, estable
<b>1 6</b>	16	49543	M	0	HNS	<i>GJB2</i>	c.427C>T/p. (Arg143Trp) (Kenneson et al., 2002)	c.35delG/p.(Gly12Valfs*2) (Zelante, 1997)	HN bilateral, prelingual, severa, estable

17	17	37439	F	5	HS (DIS)	<i>STRC + CATSPER2</i> NM_153700.2	Delección de genes completos (15q15) (Zhang et al., 2007)	Delección de genes completos (15q15) (Zhang et al., 2007)	HN bilateral, simétrica, postlingual, moderada, estable
						<i>GJB2</i> NM_004004.5	c.101T>C/p.(Met34Thr) (D. P. Kelsell et al., 1997)		
18	18	33416	F	7	HS (DIS)	<i>STRC + CATSPER2</i> NM_153700.2	Delección de genes completos (15q15) (Zhang et al., 2007)	Delección de genes completos (15q15) (Zhang et al., 2007)	HN bilateral, simétrica, postlingual, moderada, estable
19	19	37112	M	4	HNS (DIS)	<i>STRC + CATSPER 2</i> NM_153700.2	Delección de genes completos (15q15) (Zhang et al., 2007)	Delección de genes completos (15q15) (Zhang et al., 2007)	HN bilateral, simétrica, postlingual, moderada, estable
20	20	31410	M	5	HNS	<i>OTOF</i> NM_194248.2	c.4275G>A/p.(Trp1425 *) (Rodríguez-Ballesteros et al., 2003)	c.2485C>T/p.(Gln829 *) (Migliosi, 2002)	HN bilateral, simétrica, prelingual, profunda, estable
21	21	40184	F	0	HNS	<i>OTOF</i> NM_194248.2	c.2485C>T/p.(Gln829 *) (Migliosi, 2002)	c.2485C>T/p.(Gln829 *) (Migliosi, 2002)	HN bilateral, simétrica, prelingual, profunda, estable

2 1	22	41793	F	0	HNS	<i>OTOF</i> NM_194248.2	c.2485C>T/p.(Gln829 *) (Migliosi, 2002)	c.2485C>T/p.(Gln829 *) (Migliosi, 2002)	HN bilateral, simétrica, prelingual, profunda, estable
2 2	23	42351	M	0	HNS	<i>OTOF</i>	C.2485C>T/p.(Gln829*) (Migliosi, 2002)	<b>c.4739T&gt;G/p.Leu1580Arg</b>	HN bilateral, prelingual, simétrica, profunda
2 3	24	34197	F	54	HNS	<i>LOXHD1</i> NM_144612.6	<b>c.3419dup/p.(Leu1140Phefs *5)</b>	<b>c.3419dup/p.(Leu1140Phefs *5)</b>	HN bilateral, simétrica, postlingual, moderada– severa, progresiva
2 4	25	34865	M	7	HNS	<i>LOXHD1</i> NM_144612.6	c.4480C>T/p.(Arg1494*) (Eppsteiner et al., 2012)	c.4480C>T/p.(Arg1494*) (Eppsteiner et al., 2012)	HN bilateral, simétrica, postlingual, moderada, progresiva
2 5	26	29440	M	33	HNS	<i>OTOA</i> NM_144672.3	<b>c.877C&gt;T/p.Q293*</b>	Delección de genes completos (16q12.2 region) (Shahin et al., 2010)	HN bilateral, postlingual, moderada, estable

26	27	37140	M	4	HNS	<i>OTOA</i> NM_144672.3	Delección de genes completos (16q12.2 region) (Shahin et al., 2010)	Delección de genes completos (16q12.2 region)(Shahin et al., 2010)	HN bilateral, simétrica, postlingual, moderada, estable
27	28	29865	F	46	HNS	<i>TMPRSS3</i> NM_024022.2	c.1276G>A/p.(Ala426Thr) (Wattenhofer et al., 2002)	c.1159G>A/p.(Ala387Thr) (Miyagawa et al., 2013)	HN bilateral, simétrica, postlingual, leve–moderada, progresiva
28	29	38198	F	40	HNS	<i>TMPRSS3</i>	c.1276G>A/p.(Ala426Thr) (Wattenhofer et al., 2002)	<b>c.235T&gt;C/p.(Cys79Arg)</b>	HN bilateral, simétrica, postlingual, profunda, progresiva
28	30	48387	M	25	HNS	<i>TMPRSS3</i> NM_024022.2	c.413C>A/p.(Ala138Glu) (Hutchin et al., 2005)	c.413C>A/p.(Ala138Glu) (Hutchin et al., 2005)	HN bilateral, simétrica, postlingual, severa, frecuencias altas, progresiva
29	31	50305	M	0	HNS	<i>TMPRSS3</i>	c.1276G>A/p.(Ala426Thr) (Wattenhofer et al., 2002)	<b>c.1057G&gt;A/p.(Ala353Thr)</b>	HN bilateral simétrica prelingual, profunda
30	32	42108	F	1	HNS	<i>MYO15A</i> NM_016239.3	c.8968-1G>T (Kalay et al., 2007)	c.8968-1G>T (Kalay et al., 2007)	HN, bilateral, simétrica, prelingual, severa–profunda, estable

<b>3 1</b>	33	46511	M	0	HNS	<i>MYO15A</i>	c.2311delT/p.Ser77Hisfs*10 (Nal et al., 2007)	c.2311delT/p.Ser77Hisfs*10 (Nal et al., 2007)	HN bilateral, simétrica, prelingual, moderada, estable
<b>3 2</b>	34	37513	M	4	HNS/EVA	<i>SLC26A4</i> NM_000441.1	c.1540C>A/p.(Gln514Lys) (Pera et al., 2008)	c.1540C>A/p.(Gln514Lys) (Pera et al., 2008)	HN, bilateral, asimétrica, postlingual, OD: profunda OI: moderada, estable TC: EVA
3 3	35	26580	F	1	HNS	<i>SLC26A4</i>	c.1001+1G>A (Pera et al., 2008)	c.2219G>T/p.Gly740Val (Pera et al., 2008)	HN, prelingual, simétrica, profunda, malformación coclear tipo Mondini (Partición incompleta Tipo II bilateral), agenesia/hipogenesia extrema nervio coclear derecho.
<b>3 4</b>	36	36777	F	1	HNS	<i>OTOG</i> NM_001277269.1	<b>c.2140dup/ p.(Ser714Lysfs *22)</b>	<b>c.2140dup/ p.(Ser714Lysfs *22)</b>	HN bilateral, simétrica, prelingual, moderada, estable

<b>35</b>	37	44479	M	2	HNS	<i>OTOG</i>	<b>c.6489G&gt;A/p.(Trp2163*)</b>	c.7454delG/p.(Arg2485Hisfs*77) (Schraders et al., 2012)	HN bilateral, simétrica, prelingual, moderada, estable
<b>35</b>	38	44480	M	2	HNS	<i>OTOG</i>	<b>c.6489G&gt;A/p.(Trp2163*)</b>	c.7454delG/p.(Arg2485Hisfs*77) (Schraders et al., 2012)	HN bilateral, simétrica, prelingual, moderada, estable
<b>36</b>	39	39949	F	18	HNS	<i>TECTA</i> NM_005422.2	c.4055G>A/p.(Cys1352Tyr) (Hutchin et al., 2005)	c.4055G>A/p.(Cys1352Ty) (Hutchin et al., 2005)	HN bilateral, prelingual, moderada
						<i>MYO7A</i> NM_000260.3	c.5648G>A/p.(Arg1883Gln) (Ouyang et al., 2005)		
<b>37</b>	40	40453	F	40	HNS	<i>MYO7A</i> NM_000260.3	<b>c.1232T&gt;C/p.(Val411Ala)</b>	c.6025del/p.(Ala2009Profs *32) (Kothiyal et al., 2010)	HN bilateral, simétrica, postlingual, leve- moderado, estable
<b>38</b>	41	27862	M	30	USH	<i>ADGRV1</i> NM_032119.3	c.12528-1G>T(García- García et al., 2013)	c.17933A>G/p.(His5978Arg) (Besnard et al., 2012)	HN bilateral congenita, moderada, retinitis pigmentaria



39	42	45023	M	30	USH	<i>ADGRV1</i>	c.7129C>T; p.Arg2377 (Besnard et al., 2014)	c.8875C>T;p.Arg2959 (Sommen et al., 2016).	HN bilateral postlingual, severa, retinitis pigmentaria
40	43	30816	F	1	USH	<i>CDH23</i> NM_022124.5	<b>c.310G&gt;T/p.(Glu104*)</b>	c.2289+1G>A (Astuto et al., 2002)	HN bilateral, simétrica, prelingual, profunda, estable, bilateral, arreflexia vestibular bilateral retinitis pigmentaria
41	44	27734	F	49	USH	<i>USH2A</i> NM_206933.2	c.9799T>C/p.(Cys3267Arg) (Aller et al., 2006)	c.9676C>T/p.(Arg3226*) (Neuhaus et al., 2017)	HN bilateral, simétrica, postlingual, moderada, estable, retinitis pigmentaria
42	45	11153	F	0	USH	<i>USH2A</i>	c.9799T>C p.(Cys3267Arg) (Aller et al., 2006)	<b>c.229C&gt;T;p.Gln77*</b>	HN bilateral, simétrica, prelingual, moderada, estable, retinitis pigmentaria

<b>43</b>	46	48654	M	30	USH	<i>USH2A</i>	<b>c.5549dupA; p.Tyr1850fs</b>	c.2299delG; p.Glu767Serfs (Fowler et al., 2016)	HN bilateral, simétrica, postlingual, moderada, estable
<b>44</b>	47	42405	M	0	USH	<i>PCDH15</i>	<b>c.3732+2dupT</b>	<b>c.2766+2T&gt;C</b>	HN, bilateral, prelingual, simétrica, profunda, estable

**(B) Pacientes diagnosticados de Hipoacusia Autosómica Dominante**

Familia	Paciente	Código	Sexo	Edad	Diagnóstico	Gen	Alelo 1	Alelo 2	Fenotipo
<b>45</b>	48	32954	M	46	HNS	<i>MYO6</i> NM_004999.3	c.2545C>T/p.(Arg849 *) (Sanggaard et al., 2008)		HN, bilateral, simétrica, postlingual, moderada, estable
<b>45</b>	49	32955	F	15	HNS	<i>MYO6</i> NM_004999.3	c.2545C>T/p.(Arg849 *) (Sanggaard et al., 2008)		HN, bilateral, simétrica, moderada, estable
<b>46</b>	50	35197	F	37	HNS	<i>MYO6</i> NM_004999.3	<b>c.1666C&gt;T/p.(Arg556*)</b>		HNS, bilateral, simétrica, postlingual, moderada, estable

<b>47</b>	51	40488	F	30	HNS	MYO6 NM_004999.3	c.1224-9del		HN, bilateral, asimetrica, postlingual, severa- profunda, progresiva
<b>48</b>	52	31110	M	42	HNS	MYO6 NM_004999.3	c.1674+1G>A		HN, bilateral, simetrica, postlingual, moderada, estable
<b>48</b>	53	36163	M	32	HNS	MYO6 NM_004999.3	c.1674+1G>A		HN, bilateral, simetrica, postlingual, moderada, estable
						ESPN NM_031475.2	c.2467C>T/p.(Gln823 *)		
<b>49</b>	54	29272	M	46	HNS	MYO6 NM_004999.3	c.2751dupA/ p.(Gln918Thrfs*24) (Kwon et al., 2014)		HN, postlingual
						ESPN NM_031475.2	c.2230G>A/p.(Asp744Asn) (Donaudy, 2005)		

<b>49</b>	55	41950	F	61	HNS	<i>MYO6</i> NM_004999.3	c.2751dupA/p.(Gln918Thrfs*24) ( Sanggaard et al., 2008)		HN, postlingual
						<i>ESPN</i> NM_031475.2	c.2230G>A/p.(Asp744Asn) (Donaudy, 2005)		
<b>50</b>	56	41268	M	18	HNS	<i>MYO6</i> NM_004999.3	<b>c.494T&gt;G/p.(Leu165Arg)</b>		HN, bilateral, simetrica, postlingual, profunda, progresiva, tinnitus
						<i>MYO7A</i> NM_000260.3	c.1997G>A/p.(Arg666Gln) (Bonnet et al., 2016)	c.3527G>A/p.(Ser1176As) (Sloan-Heggen et al., 2016)	
<b>51</b>	57	46564	M	7	HNS	<i>MYO6</i>	<b>c.2912_2913delGA/ p.(Arg97Lysfs*6)</b>		HN bilateral postlingual moderada progresiva
<b>52</b>	58	33945	M	3	HNS	<i>TECTA</i> NM_005422.2	c.5668C>T/p.(Arg1890Cys) (Plantinga et al., 2006)		HN, bilateral, asimetrica prelingual, moderada, estable

53	59	35453	M	2	HNS	<i>TECTA</i> NM_005422.2	c.5383+5_5383+8del (Hildebrand et al., 2011)		HN, bilateral, simétrica, prelingual, moderada, estable
54	60	38971	F	0	HNS	<i>TECTA</i> NM_005422.2	c.5509T>G/p.(Cys1837Gly) (Moreno-Pelayo et al., n.d.)		HN, bilateral, simétrica, <b>prelingual</b> , moderada, <b>estable</b>
54	61	39927	F	0	HNS	<i>TECTA</i> NM_005422.2	c.5509T>G/p.(Cys1837Gly) (Moreno-Pelayo et al., n.d.)		HN, bilateral, asimétrica, <b>prelingual</b> , moderada– severa, progresiva
55	62	47579	M	18	HNS	<i>TECTA</i>	c.5509T>G/p.Cys1837Gly) (Moreno-Pelayo et al., n.d.)		HN, bilateral asimétrica, postlingual, leve- moderada, progresiva
55	63	47580	F	40	HNS	<i>TECTA</i>	c.5509T>G/p.Cys1837Gly) (Moreno-Pelayo et al., n.d.)		HN, bilateral simétrica, postlingual, moderada, progresiva
56	64	4293	M	6	HNS	<i>COL11A2</i> NM_080680.2	<b>c.1748G&gt;A/p.(Gly583Asp)</b>		HN, bilateral, simétrica, postlingual, estable HN, bilateral, asimétrica, postlingual, OD: leve–

56	65	31449	M	35	HNS	COL11A2 NM_080680.2	c.1748G>A/p.(Gly583Asp)		moderada; OI: moderada-severa, estable
57	66	35238	M	6	HNS /Stickler	COL11A2 NM_080680.2	c.4392+1G>A (Brunner et al., 1994)		HN, bilateral, simetrica, postlingual, moderada, estable, perfil facial plano, raíz nasal hundida, nariz corta con fosas nasales antevertidas, problemas osteoarticulares
57	67	42783	F	37	HNS /Stickler	COL11A2 NM_080680.2	c.4392+1G>A (Brunner et al., 1994)		HN bilateral leve, perfil facial plano, problemas osteoarticulares, alteraciones maxilofaciales
58	68	40431	M	5	HNS	WFS1 NM_006005.3	c.1463_1474dup/ p.(Val491_Pro492insLeulleThrVal)		HN, bilateral, asimetrica, postlingual, OD: profunda OI: severa, progresiva,

<b>59</b>	69	42125	F	5	HNS	<i>WFS1</i> NM_006005.3	c.2108G>A/p.(Arg703His) (Sun et al., 2011)		HN bilateral, simétrica, postlingual, severa– profunda, progresiva, frecuencias graves
<b>60</b>	70	44676	M	2	HNS	<i>WFS1</i>	c.2389G>A/p.Asp797Asn (Rendtorff et al., 2011)		HN bilateral, simétrica, postlingual, severa, progresiva, todas las frecuencias
<b>61</b>	71	36655	M	7	HNS	<i>KCNQ4</i> NM_004700.3	c.857A>G/p.(Tyr286Cys) (Lucía Borreguero Escribano, 2016)		HN bilateral, simétrica, postlingual, moderada, progresiva
<b>61</b>	72	44138	M	46	HNS	<i>KCNQ4</i> NM_004700.3	c.857A>G/p.(Tyr286Cys) (Lucía Borreguero Escribano, 2016)		HN bilateral, simétrica, postlingual, moderada, estable
<b>62</b>	73	39490	F	45	HNS	<i>ACTG1</i> NM_00119995 4.1	c.895C>G/p.(Leu299Val) (Miyagawa et al., 2013)		HN bilateral, asimétrica, postlingual, OD: moderada OI: severa, progresiva, frecuencias medias y altas

63	74	40519	M	40	HNS	<i>EYA4</i> NM_004100.4	c.988C>T/p.(Gln330 *) (Shinagawa et al., 2020)		HN bilateral, asimétrica, postlingual, OD: profunda OI severa, progresiva, tinnitus, disminución tamaño ambos nervios cocleares
64	75	44545	F	20	HNS	<i>EYA4</i>	<b>c.1707delC/p.Ile570Leufs*10</b>		HN bilateral, simétrica, postlingual, moderada, progresiva
65	76	12227	M	34	WS	<i>MITF</i> NM_198159.2	c.943C>T/p.(Arg315 *) (Nobukuni and Tachibana, 1996)		HN prelingual, mechón capilar blanco, heterocromía iris
						<i>GJB6</i> NM_00111021 9.2	Del (GJB6-D13S1830) (del Castillo et al., 2002)		
66	77	50291	M	0	WS	<i>PAX3</i>	<b>c.167G&gt;T/p.Arg56Leu</b>		HN unilateral derecha profunda Asimetría renal
						<i>GJB2</i>	c.1A>G/p.Met1 (Kenna et al., 2010)		



<b>67</b>	78	37350	M	2	BOR	<i>EYA1</i> NM_000503.5	c.1540_1542del/p.(Leu514del (Wu et al., 2019)		H Mixta, bilateral, prelingual, moderado- severo, estable, Fistula 2º arco branquial, Dismorfia facial TC: partición incompleta tipo II bilateral Recorrido anómalo de nervio facial izq
<b>68</b>	79	47560	M	1	BOR	<i>EYA1</i>	c.743_744dupCG/ p.Thr249Argfs*118		Pendiente de PEATC Otoemisiones no pasa Fositas y apéndices auriculares

(C) Pacientes diagnosticados de Hipoacusia Ligada al cromosoma X									
Familia	Paciente	Código	Sexo	Edad	Diagnóstico	Gen	Alelo 1	Alelo 2	Fenotipo
69	80	34796	M	1	HNS	POU3F4 (XLR) NM_00 0307.4	c.977T>C/p. (Phe326Ser)		H Mixta, bilateral simétrica, prelingual, moderada, progresiva,  Malformación de Mondini (partición incompleta tipo III)
70	81	28239	M	7	HNS	POU3F4 (XLR)	Xq21.1		H mixta bilateral, simétrica, postlingual, severa, progresiva  Malformación de Mondini (partición incompleta tipo III)
71	82	14285	M	4	HNS	SMPX (XLD)	c.20del/p. (Pro7Glnfs *74)		HN, bilateral, simétrica, postlingual, moderada, progresiva
71	83	41863	F	30	HNS	SMPX (XLD)	c.20del/p. (Pro7Glnfs *74)		HN, bilateral, simétrica, postlingual, moderada, progresiva, frecuencias agudas

**Tabla 7(A, B Y C). Variantes detectadas causantes de hipoacusia y datos clínicos de los pacientes diagnosticados.**

*En la tabla indicamos la familia, el código del paciente, el sexo, la edad (indicada en años), el tipo de hipoacusia, el gen mutado, las variantes y el fenotipo. Las variantes descritas en la tabla son patogénicas o probablemente patógenas. Las mutaciones nuevas identificadas están marcadas en negrita. M: masculino, F: femenino, HNS: Hipoacusia no sindrómica, HN: Hipoacusia neurosensorial, H: Hipoacusia, OD: oído derecho, OI: oído izquierdo, CSLD: canal semicircular lateral derecho, TC: TAC Peñascos, EVA: acueducto vestibular dilatado, USH: síndrome de Usher, WS: síndrome de Waardenburg, BOR: síndrome braquio-oto-renal, XLR: recesivo ligado al X, XLD: dominante ligada al X.*

Hemos detectado 79 mutaciones diferentes, de las cuales **28 no han sido descritas previamente**. Estas nuevas variantes las hemos marcado en negrita en la tabla.

## 4.1 Pacientes con hipoacusia Autosómico recesiva:

Se han detectado mutaciones que siguen un patrón de herencia autosómica recesiva en el locus DFNB1 y los genes *TMPRSS3*, *OTOF*, *USH2A*, *OTOG*, *STRC*, *MYO15A*, *ADGRV1*, *MYO7A*, *LOXHD1*, *SLC26A4*, *OTOA*, *CDH23*, *PCDH15*, *TECTA*.

Mutaciones en el locus DFNB1 se han detectado con mayor frecuencia en 16 pacientes, todos de diferentes familias. A continuación, mutaciones en el gen *TMPRSS3*, en el gen *OTOF* y en el gen *USH2A* han sido detectadas en 4 pacientes cada uno, siendo dos pacientes del gen *TMPRSS3*, de la misma familia.

Mutaciones en *OTOG* (2 pacientes pertenecen a la misma familia) y *STRC* en 3 pacientes respectivamente; en *MYO15A*, *ADGRV1*, *MYO7A*, *LOXHD1*, *SLC26A4*, *OTOA* y *CATSPER2* en 2 pacientes y en *CDH23*, *PCDH15* y *TECTA*, en un paciente.

Si hablamos concretamente de los pacientes con hipoacusia causada por el locus DFNB1, el 100% (16/16) son niños, con inicio prelingual en el 75% (12/16) de ellos, el 87.5% (14/16) presentan una hipoacusia bilateral simétrica estable, siendo de grado severo-profundo en el 75% (12/16) de los pacientes.

En nuestro estudio, la mutación del gen *GJB2* detectada con mayor frecuencia fue c.35delG, concretamente en 10 pacientes de los 16 ligados al gen *GJB2*, siendo detectada en 6 pacientes en homocigosis. El 100% (10/10) de nuestros pacientes con esta mutación presentaban una hipoacusia bilateral simétrica estable, siendo de grado severo-profundo en el 80% (8/10) de los pacientes.

## 4.2 Pacientes con hipoacusia autosómica dominante:

Se han detectado mutaciones que siguen un patrón de herencia autosómica dominante en los genes: *MYO6*, *TECTA*, *COL11A2*, *WFS1*, *ESPN*, *EYA4*, *EYA1*, *KCNQ4*, *COCH*, *ACTG1*, *PAX3* y *MITF*.

Mutaciones en el gen *MYO6* han sido detectadas con mayor frecuencia en 10 pacientes (6 de ellos pertenecientes a 3 familias diferentes), seguido del gen *TECTA* en 6 pacientes (4 pacientes de 2 familias diferentes).

A continuación, mutaciones en el gen *COL11A2* en 4 pacientes de 2 familias diferentes, en *WFS1* y *ESPN* en 3 pacientes, en *EYA4*, *EYA1* y *KCNQ4* en 2 pacientes de la misma familia y en *ACTG1*, *PAX3* y *MITF* en 1 paciente, respectivamente.

En particular, todos los pacientes con hipoacusia hereditaria ligada al gen *MYO6* tienen antecedentes familiares e hipoacusia bilateral simétrica de inicio postlingual. El 80% (8/10) son adultos y en el 75% de los pacientes la hipoacusia es de grado leve-moderado (6/8). Las mutaciones que más hemos detectado en este gen han sido c.2545C>T, c.1674+1G>A y c.2751dup, en dos pacientes en cada una de ellas, presentando el mismo fenotipo respectivamente.

En concreto, el 66.6% (4/6) de los pacientes con hipoacusia originada por el gen *TECTA* son niños y el 83.33% (5/6) presentan antecedentes familiares de hipoacusia. En cuanto a la audiometría, el 100% (6/6) de los pacientes presentan una hipoacusia bilateral simétrica de grado leve-moderado. En este gen, la mutación más frecuente identificada ha sido c.5509T>G en cuatro pacientes, manifestándose en todos ellos una hipoacusia bilateral de grado moderado.

### 4.3 Pacientes con hipoacusia ligada al cromosoma

#### X:

Se han detectado mutaciones en los genes *SMPX* (herencia ligada al cromosoma X dominante) en dos pacientes de la misma familia y en el gen *POU3F4* (herencia ligada al cromosoma X recesivo) en 2 pacientes de familias diferentes.

Como hemos dicho, los dos pacientes con mutaciones en el gen *SMPX* pertenecen a la misma familia y ambos presentan la mutación c.20del expresándose clínicamente igual con una hipoacusia neurosensorial, bilateral, simétrica, postlingual, moderada y estable.

Los dos pacientes con mutaciones en el gen *POU3F4* presentan hipoacusia mixta simétrica y progresiva, asociando la partición incompleta tipo III o malformación de Mondini.

#### **4.4 Pacientes con hipoacusia sindrómica:**

En 17 pacientes se detectaron mutaciones responsables de hipoacusia sindrómica.

La mayoría de los pacientes incluidos en este estudio sufrían una hipoacusia no sindrómica, pero 17 casos fueron descritos como sindrómicos: ocho con síndrome de Usher (USH), dos pacientes con síndrome de Waardenburg (WS), dos pacientes con síndrome braquiootorrenal (BOR), dos pacientes con síndrome de Stickler y tres pacientes con síndrome de Sordera-Infertilidad (DIS).

Los ocho pacientes diagnosticados de Síndrome de Usher presentaban mutaciones en cuatro genes diferentes. Cuatro pacientes en el gen *USH2A*, dos pacientes en el gen *ADGRV1*, un paciente en el gen *CDH23* y otro paciente en el gen *PCDH15*.

Con respecto al resto de hipoacusias sindrómicas, los dos pacientes con Síndrome de Waardenburg presentan mutaciones en el gen *MITF* y el segundo paciente, mutación en el gen *PAX-3*. En el caso del Síndrome de Stickler, en ambos pacientes se detectó una mutación en el gen *COL11A2*, en los pacientes con *BOR*, la mutación *EYA1* y en los pacientes con *DIS*, la delección en homocigosis de los genes *STRC* y *CATSPER2* en el cromosoma 15q15.



## 5 DISCUSIÓN

El diagnóstico genético de la hipoacusia hereditaria es complicado debido a las características tan heterogéneas que presenta, impidiendo establecer con facilidad relaciones entre el genotipo y el fenotipo. Estas características son:

- Heterogeneidad genética: la hipoacusia hereditaria presenta tanto heterogeneidad alélica, es decir, la mutación de un mismo gen puede dar lugar a manifestaciones clínicas diferentes como ocurre con el gen *GJB2*; como heterogeneidad no alélica, es decir, mutaciones en diferentes genes pueden ocasionar la misma clínica. Hasta la fecha, se han descrito más de 124 genes causantes de sordera hereditaria.
- Expresividad variable: la severidad de la hipoacusia y de otras manifestaciones clínicas difiere entre individuos portadores de una misma mutación.
- Penetrancia incompleta: solo un porcentaje de los individuos portadores del gen alterado manifiesta la enfermedad.

Estas particularidades reflejan la alta complejidad de la estructura y organización del oído interno. Además, en las hipoacusias hereditarias se han descrito todos los patrones de herencia posibles: dominante, recesiva,

ligado al X y mitocondrial. Incluso, para algunos genes (*MYO6*, *TECTA* o *ESPN*) se han descrito mutaciones que siguen un patrón de herencia autosómico dominante y otras mutaciones que, en el mismo gen, siguen un patrón de herencia recesivo. En nuestro estudio hemos diagnosticado un paciente (Nº39) con una mutación (c.4055G>A/p.(Cys1352Tyr) en homocigosis, en el gen *TECTA*, descrita como herencia autosómica recesiva. Por el contrario, el resto de pacientes diagnosticados con mutaciones en este gen, presentan una hipoacusia autosómica dominante.

Las nuevas tecnologías de secuenciación del ADN (NGS, *next generation sequencing*), que permiten analizar simultáneamente cientos de genes, en plazos y costes compatibles con la práctica asistencial, se han convertido en el nuevo estándar para obtener un diagnóstico etiológico de la hipoacusia hereditaria. La tasa de diagnóstico genético mediante paneles NGS en pacientes con hipoacusia se encuentra alrededor del 45-60% (Sloan-Heggen et al., 2016)(Butz et al., 2020)(Cabanillas Farpón and Cadiñanos Bañales, 2012)(Cabanillas et al., 2018)(Shearer and Smith, 2012)(Shearer and Smith, 2015), aunque varía en función de muchos factores: el tipo de hipoacusia de los pacientes, la edad de inicio, la existencia de antecedentes familiares, el origen étnico, el número de genes que contiene el panel NGS... En nuestro estudio, la tasa diagnóstica ha sido del 45,40%.

Debido a su alto rendimiento diagnóstico, las nuevas guías de la ACMG (American College of Medical Genetics), incluyen el panel NGS dentro del algoritmo diagnóstico de la hipoacusia neurosensorial no sindrómica (Alford et al., 2014) (Núñez-Batalla et al., 2021).

En nuestro caso, hemos realizado el test genético a 185 pacientes, obteniendo una causa genética de la hipoacusia en 84 pacientes. Por tanto, la tasa de eficacia diagnóstica ha sido del 45,40%. Este es un rendimiento satisfactorio, ya que nuestro panel NGS personalizado incluía un número limitado de genes (59) y los criterios de exclusión para las pruebas genéticas eran muy laxos. Así, la muestra de pacientes analizada era muy heterogénea, incluyendo todos los tipos de hipoacusia neurosensorial/mixta (congénita, prelocutiva y poslocutiva; leve, moderada, severa y profunda; y estable y progresiva) con edades comprendidas entre 0 y 50 años. Como hemos comentado en el párrafo anterior, los estudios publicados en los últimos años han descrito tasas diagnósticas similares.

Recordar que hasta el año 2016, el análisis genético de pacientes con hipoacusia en nuestro hospital, se basaba en la amplificación mediante PCR y secuenciación convencional de Sanger de únicamente los genes más frecuentes en la población española (*GJB2*, deleciones D13S1830 y delD13S1854 en el gen *GJB6* y las variantes *OTOF* p.Q829X).

La implementación de nuestro panel NGS personalizado que contiene 59 genes mejoró el manejo de nuestros pacientes, ya que nos permitió detectar variantes patogénicas en 27 genes diferentes. Además, hemos podido diagnosticar casos sindrómicos como son el Síndrome de Usher, Síndrome Infertilidad-Sordera (DIS), Síndrome de Stickler, Síndrome braquio-oto-renal (BOR) y Síndrome de Waardenburg.

Por lo tanto, el diagnóstico genético de la hipoacusia nos sirve para conocer la etiología de la misma, el pronóstico de los pacientes (sobre todo en casos sindrómicos), realizar un adecuado asesoramiento genético reproductivo y tener la posibilidad de incluir pacientes en ensayos clínicos basados en la terapia génica.

Generalmente, las tasas de eficacia diagnóstica más altas se han obtenido para pacientes con antecedentes familiares positivos o cuando la hipoacusia era congénita y simétrica. Concretamente, en pacientes con sospecha de hipoacusia congénita se describen tasas diagnósticas del 60%. Este porcentaje disminuye cuando la sordera es autosómica dominante y la edad de inicio de la clínica es más tardía (Sloan-Heggen et al., 2016).

En nuestro estudio demostramos que existen correlaciones que mejoran la utilidad diagnóstica de las pruebas genéticas, como es el caso de tener antecedentes familiares de hipoacusia, que mejoró el diagnóstico de un 38% para la ausencia de antecedentes familiares de hipoacusia, en comparación

con el 65% para los pacientes con antecedentes familiares de hipoacusia. También hemos obtenido esta asociación positiva para aquellos pacientes con hipoacusia prelingual.

En muchas poblaciones del mundo, las variantes en *GJB2* son la causa predominante de hipoacusia neurosensorial congénita severo-profunda. El locus mutado de forma más prevalente en nuestro estudio ha sido DFNB1, detectado en un total de 23 pacientes (21%) y en el 32% del subgrupo de pacientes con hipoacusia congénita severo-profunda. Al igual que en este trabajo, en la mayoría de poblaciones el gen más prevalente en hipoacusias AR es *GJB2*, aunque su porcentaje varía según la población estudiada (Sloan-Heggen et al., 2016)(Cabanillas et al., 2018)(Marlin et al., 2001)(Najmabadi et al., 2005).

En segundo lugar, el gen más mutado ha sido *MYO6* (10 pacientes-9%), ya señalado previamente como uno de los mayoritarios en hipoacusias AD en población española (Cabanillas et al., 2018)(Sanggaard et al., 2008).

También de herencia AD, le sigue el gen *TECTA* detectado en 6 pacientes (7%), aunque adicionalmente, un paciente presentó una variante patogénica en este caso AR homocigota en este gen.

Otra característica que complica los estudios genéticos de hipoacusia es la existencia de algunos pseudogenes con alta homología con algunos genes prevalentes (*STRC*, *OTOA* o *ESPN*). En el diseño del panel, intentamos incluir

algunas sondas adicionales para las regiones de estos genes que muestran una alta homología con sus pseudogenes, además de las sondas predeterminadas generadas por SureDesign. Sin embargo, todavía se obtuvo una cobertura baja, y aquellas variantes puntuales sospechosas de ser patógenas tuvieron que ser confirmadas por secuenciación Sanger utilizando cebadores diseñados específicamente para hibridar solo con el gen, no con el pseudogen (Mandelker et al., 2014)(Zwaenepoel et al., 2002).

## 5.1 Hipoacusias no sindrómicas

### 5.1.1 *Herencia Autosómico-recesiva*

#### 5.1.1.1 *Pacientes con mutaciones en el gen GJB2 y GJB6 (Locus DFNB1)*

La mutación c.35delG en el gen *GJB2*, es la causa más frecuente de sordera, en pacientes esporádicos y familias, con una herencia autosómico-recesiva de España (Zelante, 1997). En nuestro estudio, fue detectada en 10 pacientes de los 16 ligados al gen *GJB2*, estando en 6 pacientes en homocigosis.

En cuanto al fenotipo de estos pacientes, se ha descrito que la hipoacusia no es progresiva en la mayoría de los casos y que la gravedad de la misma es extremadamente variable y no se puede predecir incluso dentro de la misma familia. También se ha descrito que radiológicamente, no suele

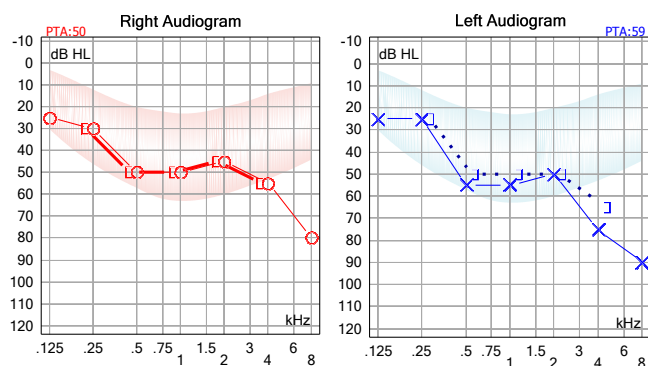
observarse ningún hallazgo patológico (Denoyelle et al., 1999). En efecto, el 100% (10/10) de nuestros pacientes con esta mutación presentaban una hipoacusia bilateral simétrica estable, siendo de grado severo-profundo en el 80% (8/10) de los pacientes. En cuanto a la radiología, sólo en uno de nuestros pacientes se detectó una malformación anatómica, concretamente un canal semicircular lateral derecho hipoplásico y CAIs estenóticos.

La delección D13S1830 en *GJB6* es la segunda mutación más frecuente causante de sordera prelingual en la población española (del Castillo et al., 2002). En nuestro trabajo, 3 pacientes presentaban esta mutación, todos ellos con una sordera prelingual.

#### *5.1.1.2 Pacientes con mutaciones en el gen TMPRSS3:*

El gen *TMPRSS3* se ha observado en poblaciones con numerosas familias consanguíneas. Se estima que, en la población infantil caucásica con hipoacusia, la frecuencia de mutaciones en este gen es menor al 1% (Wattenhofer et al., 2002). *TMPRSS3* pertenece a la familia de la Proteasa Serina transmembrana tipo II y está involucrado en el desarrollo y supervivencia de las neuronas cocleares (Miyagawa et al., 2013). Fenotípicamente, los pacientes presentan audiometrías tipo “ski-slope” (pista de esquí) e hipoacusia progresiva (figura 18) (Weegerink et al., 2011).

Concretamente, los pacientes afectados con la variante c.1276G>A de este gen, manifiestan una hipoacusia bilateral progresiva, con edades de inicio y tasas de progresión variables (Weegerink et al., 2011). En nuestro estudio, tres de cuatro pacientes con mutaciones en este gen presentan esta variante patógena en heterocigosis, siendo dos de la misma familia. Estos dos pacientes presentan una hipoacusia bilateral, postlingual severo-profunda y progresiva. El tercer paciente, en cambio, presenta una hipoacusia prelingual y, por tanto, no ha sido posible valorar la progresión.

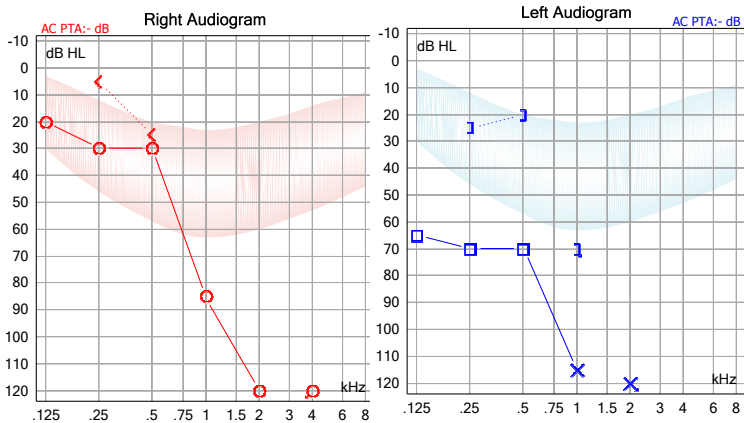


**Figura 18. Audiometría tonal paciente N°28.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral simétrica grado moderado tipo “ski-slope”, fenotipo característico en las hipoacusias genéticas causadas por mutaciones en el gen *TMPRSS3*.

Hutchin et al. en 2005, describieron dos pacientes con la mutación c.413C>A en homocigosis, los cuales, presentaban una pérdida auditiva progresiva, de grado moderado a profundo y tipo “ski-slope” diagnosticada a los 5 años de



edad. Nuestro paciente 29 también está afectado por esta mutación presentando el mismo fenotipo que descrito previamente (Hutchin et al., 2005). Figura 19.



**Figura 19. Audiometría tonal paciente N°29.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado severo-profundo tipo “ski-slope”, fenotipo característico en las hipoacusias genéticas causadas por mutaciones en el gen *TMPRSS3* y concretamente en la mutación c.413C>A.

### 5.1.1.3 Pacientes con mutaciones en el gen *OTOF*:

La variante patogénica c.2485C>T/p. (Gln829\*) en el gen *OTOF* es la tercera causa más frecuente de hipoacusia prelingual en la población española (Migliosi, 2002). Clínicamente, es característico encontrar una sordera profunda sin detectar malformaciones en el oído interno en las pruebas de imagen (Migliosi, 2002)(Barteik et al., 2009). Además, los pacientes afectos

de sordera del tipo DFNB9 presentan neuropatía auditiva, siendo esto un signo clínico distintivo en estos sujetos (Roux et al., 2006).

En las neuropatías auditivas, la preservación de las otoemisiones acústicas, indica una función normal de las células ciliadas externas del órgano de Corti. La lesión primaria podría estar localizada en las células ciliadas internas, en el nervio auditivo, o en las sinapsis nerviosas. En los adultos, la expresión de la otoferlina en el oído interno está restringida a las células ciliadas internas. De acuerdo con esto, y los buenos resultados obtenidos en los implantes cocleares a sujetos portadores de dos alelos mutantes para *OTOF*, se ha sugerido que la lesión primaria en este tipo de neuropatía no sindrómica podría ser coclear, específicamente localizada en las células ciliadas internas (Roux et al., 2006).

En nuestro caso, la variante patogénica c.2485C>T/p. (Gln829\*) fue detectada en 4 pacientes, dos pacientes, de la misma familia, homocigotos para la mutación c.2485C>T/p. (Gln829\*) y los otros dos pacientes heterocigotos compuestos, siendo la segunda mutación de estos pacientes no descrita previamente (c.4739T>G/p.Leu1580Arg). En cuanto al fenotipo, los 4 pacientes presentan el descrito previamente, una hipoacusia prelingual profunda bilateral, además, con signos de neuropatía auditiva: otoemisiones acústicas preservadas y disminución o ausencia de respuestas auditivas de tronco cerebral (figuras 20 y 21).

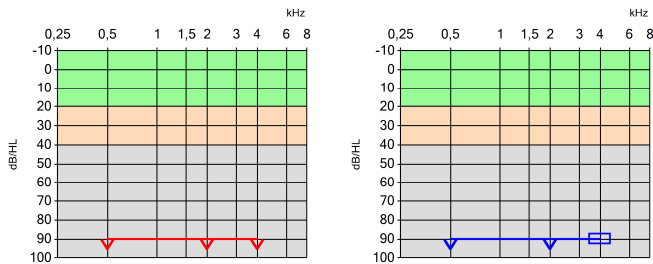
Screening facility:

Location:

Referring physician / pediatrician: unknown

Type	Ear	Date	Result	Duration	Instrument	Probe	Examiner
TEOAE	Left	21/09/2018 13:14:05	CR	01:54	344060	1003955	Admin
TEOAE	Right	21/09/2018 13:15:20	CR	00:27	344060	1003955	Admin
DPOAE	Left	21/09/2018 13:14:40	CR	00:31	344060	1003955	Admin
DPOAE	Right	21/09/2018 13:15:58	CR	00:35	344060	1003955	Admin

**Figura 20. Otoemisiones acústicas paciente N°21.** Observamos el resultado correcto de los dos tipos de otoemisiones realizadas en este paciente en ambos oídos. TEOAE: otoemisiones acústicas transitorias evocadas; DPOAE: otoemisiones acústicas por productos distorsionados; CR: resultado correcto.



**Figura 21. Potenciales evocados de estado estable en paciente N°21.** Observamos una hipoacusia bilateral profunda a 90dB, típica en los pacientes con mutaciones en el gen OTOF.

#### *5.1.1.4 Pacientes con mutaciones en el gen SLC26A4:*

En cuanto al gen *SLC26A4*, la variante más frecuente en población española es c.1540C>A/p. (Gln514Lys), descrita en más de 36 familias españolas hasta la fecha (Pera et al., 2008).

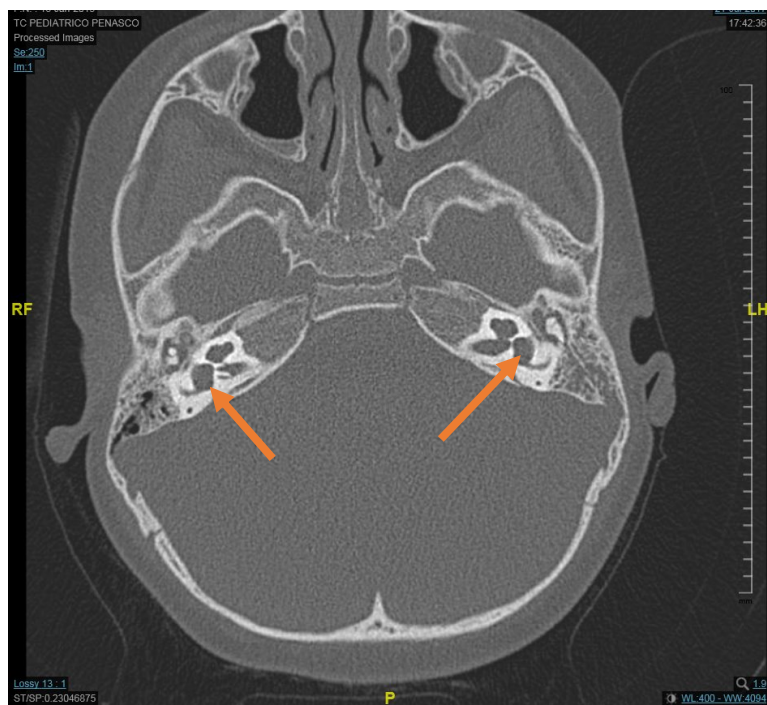
Este gen se traduce en la proteína Pendrina y es un mediador de la secreción de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> en la endolinfa de la cóclea.

Las mutaciones en este gen causan Síndrome de Pendred e hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva asociada a dilatación de acueducto vestibular (EVA)(Pera et al., 2008).

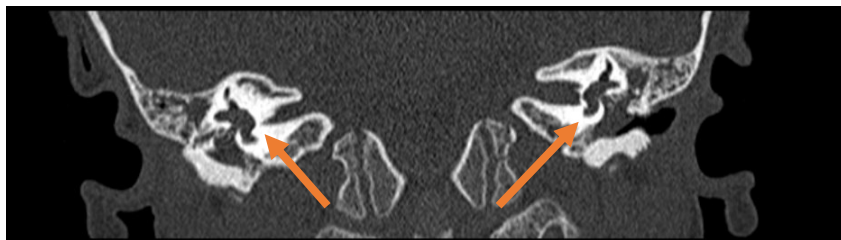
La prevalencia de este gen abarca del 2%-12.6%, dependiendo de la región (Cabanillas et al., 2018).

Ambos trastornos tienen características audiológicas similares: hipoacusia bilateral, a menudo grave o profunda, que puede estar asociada con anomalías del oído interno, como dilatación del acueducto vestibular (EVA) o Partición incompleta tipo II. Pero, en el Síndrome de Pendred, además de los signos y síntomas descritos, presentan bocio o disfunciones tiroideas en la mayoría de los casos (Nonose et al., 2018). Uno de los pacientes detectados en nuestro estudio, presenta, la variante más frecuente en población española en homocigosis (c.1540C>A/p. (Gln514Lys)) y el

segundo, otras variantes diferentes en heterocigosis (c.1001+1G>A y c.2219G>T/p.Gly740Val). Clínicamente, ambos presentan una hipoacusia bilateral de grado moderado a profundo y hallazgos patológicos en las pruebas de imagen, el primero de ellos EVA y el segundo partición incompleta tipo II bilateral (figura 22 y 23), pero ninguno de los pacientes presenta alteraciones de la glándula tiroides.



**Figura 22. TAC Peñascos paciente N°35. Corte Axial.** Se observa dilatación vestibular bilateral (flechas naranjas) de predominio derecho con hipoplasia de canal semicircular externo y posterior. Acueductos vestibulares normales. Agenesia/ hipogenesia extrema de nervio coclear derecho. Hallazgos en relación con Partición incompleta tipo II bilateral.



**Figura 23. TAC Peñascos paciente N<sup>o</sup>35. Corte coronal.** Se observa dilatación vestibular bilateral (flechas naranjas) de predominio derecho con hipoplasia de canal semicircular externo y posterior. Acueductos vestibulares normales. Agenesia/ hipogenesia extrema de nervio coclear derecho. Hallazgos en relación con Partición incompleta tipo II bilateral.

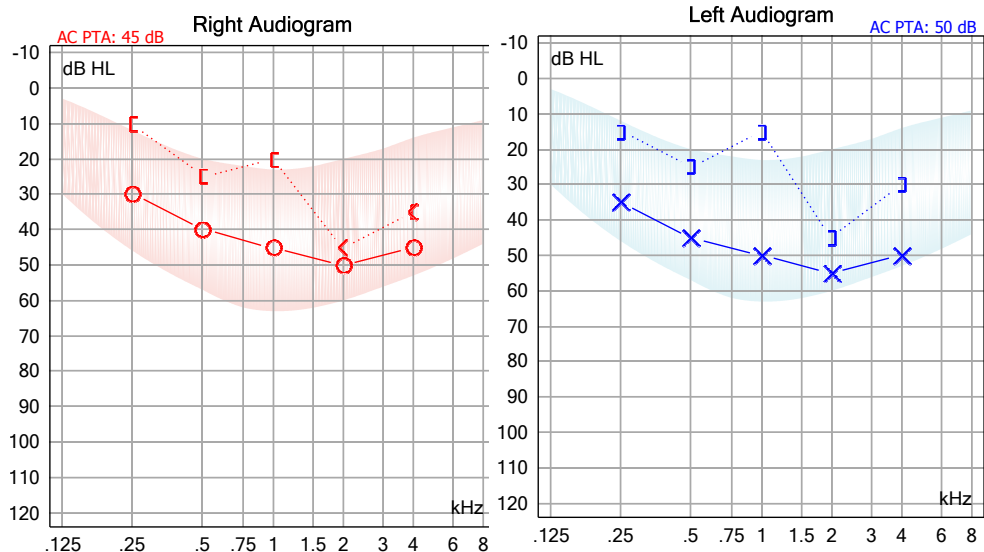
La mutación c.1001+1G>A es frecuente encontrarla en pacientes caucásicos, aunque concretamente en España no ha sido comúnmente descrita. Ha sido publicada como causante del síndrome de Pendred, pero cuando la mutación se encuentra en heterocigosis no es suficiente para causar el fenotipo del síndrome, relacionándose por tanto con hipoacusia neurosensorial de grado profundo asociada o no con malformaciones en el oído interno (Yazdanpanahi et al., 2015).

En el caso de nuestro paciente (n<sup>o</sup> 35), esta mutación se encuentra en heterocigosis y el paciente sufre Hipoacusia Neurosensorial profunda asociada a malformación coclear tipo Mondini o partición incompleta tipo 2. La otra mutación en este paciente es c.2219G>T/p.Gly740Val, esta es poco

frecuente y está relacionada con malformaciones del oído interno como el acueducto vestibular dilatado (Yazdanpanahi et al., 2015).

#### *5.1.1.5 Pacientes con mutaciones en el gen STRC:*

Las mutaciones en el gen *STRC* son la segunda causa más frecuente de hipoacusia autosómica recesiva después del gen *GJB2*, en este caso de grado leve-moderado. El fenotipo de la hipoacusia es congénito y de carácter moderado, probablemente se mantenga estable incluso después de los 50 años (Yokota et al., 2019). Nosotros sólo hemos detectado 3 pacientes con delección de *STRC*, junto con la del gen *CATSPER2*. Concretamente, la mutación diagnosticada ha sido la delección en homocigosis en el cromosoma 15q15, la cual está descrita como causa del Síndrome Hipoacusia-Infertilidad (DIS). Este síndrome se caracteriza por presentar una hipoacusia postlingual simétrica, estable y grado moderado (figura 24), junto con infertilidad masculina (Zhang et al., 2007). Nuestros tres pacientes (una niña y dos niños) presentan este mismo fenotipo audiológico descrito en la literatura. Los niños, en un futuro presentarán la infertilidad. Este dato ha sido importante de cara a la realización del asesoramiento genético familiar.



**Figura 24. Audiometría tonal paciente N°18.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado leve-moderado, fenotipo característico en las hipoacusias genéticas causadas por mutaciones en el gen *STRC*.

#### 5.1.1.6 Pacientes con mutaciones en el gen *LOXHD1*

La función de la proteína *LOXHD1* se desconoce, pero se encuentra en los esterocilios de las células ciliadas. Por este motivo, se puede predecir que los pacientes con este tipo de mutación serán buenos candidatos para implante coclear.

Se han descrito varias formas de clínica y edad de inicio de la pérdida auditiva causadas por mutaciones en este gen. En artículos publicados,



apoyan que esta forma de hipoacusia es congénita o de inicio temprano, pero algunos pacientes también han mostrado un inicio tardío.

Sí que se ha demostrado que es una hipoacusia de curso progresivo hasta un grado profundo, pero aún no está clara la relación genotipo-fenotipo. De hecho, se piensa que los diferentes fenotipos se deben a otros factores ambientales o genéticos (Maekawa et al., 2019).

En nuestro caso, hemos detectado mutaciones en este gen en dos pacientes. Ambos, presentan una hipoacusia neurosensorial bilateral postlingual de grado moderado y progresiva. Uno de los pacientes debido a una mutación ya conocida (c.4480C>T/p. (Arg1494 \*) (Eppsteiner et al., 2012) y el otro paciente con una mutación no descrita previamente, ambos en homocigosis.

#### *5.1.1.7 Pacientes con mutaciones en el gen OTOA*

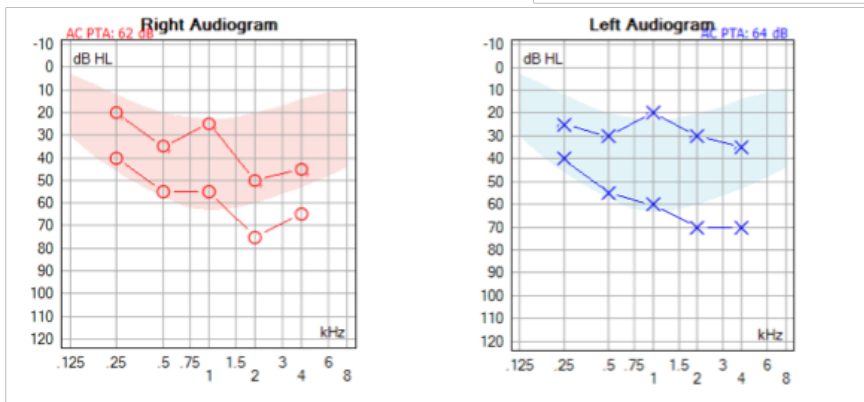
La proteína Otoancorina (OTOA) se encuentra en la membrana tectoria y es importante para acondicionar la estimulación adecuada de las células ciliadas internas.

En los estudios publicados el grado de hipoacusia ha variado desde leve a profunda. Incluso en los casos de deleciones del gen *OTOA* en homocigosis (como es el caso de uno de nuestros pacientes), se observaron diferencias

significativas en la gravedad de la hipoacusia. También se ha descrito, que los pacientes con esta mutación presentan mayor afectación de frecuencias medias en la audiometría tonal (Sugiyama et al., 2019).

La progresión no se ha descrito en artículos anteriores y en cuanto a la edad, la mayoría de los casos se detectan en la infancia.

Los dos pacientes de nuestro estudio presentan una hipoacusia neurosensorial bilateral postlingual de grado moderado, estable y con afectación de frecuencias medias (figura 25). Ambos portadores de la delección 16q12.2, uno de ellos en homocigosis y el otro en heterocigosis compuesta, junto a una mutación puntual.



**Figura 25. Audiometría tonal paciente N°26.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado moderado con afectación predominante en las frecuencias medias, fenotipo característico en las hipoacusias genéticas causadas por mutaciones en el gen OTOA. (La línea superior nos indica la

*audición del paciente con las prótesis auditivas y la línea inferior su audición umbral sin ningún apoyo auditivo).*

#### *5.1.1.8 Pacientes con mutaciones en el gen MYO15A*

Las proteínas miosina son esenciales para la función auditiva normal. Concretamente, La proteína miosina 15A ha sido localizada en los estereocilios de las células ciliadas tanto de la cóclea como del sistema vestibular (Kalay et al., 2007).

La prevalencia global de mutaciones en este gen es aproximadamente del 6,2%, siendo el tercer gen más importante en las hipoacusias neurosensoriales autosómicas recesivas. Además, se ha descrito que mutaciones en este gen causan hipoacusia progresiva tanto pre como post-lingual (Farjami et al., 2020).

En nuestro análisis, hemos detectado dos pacientes con mutaciones en este gen. El primer paciente afecto de hipoacusia neurosensorial severo-profunda siendo portador de la mutación c.8968-1G>T en homocigosis. El segundo paciente presenta una hipoacusia moderada, detectándose en él la mutación c.2311delT/p.Ser77Hisfs\*10 en homocigosis. Ambos pacientes con hipoacusias prelinguales y estables. Ninguno de los dos pacientes tiene clínica vestibular, como se ha observado en ratones portadores de mutaciones en este gen (Kalay et al., 2007).

#### 5.1.1.9 *Pacientes con mutaciones en el gen OTOG*

La otogelina es un componente no colágeno de las estructuras gelatinosas acelulares que cubren los epitelios sensoriales del oído interno, es decir, la membrana tectoria (TM) en la cóclea, las membranas otoconiales en el utrículo y el sáculo, y las cúpulas que cubren las crestas ampulares de los canales semicirculares.

Mutaciones en este gen producen hipoacusia y vértigo/inestabilidad. En concreto, la hipoacusia es de grado moderado y audiometrías en forma de “U”, al igual que en las mutaciones en *TECTA* de herencia autosómico-dominante (Schraders et al., 2012).

Los tres pacientes detectados en nuestro estudio presentan una hipoacusia neurosensorial bilateral prelingual, de grado moderado y estable, al igual que lo descrito en la literatura.

Los tres pacientes (de dos familias diferentes) de nuestro estudio son niños menores de 5 años y solo tenemos potenciales de estado estable que confirman la hipoacusia, no tenemos audiometrías de momento que podamos observar la imagen característica.

#### *5.1.1.10 Pacientes con mutaciones en el gen MYO7A*

Se ha descubierto que las mutaciones en este gen suponen el 60% aproximadamente de todos los casos de Síndrome de Usher Tipo 1 pero también se ha demostrado que mutaciones en este mismo gen provocan sordera no sindrómica, incluido el DFNA11 y DFNB2 (Ouyang et al., 2005).

En nuestro caso, el paciente Nº 40 presenta una hipoacusia neurosensorial no sindrómica de grado leve-moderado.

#### *5.1.1.11 Pacientes con mutaciones en el genTECTA*

Hemos detectado una mutación *TECTA* de herencia autosómica recesiva en el paciente Nº 39. Este paciente presenta una HN bilateral, prelingual, de grado moderado.

Todas las mutaciones recesivas conocidas hasta el momento tienen una naturaleza truncante, es decir, darían lugar a una proteína truncada. Fenotípicamente, se caracterizan por causar una sordera prelingual de moderada a profunda (Moreno-Pelayo et al., 2008).

## 5.1.2 Herencia Autosómico-dominante:

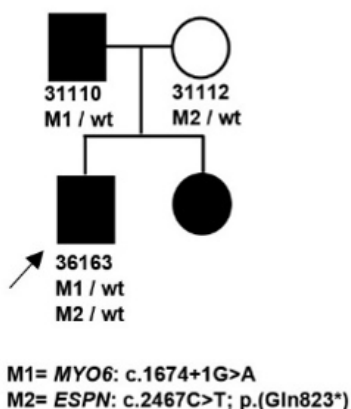
### 5.1.2.1 Pacientes con mutaciones en el gen MYO6:

La proteína Miosina 6 se expresa tanto en las células ciliadas internas como externas y tiene un papel de mantenimiento de estas células. El defecto en esta proteína se caracteriza por una pérdida progresiva de células ciliadas que comienza inmediatamente después del nacimiento y progresa rápidamente a las 6 semanas de edad (Sanggaard et al., 2008). En nuestro estudio 10 pacientes (6 de ellos pertenecientes a 3 familias diferentes) han sido diagnosticados de hipoacusia hereditaria debido a diferentes mutaciones en el gen *MYO6*, presentando todos una hipoacusia bilateral postlingual.

Al analizar por separado los pacientes con hipoacusia de grado leve-moderado, el gen más prevalente en nuestra serie ha sido el *MYO6* en 6 pacientes (11,33%).

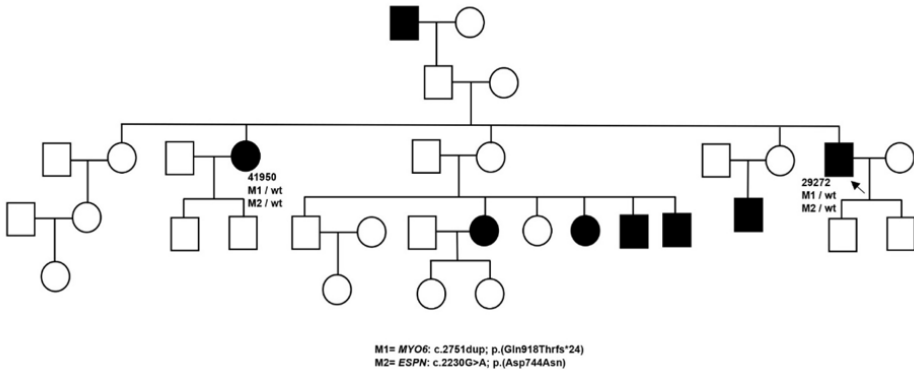
Sanggaard *et al.* en 2008, describieron que la mutación c.2545C>T/p. (Arg849 \*), se expresa como una hipoacusia AD no sindrómica, postlingual, lentamente progresiva y de grado moderado a grave (Sanggaard et al., 2008). Los dos pacientes de nuestro estudio con esta mutación presentan este mismo fenotipo.

Los paneles NGS permiten el análisis simultáneo de un gran número de genes y, en ocasiones, se encuentran variantes patogénicas en diferentes genes en un mismo paciente. En concreto, el paciente N°54 es portador de dos variantes patogénicas heterocigotas diferentes: c.1674+1G>A en *MYO6* y c.2467C>T/p. (Gln823 \*) en *ESPN*. El análisis de segregación en esta familia mostró que el padre afectado también portaba la variante en *MYO6*, mientras que la madre sana portaba la variante en *ESPN*. De estos resultados se puede deducir que la variante en *MYO6* es responsable de la hipoacusia AD, mientras que la variante *ESPN* presentaría un patrón de herencia AR (figura 26).



**Figura 26. Árbol genealógico del paciente 54.** Las flechas indican el caso índice, M indica la variante patogénica o probablemente patogénica y wt indica la secuencia de tipo salvaje.

Los pacientes N°55 y N°56 de la misma familia portaban dos variantes patogénicas de Hipoacusia AD previamente descritas en dos genes diferentes: c.2751dup/p. (Gln918Thrfs \*24) en *MYO6* y c.2230G>A/p.(Asp744Asn) en *ESPN*. Estos dos pacientes pertenecen a una familia numerosa con más miembros afectados, pero estos estaban dispersos geográficamente, y no fue posible segregar estas dos variantes con todos los miembros de la familia para dilucidar definitivamente la base genética y el patrón de herencia de la hipoacusia (figura 27).



**Figura 27. Árbol genealógico de los pacientes 55 y 56.** Las flechas indican el paciente, M indica la variante patogénica o probablemente patogénica y wt indica la secuencia de tipo salvaje.

Finalmente, la probable variante patogénica nueva *MYO6* (c.494T>G/p. (Leu165Arg) se encontró en el paciente N°57. Además, en este paciente se encontraron dos variantes patogénicas AR descritas previamente en *MYO7A* (c.1997G>A/p. (Arg666Gln) y c.3527G>A/p. (Ser1176Asn). Sería necesario un



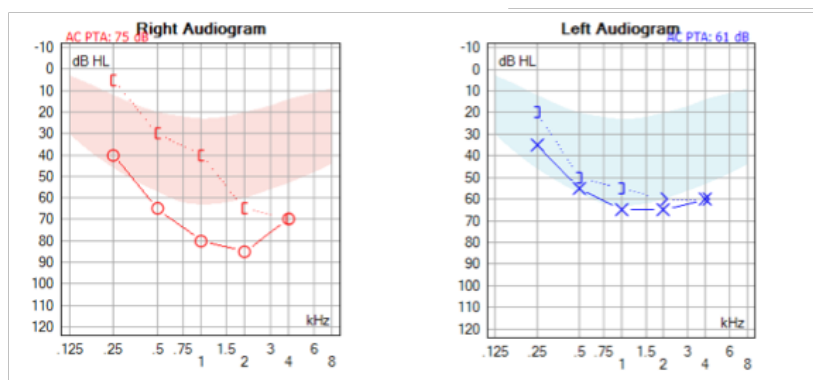
análisis de segregación para dilucidar definitivamente la base genética y el patrón de herencia de la hipoacusia en esta familia y así, ofrecer un asesoramiento genético reproductivo preciso.

#### *5.1.2.2 Pacientes con mutaciones en el gen TECTA:*

El gen *TECTA*, concretamente el locus DFNA 8/12, es una de las causas más frecuentes de hipoacusia no sindrómica de herencia autosómica dominante, en la población española (Plantinga et al., 2006).

Se ha descrito, que las diferencias fenotípicas en este gen, se deben al dominio alterado en la proteína alfa-tectorina en cada una de las familias. Las mutaciones que afectan al dominio zona pelucida (ZP) son de tipo “missense” (cambio de aminoácido de la secuencia proteica) y se manifiestan como una hipoacusia prelingual estable que afecta a las frecuencias medias, en cambio, las mutaciones que afectan al dominio zona adhesina (ZA-like), presentan una hipoacusia progresiva que afecta a las frecuencias agudas. Además, cuando la mutación involucra residuos de cisteína provoca una hipoacusia de carácter progresivo. Cuando se afectan las frecuencias medias, se denomina audiometría en forma de “U” o “cookie-bite” (mordida de galleta). Esta configuración en la audiometría ha sido descrita en el gen *TECTA* (DFNA8/12) y en el gen *COL11A2* (DFNA13) (Hildebrand et al., 2011 ), entre otros.

La variante patogénica c.5668C T/p. (Arg1890Cys) que afecta al gen *TECTA* ha sido descrita en varias familias de España, América y Países bajos (Plantinga et al., 2006). En nuestro estudio la variante predominante ha sido c.5509T>G/p. (Cys1837Gly), detectada concretamente en 4 pacientes de dos familias diferentes. Esta mutación ha sido descrita en una familia española por Moreno-Pelayo et al. en el año 2011, causando una hipoacusia postlingual, progresiva, afectando a las frecuencias medias. Los cuatro pacientes de nuestro estudio con esta mutación, presentan este mismo fenotipo (figura 28).

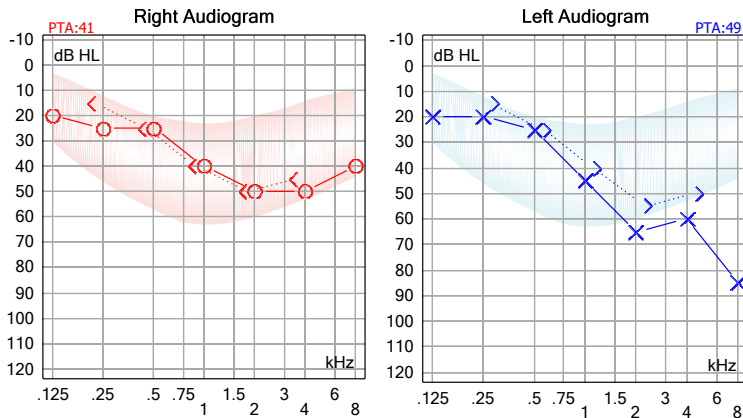


**Figura 28. Audiometría tonal paciente N°60.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado moderado-severo en forma de “U” o “cookie-bite”, fenotipo característico en las hipoacusias genéticas causadas por mutaciones en el gen *TECTA*.

5.1.2.3 *Pacientes con mutaciones en el gen COL11A2:*

Las mutaciones en el gen *COL11A2* causan tanto hipoacusias no sindrómicas autosómicas recesivas y dominantes, como hipoacusia sindrómica.

Los dos pacientes (de la misma familia) con hipoacusia no sindrómica, presentan una mutación no descrita previamente en la literatura: c.1748G>A/p. (Gly583Asp). Ambos, afectados de una hipoacusia neurosensorial bilateral postlingual estable, con diferentes grados de pérdida auditiva (figura 29). En la literatura se describe, que la mayoría de los pacientes afectados de hipoacusia AD no sindrómica, con mutaciones en el gen *COL11A2*, presentaron los primeros síntomas de pérdida auditiva entre la segunda y la tercera década de la vida, la hipoacusia es estable y afectando principalmente a las frecuencias medias (McGuirt et al., 1999).



**Figura 29. Audiometría tonal paciente N°66.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado leve-moderado con afectación predominante en las frecuencias medias, *fenotipo característico en las hipoacusias genéticas causadas por mutaciones en el gen COL11A2.*

#### 5.1.2.4 Pacientes con mutaciones en el gen WFS1

Las mutaciones en este gen son infrecuentes y se han relacionado con hipoacusia neurosensorial, autosómica dominante, no sindrómica, postlingual, progresiva y afectando a las frecuencias bajas o graves, es decir, por debajo de la frecuencia 2.000Hz. Por tanto, se describe que la audiometría tiene un patrón ascendente (Rendtorff et al., 2011).

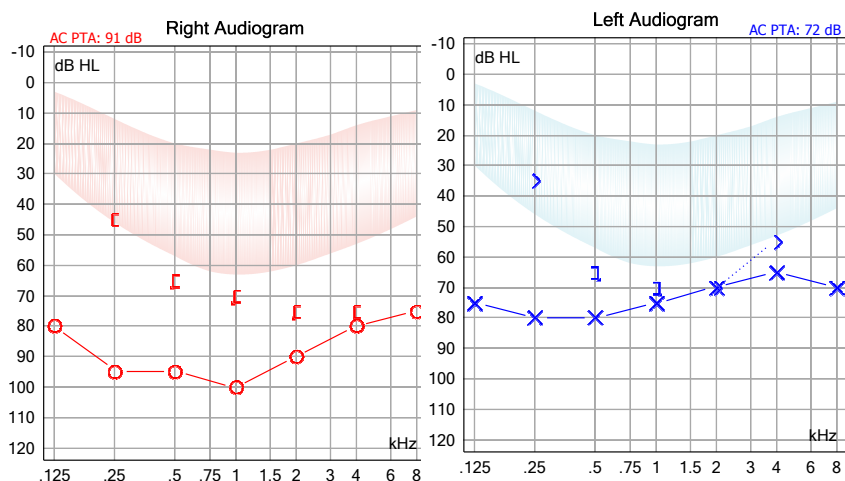
También se ha relacionado con el Síndrome de Wolfram, pero en estos casos, las frecuencias afectadas son las medias y altas (Rendtorff et al., 2011).

La función de esta proteína en el oído interno aún no está clara, pero si se ha relacionado con la aparición de hidrops endolinfático (Rendtorff et al., 2011).

En concreto, los pacientes con la mutación c.2108G>A presentan la audiometría mencionada anteriormente con afectación en frecuencias graves, pero, por el contrario, se ha descrito que los pacientes con la

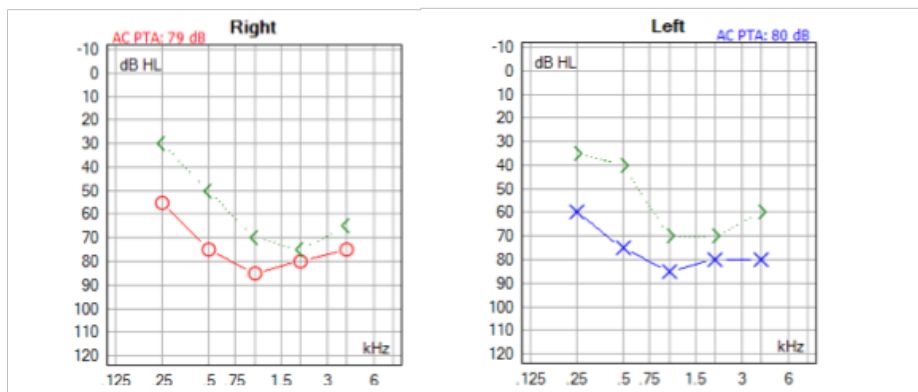
mutación c.2389G>A presentan audiometrías con afectación de todas las frecuencias (Tekin et al., 2016).

Los tres pacientes detectados en nuestra serie son niños con sorderas no sindrómicas postlinguales que presentan los fenotipos descritos en la literatura. Dos de los pacientes presentan mutaciones descritas previamente en la literatura con este fenotipo característico (audiometría en patrón ascendente (figura 30) y afectando todas las frecuencias (figura 31) y uno de ellos presenta una mutación no descrita previamente que da lugar a una hipoacusia con mayor afectación de frecuencias agudas (figura 32).

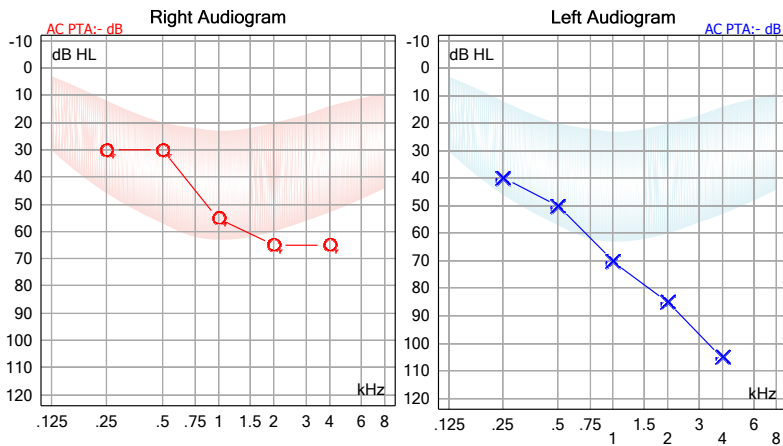


**Figura 30. Audiometría tonal paciente N°70.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado severo con mayor afectación en frecuencias graves observando una audiometría con patrón ascendente, *fenotipo*

característico en las hipoacusias genéticas causadas por mutaciones en el gen *WFS1*, concretamente mutación c.2108G>A.



**Figura 31. Audiometría tonal paciente N°71.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado severo con afectación de todas las frecuencias, fenotipo característico en las hipoacusias genéticas causadas por mutaciones en el gen *WFS1*, concretamente mutación c.2389G>A.



**Figura 32. Audiometría tonal paciente N°69.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado leve-moderado en oído derecho y moderado-severo en oído izquierdo, con mayor afectación en frecuencias agudas.

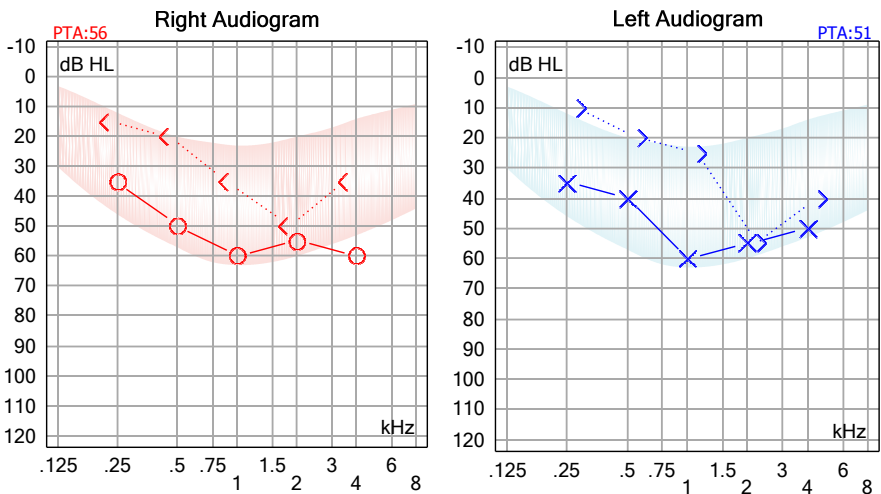
#### 5.1.2.5 Pacientes con mutaciones en el gen *KCNQ4*

La proteína *KCNQ* es un canal de  $K^+$  que se expresa en la membrana basal de las células ciliadas externas.

Este gen se relaciona con hipoacusia neurosensorial, autosómica dominante, progresiva que afecta principalmente a frecuencias medias y altas (Lucía Borreguero Escribano, 2016).

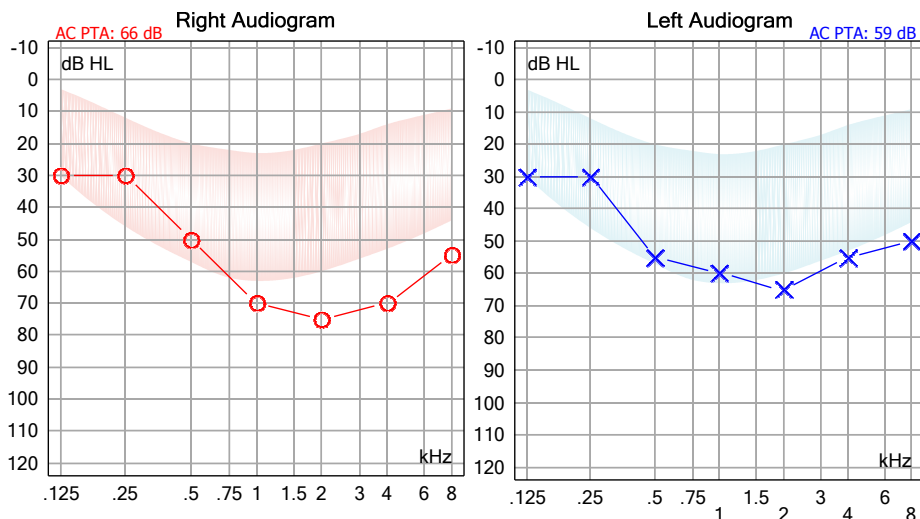
En los niños, la hipoacusia suele ser moderada y afecta predominantemente las frecuencias altas. Progresa hasta la edad adulta siendo frecuente observar hipoacusias severo-profundas con afectación de todas las frecuencias (Gao et al., 2013).

En nuestro estudio hemos detectado dos pacientes (de la misma familia) con afectación en este gen, ambos con la misma mutación c.857A>G/p. (Tyr286Cys). Ambos pacientes son familiares directos. El paciente N° 72 es el hijo, que comenzó con la clínica a los 7 años de edad (figura 33); y el paciente N° 73 es el padre, que comenzó con la hipoacusia en la edad adulta. Como se ha descrito en la literatura, el hijo presenta una hipoacusia moderada progresiva y el padre una hipoacusia moderada-severa ya estable, con afectación de frecuencias medias y altas (figura 34).



**Figura 33. Audiometría tonal paciente N°72. Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado moderado.**





**Figura 34. Audiometría tonal paciente N°73.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado moderado-severo, con afectación de frecuencias medias y altas.

### 5.1.2.6 Pacientes con mutaciones en el gen ACTG1

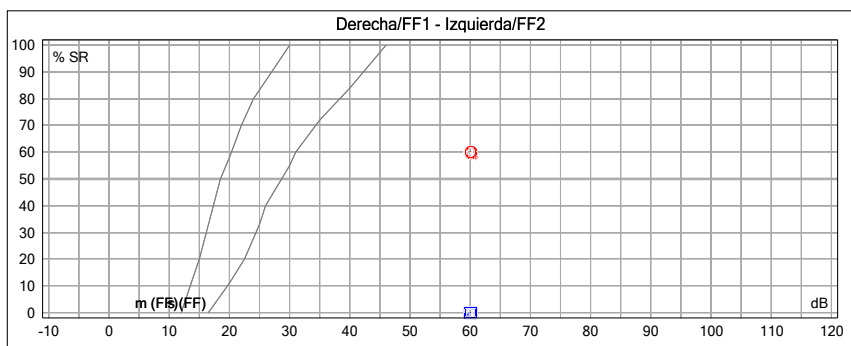
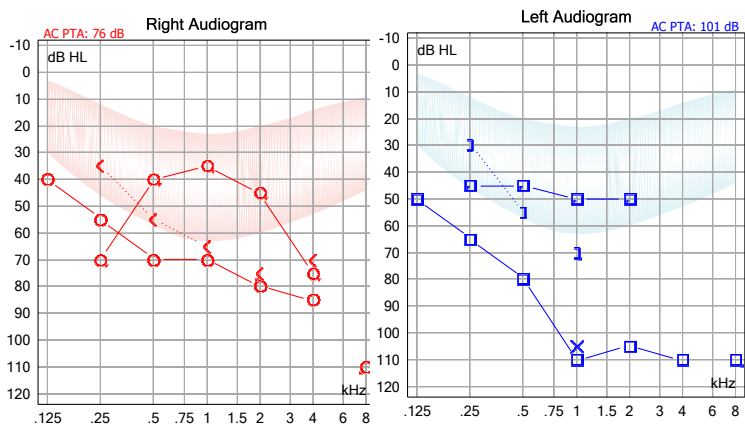
La proteína ACTG1 es la actina predominante en las células auditivas de la cóclea, encontrándose específicamente en la placa cuticular, uniones adherentes y en los esterocilios (Shahin et al, 2010).

Los pacientes con mutación en este gen, presentan hipoacusia neurosensorial de inicio postlingual (1<sup>º</sup>-2<sup>º</sup> década), lentamente progresiva, empezando en las frecuencias agudas hasta afectar todas las frecuencias.

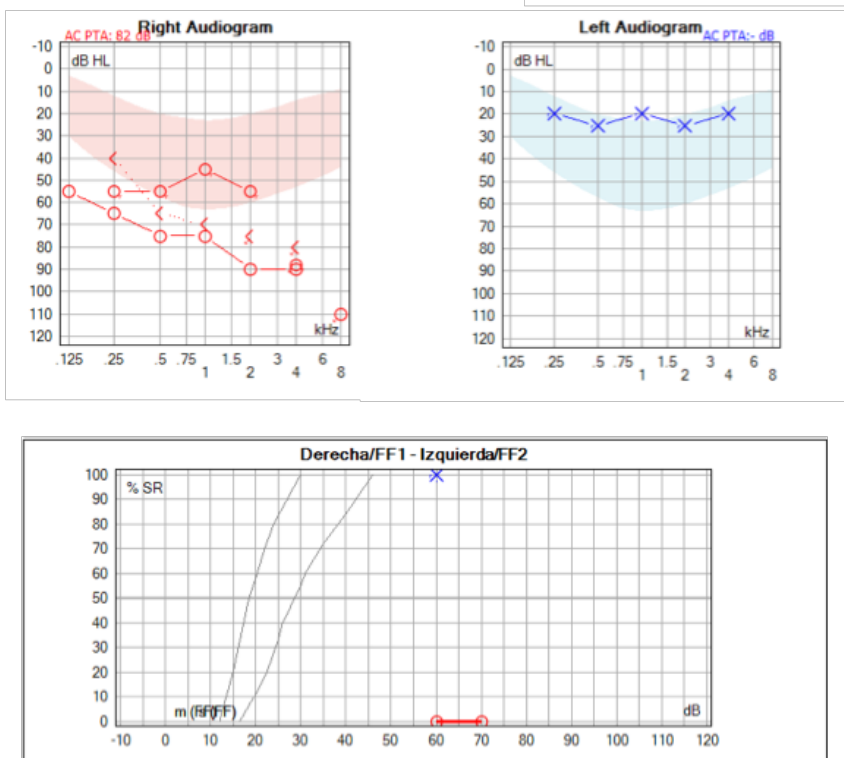
En concreto, la mutación c.895C>G/p. (Leu299Val), que es la encontrada en nuestro paciente, afecta a las frecuencias altas y no está relacionado con síntomas vestibulares (Miyagawa et al., 2013).

Miyagawa et al. en 2013, publicaron que el tratamiento con Implante Coclear en estos pacientes tiene buenos resultados.

Nuestro paciente comenzó con la hipoacusia en la 4<sup>º</sup> década, con mayor afectación de las frecuencias agudas al inicio de la clínica y progresivamente se ha observado una mayor afectación de las frecuencias graves. A los 55 años de edad comenzó a disminuir la ganancia con las prótesis auditivas (figura 35), principalmente en el oído izquierdo, por lo que fue intervenido de implante coclear con muy buen rendimiento actualmente, ya que en la audiometría tonal observamos un umbral a 20dB y en la audiometría vocal observamos una comprensión del 100% de las palabras a 60dB (figura 36).



**Figura 35. Audiometría tonal y vocal del paciente N°74 con prótesis auditivas.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado moderado-severo, con mayor afectación de frecuencias altas. En la audiometría vocal, podemos observar el bajo rendimiento que tenía con la prótesis auditiva, marcado con un cuadrado azul podemos observar que el paciente comprendía el 0% de las palabras a 60dB.



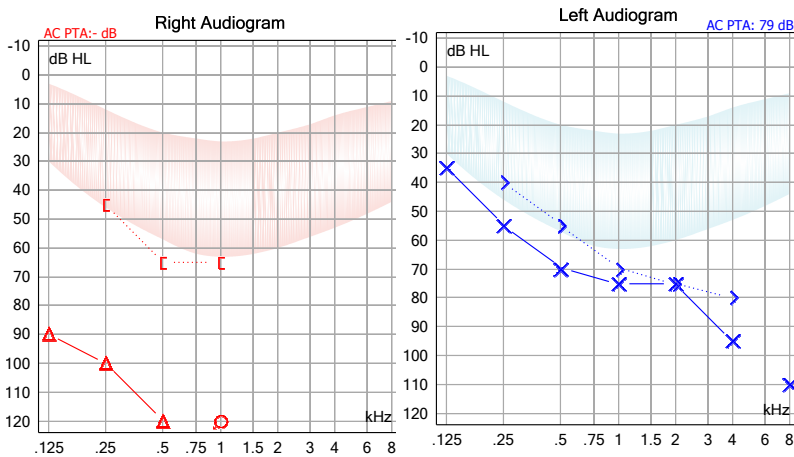
**Figura 36. Audiometría tonal y vocal del paciente N°74 con implante coclear.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado moderado-severo en oído derecho, con mayor afectación graves que en la audiometría previa. En la audiometría vocal, podemos observar el buen rendimiento que tiene con el implante coclear en el oído izquierdo. En la audiometría tonal observamos un umbral auditivo de 20dB y en la audiometría vocal marcado con una X azul podemos observar que el paciente comprende ahora el 100% de las palabras a 60dB.

### 5.1.2.7 Pacientes con mutaciones en el gen EYA4

La proteína EYA4 es imprescindible para la maduración y el mantenimiento del órgano de Corti (Shinagawa et al., 2020).

Se presenta como una hipoacusia neurosensorial autosómica dominante, postlingual, progresiva, afectando a las frecuencias altas o a todas las frecuencias (Shinagawa et al., 2020).

Los dos pacientes de nuestro estudio son adultos con el fenotipo descrito previamente. El primero de ellos, presenta una mutación ya descrita previamente pero el segundo paciente presenta la mutación *c.1707delC*, la cual, es nueva hasta la fecha (figura 37).



**Figura 37. Audiometría tonal paciente N°76. Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado severo-profundo, con mayor afectación de frecuencias agudas.**

### 5.1.3 Herencia ligada al cromosoma X:

#### 5.1.3.1 Pacientes con mutaciones en el gen *POU3F4/DFNX2* (herencia ligada al cromosoma X recesivo):

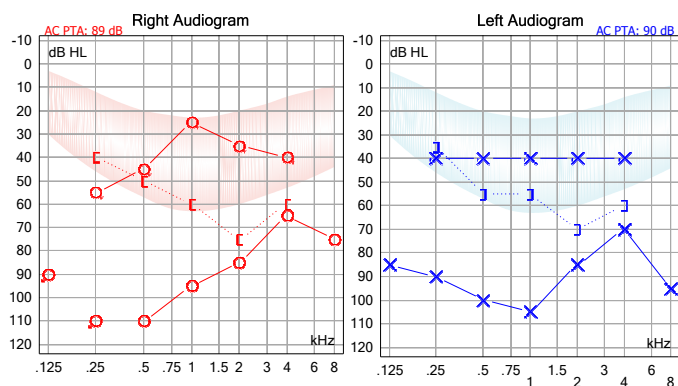
La hipoacusia ligada al cromosoma X más común en humanos, es la ligada a este gen.

Las características clínicas de *DFNX2* incluyen la hipoacusia mixta y progresiva, malformaciones del hueso temporal y fijación del estribo (Su et al., 2018).

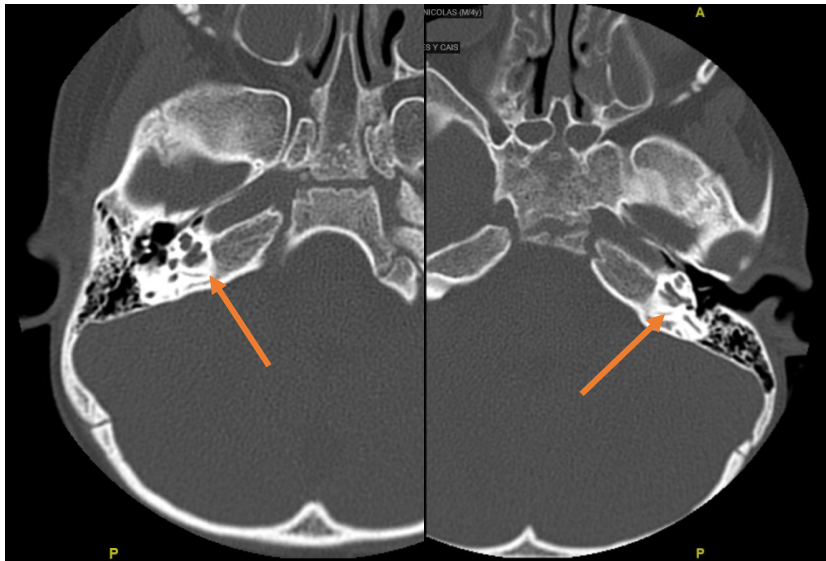
En el TAC de peñascos de estos pacientes se observa una platina del estribo engrosada, hipoplasia de la base de la cóclea, ausencia de modiolos óseos y conducto auditivo interno (CAI) dilatado (Su et al., 2018). En 2006, Sennaroglu *et al.* describieron que el fenotipo radiológico de esta sordera se denominara partición incompleta tipo III.

Los dos pacientes de nuestro estudio, son de familias diferentes y ambos presentan mutaciones no descritas previamente. Clínicamente, ambos pacientes presentan hipoacusia mixta simétrica y progresiva, asociando la malformación típica descrita en estos pacientes (Figura 38 y 39). Uno de ellos presenta una sordera de grado moderado tratado con prótesis

auditivas y el segundo paciente presenta una sordera grado severo también tratado con audífonos.



**Figura 38. Audiometría tonal paciente N°82.** Observamos una hipoacusia mixta bilateral grado severo, típica en los pacientes con sordera causada por mutaciones en este gen. La línea superior de ambas audiometrías corresponde al umbral auditivo del paciente con prótesis auditivas.



**Figura 39. TAC Peñascos paciente N°81. Corte Axial.** Se observan dos imágenes de TAC en las que podemos apreciar la anomalía morfológica de la cóclea de forma bilateral, con una partición incompleta de las espiras y ausencia de modiolo (cóclea en sacacorchos-flecha naranja). Hallazgos en relación con Partición incompleta tipo III.

#### 5.1.3.2 Pacientes con mutaciones en el gen SMPX/DFNX4 (herencia ligada al cromosoma X dominante):

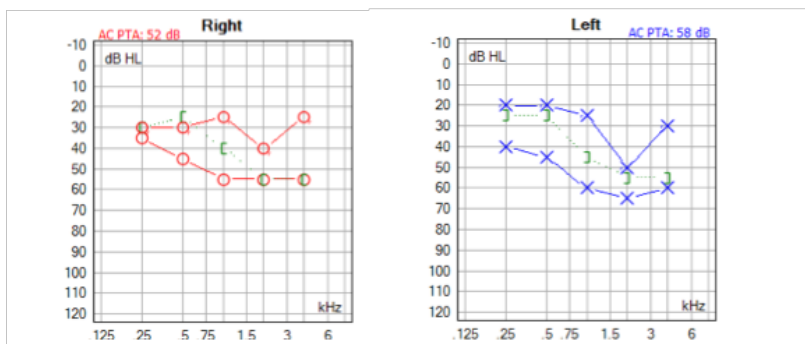
SMP es una proteína que se expresa en los estereocilios, la alteración de esta proteína va a desarrollar una hipoacusia neurosensorial de forma progresiva (Tu et al., 2021).



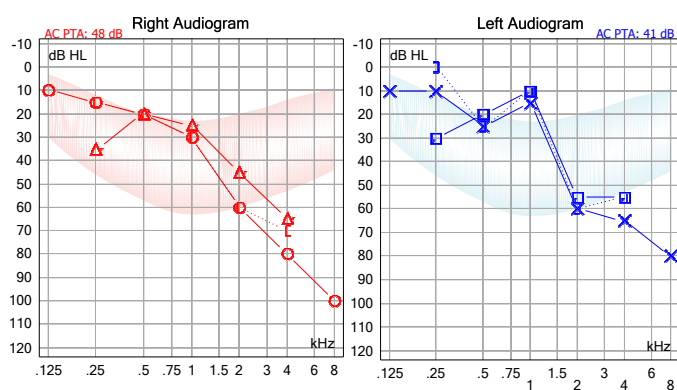
Concretamente, se ha descrito que clínicamente es diferente cuando afecta al género masculino o femenino. En los varones afectados, la sordera es de inicio congénito o prelingual, afectando inicialmente a las frecuencias agudas, de grado moderado a profundo. En cambio, en las mujeres afectadas, se observa una hipoacusia de inicio más tardío, entre los 20 y los 40 años, también de grado moderado a profundo (Lv et al., 2019).

Los dos pacientes de nuestro estudio afectados por esta mutación, pertenecen a la misma familia y ambos presentan la mutación c.20del expresándose clínicamente igual con una hipoacusia neurosensorial, bilateral, simétrica, postlingual, moderada y progresiva.

El paciente varón es el hijo de la familia y presenta una hipoacusia neurosensorial bilateral grado moderado y de tipo pantonal, con afectación de todas las frecuencias (figura 40). El segundo paciente afecto es la madre del paciente anterior y presenta una hipoacusia neurosensorial bilateral grado moderado-severo, sólo con afectación de las frecuencias agudas (figura 41). Ambos pacientes con sorderas postlinguales y de tipo progresivas. En este caso, hay rasgos fenotípicos que no coinciden por completo con la bibliografía revisada sobre este gen, ya que son los pacientes varones los que presentan hipoacusia prelingual y con afectación inicial en las frecuencias agudas.



**Figura 40. Audiometría tonal paciente N°83.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado moderado. A pesar de ser el paciente varón observamos una audiometría pantonal, es decir, con afectación de todas las frecuencias de sonido en la audiometría (líneas inferiores azul y roja). Las líneas superiores corresponden al resultado audiológico del paciente con las prótesis auditivas.



**Figura 41. Audiometría tonal paciente N°84.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado moderado-severa, afectando únicamente a las frecuencias agudas.

## 5.2 Hipoacusias sindrómicas

### 5.2.1 *Síndrome de Usher*

El síndrome de Usher, de herencia autosómica recesiva, es clínicamente heterogéneo. Concretamente, el síndrome de Usher Tipo II es el más frecuente de los tres tipos (Neuhaus et al. 2017).

Clínicamente, los pacientes con Síndrome de Usher Tipo I se caracterizan por clínica vestibular severa desde la infancia, junto a hipoacusia congénita severo-profunda y retinosis pigmentaria de inicio en la primera década; los pacientes con Síndrome de Usher Tipo II presentan una hipoacusia congénita de grado moderado a severo asociado a retinosis pigmentaria de inicio entre la 1ª y la 2ª década de la vida; y los pacientes con Síndrome de Usher Tipo III sufren una hipoacusia progresiva de diferentes grados, con clínica vestibular variable y aparición en la edad adulta y posible retinosis pigmentaria de inicio en la adolescencia o edad adulta (Jaijo et al., 2010)(García-García et al., 2013).

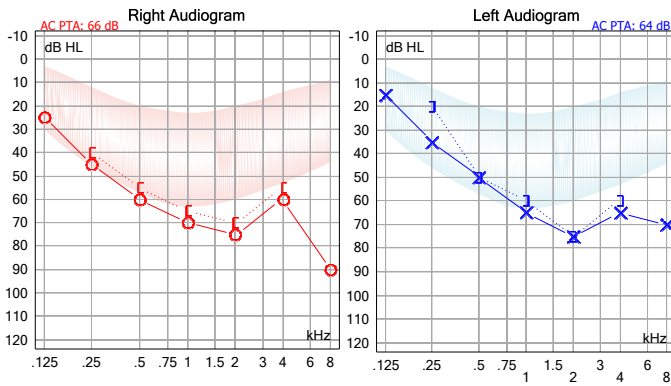
Los ocho pacientes diagnosticados de Síndrome de Usher presentaban mutaciones en cuatro genes diferentes. Cuatro pacientes en el gen *USH2A*, dos pacientes en el gen *ADGRV1*, un paciente en el gen *CDH23* y otro paciente en el gen *PCDH15*. Por tanto, seis de los ocho pacientes han sido

diagnosticados de Síndrome de Usher son del tipo II y dos pacientes pertenecen al Tipo I.

En España, *USH2A* y *ADGRV1* son responsables del 95.8% y el 5.2% de los casos de Síndrome de Usher tipo II, respectivamente (García-García et al., 2013).

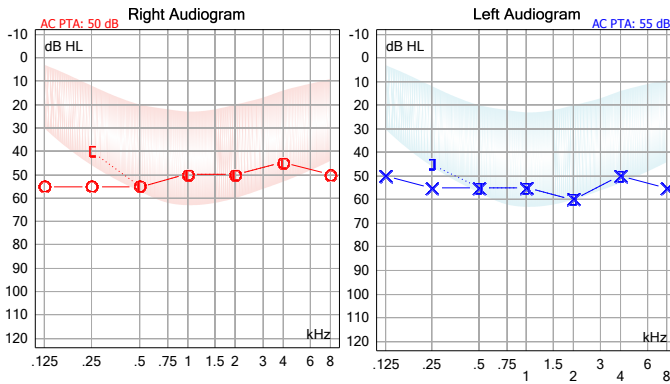
Las mutaciones en el gen *USH2A* son la causa más frecuente de Síndrome de Usher Tipo II, con una prevalencia del 75%. Concretamente, la mutación patogénica c.9799T>C/p. (Cys3267Arg) en el gen *USH2A* es la tercera causa más frecuente del Síndrome de Usher tipo II, siendo una de las variantes más frecuentes en pacientes afectados de *USH2* de la población española (Aller et al., 2006). En nuestro estudio, esta mutación concreta ha sido detectada en dos pacientes.

Los pacientes de nuestro estudio con mutaciones en el gen *USH2A*, presentan fenotipos variables. Todos ellos sufren una hipoacusia neurosensorial bilateral simétrica de grado moderado (figura 42), dos de ellos de inicio postlingual y uno de ellos de inicio prelingual. En uno de los pacientes la hipoacusia es progresiva y en los otros dos pacientes es de carácter estable. Dos de los tres pacientes, presentan retinosis pigmentaria asociada. La paciente que no la padece, tiene 12 años, por lo que aún no ha desarrollado síntomas oftalmológicos. Por tanto, en esta paciente el diagnóstico de síndrome de Usher ha sido presintomático.



**Figura 42. Audiometría tonal paciente N°42.** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado moderado-severo con afectación de frecuencias agudas.

La mutación c.2299delG del gen *USH2A*, es la más prevalente en varias poblaciones estudiadas. El fenotipo típico en estos pacientes es la hipoacusia leve-moderada y estable (Astuto et al. 2002). En nuestro estudio sólo ha sido detectada en un paciente en heterocigosis, el cual presenta este fenotipo, hipoacusia moderada y estable (figura 43).



**Figura 43. Audiometría tonal paciente N°46** Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado moderado.

Los dos pacientes con mutaciones en el gen *ADGRV1* presentan una hipoacusia neurosensorial bilateral moderada-severa, asociado a retinosis pigmentaria, al igual que lo descrito en la literatura (Kothiyal et al., 2010).

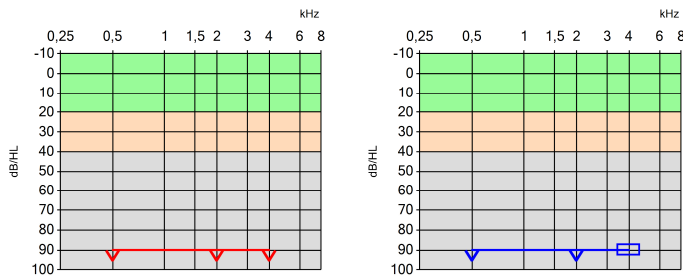
El gen *CDH23* codifica una proteína de adhesión celular, las mutaciones en el mismo son responsables tanto del Síndrome de Usher como de la sordera no sindrómica DFNB12. Se han identificado defectos mutacionales específicos de *CDH23* que diferencian estos dos fenotipos (Sommen et al., 2016).

El paciente con mutación en el gen *CDH23*, además de la hipoacusia neurosensorial bilateral prelingual profunda y la retinosis pigmentaria, presenta arreflexia vestibular bilateral. Este fenotipo es característico de los

pacientes con Síndrome de Usher Tipo I. Sin embargo, el genotipo no siempre predice el fenotipo clínico, el cual varía tanto dentro como entre familias portadoras de las mismas mutaciones en *CDH23*, lo que implica la existencia de otros factores genéticos y/o ambientales que influyen en el fenotipo (Sommen et al., 2016).

Las mutaciones en *PCDH15* pueden causar tanto Síndrome de Usher Tipo I, como hemos explicado previamente, como sordera no sindrómica.

En nuestro caso, el paciente ha sido diagnosticado de Síndrome de Usher, con carácter presintomático. Una de las mutaciones que presenta el paciente (c.3717+2dupT) ha sido previamente descrita como patológica asociada a síndrome de Usher tipo 1 (Jaijo et al., 2010). La segunda mutación c.2751+2T>C no se ha descrito con anterioridad, pero por su naturaleza (mutación de *splicing*) se predice un posible Síndrome de Usher. Esto es así porque en el caso de la hipoacusia no sindrómica ligada a *PCDH15* (DFNB23), las mutaciones suelen ser de tipo *missense* (cambio de aminoácido); mientras que las de naturaleza truncante (como son las mutaciones de *splicing* que presenta nuestro paciente) se asocian a síndrome de Usher (Fuster-García et al., 2021). Clínicamente cursa con hipoacusia congénita profunda bilateral (figura 44), portador de implantes cocleares bilaterales. Hasta la fecha no ha desarrollado síntomas oftalmológicos ni clínica vestibular, pero hay que tener en cuenta que tiene aún 2 años de edad.



**Figura 44. Potenciales evocados de estado estable del paciente N°48.**  
 Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral grado profundo.

### 5.2.2 Síndrome de Waardenburg (SW)

En nuestro estudio hemos caracterizado genéticamente dos pacientes con mutaciones en *MITF* y *PAX3*, respectivamente. El gen *MITF* ha sido relacionada con pacientes con SW tipo 2 y el gen *PAX-3* ha sido identificada en el SW tipo 1 (Nobukuni and Tachibana, 1996).

La deficiencia auditiva que presentan estos pacientes, se explica por el agotamiento de los melanocitos en la cóclea (Nobukuni and Tachibana, 1996).

Los síntomas de los pacientes con SW-2 son: anormalidades pigmentarias en el pelo, ojos y piel e hipoacusia neurosensorial, siendo ausente la distopia cantorum. El paciente de nuestro estudio, además de hipoacusia neurosensorial prelingual presenta mechón blanco en el pelo y heterocromía del iris.



El fenotipo de los pacientes con SW-1 es el mismo que el tipo 2 pero asociado también a distopia cantorum. Nuestro paciente con la mutación en el gen *MITF*, presenta hipoacusia neurosensorial bilateral, de grado profundo en el oído derecho tratado mediante implante coclear y de grado moderado en el oído izquierdo, portador de prótesis auditiva. El segundo paciente, en este caso con la mutación en el gen *PAX-3*, es el único paciente del estudio con una hipoacusia unilateral profunda, cuyo test genético no fue solicitado por el Servicio de Otorrinolaringología sino por Neonatología debido a las manifestaciones clínicas como la heterocromia de iris y a la malformación renal asociada.

### 5.2.3 Síndrome braquiootorrenal (BOR)

El síndrome de BOR es la segunda causa más frecuente de hipoacusia hereditaria sindrómica. El fenotipo se caracteriza por hipoacusia, anomalías renales, y malformaciones en los arcos branquiales.

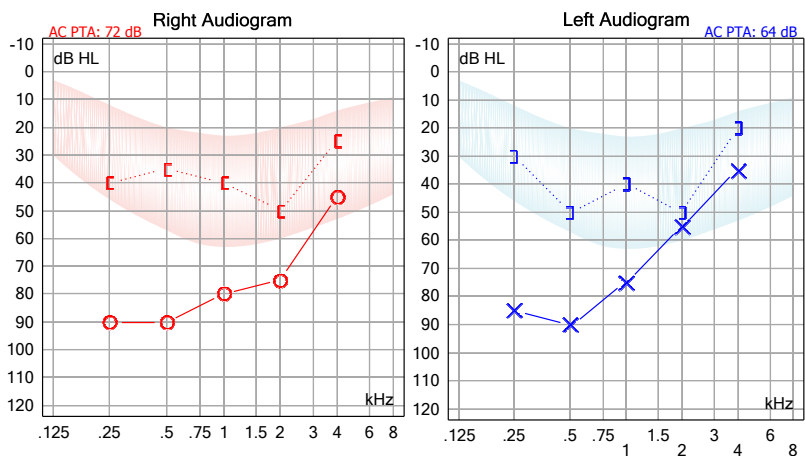
El 40% de los pacientes afectados de Síndrome BOR presentan una mutación en el gen *EYA1*. Este gen ayuda en el desarrollo de todos los componentes del oído interno desde la aparición de la placoda ótica. Clínicamente, la hipoacusia es la característica más frecuente de este síndrome detectándose en más del 90% de los pacientes afectados. En la población caucásica las mutaciones más frecuentes de este gen son p.R440Q, c.867 +

5G>A y p.R297X (Castiglione et al., 2014). En los pacientes de nuestro estudio no se ha detectado ninguna de estas mutaciones.

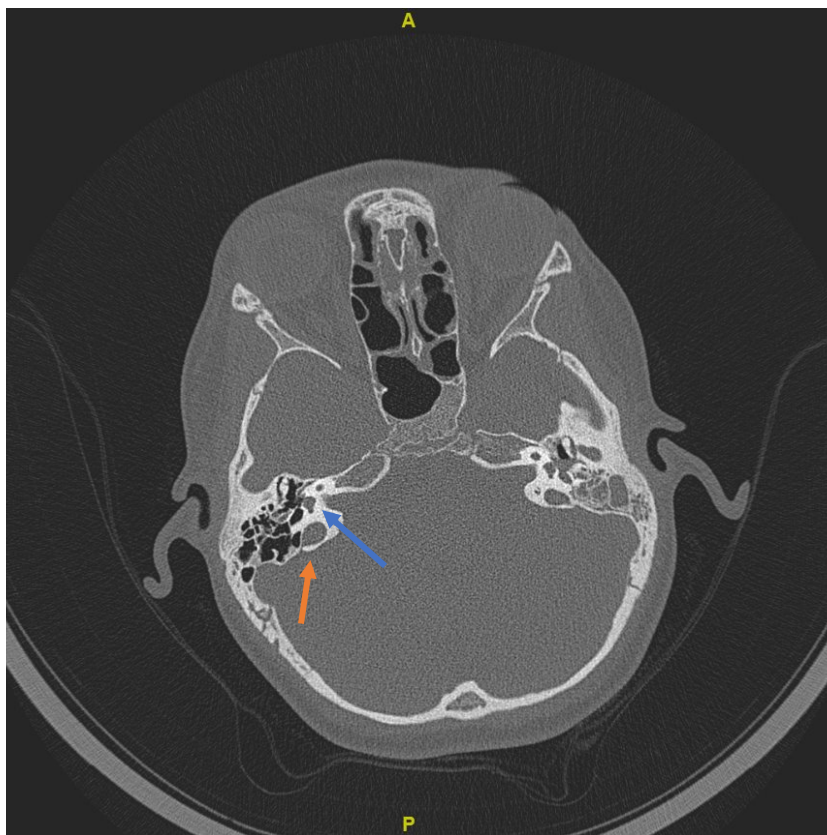
Se ha descrito que la hipoacusia puede ser de tipo conductiva (30%), neurosensorial (20%) o mixta (50%) y desde un grado leve hasta un grado profundo. Por lo que debe realizarse a todos los pacientes con sospecha o diagnóstico genético de este síndrome un TAC de peñascos para estudiar el oído interno y medio (Castiglione et al., 2014).

Los dos pacientes de nuestro estudio presentan mutaciones en el gen *EYA1*.

El primer paciente se trata de un varón de 2 años de edad que presenta una hipoacusia prelingual, bilateral, mixta, grado moderado-severo y estable (figura 45). Además, asocia fístula en 2º arco branquial y dismorfia facial. En el TC de Peñascos realizado se observó una malformación del oído interno bilateral (figura 46).



**Figura 45. Audiometría tonal paciente N°79.** Observamos una hipoacusia mixta bilateral y simétrica grado moderado-severo con afectación predominante en las frecuencias graves, fenotipo característico en las hipoacusias genéticas causadas por mutaciones en el gen EYA1.



**Figura 46. TAC Peñascos paciente Nº79. Corte Axial.** Observamos una malformación de oído interno bilateral y simétrica que consiste en un defecto de septación de espiras medias y apical con ápex coclear de aspecto quístico (flecha azul) y una enorme dilatación del acueducto vestibular (flecha naranja), constituyendo una partición incompleta tipo II.

El segundo paciente está pendiente de finalizar el estudio auditivo debido a que en el screening auditivo al nacimiento no paso las Otoemisiones

acústicas de forma bilateral. Además, presenta fositas y apéndices auriculares bilaterales.

#### 5.2.4 *Síndrome de Stickler*

Es una enfermedad del tejido conjuntivo que incluye problemas oftalmológicos, auditivos, articulares y dismorfismos faciales.

En nuestro estudio, los dos pacientes con Síndrome de Stickler pertenecen a la misma familia (madre e hijo) y fueron remitidos a la Unidad de Genética tras el diagnóstico de Hipoacusia neurosensorial bilateral. En ambos se detectó una mutación en el gen *COL11A2*. La mutación c.4392+1G>A fue descrita previamente por Brunner *et al.* en 1994, asociada al Síndrome de Stickler sin afectación ocular. Tras el diagnóstico genético, se revisó clínicamente a los pacientes y se observó que ambos presentan alteraciones maxilofaciales y problemas osteoarticulares junto a una hipoacusia neurosensorial bilateral postlingual. El primer caso de grado leve-moderado y evolución estable y el segundo caso de grado severo-profundo y de carácter progresivo. Como vemos, a pesar de que ambos sufren la misma mutación, c.4392+1G>A, el fenotipo de su hipoacusia es diferente. Además, ninguno de los dos pacientes sufre patología a nivel ocular.

En general, los pacientes con este síndrome, suelen presentar hipoacusias neurosensoriales, estables y con un grado leve. Cuando la hipoacusia es

mixta o conductiva se observa principalmente en niños debido a otitis medias crónicas asociadas (McGuirt et al., 1999).

En concreto, en los pacientes con mutaciones en el gen *COL11A2*, es más frecuente observar sorderas no progresivas, aunque de mayor severidad y afectando las frecuencias graves y medias (McGuirt et al., 1999).

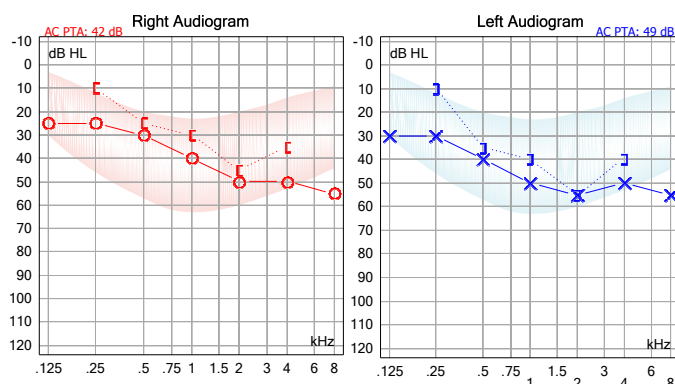
Brunner et al. en 1994 publicaron, en su serie de 16 pacientes con mutaciones en el gen *COL11A2*, que la hipoacusia se caracterizaba por ser de tipo neurosensorial, grado leve-moderado, progresivas y afectando a todas las frecuencias. Además, en algunos pacientes se asociaban otitis medias de repetición causando hipoacusias mixtas y de transmisión.

#### *5.2.5 Síndrome de Sordera-Infertilidad*

La delección en homocigosis de los genes *STRC* y *CATSPER2* en el cromosoma 15q15 dan lugar al síndrome de sordera-infertilidad masculina (DIS), de herencia autosómico-recesiva, que se caracteriza por una hipoacusia de inicio temprano (normalmente de carácter moderado) en hombres y mujeres e infertilidad exclusivamente masculina, ya que estos genes se expresan en el oído interno y en el semen (del Castillo et al., 2002).

En nuestro estudio hemos detectado este síndrome en 3 pacientes de edad pediátrica (dos niños y una niña), presentando todos el mismo fenotipo, hipoacusia neurosensorial bilateral, simétrica, postlingual, moderada y

estable (figura 47). Los pacientes del género masculino, además de la sordera, sufrirán en un futuro infertilidad. En el paciente varón, el diagnóstico ha sido presintomático, lo que es importante de cara al pronóstico y asesoramiento genético de los pacientes



**Figura 47. Audiometría tonal paciente N°18. Observamos una hipoacusia neurosensorial bilateral y simétrica grado leve.**

### 5.3 El presente y el futuro de la hipoacusia hereditaria:

La introducción de las técnicas de secuenciación masiva, ha permitido facilitar el diagnóstico genético en las enfermedades con gran heterogeneidad genética como es la hipoacusia.

Tras el análisis y redacción de este estudio, apoyamos las últimas recomendaciones publicadas en la CODEPEH sobre el estudio genético. Sugieren como primera opción la secuenciación de la NGS limitada a un

panel de genes determinado según la etnicidad de la población a estudiar. Pero hay que tener en cuenta que uno de los problemas de la NGS es la interpretación clínica de los hallazgos. Se ha observado que hasta un 30% de las variantes genéticas que se habían descrito como causa de enfermedad en la literatura, se podrían haber malinterpretado (Núñez-Batalla et al., 2020). Por esto, es necesario compartir la información que obtenemos de los estudios con la comunidad científica.

La frontera entre las hipoacusias sindrómicas y no sindrómicas es difícil de detallar debido a que muchos signos clínicos que acompañan las hipoacusias sindrómicas aparecen en edad tardía y, además, su expresividad es muy variable. Por lo tanto, es recomendable incluir los genes implicados en hipoacusias sindrómicas frecuentes en el panel de secuenciación, permitiendo así una mayor tasa de diagnóstico y un diagnóstico presintomático de los síntomas asociados que aparecerán posteriormente.

El trabajo en equipo entre otorrinolaringólogos y genetistas es fundamental. En la fase de diagnóstico, los genetistas requieren del conocimiento clínico de los pacientes para una correcta interpretación de los resultados obtenidos y por tanto para el diagnóstico genético, para ello es importante una buena anamnesis y exploración física del paciente por parte de los otorrinolaringólogos.

Una vez resuelto el diagnóstico, los otorrinolaringólogos tenemos que ser capaces de informar al paciente y su familia de los resultados, pero los



profesionales especialistas en genética aportarán al paciente mayor información sobre el riesgo de transmisión a su descendencia y en la toma de decisiones reproductivas, responsabilizándose del proceso de asesoramiento genético.

La identificación de los genes responsables de la hipoacusia, nos ayuda a predecir la evolución de nuestros pacientes y por tanto adelantarnos a la hora de elegir la opción terapéutica más adecuada en cada caso (prótesis auditivas, cirugía de implante coclear, futuras terapias génicas...). Los dispositivos auditivos son muy efectivos, pero no restauran la audición “normal”, lo que hace que el desarrollo de terapias génicas para restaurar o prevenir la hipoacusia sea una meta actualmente en estudio.

Se están implementando varios enfoques terapéuticos a nivel genético como son: la suplementación, silenciamiento o edición de genes.

La terapia génica más utilizada hasta la fecha es un “transgén” funcional o terapéutico que reemplaza o complementa el gen defectuoso responsable de la hipoacusia. El transgén se administra directamente a las células diana o se reconstituye en los núcleos de las mismas. Pueden tratarse con esta estrategia las mutaciones recesivas bialélicas y las mutaciones dominantes con pérdida de función (Delmaghani and El-Amraoui, 2020).

El oído interno es particularmente susceptible a las intervenciones terapéuticas por dos razones fundamentales: en primer lugar, el órgano está compuesto de compartimentos confinados a los que se puede administrar el agente terapéutico con un riesgo mínimo de difusión al resto de tejidos circundantes y, en segundo lugar, el oído está lleno de fluidos (endolinfa y perilinfa), favoreciendo la diseminación a un gran número de células diana si se administran localmente agentes terapéuticos.

Se ha descrito, que la forma más común y exitosa de administrar agentes al oído interno, es un abordaje intracoclear a través de la ventana redonda llegando a la rampa timpánica (Delmaghani and El-Amraoui, 2020).

Concretamente, se han observado resultados prometedores en el tratamiento de la hipoacusia relacionada con mutaciones del gen *OTOF* en estudios experimentales con roedores y posteriormente en primates no humanos. Esto ha motivado a empresas de biotecnología como DECIBEL a comenzar ensayos clínicos Fase 1 en niños. El primero de ellos tiene como objetivo, tratar la hipoacusia neurosensorial causada por mutaciones del gen *OTOF* en niños con sordera de grado severo-profundo. Los niños candidatos para incluirlos en el estudio deben ser cribados y diagnosticados precozmente ya que en estudios preliminares se ha estimado que la edad óptima para realizar el tratamiento es antes de los dos años de edad. Esto ha sido investigado y descrito por varios autores como *Akil et al. en 2019*,

*Santarelli et al. en 2009 y 2015, Rodríguez Ballesteros et al. en 2003, Vargas et al. en 2003 y Chiu et al. en 2010.*

## 6 CONCLUSIONES

1. El panel NGS diseñado en este trabajo presenta una eficacia diagnóstica del 45,40% en pacientes con hipoacusia neurosensorial y/o mixta bilateral.
2. Los loci/genes responsables de hipoacusia hereditaria más frecuentes en nuestro estudio han sido *DFNB1*, *MYO6* y *TECTA*.
3. Se han identificado mutaciones patológicas en 27 genes diferentes, corroborando la elevada heterogeneidad genética que presentan las hipoacusias hereditarias.
4. Hemos detectado 79 mutaciones diferentes, de las cuales 28 no han sido descritas previamente, es decir, el 35.44% de las mutaciones encontradas, son noveles. Lo que contribuye a aumentar el conocimiento sobre las bases genéticas de las hipoacusias.
5. Hemos observado una relación estadísticamente significativa entre presentar antecedentes familiares de hipoacusia  $\pm$  sordera prelingual y diagnosticar la causa genética de la misma. Por lo que podríamos concluir que el diagnóstico genético mediante panel NGS, será más coste-efectivo en pacientes con estas dos características clínicas.

6. El análisis de la correlación genotipo-fenotipo llevado a cabo en este estudio nos ha sido útil para comprender mejor la historia natural de la hipoacusia en cada paciente y nos permitirá realizar valoraciones terapéuticas y pronósticas en los nuevos pacientes que se vayan estudiando en los años venideros.

## 7 BIBLIOGRAFÍA

Aguirre, L.A., del Castillo, I., Macaya, A., Medá, C., Villamar, M., Moreno-Pelayo, M.A., Moreno, F., 2006. A novel mutation in the gene encoding TIMM8a, a component of the mitochondrial protein translocase complexes, in a Spanish familial case of deafness-dystonia (Mohr–Tranebjaerg) syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* 140A, 392–397.  
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.31079>

Alford, R.L., Arnos, K.S., Fox, M., Lin, J.W., Palmer, C.G., Pandya, A., Rehm, H.L., Robin, N.H., Scott, D.A., Yoshinaga-Itano, C., 2014. American College of Medical Genetics and Genomics guideline for the clinical evaluation and etiologic diagnosis of hearing loss. *Genet. Med.* 16, 347–355.  
<https://doi.org/10.1038/gim.2014.2>

Aller, E., Jaijo, T., Beneyto, M., Najera, C., Oltra, S., Ayuso, C., Baiget, M., Carballo, M., Antinolo, G., Valverde, D., Moreno, F., Vilela, C., Collado, D., Perez-Garrigues, H., Navea, A., Millan, J.M., 2006. Identification of 14 novel mutations in the long isoform of USH2A in Spanish patients with Usher syndrome type II. *J. Med. Genet.* 43, e55–e55.  
<https://doi.org/10.1136/jmg.2006.041764>

Alshuaib, W.B., Al-Kandari, J.M., Hasan, S.M., 2015. Classification of Hearing Loss, Update On Hearing Loss. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/61835>

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., Greenberg, J., Ramesar, R., Reardon, W., Bitoun, P., Millan, J., Legge, R., Friedman, T.B., Kimberling, W.J., 2002. *CDH23 Mutation and Phenotype Heterogeneity: A Profile of 107 Diverse Families with Usher Syndrome and Nonsyndromic Deafness*. *Am. J. Hum. Genet.* 71, 262–275. <https://doi.org/10.1086/341558>

Barteik, M., Reynoso, R., Martín, M., Curet, C., Barral, J.M., 2009. *Espectro de mutaciones en el gen de la Otoferlina (OTOF) en pacientes argentinos con hipoacusia no sindrómica y neuropatía auditiva*. *FASO* 16

Besnard, T., García-García, G., Baux, D., Vaché, C., Faugère, V., Larrieu, L., Léonard, S., Millan, J.M., Malcolm, S., Claustres, M., Roux, A., 2014. *Experience of targeted Usher exome sequencing as a clinical test*. *Mol. Genet. Genomic Med.* 2, 30–43. <https://doi.org/10.1002/mgg3.25>

Besnard, T., Vaché, C., Baux, D., Larrieu, L., Abadie, C., Blanchet, C., Odent, S., Blanchet, P., Calvas, P., Hamel, C., Dollfus, H., Lina-Granade, G., Lespinasse, J., David, A., Isidor, B., Morin, G., Malcolm, S., Tuffery-Giraud, S., Claustres, M., Roux, A.-F., 2012. *Non-USH2A mutations in USH2 patients*. *Hum. Mutat.* 33, 504–510. <https://doi.org/10.1002/humu.22004>

Biacabe, B., Bonfils, P., Mom, T., Avan, P., 2000. Anatomía funcional de las vías auditivas. *EMC - Otorrinolaringol.* 29, 1–9.

[https://doi.org/10.1016/S1632-3475\(00\)71948-5](https://doi.org/10.1016/S1632-3475(00)71948-5)

Bischoff, A.M.L.C., Luijendijk, M.W.J., Huygen, P.L.M., van Duijnhoven, G., De Leenheer, E.M.R., Oudesluijs, G.G., van Laer, L., Cremers, F.P.M., Cremers, C.W.R.J., Kremer, H., 2004. A Novel Mutation Identified in the DFNA5 Gene in a Dutch Family: A Clinical and Genetic Evaluation. *Audiol. Neurotol.* 9, 34–46. <https://doi.org/10.1159/000074185>

Bolz, H.J., 2016. *Hereditary Hearing Loss and Its Syndromes Third Edition.* *Eur. J. Hum. Genet.* 24, 1650–1650. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2016.67>

Bonnet, C., Riahi, Z., Chantot-Bastarud, S., Smagghe, L., Letexier, M., Marcaillou, C., Lefèvre, G.M., Hardelin, J.-P., El-Amraoui, A., Singh-Estivalet, A., Mohand-Saïd, S., Kohl, S., Kurtenbach, A., Sliesoraityte, I., Zobor, D., Gherbi, S., Testa, F., Simonelli, F., Banfi, S., Fakin, A., Glavač, D., Jarc-Vidmar, M., Zupan, A., Battelino, S., Martorell Sampol, L., Claveria, M.A., Catala Mora, J., Dad, S., Møller, L.B., Rodriguez Jorge, J., Hawlina, M., Auricchio, A., Sahel, J.-A., Marlin, S., Zrenner, E., Audo, I., Petit, C., 2016. An innovative strategy for the molecular diagnosis of Usher syndrome identifies causal biallelic mutations in 93% of European patients. *Eur. J. Hum. Genet.* 24, 1730–1738. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2016.99>



Brunner, H.G., van Beersum, S.E.C., Warman, M.L., Olsen, B.R., Ropers, H.-H., Mariman, E.C.M., 1994. A Stickler syndrome gene is linked to chromosome 6 near the COL11A2 gene. *Hum. Mol. Genet.* 3, 1561–1564.

<https://doi.org/10.1093/hmg/3.9.1561>

Butz, M., McDonald, A., Lundquist, P.A., Meyer, M., Harrington, S., Kester, S., Stein, M.I., Mistry, N.A., Zimmerman Zuckerman, E., Niu, Z., Schimmenti, L., Hasadsri, L., Boczek, N.J., 2020. Development and Validation of a Next-Generation Sequencing Panel for Syndromic and Nonsyndromic Hearing Loss. *J. Appl. Lab. Med.* 5, 467–479. <https://doi.org/10.1093/jalm/jfaa021>

Cabanillas Farpón, R., Cadiñanos Bañales, J., 2012. Hipoacusias hereditarias: asesoramiento genético. *Acta Otorrinolaringológica Esp.* 63, 218–229.

<https://doi.org/10.1016/j.otorri.2011.02.006>

Cabanillas, R., Diñeiro, M., Cifuentes, G.A., Castillo, D., Pruneda, P.C., Álvarez, R., Sánchez-Durán, N., Capín, R., Plasencia, A., Viejo-Díaz, M., García-González, N., Hernando, I., Llorente, J.L., Repáraz-Andrade, A., Torreira-Banzas, C., Rosell, J., Govea, N., Gómez-Martínez, J.R., Núñez-Batalla, F., Garrote, J.A., Mazón-Gutiérrez, Á., Costales, M., Isidoro-García, M., García-Berrocal, B., Ordóñez, G.R., Cadiñanos, J., 2018. Comprehensive genomic diagnosis of non-syndromic and syndromic hereditary hearing loss in Spanish patients. *BMC Med. Genomics* 11, 58.

<https://doi.org/10.1186/s12920-018-0375-5>

Casazza, G., Meier, J.D., 2017. Evaluation and management of syndromic congenital hearing loss. *Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 25, 378–384. <https://doi.org/10.1097/MOO.0000000000000397>

Castiglione, A., Melchionda, S., Carella, M., Trevisi, P., Bovo, R., Manara, R., Martini, A., 2014. EYA1-related disorders: Two clinical cases and a literature review. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 78, 1201–1210. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2014.03.032>

Cohen, M., John A. Phillips III, 2012. Genetic Approach to Evaluation of Hearing Loss. *Otolaryngol Clin N Am* 45, 25–39. <https://doi.org/doi:10.1016/j.otc.2011.08.015>

D. P. Kelsell, J. Dunlop, H.P.Stevens, N.J. Lench, J.N. Liang, G. Parry, R.F. Mueller & I. M. Leigh, 1997. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. *Nature* 387, 80–83. <https://doi.org/10.1038/387080a0>

Deafness Variation Database [WWW Document], n.d. URL <https://deafnessvariationdatabase.org/new> (accessed 2.11.21).

del Castillo, F.J., 2005. A novel deletion involving the connexin-30 gene, del(GJB6-d13s1854), found in trans with mutations in the GJB2 gene (connexin-26) in subjects with DFNB1 non-syndromic hearing impairment. *J. Med. Genet.* 42, 588–594. <https://doi.org/10.1136/jmg.2004.028324>

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. *N. Engl. J. Med.* 346, 243–249. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa012052>

Delmaghani, S., El-Amraoui, A., 2020. Inner Ear Gene Therapies Take Off: Current Promises and Future Challenges. *J. Clin. Med.* 9, 2309. <https://doi.org/10.3390/jcm9072309>

Denoyelle, F., Marlin, S., Weil, D., Moatti, L., Chauvin, P., Garabédian, É.-N., Petit, C., 1999. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counselling. *The Lancet* 353, 1298–1303. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)11071-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)11071-1)

Dominguez Laura M, Dodson, K.M., 2012. Genetics of hearing loss: focus on DFNA2. *Appl. Clin. Genet.* 5, 97. <https://doi.org/10.2147/TACG.S35525>

Donaudy, F., 2005. Espin gene (ESPN) mutations associated with autosomal dominant hearing loss cause defects in microvillar elongation or organisation. *J. Med. Genet.* 43, 157–161. <https://doi.org/10.1136/jmg.2005.032086>

Egilmez, O.K., Kalcioglu, M.T., 2016. Genetics of Nonsyndromic Congenital Hearing Loss. *Hindawi Publ. Corp. Sci.* 2016, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2016/7576064>

Eppsteiner, R.W., Shearer, A.E., Hildebrand, M.S., DeLuca, A.P., Ji, H., Dunn, C.C., Black-Ziegelbein, E.A., Casavant, T.L., Braun, T.A., Scheetz, T.E., Scherer, S.E., Hansen, M.R., Gantz, B.J., Smith, R.J.H., 2012. Prediction of cochlear implant performance by genetic mutation: The spiral ganglion hypothesis. *Hear. Res.* 292, 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2012.08.007>

Farjami, M., Asadi, R., Afzal Javan, F., Alimardani, M., Eslami, S., Mansoori Derakhshan, S., Eslahi, A., Mojarad, M., 2020. The worldwide frequency of MYO15A gene mutations in patients with autosomal recessive non-syndromic hearing loss: A meta-analysis. *Iran. J. Basic Med. Sci.* 23. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.35977.8563>

Fowler, A., Mahamdallie, S., Ruark, E., Seal, S., Ramsay, E., Clarke, M., Uddin, I., Wylie, H., Strydom, A., Lunter, G., Rahman, N., 2016. Accurate clinical detection of exon copy number variants in a targeted NGS panel using DECoN. *Wellcome Open Res.* 1, 20. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.10069.1>

Fuster-García, C., García-Bohórquez, B., Rodríguez-Muñoz, A., Aller, E., Jaijo, T., Millán, J.M., García-García, G., 2021. Usher Syndrome: Genetics of a Human Ciliopathy. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 6723. <https://doi.org/10.3390/ijms22136723>

Gao, Y., Yechikov, S., Vázquez, A.E., Chen, D., Nie, L., 2013. Impaired surface expression and conductance of the KCNQ 4 channel lead to sensorineural

García-García, G., Besnard, T., Baux, D., Vaché, C., Aller, E., Malcolm, S., Claustres, M., Millan, J.M., Roux, A.-F., 2013. The contribution of GPR98 and DFNB31 genes to a Spanish Usher syndrome type 2 cohort. *Mol. Vis.* 7.

Green, G.E., 1999. Carrier Rates in the Midwestern United States for GJB2 Mutations Causing Inherited Deafness. *JAMA* 281, 2211.

<https://doi.org/10.1001/jama.281.23.2211>

Hildebrand, M.S., Morín, M., Meyer, N.C., Mayo, F., Modamio-Hoybjor, S., Mencía, A., Olavarrieta, L., Morales-Angulo, C., Nishimura, C.J., Workman, H., DeLuca, A.P., del Castillo, I., Taylor, K.R., Tompkins, B., Goodman, C.W., Schrauwen, I., Wesemael, M.V., Lachlan, K., Shearer, A.E., Braun, T.A., Huygen, P.L.M., Kremer, H., Van Camp, G., Moreno, F., Casavant, T.L., Smith, R.J.H., Moreno-Pelayo, M.A., 2011. DFNA8/12 caused by TECTA mutations is the most identified subtype of nonsyndromic autosomal dominant hearing loss. *Hum. Mutat.* 32, 825–834. <https://doi.org/10.1002/humu.21512>

Hilgert, N., Smith, R., Camp, G., 2009. Function and Expression Pattern of Nonsyndromic Deafness Genes. *Curr. Mol. Med.* 9, 546–564.

<https://doi.org/10.2174/156652409788488775>

Huang, B.Y., Zdanski, C., Castillo, M., 2012. Pediatric Sensorineural Hearing Loss, Part 2: Syndromic and Acquired Causes. *Am. J. Neuroradiol.* 33, 399–406. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A2499>

Hutchin, T., Coy, N., Conlon, H., Telford, E., Bromelow, K., Blaydon, D., Taylor, G., Coghill, E., Brown, S., Trembath, R., Liu, X., Bitner-Glindzicz, M., Mueller, R., 2005. Assessment of the genetic causes of recessive childhood non-syndromic deafness in the UK - implications for genetic testing: Genetics of childhood deafness. *Clin. Genet.* 68, 506–512.

<https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2005.00539.x>

Jaijo, T., Aller, E., García-García, G., Aparisi, M.J., Bernal, S., Ávila-Fernández, A., Barragán, I., Baiget, M., Ayuso, C., Antiñolo, G., Díaz-Llopis, M., Külm, M., Beneyto, M., Nájera, C., Millán, J.M., 2010. Microarray-Based Mutation Analysis of 183 Spanish Families with Usher Syndrome. *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.* 51, 1311.

<https://doi.org/10.1167/iovs.09-4085>

Jonathan M. Melzer, Michael Eliason,, George S. Conley, 2016. Congenital Stapes Malformation: Rare Conductive Hearing Loss in a Patient With Waardenburg Syndrome. *The Laryngoscope* 126, 992–995.

<https://doi.org/DOI: 10.1002/lary.25443>

Kalay, E., Uzumcu, A., Krieger, E., Çaylan, R., Uyguner, O., Ulubil-Emiroglu, M., Erdol, H., Kayserili, H., Hafiz, G., Başerer, N., Heister, A.J.G.M., Hennies, H.C., Nürnberg, P., Başaran, S., Brunner, H.G., Cremers, C.W.R.J., Karaguzel, A., Wollnik, B., Kremer, H., 2007. MYO15A (DFNB3) mutations in Turkish hearing loss families and functional modeling of a novel motor domain mutation. *Am. J. Med. Genet. A.* 143A, 2382–2389.

<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.31937>

Karzon, R., Narayanan, A., Chen, L., Lieu, J.E.C., Hershey, T., 2018. Longitudinal hearing loss in Wolfram syndrome. *Orphanet J. Rare Dis.* 13, 102. <https://doi.org/10.1186/s13023-018-0852-0>

Karzon, R.K., Hullar, T.E., 2013. Audiologic and Vestibular Findings in Wolfram Syndrome. *Ear Hear.* 34, 809–812. <https://doi.org/10.1097/AUD.0b013e3182944db7>

Kenna, M.A., Feldman, H.A., Neault, M.W., Frangulov, A., Wu, B.-L., Fligor, B., Rehm, H.L., 2010. Audiologic Phenotype and Progression in GJB2 (Connexin 26) Hearing Loss. *Arch. Otolaryngol. Neck Surg.* 136, 81. <https://doi.org/10.1001/archoto.2009.202>

Kenneson, A., Van Naarden Braun, K., Boyle, C., 2002. GJB2 (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: A HuGE review. *Genet. Med.* 4, 258–274. <https://doi.org/10.1097/00125817-200207000-00004>

Koffler, T., Ushakov, K., Avraham, K.B., 2015. Genetics of Hearing Loss. *Otolaryngol. Clin. North Am.* 48, 1041–1061. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2015.07.007>

Korver, A.M.H., Smith, R.J.H., Van Camp, G., Schleiss, M.R., Bitner-Glindzicz, M.A.K., Lustig, L.R., Usami, S., Boudewyns, A.N., 2017. Congenital hearing loss. *Nat. Rev. Dis. Primer* 3, 16094. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.94>

Kothiyal, P., Cox, S., Ebert, J., Husami, A., Kenna, M.A., Greinwald, J.H., Aronow, B.J., Rehm, H.L., 2010. High-throughput detection of mutations responsible for childhood hearing loss using resequencing microarrays. *BMC Biotechnol.* 10, 10. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-10-10>

Kwon, T.-J., Oh, S.-K., Park, H.-J., Sato, O., Venselaar, H., Choi, S.Y., Kim, S., Lee, K.-Y., Bok, J., Lee, S.-H., Vriend, G., Ikebe, M., Kim, U.-K., Choi, J.Y., 2014. The effect of novel mutations on the structure and enzymatic activity of unconventional myosins associated with autosomal dominant non-syndromic hearing loss. *Open Biol.* 4, 140107. <https://doi.org/10.1098/rsob.140107>

Li, X., Sanneman, J.D., Harbidge, D.G., Zhou, F., Ito, T., Nelson, R., Picard, N., Chambrey, R., Eladari, D., Miesner, T., Griffith, A.J., Marcus, D.C., Wangemann, P., 2013. SLC26A4 Targeted to the Endolymphatic Sac Rescues Hearing and Balance in Slc26a4 Mutant Mice. *PLoS Genet.* 9, e1003641. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003641>

Lin, J.W., Chowdhury, N., Mody, A., Tonini, R., Emery, C., Haymond, J., Oghalai, J.S., 2011. Comprehensive Diagnostic Battery for Evaluating Sensorineural Hearing Loss in Children. *Otol. Neurotol.* 32, 259–264. <https://doi.org/10.1097/MAO.0b013e31820160fa>



Liquori, A., Vaché, C., Baux, D., Blanchet, C., Hamel, C., Malcolm, S., Koenig, M., Claustres, M., Roux, A.-F., 2016. Whole USH2A Gene Sequencing Identifies Several New Deep Intronic Mutations. *Hum. Mutat.* 37, 184–193. <https://doi.org/10.1002/humu.22926>

Lisbeth Tranebjærg, N., Mp, R.A.S., Hh, G.E.G., 2017. Jervell and Lange-Nielsen Syndrome. *Gene Reviews*.

Lucía Borreguero Escribano, 2016. *Epidemiología Genética en Pacientes Españoles con Hipoacusia de Herencia Autosómica Dominante, Sindrómica y No Sindrómica, utilizando Herramientas de Nueva Generación: array-CGH y Secuenciación Masiva (Departamento de Bioquímica). Universidad Autónoma de Madrid, Madrid.*

Lv, Y., Gu, J., Qiu, H., Li, H., Zhang, Z., Yin, S., Mao, Y., Kong, L., Liang, B., Jiang, H., Liu, C., 2019. Whole-exome sequencing identifies a donor splice-site variant in SMPX that causes rare X-linked congenital deafness. *Mol. Genet. Genomic Med.* 7. <https://doi.org/10.1002/mgg3.967>

Madden, C., Rutter, M., Hilbert, L., Greinwald, Jr, J.H., Choo, D.I., 2002. Clinical and Audiological Features in Auditory Neuropathy. *Arch. Otolaryngol. Neck Surg.* 128, 1026. <https://doi.org/10.1001/archotol.128.9.1026>

Maekawa, K., Nishio, S., Abe, S., Goto, S., Honkura, Y., Iwasaki, S., Kanda, Y., Kobayashi, Y., Oka, S., Okami, M., Oshikawa, C., Sakuma, N., Sano, H., Shirakura, M., Uehara, N., Usami, S., 2019. *Mutational Spectrum and Clinical Features of Patients with LOXHD1 Variants Identified in an 8074 Hearing Loss Patient Cohort. Genes* 10, 735. <https://doi.org/10.3390/genes10100735>

Mandelker, D., Amr, S.S., Pugh, T., Gowrisankar, S., Shakhbatyan, R., Duffy, E., Bowser, M., Harrison, B., Lafferty, K., Mahanta, L., Rehm, H.L., Funke, B.H., 2014. *Comprehensive Diagnostic Testing for Stereocilin. J. Mol. Diagn.* 16, 639–647. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2014.06.003>

Manrique Rodríguez MJ, Romero Panadero MD., 2002. *Clasificación y etiología de la hipoacusia neurosensorial. Masson, Barcelona.*

María Domínguez Ruiz, 2015. *Estudio Molecular De Genes Implicados En Hipoacusia No Sindrómica Autosómica Recesiva Mediante Secuenciación Sanger Y De Nueva Generación (Programa De Doctorado De Genética Y Biología Celular). Universidad Autónoma de Madrid, Madrid.*

Marlin, S., Garabédian, É.-N., Roger, G., Moatti, L., Matha, N., Lewin, P., Petit, C., Denoyelle, F., 2001. *Connexin 26 Gene Mutations in Congenitally Deaf Children: Pitfalls for Genetic Counseling. Arch. Otolaryngol. Neck Surg.* 127, 927. <https://doi.org/10.1001/archotol.127.8.927>

McGuirt, W.T., Prasad, S.D., Griffith, A.J., Kunst, H.P.M., Green, G.E., Shpargel, K.B., Runge, C., Huybrechts, C., Mueller, R.F., Lynch, E., King, M.-C., Brunner, H.G., Cremers, C.W.R.J., Takanosu, M., Li, S.-W., Arita, M., Mayne, R., Prockop, D.J., Camp, G.V., Smith, R.J.H., 1999. Mutations in COL11A2 cause non-syndromic hearing loss (DFNA13). *Nat. Genet.* 23, 413–419. <https://doi.org/10.1038/70516>

Migliosi, V., 2002. Q829X, a novel mutation in the gene encoding otoferlin (OTOF), is frequently found in Spanish patients with prelingual non-syndromic hearing loss. *J. Med. Genet.* 39, 502–506. <https://doi.org/10.1136/jmg.39.7.502>

Miyagawa, M., Nishio, S., Ikeda, T., Fukushima, K., Usami, S., 2013. Massively Parallel DNA Sequencing Successfully Identifies New Causative Mutations in Deafness Genes in Patients with Cochlear Implantation and EAS. *PLoS ONE* 8, e75793. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075793>

Moreno-Pelayo, M.Á., Goodyear, R.J., Mencía, A., Modamio-Høybjør, S., Legan, P.K., Olavarrieta, L., Moreno, F., Richardson, G.P., 2008. Characterization of a Spontaneous, Recessive, Missense Mutation Arising in the Tecta Gene. *J. Assoc. Res. Otolaryngol.* 9, 202–214. <https://doi.org/10.1007/s10162-008-0116-0>

Moreno-Pelayo, M.A., Hernández-Calvín, F.J., Herraiz, C., Barberá, R., Navas, C., Moreno, F., n.d. A cysteine substitution in the zona pellucida domain of tectorin results in autosomal dominant, postlingual, progressive, mid frequency hearing loss in a Spanish family 4.

Morton, C.C., Nance, W.E., 2006. Newborn Hearing Screening — A Silent Revolution. *N. Engl. J. Med.* 354, 2151–2164.

<https://doi.org/10.1056/NEJMra050700>

Najmabadi, H., Nishimura, C., Kahrizi, K., Riazalhosseini, Y., Malekpour, M., Daneshi, A., Farhadi, M., Mohseni, M., Mahdieh, N., Ebrahimi, A., Bazazzadegan, N., Naghavi, A., Avenarius, M., Arzhanghi, S., Smith, R.J.H., 2005. GJB2 mutations: Passage through Iran. *Am. J. Med. Genet. A.* 133A, 132–137. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30576>

Nal, N., Ahmed, Z.M., Erkal, E., Alper, Ö.M., Lüleci, G., Dinç, O., Waryah, A.M., Ain, Q., Tasneem, S., Husnain, T., Chattaraj, P., Riazuddin, Saima, Boger, E., Ghosh, M., Kabra, M., Riazuddin, Sheikh, Morell, R.J., Friedman, T.B., 2007. Mutational spectrum of MYO15A : the large N-terminal extension of myosin XVA is required for hearing. *Hum. Mutat.* 28, 1014–1019.

<https://doi.org/10.1002/humu.20556>

Neuhaus, C., Eisenberger, T., Decker, C., Nagl, S., Blank, C., Pfister, M., Kennerknecht, I., Müller-Hofstede, C., Charbel Issa, P., Heller, R., Beck, B., Rüter, K., Mitter, D., Rohrschneider, K., Steinhauer, U., Korbmacher, H.M., Huhle, D., Elsayed, S.M., Taha, H.M., Baig, S.M., Stöhr, H., Preising, M., Markus, S., Moeller, F., Lorenz, B., Nagel-Wolfrum, K., Khan, A.O., Bolz, H.J., 2017. Next-generation sequencing reveals the mutational landscape of clinically diagnosed Usher syndrome: copy number variations, phenocopies, a predominant target for translational read-through, and PEX26 mutated in Heimler syndrome. *Mol. Genet. Genomic Med.* 5, 531–552.  
<https://doi.org/10.1002/mgg3.312>

Nobukuni, Y., Tachibana, M., 1996. Analyses of Loss-of-Function Mutations of the MITF Gene Suggest That Haploinsufficiency Is a Cause of Waardenburg Syndrome Type 2A. *Am J Hum Genet* 8.

Nonose, R.W., Lezirovitz, K., de Mello Auricchio, M.T.B., Batisso, A.C., Yamamoto, G.L., Mingroni-Netto, R.C., 2018. Mutation analysis of SLC26A4 (Pendrin) gene in a Brazilian sample of hearing-impaired subjects. *BMC Med. Genet.* 19, 73. <https://doi.org/10.1186/s12881-018-0585-x>

Núñez-Batalla, F., Jáudenes-Casabón, C., Sequí-Canet, J.M., Vivanco-Allende, A., Zubicaray-Ugarteche, J., Olleta Lascarro, I., 2021. Programas de cribado de la hipoacusia congénita en 2020: recomendaciones CODEPEH. *Acta Otorrinolaringológica Esp.* 72, 312–323.  
<https://doi.org/10.1016/j.otorri.2020.06.009>

Núñez-Batalla, F., Jáudenes-Casaubón, C., Sequí-Canet, J.M., Vivanco-Allende, A., Zubicaray-Ugarteche, J., Olleta Lascarro, I., 2020. Programas de cribado de la hipoacusia congénita en 2020: recomendaciones CODEPEH. *Acta Otorrinolaringológica Esp.* S0001651920301552. <https://doi.org/10.1016/j.otorri.2020.06.009>

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD), {2022}. World Wide Web URL: <https://omim.org/>

Organization, W.H., 2016. *Childhood hearing loss: strategies for prevention and care.* World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/204632>

Ouyang, X.M., Yan, D., Du, L.L., Hejtmancik, J.Fielding., Jacobson, S.G., Nance, W.E., Li, A.R., Angeli, S., Kaiser, M., Newton, V., Brown, S.D.M., Balkany, T., Liu, X.Z., 2005. Characterization of Usher syndrome type I gene mutations in an Usher syndrome patient population. *Hum. Genet.* 116, 292–299. <https://doi.org/10.1007/s00439-004-1227-2>

Pera, A., Villamar, M., Viñuela, A., Gandía, M., Medà, C., Moreno, F., Hernández-Chico, C., 2008. A mutational analysis of the SLC26A4 gene in Spanish hearing-impaired families provides new insights into the genetic causes of Pendred syndrome and DFNB4 hearing loss. *Eur. J. Hum. Genet.* 16, 888–896. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2008.30>

Plantinga, R.F., de Brouwer, A.P.M., Huygen, P.L.M., Kunst, H.P.M., Kremer, H., Cremers, C.W.R.J., 2006. A Novel TECTA Mutation in a Dutch DFNA8/12 Family Confirms Genotype–Phenotype Correlation. *J. Assoc. Res. Otolaryngol.* 7, 173–181. <https://doi.org/10.1007/s10162-006-0033-z>

Rabach, L.A., Kveton, J.F., n.d. 13 Clinical Evaluation of Hearing Loss, in: *Clinical Evaluation of Hearing Loss*. pp. 139–147.

Rendtorff, N.D., Lodahl, M., Boulahbel, H., Johansen, I.R., Pandya, A., Welch, K.O., Norris, V.W., Arnos, K.S., Bitner-Glindzicz, M., Emery, S.B., Mets, M.B., Fagerheim, T., Eriksson, K., Hansen, L., Bruhn, H., Möller, C., Lindholm, S., Ensgaard, S., Lesperance, M.M., Tranebjaerg, L., 2011. Identification of p.A684V missense mutation in the WFS1 gene as a frequent cause of autosomal dominant optic atrophy and hearing impairment. *Am. J. Med. Genet. A.* 155, 1298–1313. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.33970>

Rodríguez-Ballesteros, M., del Castillo, F.J., Martín, Y., Moreno-Pelayo, M.A., Morera, C., Prieto, F., Marco, J., Morant, A., Gallo-Terán, J., Morales-Angulo, C., Navas, C., Trinidad, G., Tapia, M.C., Moreno, F., Castillo, I. del, 2003. Auditory neuropathy in patients carrying mutations in the otoferlin gene ( OTOF ): OTOF AND AUDITORY NEUROPATHY. *Hum. Mutat.* 22, 451–456. <https://doi.org/10.1002/humu.10274>

Rose, J., Muskett, J.A., King, K.A., Zalewski, C.K., Chattaraj, P., Butman, J.A., Kenna, M.A., Chien, W.W., Brewer, C.C., Griffith, A.J., 2017. Hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct and zero or one mutant allele of SLC26A4: Natural History of EVA. *The Laryngoscope* 127, E238–E243. <https://doi.org/10.1002/lary.26418>

Roux, I., Safieddine, S., Nouvian, R., Grati, M., Simmler, M.-C., Bahloul, A., Perfettini, I., Le Gall, M., Rostaing, P., Hamard, G., Triller, A., Avan, P., Moser, T., Petit, C., 2006. Otoferlin, Defective in a Human Deafness Form, Is Essential for Exocytosis at the Auditory Ribbon Synapse. *Cell* 127, 277–289. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.08.040>

Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74, 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>

Sanggaard, K.M., Kjaer, K.W., Eiberg, H., Nürnberg, G., Nürnberg, P., Hoffman, K., Jensen, H., Sørup, C., Rendtorff, N.D., Tranebjaerg, L., 2008. A novel nonsense mutation in MYO6 is associated with progressive nonsyndromic hearing loss in a Danish DFNA22 family. *Am. J. Med. Genet. A.* 146A, 1017–1025. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.32174>

Saroul, N., Giraudet, F., Gilain, L., Mom, T., Avan, P., 2016. Fisiología coclear: bases anatómicas, celulares y electrofisiológicas. *EMC - Otorrinolaringol.* 45, 1–22. [https://doi.org/10.1016/S1632-3475\(16\)76072-3](https://doi.org/10.1016/S1632-3475(16)76072-3)



Schraders, M., Ruiz-Palmero, L., Kalay, E., Oostrik, J., del Castillo, F.J., Sezgin, O., Beynon, A.J., Strom, T.M., Pennings, R.J.E., Zazo Seco, C., Oonk, A.M.M., Kunst, H.P.M., Domínguez-Ruiz, M., García-Arumi, A.M., del Campo, M., Villamar, M., Hoefsloot, L.H., Moreno, F., Admiraal, R.J.C., del Castillo, I., Kremer, H., 2012. Mutations of the Gene Encoding Otogelin Are a Cause of Autosomal-Recessive Nonsyndromic Moderate Hearing Impairment. *Am. J. Hum. Genet.* 91, 883–889. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.09.012>

Shahin, H., Walsh, T., Rayyan, A.A., Lee, M.K., Higgins, J., Dickel, D., Lewis, K., Thompson, J., Baker, C., Nord, A.S., Stray, S., Gurwitz, D., Avraham, K.B., King, M.-C., Kanaan, M., 2010. Five novel loci for inherited hearing loss mapped by SNP-based homozygosity profiles in Palestinian families. *Eur. J. Hum. Genet.* 18, 407–413. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2009.190>

Shearer, A.E., Hildebrand, M.S., Smith, R.J., 1999. Hereditary Hearing Loss and Deafness Overview. *Gene Reviews*.

Shearer, A.E., Smith, R.J.H., 2015. Massively Parallel Sequencing for Genetic Diagnosis of Hearing Loss: The New Standard of Care. *Otolaryngol. Neck Surg.* 153, 175–182. <https://doi.org/10.1177/0194599815591156>

Shearer, A.E., Smith, R.J.H., 2012. Genetics: advances in genetic testing for deafness. *Curr. Opin. Pediatr.* 24, 679–686.

<https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e3283588f5e>

Shinagawa, J., Moteki, H., Nishio, S., Ohyama, K., Otsuki, K., Iwasaki, S., Masuda, S., Oshikawa, C., Ohta, Y., Arai, Y., Takahashi, M., Sakuma, N., Abe, S., Sakurai, Y., Sakaguchi, H., Ishino, T., Uehara, N., Usami, S., 2020.

*Prevalence and clinical features of hearing loss caused by EYA4 variants. Sci. Rep.* 10, 3662. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60259-0>

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. Hum. Genet.* 135, 441–450.

<https://doi.org/10.1007/s00439-016-1648-8>

Smith, R.J.H., Jr, J.F.B., White, K.R., 2005. *Sensorineural hearing loss in children. Lancet* 365, 879–90.

Sommen M., Schrauwen I., Vandeweyer G, Boeckx N, Corneveaux J.J., Ende J., Boudewyns A., De Leenheer E., Janssens S., Claes K., Verstreken M., Strenzke N., Predohl F., Wuyts W., Mortier G., Bitner-Glindzicz M., Moser T., Coucke P., Huentelman M.J. and Van Camp G., 2016. *DNA Diagnostics of Hereditary Hearing Loss: A Targeted Resequencing Approach Combined with a Mutation Classification System. HUMAN MUTATION, Vol. 0, No. 0, 1–8.*  
<https://doi.org/10.1002/humu.22999>

Song, J., Feng, Y., Acke, F.R., Coucke, P., Vleminckx, K., Dhooge, I.J., 2016. *Hearing loss in Waardenburg syndrome: a systematic review: Hearing loss in Waardenburg syndrome. Clin. Genet.* 89, 416–425.

<https://doi.org/10.1111/cge.12631>

Su, Y., Gao, X., Huang, S.-S., Mao, J.-N., Huang, B.-Q., Zhao, J.-D., Kang, D.-Y., Zhang, X., Dai, P., 2018. *Clinical and molecular characterization of POU3F4 mutations in multiple DFNX2 Chinese families. BMC Med. Genet.* 19, 157.

<https://doi.org/10.1186/s12881-018-0630-9>

Sue Richards, Bale, S., Aziz, N., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., Grody, W.W., Hegde, M., Lyon, E., Spector, E., Voelkerding, K., Rehm, H.L., 2015. *Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet. Med.* 17, 405–423. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>

Sugiyama, Moteki, Kitajiri, Kitano, Nishio, Yamaguchi, Wakui, Abe, Ozaki, Motegi, Matsui, Teraoka, Kobayashi, Kosho, Usami, 2019. *Mid-Frequency Hearing Loss Is Characteristic Clinical Feature of OTOA-Associated Hearing Loss. Genes* 10, 715. <https://doi.org/10.3390/genes10090715>

Sun, Y., Cheng, J., Lu, Yanping, Li, J., Lu, Yu, Jin, Z., Dai, P., Wang, R., Yuan, H., 2011. Identification of two novel missense WFS1 mutations, H696Y and R703H, in patients with non-syndromic low-frequency sensorineural hearing loss. *J. Genet. Genomics* 38, 71–76.

<https://doi.org/10.1016/j.jcg.2011.01.001>

Taitelbaum-Swead, R., Brownstein, Z., Muchnik, C., Kishon-Rabin, L., Kronenberg, J., Megirov, L., Frydman, M., Hildesheimer, M., Avraham, K.B., 2006. Connexin-Associated Deafness and Speech Perception Outcome of Cochlear Implantation. *Arch. Otolaryngol. Neck Surg.* 132, 495.

<https://doi.org/10.1001/archotol.132.5.495>

Tekin, D., Yan, D., Bademci, G., Feng, Y., Guo, S., Foster, J., Blanton, S., Tekin, M., Liu, X., 2016. A next-generation sequencing gene panel (MiamiOtoGenes) for comprehensive analysis of deafness genes. *Hear. Res.* 333, 179–184. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2016.01.018>

Teresa Rivera-Rodríguez, Carlos Escobar Sánchez, Justo R. Gómez Martínez, Laura Cavalle Garrido, 2022. 30. Clasificación de las hipoacusias. Hipoacusia genética. Hipoacusia adquirida. Hipoacusia autoinmune., in: *Libro Virtual SEORL*.

Thomassin, J.-M., Barry, P., 2016. Anatomía y fisiología del oído externo. *EMC - Otorrinolaringol.* 45, 1–13. [https://doi.org/10.1016/S1632-3475\(16\)79682-2](https://doi.org/10.1016/S1632-3475(16)79682-2)

Thomassin, J.-M., Dessi, P., Danvin, J.-B., Forman, C., 2008. Anatomía del oído medio. *EMC - Otorrinolaringol.* 37, 1–20.

[https://doi.org/10.1016/S1632-3475\(08\)70301-1](https://doi.org/10.1016/S1632-3475(08)70301-1)

Tu, H., Zhang, A., Fu, X., Xu, S., Bai, X., Wang, H., Gao, J., 2021. SMPX Deficiency Causes Stereocilia Degeneration and Progressive Hearing Loss in CBA/CaJ Mice. *Front. Cell Dev. Biol.* 9, 750023.

<https://doi.org/10.3389/fcell.2021.750023>

Urano, F., 2016. Wolfram Syndrome: Diagnosis, Management, and Treatment. *Curr. Diab. Rep.* 16, 6. <https://doi.org/10.1007/s11892-015-0702-6>

Wattenhofer, M., Di Iorio, M., Rabionet, R., Dougherty, L., Pampanos, A., Schwede, T., Montserrat-Sentis, B., Arbones, M., Iliades, T., Pasquadibisceglie, A., D'Amelio, M., Alwan, S., Rossier, C., Dahl, H.-H.M., Petersen, M.B., Estivill, X., Gasparini, P., Scott, H.S., Antonarakis, S.E., 2002. Mutations in the *TMPRSS3* gene are a rare cause of childhood nonsyndromic deafness in Caucasian patients. *J. Mol. Med.* 80, 124–131.

<https://doi.org/10.1007/s00109-001-0310-6>

Weegerink, N.J.D., Schraders, M., Oostrik, J., Huygen, P.L.M., Strom, T.M., Granneman, S., Pennings, R.J.E., Venselaar, H., Hoefsloot, L.H., Elting, M., Cremers, C.W.R.J., Admiraal, R.J.C., Kremer, H., Kunst, H.P.M., 2011. *Genotype–Phenotype Correlation in DFNB8/10 Families with TMPRSS3 Mutations. J. Assoc. Res. Otolaryngol. 12, 753–766.*  
<https://doi.org/10.1007/s10162-011-0282-3>

*Welcome to the Hereditary Hearing Loss Homepage | Hereditary Hearing Loss Homepage [WWW Document], n.d. URL*  
<https://hereditaryhearingloss.org/> (accessed 2.11.21).

Wu, Tsai, Lin, Chen, Lin, Cheng, Wu, Lin, Lee, Erdenechuluun, Liu, Chen, Hsu, 2019. *Genetic Epidemiology and Clinical Features of Hereditary Hearing Impairment in the Taiwanese Population. Genes 10, 772.*  
<https://doi.org/10.3390/genes10100772>

Yaeger, D., McCallum, J., Lewis, K., Soslow, L., Shah, U., Potsic, W., Stolle, C., Krantz, I.D., 2006. *Outcomes of clinical examination and genetic testing of 500 individuals with hearing loss evaluated through a genetics of hearing loss clinic. Am. J. Med. Genet. A. 140A, 827–836.*  
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.31179>

Yan, D., Xiang, G., Chai, X., Qing, J., Shang, H., Zou, B., Mittal, R., Shen, J., Smith, R.J.H., Fan, Y.-S., Blanton, S.H., Tekin, M., Morton, C., Xing, W., Cheng, J., Liu, X.Z., 2017. Screening of deafness-causing DNA variants that are common in patients of European ancestry using a microarray-based approach. *PLOS ONE* 12, e0169219.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169219>

Yazdanpanahi, N., Tabatabaiefar, M.A., Bagheri, N., Azadegan Dehkordi, F., Farrokhi, E., Hashemzadeh Chaleshtori, M., 2015. The role and spectrum of SLC26A4 mutations in Iranian patients with autosomal recessive hereditary deafness. *Int. J. Audiol.* 54, 124–130.

<https://doi.org/10.3109/14992027.2014.944276>

Yokota, Y., Moteki, H., Nishio, S., Yamaguchi, T., Wakui, K., Kobayashi, Y., Ohyama, K., Miyazaki, H., Matsuoka, R., Abe, S., Kumakawa, K., Takahashi, M., Sakaguchi, H., Uehara, N., Ishino, T., Kosho, T., Fukushima, Y., Usami, S., 2019. Frequency and clinical features of hearing loss caused by STRC deletions. *Sci. Rep.* 9, 4408. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40586-7>

Yoon Chan Rah, MD, Ji Young Lee, MD, Myung-Whan Suh, MD, PhD, Moo Kyun Park, MD, PhD, Jun Ho Lee, MD, PhD, Sun O Chang, MD, PhD, Seung-ha Oh, MD, PhD, 2016. Cochlear Implantation in Patients With CHARGE Syndrome. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* Vol. 125, 924–930.

<https://doi.org/DOI: 10.1177/0003489416665190>

Zelante, L., 1997. *Connexin26 mutations associated with the most common form of non- syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans. Hum. Mol. Genet. 6, 1605–1609.*

<https://doi.org/10.1093/hmg/6.9.1605>

Zhang, Y., Malekpour, M., Al-Madani, N., Kahrizi, K., Zanganeh, M., Mohseni, M., Mojahedi, F., Daneshi, A., Najmabadi, H., Smith, R.J.H., 2007. *Sensorineural deafness and male infertility: a contiguous gene deletion syndrome. J. Med. Genet. 44, 233–240.*

<https://doi.org/10.1136/jmg.2006.045765>

Zwaenepoel, I., Mustapha, M., Leibovici, M., Verpy, E., Goodyear, R., Liu, X.Z., Nouaille, S., Nance, W.E., Kanaan, M., Avraham, K.B., Tekaia, F., Loiselet, J., Lathrop, M., Richardson, G., Petit, C., 2002. *Otoancorin, an inner ear protein restricted to the interface between the apical surface of sensory epithelia and their overlying acellular gels, is defective in autosomal recessive deafness DFNB22. Proc. Natl. Acad. Sci. 99, 6240–6245.*

<https://doi.org/10.1073/pnas.082515999>