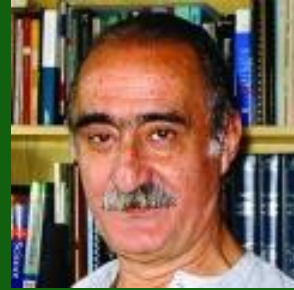


# Felipe Moreno Herrero

Unidad de Genética Molecular. Hospital Universitario Ramón y Cajal  
Madrid, España

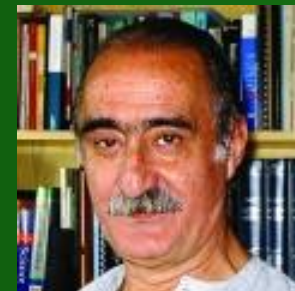


- Director de la Unidad de Genética Molecular del Hospital Universitario Ramón y Cajal
- Dirige un grupo de investigación que centra su trabajo en el diagnóstico genético-molecular de las hipoacusias hereditarias
- Premio Reina Sofía de Prevención de Deficiencias



# Felipe Moreno Herrero

Unidad de Genética Molecular. Hospital Universitario Ramón y Cajal  
Madrid, España

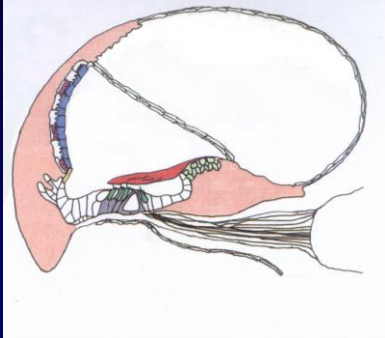


Diagnóstico molecular temprano de la sordera.  
Asesoramiento genético familiar, prevención  
y predicción

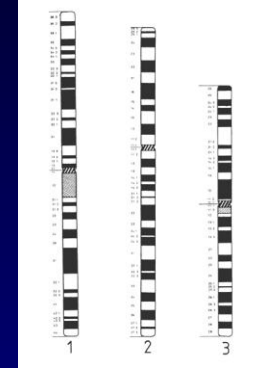
*Early molecular diagnosis of deafness. Genetic  
family counselling, prevention and prediction*



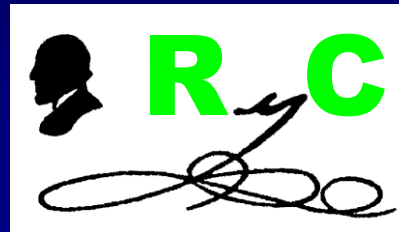
# Diagnóstico molecular temprano de la sordera. Asesoramiento genético familiar, prevención y predicción



**Dr. Felipe Moreno Herrero**  
Unidad de Genética Molecular  
Hospital Ramón y Cajal-Madrid



**ciberer**  
Centro de Investigación Biomédica En Red  
de Enfermedades Raras



instituto ramón y cajal  
de investigación sanitaria **irycis**

**II Simposio Internacional: Detección, diagnóstico y  
tratamiento precoz de la sordera en la infancia**

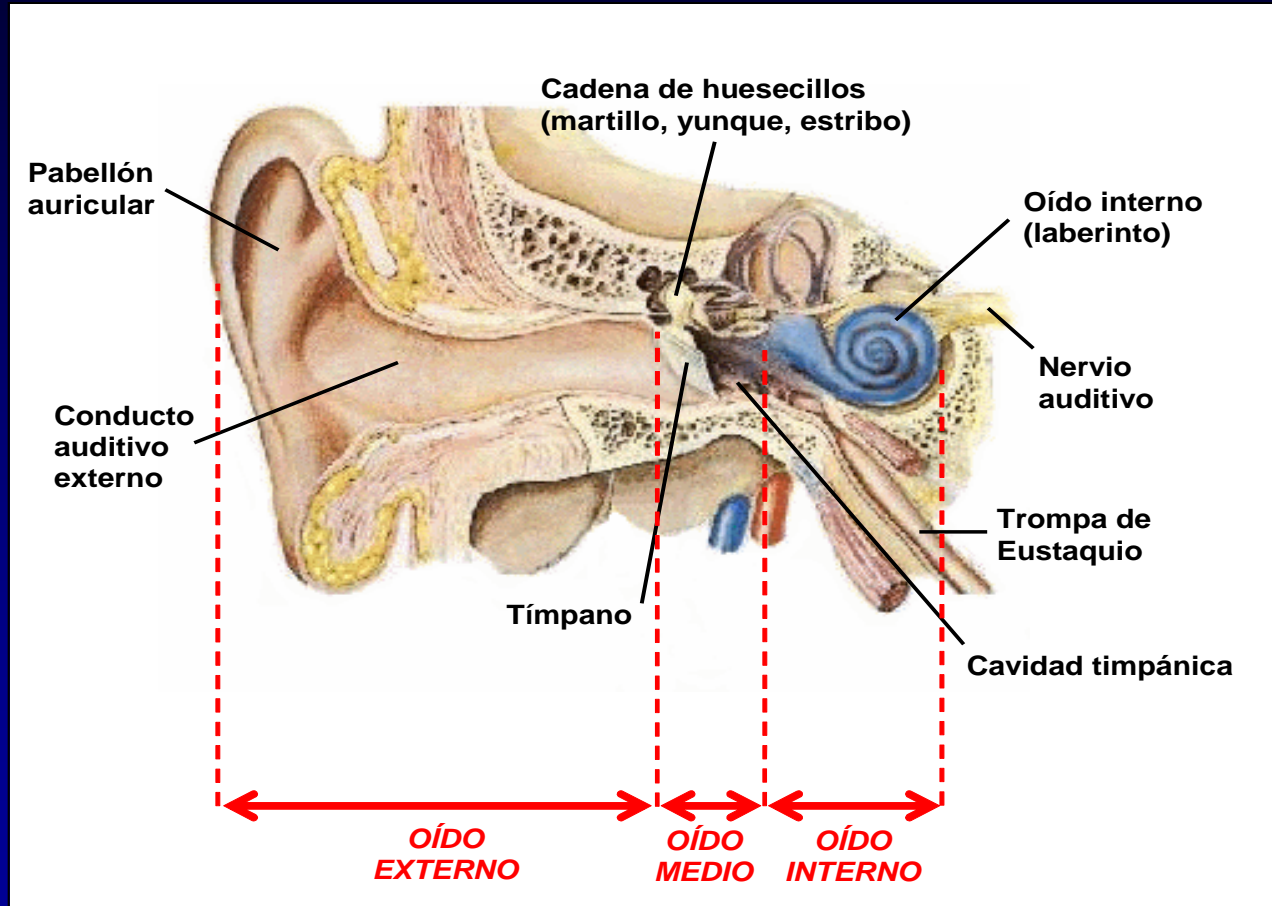
**Fundación Ramón Areces, 26-27 de mayo 2011**

# El equipo.....

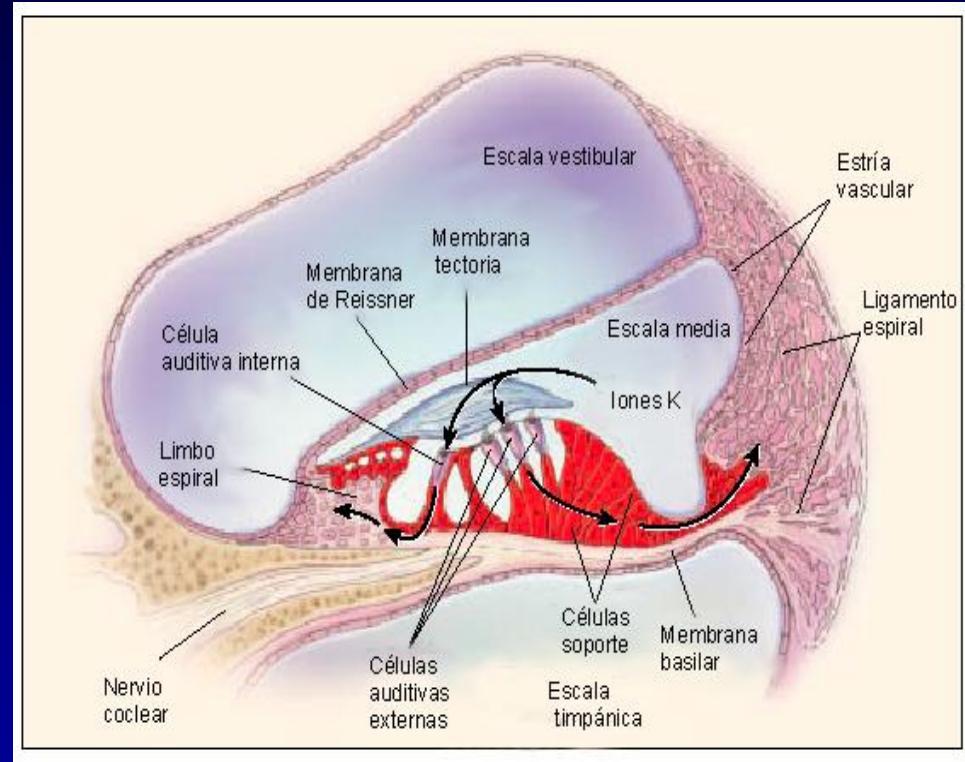
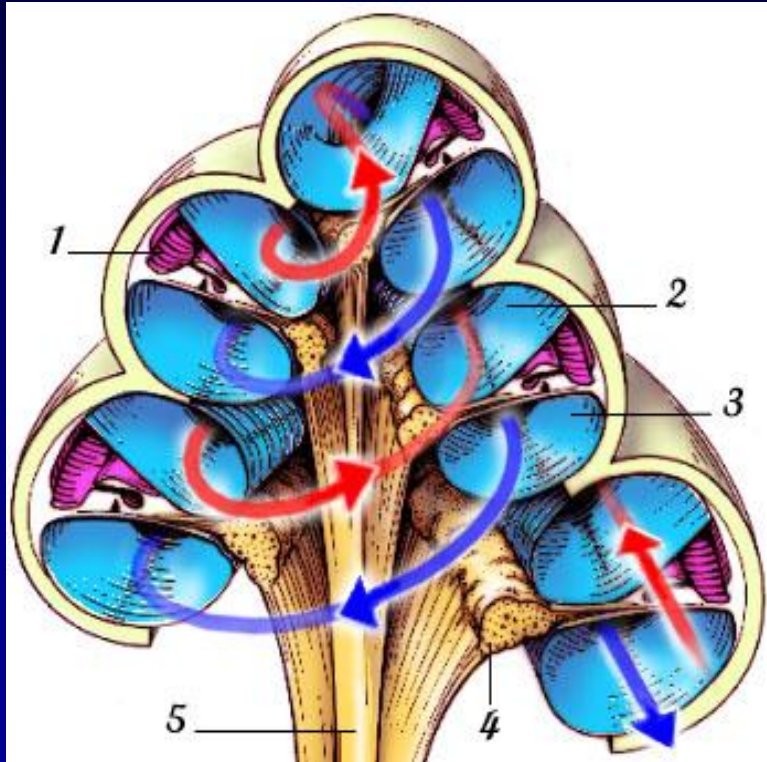
---



# Anatomía del oído



# ESTRUCTURA DE LA CÓCLEA



# EPIDEMIOLOGÍA DE LAS HIPOACUSIAS (1)

---

INCIDENCIA: 1/1000 NACIDOS VIVOS

- ◆ CAUSAS NO GENÉTICAS (40 %)

- Infecciones

- Trauma otoacústico

- Ototoxicidad de fármacos

(Posible susceptibilidad de base genética)

- ◆ CAUSAS GENÉTICAS (60 %)

# EPIDEMIOLOGÍA DE LAS HIPOACUSIAS (2)

---

## HIPOACUSIAS DE CAUSA GENÉTICA

### ◆ SINDRÓMICAS (30 %)

☑ Más de 400 síndromes catalogados. Ejemplos:

- ☐ Síndrome de Usher
- ☐ Síndrome de Pendred
- ☐ Síndrome de Waardenburg
- ☐ Síndrome branquio-oto-renal

### ◆ NO SINDRÓMICAS (70 %)



# EPIDEMIOLOGÍA DE LAS HIPOACUSIAS (3)

---

## HIPOACUSIAS NO SINDRÓMICAS

### ◆ HERENCIA NUCLEAR (85-90 %)

- ☑ > 75 % Herencia autosómica recesiva
- ☑ 10-20 % Herencia autosómica dominante
- ☑ 2-3 % Herencia ligada al sexo

### ◆ HERENCIA MITOCONDRIAL (10-15%)

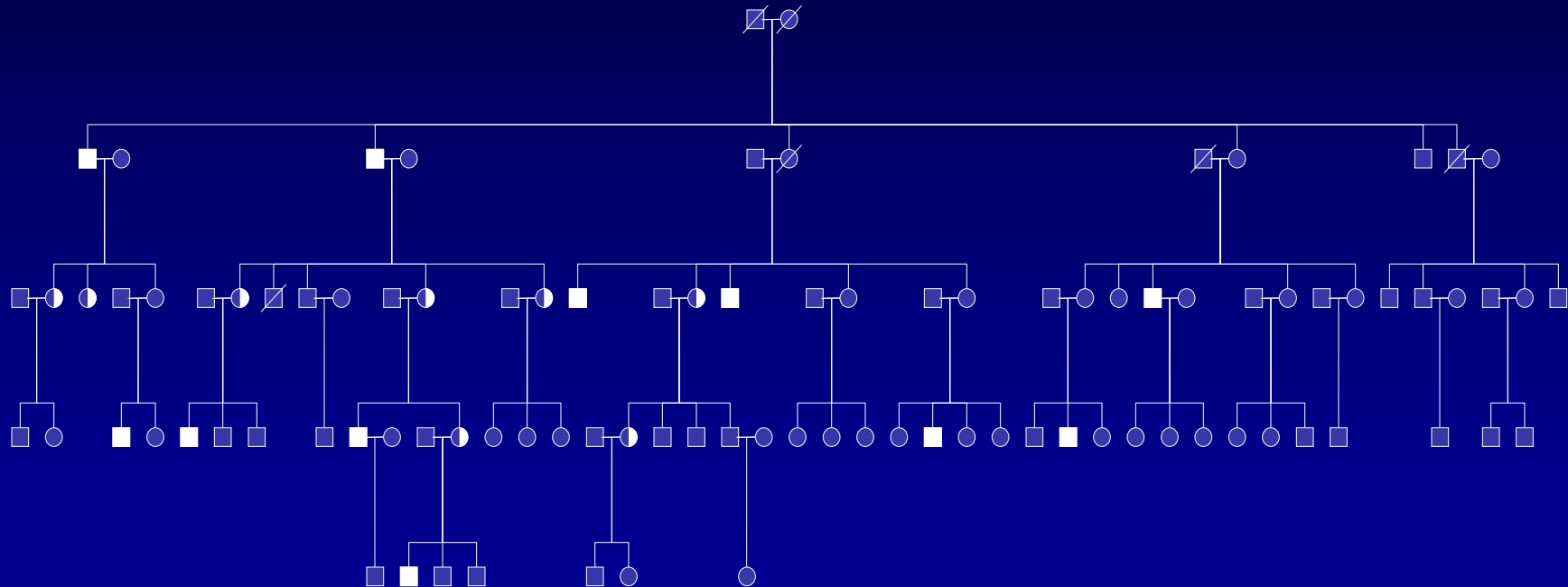
# ETAPAS DEL ESTUDIO GENÉTICO MOLECULAR

---

- **Localización** de los genes responsables
- **Aislamiento y secuenciación** de genes candidatos
- **Búsqueda de mutaciones** en pacientes para validar los genes candidatos
- **Estudio de la proteína** codificada por el gen: niveles molecular y celular

# FAMILIAS APTAS PARA LOS ESTUDIOS DE LOCALIZACIÓN DE GENES (1)

## Familia S005 - Herencia ligada al sexo

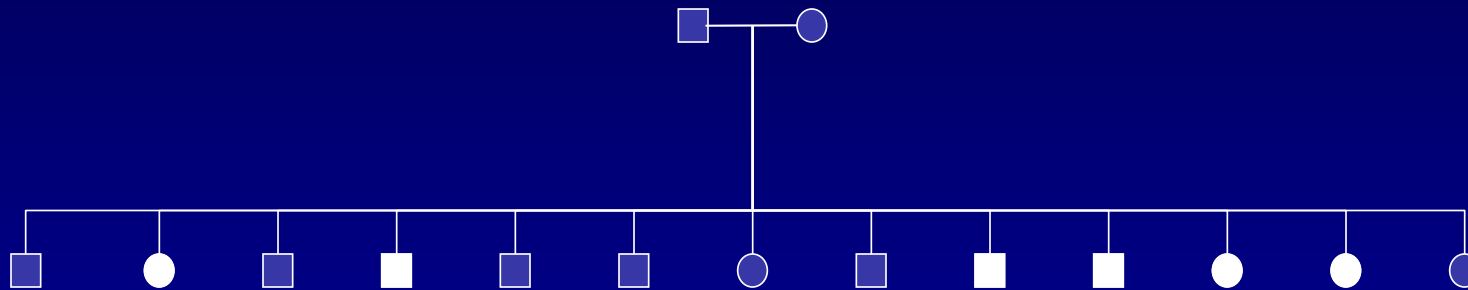


- □ Normoyentes
- Varón afectado
- ◐ Mujer parcialmente afectada

# FAMILIAS APTAS PARA LOS ESTUDIOS DE LOCALIZACIÓN DE GENES (2)

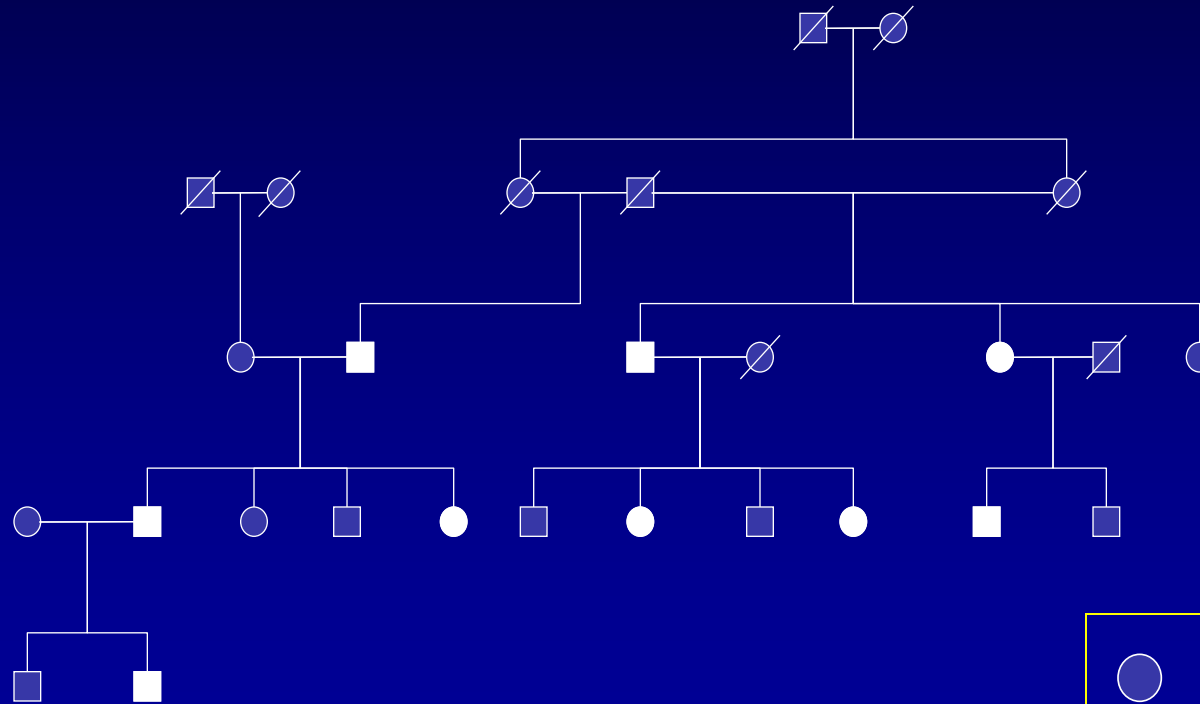
---

## Familia S040 - Herencia autosómica recesiva



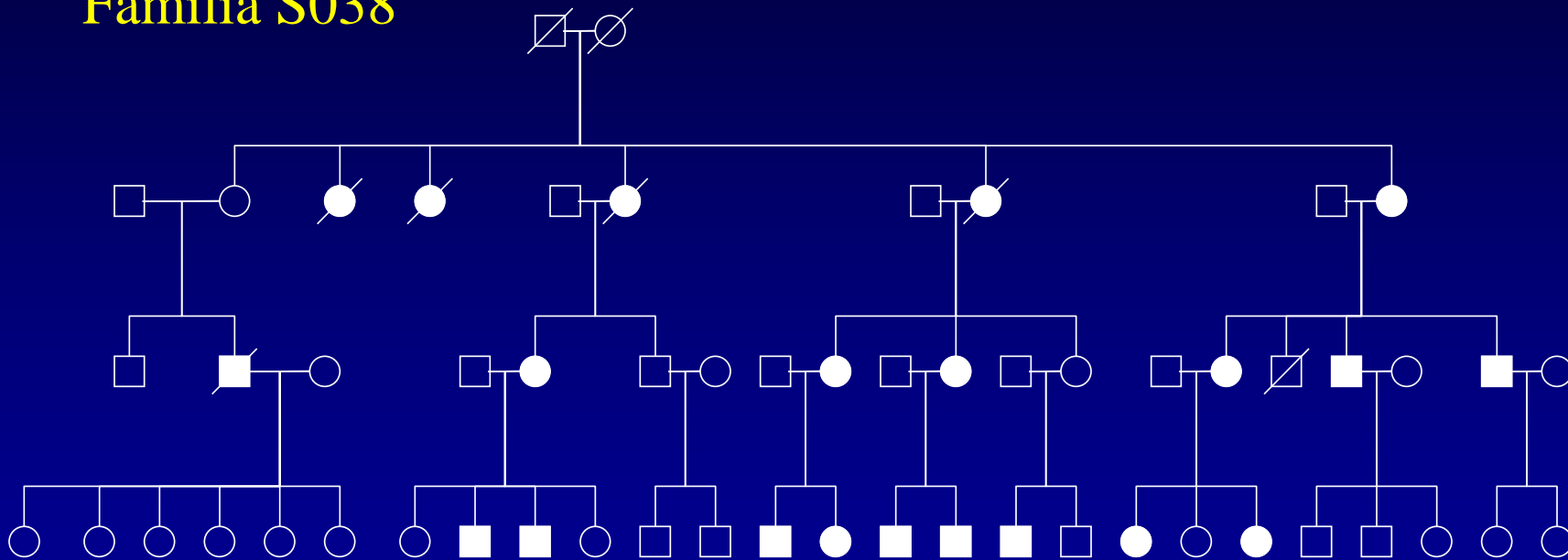
# FAMILIAS APTAS PARA LOS ESTUDIOS DE LOCALIZACIÓN DE GENES (3)

## Familia S063 - Herencia autosómica dominante



# HERENCIA MATERNA (MITOCONDRIAL)

Familia S038



○ □ Normoyentes    ● ■ Afectados

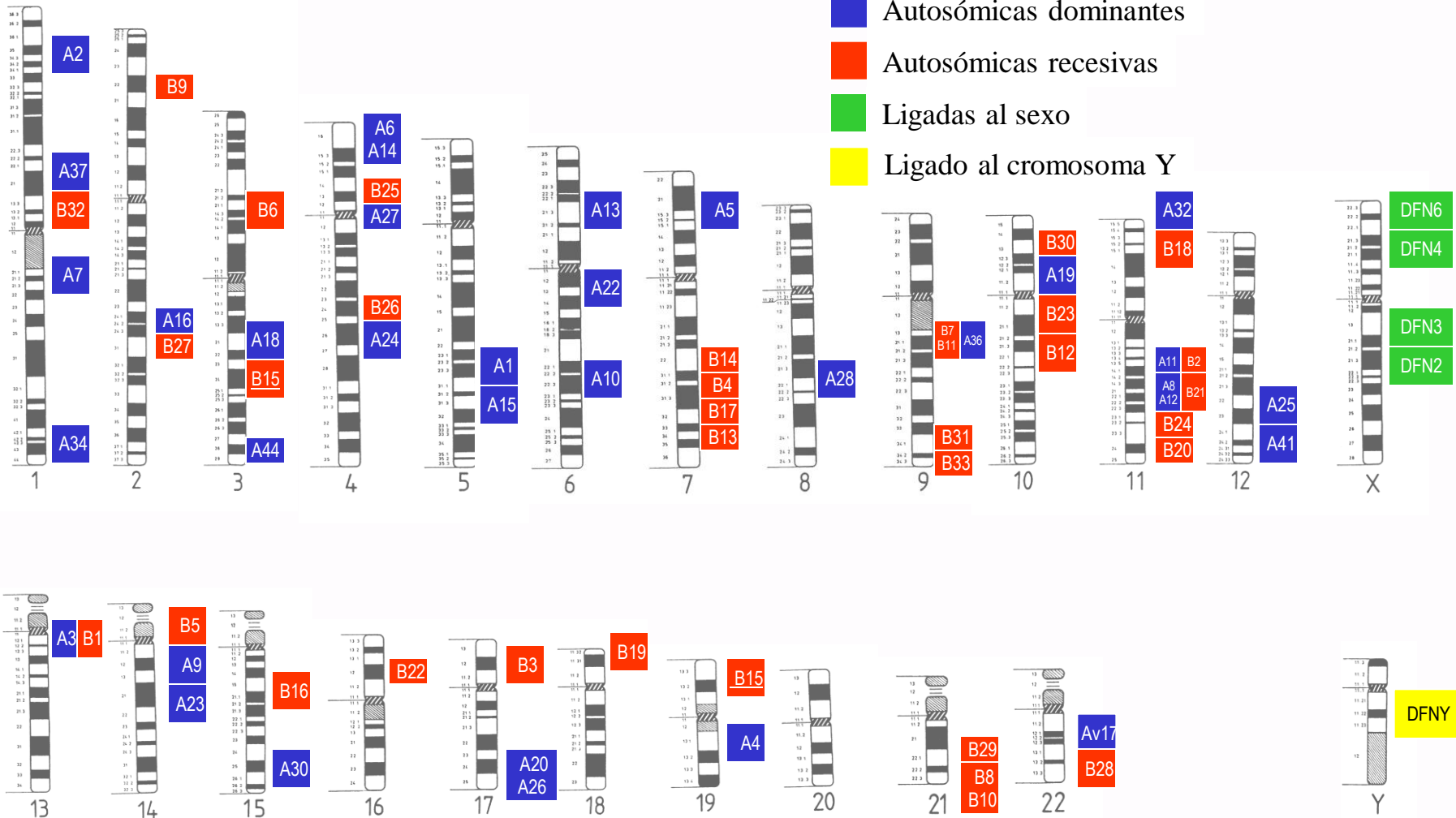
# GENES LOCALIZADOS: RESUMEN

---

- Actualmente se conoce la posición en el mapa genético de **100 loci** de hipoacusias no sindrómicas
  - ☑ **42 loci de hipoacusias autosómicas dominantes**  
Mayoritariamente progresivas
  - ☑ **53 loci de hipoacusias autosómicas recesivas**  
Mayoritariamente congénitas y severo-profundas
  - ☑ **4 loci de hipoacusias ligadas al sexo**  
Los varones muestran mayor afectación, pero las mujeres portadoras pueden manifestar pérdidas auditivas moderadas.
  - ☑ **1 loci de hipoacusia ligado al cromosoma Y (DFNY)**

# LOCALIZACIÓN DE LOS GENES DE HIPOACUSIAS NO SINDRÓMICAS

- Autosómicas dominantes
- Autosómicas recesivas
- Ligadas al sexo
- Ligado al cromosoma Y





Locus	Cromosoma	Gen
DFNA1	5	DIAPH1
DFNA2A	1	KCNQ4
DFNA2B	1	GJB3
DFNA3A	13	GJB2
DFNA3B	13	GJB6
DFNA4	19	MYH14
		CEACAM16
DFNA5	7	DFNA5
DFNA6	4	WFS1
DFNA7	1	-
DFNA9	14	COCH
DFNA10	6	EYA4
DFNA11	11	MYO7A
DFNA12	11	TECTA
DFNA13	6	COL11A2
DFNA15	5	POU4F3
DFNA16	2	-
DFNA17	22	MYH9
DFNA18	3	-
DFNA19	10	-
DFNA20	17	ACTG1
DFNA21	6	-
DFNA22	6	MYO6
DFNA23	14	-
DFNA24	4	-

Locus	Cromosoma	Gen
DFNA25	12	SLC17A8 (VGLUT3)
DFNA27	4	-
DFNA28	8	TFCP2L3 (GRHL2)
DFNA29		
DFNA30	15	-
DFNA31	6	-
DFNA32	11	-
DFNA33	13	-
DFNA34	1	-
DFNA35		
DFNA36	9	TMC1
DFNA37	1	-
DFNA39	4	DSPP
DFNA40	16	CRYM
DFNA41	12	-
DFNA42	5	-
DFNA43	2	-
DFNA44	3	CCDC50
DFNA45		
DFNA46		
DFNA47	9	-
DFNA48	12	MYO1A
DFNA49	1	-
DFNA50	7	MIRN96
DFNA51	9	TJP2

## DFNA

Locus	Cromosoma	Gen
DFNA52	4	
DFNA53	14	-
DFNA54	5	-
DFNA55		
DFNA56		
DFNA57	19	-
DFNA58	2	-
DFNA59	11	-
DFNA60	2	-

## DFNX e Y

Locus	Cromosoma	Gen
DFNX1	X	PRPS1
DFNX2	X	POU3F4
DFNX3	X	-
DFNX4	X	SMPX
DFNX5	X	-
DFNY1	Y	-

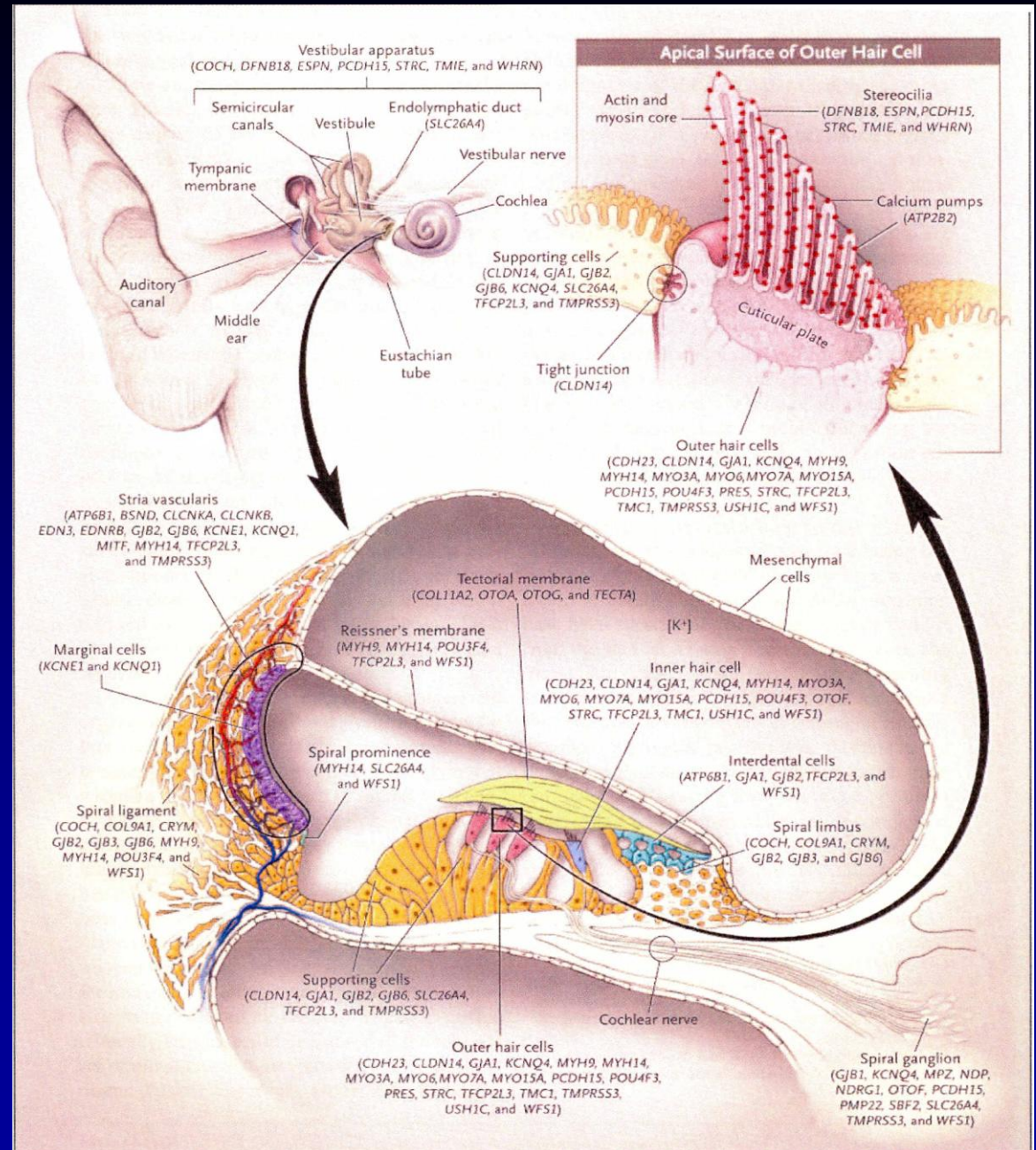
Locus	Cromosoma	Gene
DFNB1	13	GJB2
DFNB1B	13	GJB6
DFNB2	11	MYO7A
DFNB3	17	MYO15A
DFNB4	7	SLC26A4
DFNB5	14	-
DFNB6	3	TMIE
DFNB7/11	9	TMC1
DFNB8/10	21	TMPRSS3
DFNB9	2	OTOF
DFNB12	10	CDH23
DFNB13	7	-
DFNB14	7	-
DFNB15	19	GIPC3
DFNB16	15	STRC
DFNB17	7	-
DFNB18	11	USH1C
DFNB19	18	-
DFNB20	11	-
DFNB21	11	TECTA
DFNB22	16	OTOA
DFNB23	10	PCDH15
DFNB24	11	RDX
DFNB25	4	GRXCR1
DFNB26	4	-
DFNB27	2	-

Locus	Cromosoma	Gene
DFNB28	22	TRIOBP
DFNB29	21	CLDN14
DFNB30	10	MYO3A
DFNB31	9	WHRN
DFNB32/82	1	GPSM2
DFNB33	9	-
DFNB35	14	ESRRB
DFNB36	1	ESPN
DFNB37	6	MYO6
DFNB38	6	-
DFNB39	7	HGF
DFNB40	22	-
DFNB42	3	ILDR1
DFNB44	7	-
DFNB45	1	-
DFNB46	18	-
DFNB47/83	2	-
DFNB48	15	-
DFNB49	5	MARVELD2
DFNB51	11	-
DFNB53	6	COL11A2
DFNB55	4	-
DFNB59	2	PJVK
DFNB61	7	SLC26A5
DFNB62	12	-
DFNB63	11	LRTOMT/COMT2

## DFNB

Locus	Cromosoma	Gene
DFNB72	19	-
DFNB73	1	BSND
DFNB74	12	MSRB3
DFNB77	18	LOXHD1
DFNB79	9	TPRN
DFNB84	12	PTPRQ
DFNB85	17	-
DFNB91	6	SERPIN6
DFNB93	11	-
DFNB95	19	GIPC3

# Genes asociados a hipoacusia



# GENES IDENTIFICADOS: RESUMEN

---

## ◆ Codifican proteínas muy diversas:

☑ **Matriz extracelular:**  $\alpha$ -Tectorina, COL11A2 y COCH

☑ **Citoesqueleto:** Miosinas IA, IIA, IIIA, VI, VIIA y XV  
Stereocilin, Whirlin, y DIAPH1

☑ **Uniones intercelulares:** Conexinas 26, 30 y 31, y Claudina 14

☑ **Adhesión celular:** Cadherina CDH23 y, Otoancorina

☑ **Transporte a través de membrana:** KCNQ4, SLC26A4 y TMC1

☑ **Tráfico de vesículas de membrana:** Otoferlina

☑ **Proteasa transmembranar:** TMPRSS3

☑ **Otras proteínas de membrana:** Harmonin y TMIE

☑ **Factores de transcripción:** POU3F4, POU4F3, EYA4 y TFCEP2L3

☑ **Otros:** ICERE1 (DFNA5), Wolframin, Prestin

# AISLAMIENTO DE GENES DE HIPOACUSIAS NO SINDRÓMICAS

---

- **Clonación posicional**

- Progresiva reducción del intervalo de localización hasta que sólo contenga un gen

- **Estrategia del gen candidato**

- Posible función en oído interno de la proteína codificada
- Expresión en oído interno
- Comparación con mapas genéticos de otras especies (ratón...)

# COLECCIÓN DE CASOS

---

- Hipoacusias no sindrómicas:
  - ☑ Más de 1900 casos familiares (dos afectados o más).
  - ☑ Más de 1000 casos esporádicos (solo un afectado).
  
- Hipoacusias sindrómicas:
  - ☑ Pendred.
  - ☑ Waardenburg, Usher, BOR.

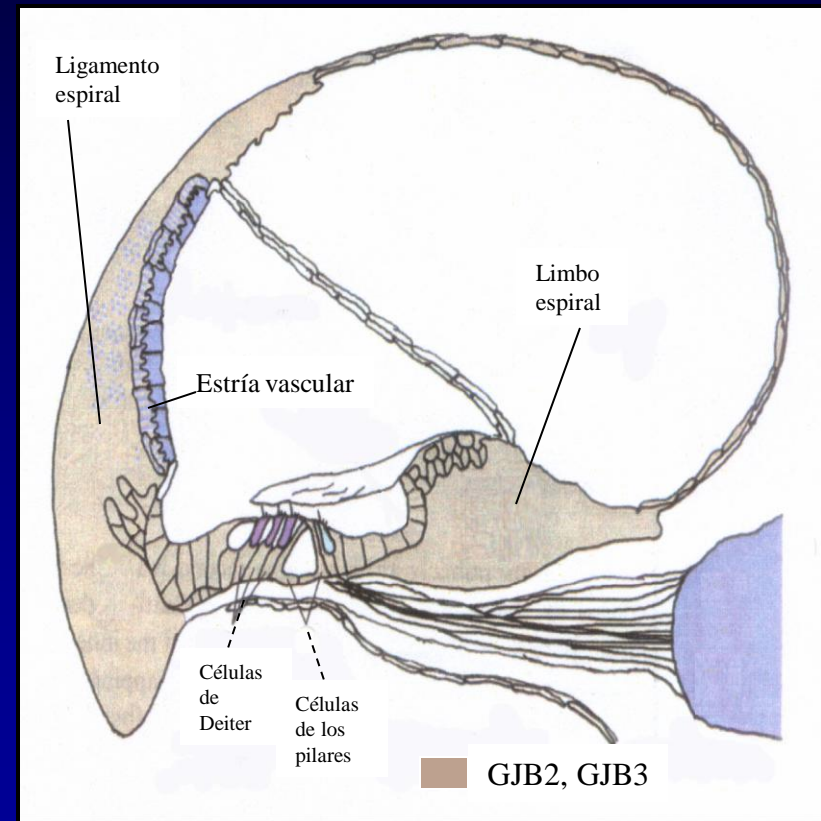
# EPIDEMIOLOGÍA GENÉTICA

---

- Hipoacusias prelocutivas:
  - ☑ 36,5 % DFNB1 (Más de 250 casos diagnosticados).
  - ☑ 3-4 % DFNB9 (25 casos diagnosticados).
  - ☑ 3 % DFNB4 (18 casos diagnosticados).
- Hipoacusia debida a la mutación mt 1555A>G:
  - ☑ 110 casos diagnosticados.
  - ☑ 15 % del total de casos familiares.

# Genes GJB2, GJB6 y GJB3: **Conexinas 26, 30 y 31**

- Gen GJB2: Conexina 26
  - ☑ 13q12, loci **DFNB1** y **DFNA3**
- Gen GJB6: Conexina 30
  - ☑ 13q12, locus **DFNA3**
- Gen GJB3: Conexina 31
  - ☑ 1p34, locus **DFNA2**
- Proteínas: **Canales intercelulares** de tipo gap junction
- Función: **Reciclaje de iones potasio** a través de las células de soporte, limbo espiral y ligamento espiral





# PROBLEM IN THE MOLECULAR DIAGNOSIS OF *DFNB1*-TYPE PATIENTS

---

- ◆ Mutations in GJB2 (connexin-26) are detected in **all the populations** so far tested.
- ◆ Most frequent, accounting for up to **50% of cases of recessive prelingual hearing impairment**.
- ◆ However, **in a significant number of cases** in which one mutant allele is detected, **the mutation in the second allele is not found (10-40%)**.

# The $\Delta$ (GJB6-D13S1830) mutation



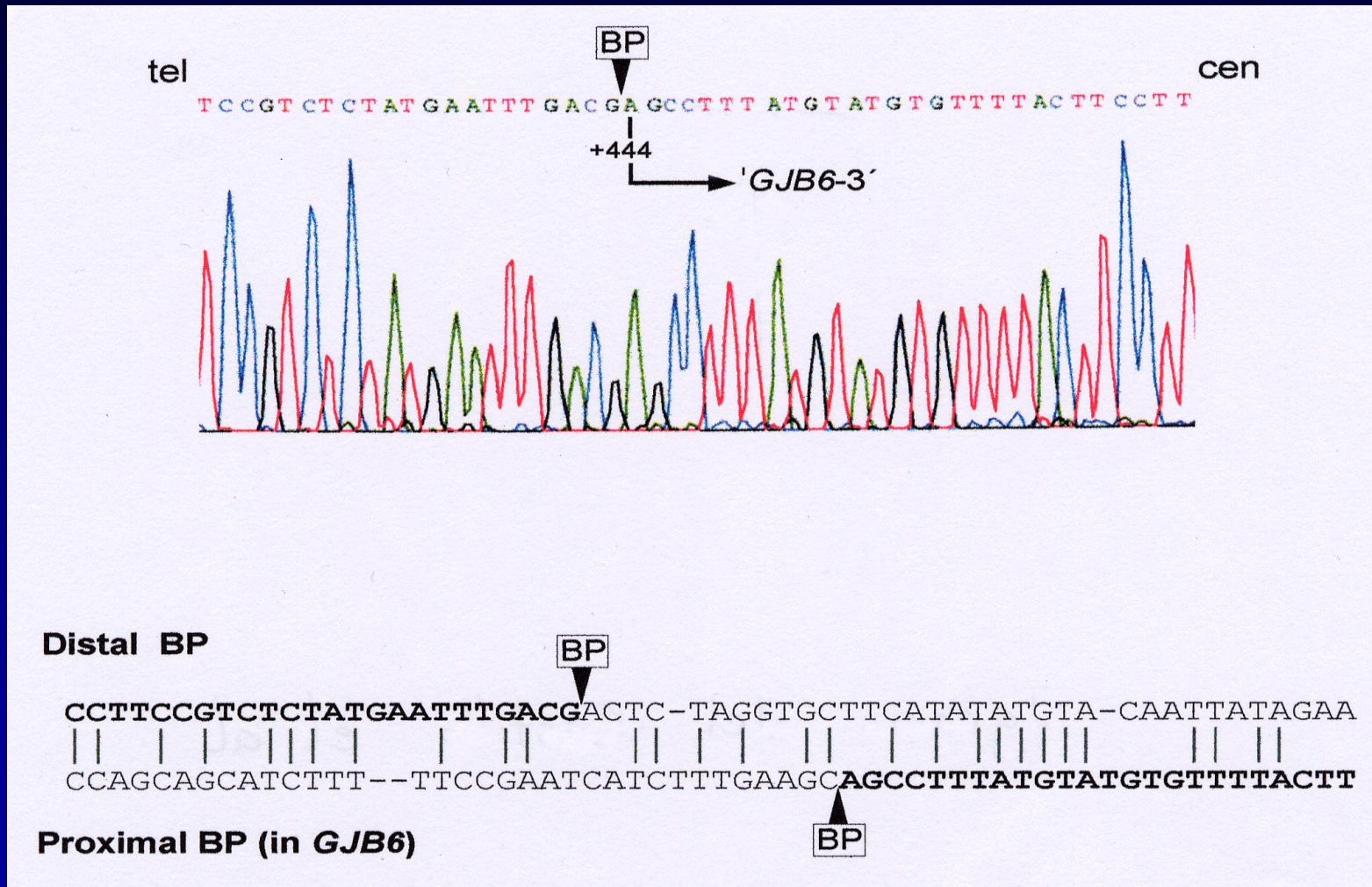
**GJA3:** Connexin 46

**GJB2:** Connexin 26

**GJB6:** Connexin 30

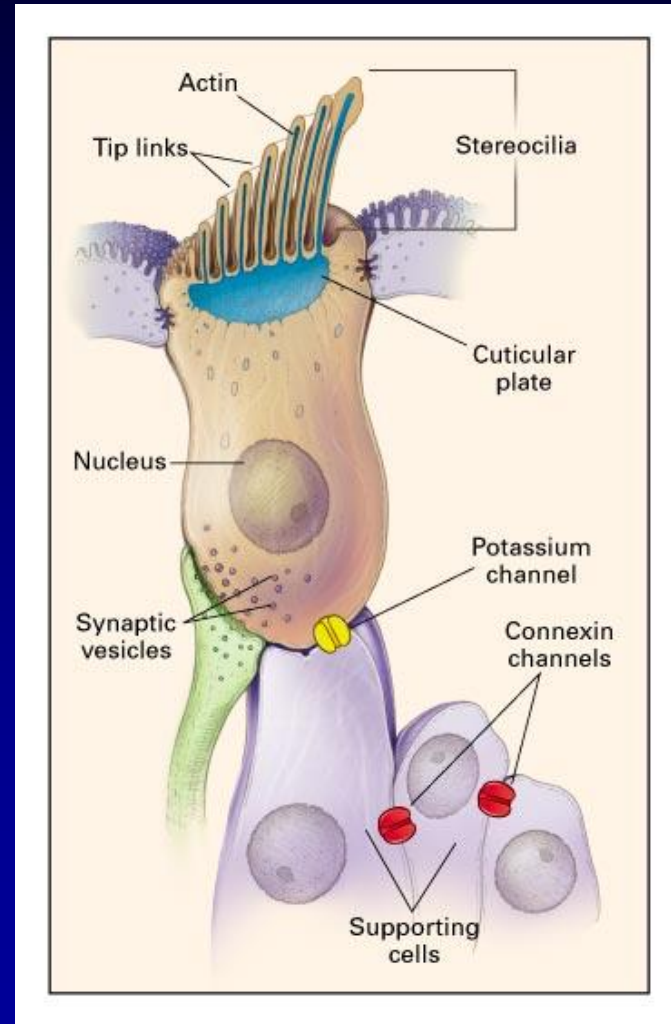
**LOC51084:** Lambda-crystallin

# Breakpoint junction of the deletion



# Gen OTOF: Otoferlina

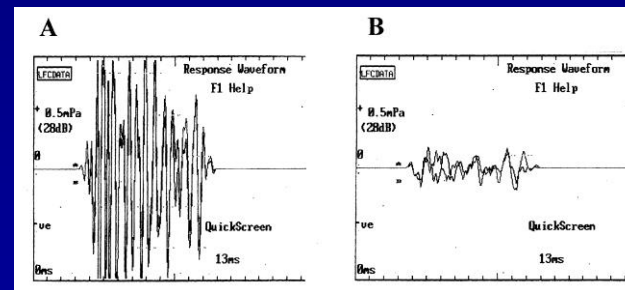
- Gen OTOF - 2p22-p23
- Locus **DFNB9**
- Expresión: **Células ciliadas internas**
- **Otoferlina**: Proteína citosólica anclada a membrana por su dominio C-terminal
- Función (hipotética): **Tráfico de vesículas de membrana**, posiblemente vesículas sinápticas



# CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO

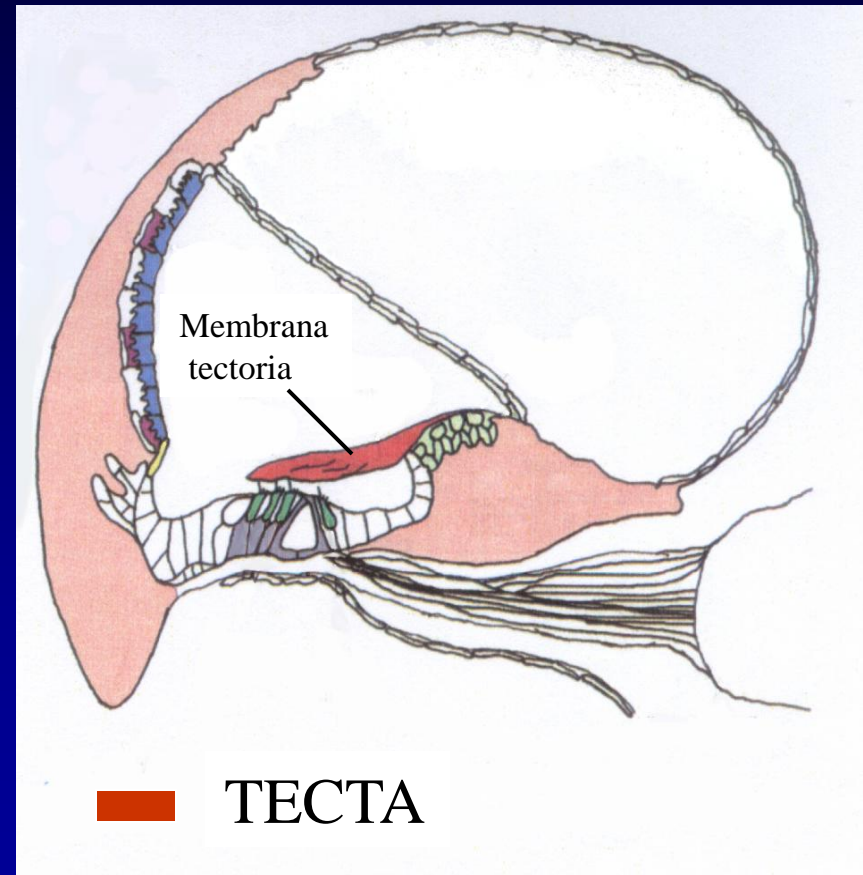
## Hipoacusia de tipo DFNB9: 37 pacientes

- Fenotípicamente muy **homogénea**.
- Sordera **profunda**.
- Manifestación **muy temprana** (¿congénita?).
- No hay malformación del oído interno.
- “**Neuropatía auditiva**”
  - ☑ PEATCs negativos.
  - ☑ OEAs positivas.
- **Implante coclear** satisfactorio.



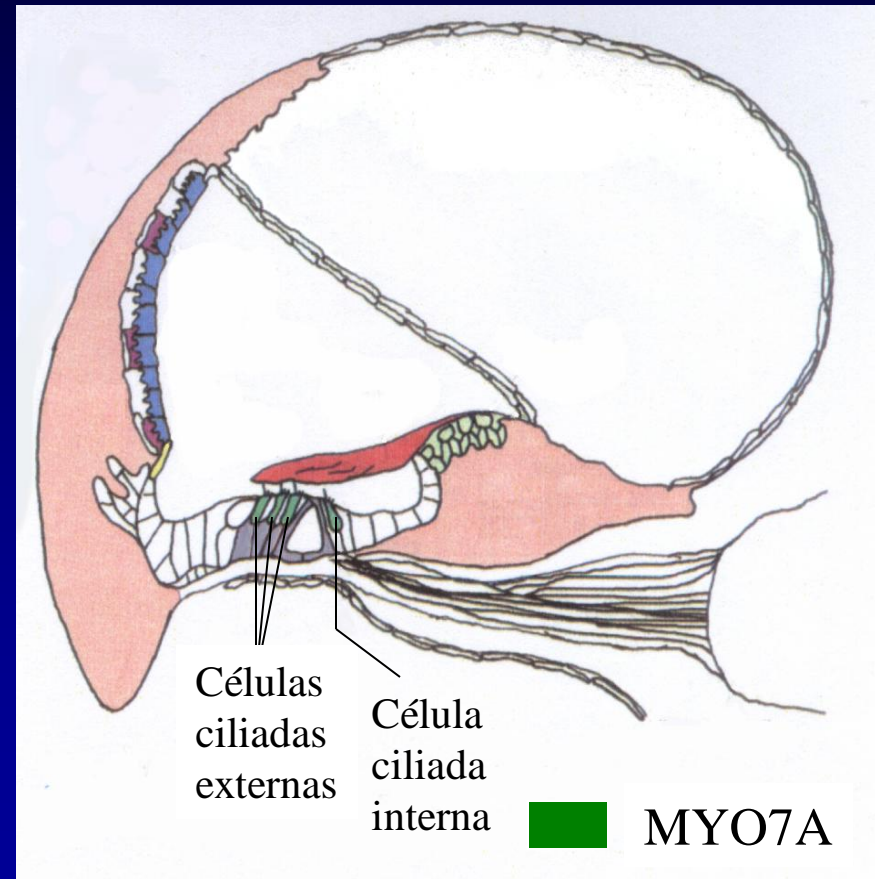
# Gen TECTA: $\alpha$ -Tectorina

- Gen TECTA - 11q22-24
- Loci **DFNA8/A12** y **DFNB21**
- Expresión: **Membrana tectoria**
- Función: Principal **componente estructural** no colagenoso de la membrana tectoria



# Genes MYO7A y MYO15: Miosinas VIIA y XV

- Miosinas “no convencionales”
- Gen MYO7A - 11q13.5
  - ◆ Loci **DFNB2** y **DFNA11**
  - ◆ Síndrome de **Usher tipo 1B**
  - ◆ Expresión: **células ciliadas** del órgano de Corti
  - ◆ Defecto en la **morfogénesis de los estereocilios**
- Gen MYO15 - 17p11.2
  - ◆ Locus **DFNB3**



# Gen MYO7A: Miosina VIIA

---

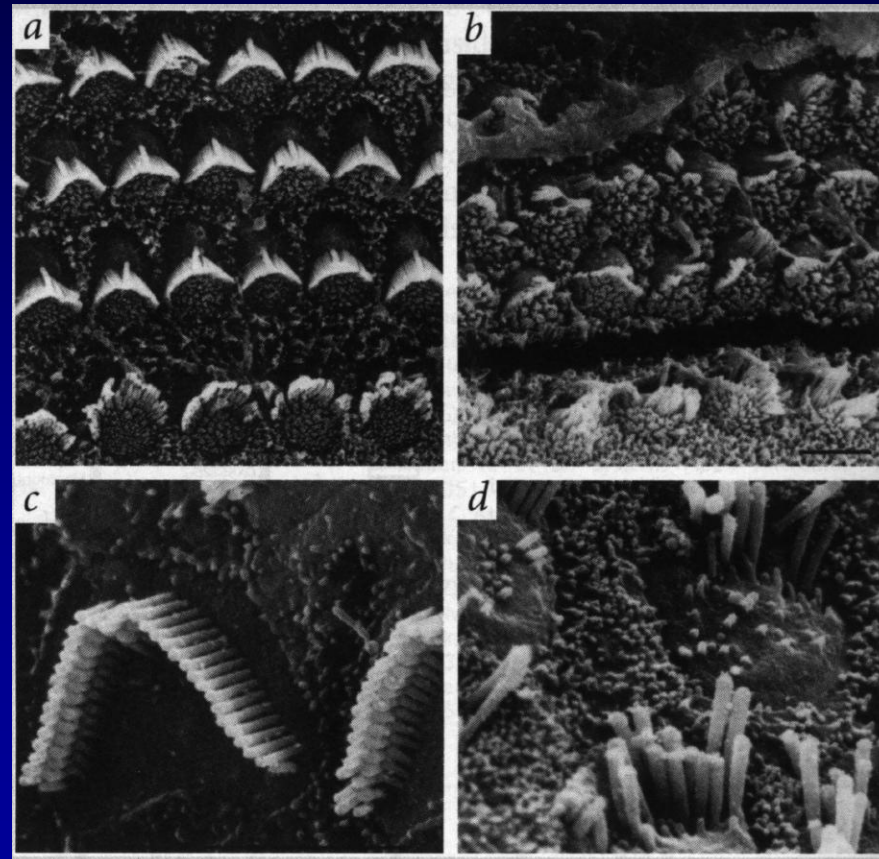
Normal

Mutante

Efecto de mutaciones  
en el gen MYO7A:

**Desorganización de  
los estereocilios** de  
las células sensoriales

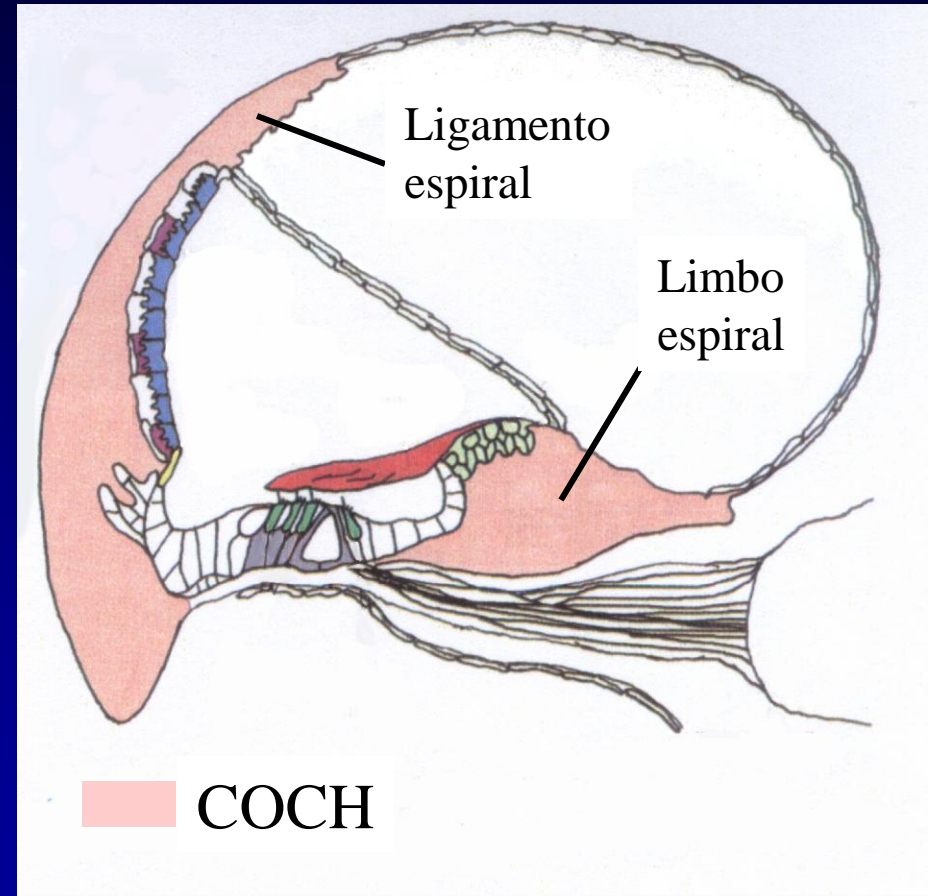
(Imagen tomada de los  
experimentos en ratón  
realizados por los  
Dres. Karen Steel y Tim Self)





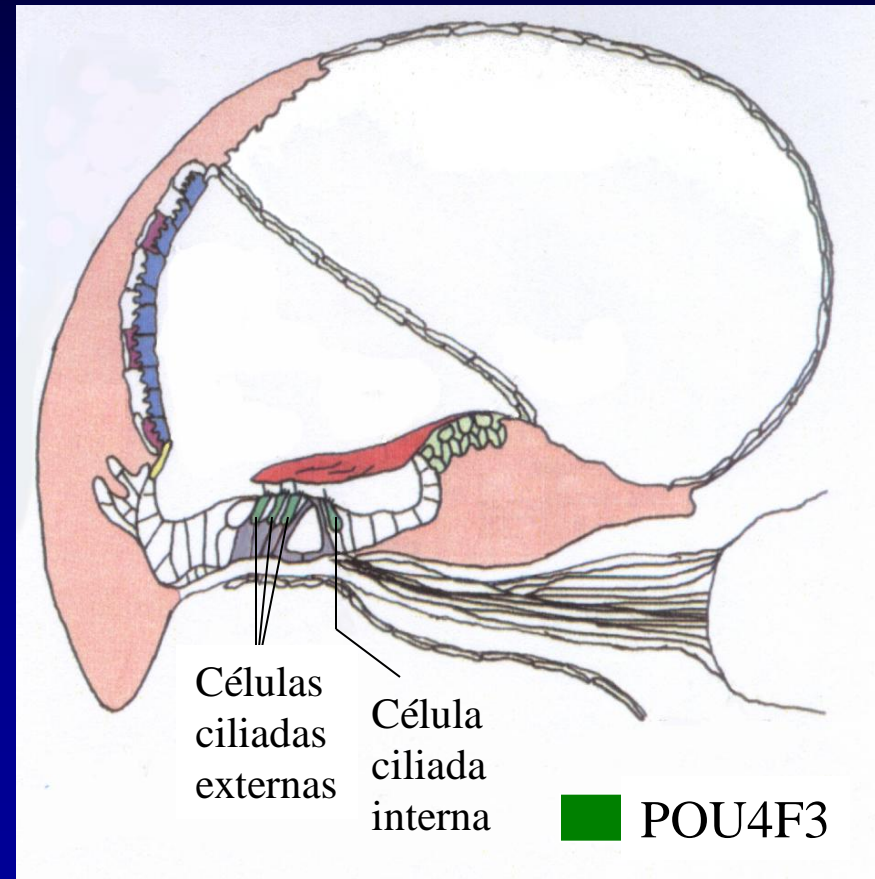
# Gen COCH: Proteína COCH

- 14q12-q13, locus **DFNA9**
- Afectación vestibular
- Expresión: **Limbo espiral** y **ligamento espiral**
- Proteína de **matriz extracelular**
- Función (hipotética): **Supervivencia celular**
- Hallazgo histopatológico: **depósitos acidófilos** en los pacientes



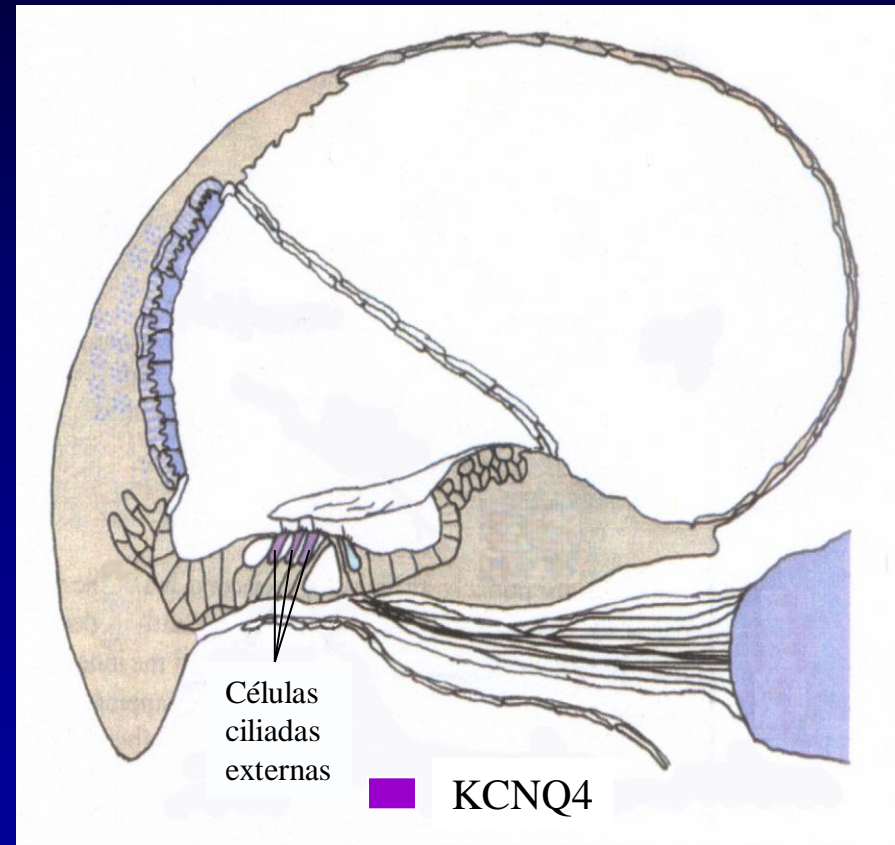
# Genes POU3F4 y POU4F3: Factores de transcripción

- Factores de transcripción con dominio de tipo POU
- Función: regulación del desarrollo embrionario
- Gen POU3F4 - Xq21
  - ◆ Locus **DFN3**
  - ◆ Fijación del estribo, “*gusher*”
- Gen POU4F3 - 5q31
  - ◆ Locus **DFNA15**
  - ◆ Expresión: células ciliadas del órgano de Corti



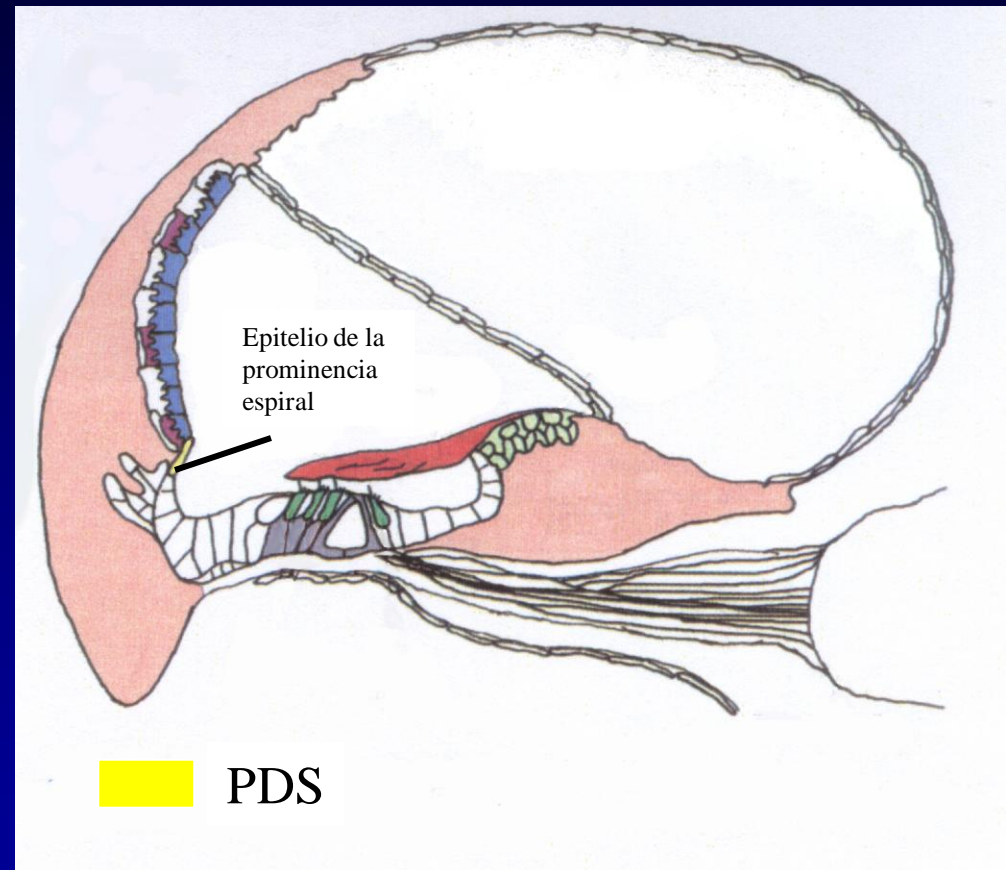
# Gen KCNQ4: Canal de potasio KCNQ4

- 1p34, locus **DFNA2**
- Expresión: **Células ciliadas externas**
- Proteína: **Canal de membrana específico para iones potasio**
- Función: **Reciclaje de iones potasio** por transporte a la endolinfa, tras la estimulación de las células ciliadas

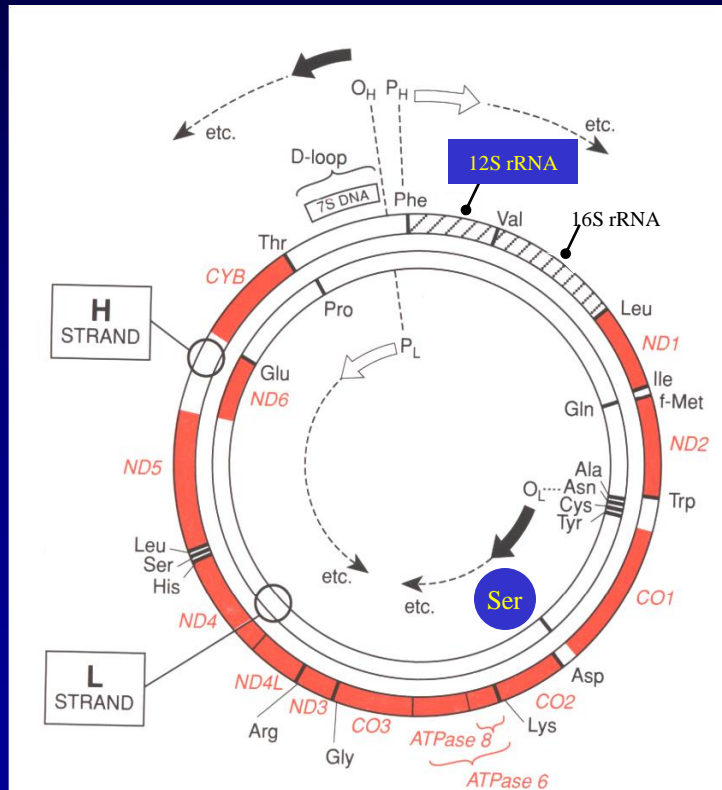


# Gen PDS: **Pendrina**

- 7q31, locus **DFNB4**
- Síndrome de Pendred
- Expresión: **Epitelio de la prominencia espiral**
- **Pendrina**, proteína de membrana
- Función: **Transporte de yoduro y cloruro**

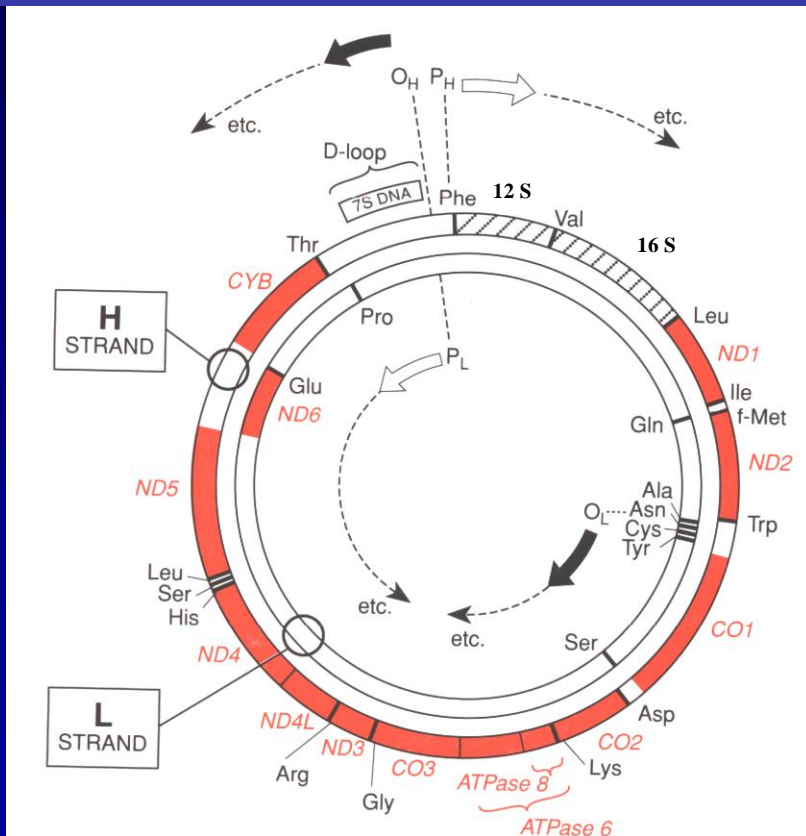


# Mutaciones en el **genoma mitocondrial** en hipoacusias no sindrómicas



- En el gen del RNA ribosómico mitocondrial 12S:
  - Mutación **A1555G**
- En el gen del tRNA-Ser(UCN):
  - Mutación **T7510C**
  - Mutación **T7511C**

# Mutaciones en el **genoma mitocondrial** en hipoacusias no sindrómicas



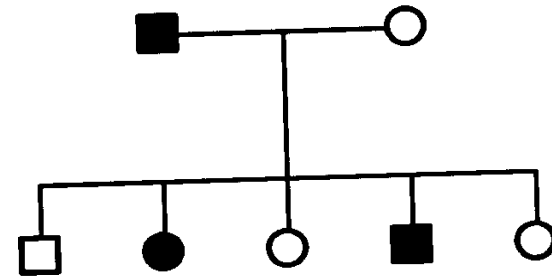
- Mutación A1555G
- Afecta al gen del **RNA ribosómico mitocondrial 12S**
- Responsable de:
  - ✓ Predisposición a la **ototoxicidad** de los antibióticos **aminoglucósidos**
  - ✓ Hipoacusia neurosensorial con **caída en agudos**

# Asesoramiento genético: complicaciones

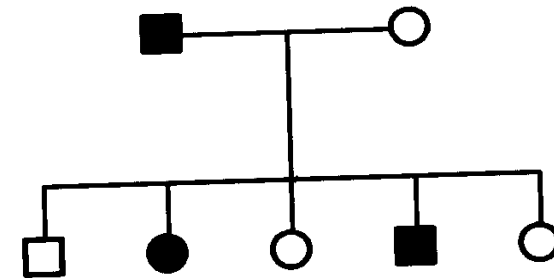
- -Heterogeneidad genética
  - ◆ Muchos genes implicados
  - ◆ Muchas mutaciones distintas en cada gen
  - ◆ El modo de herencia no puede establecerse sin ambigüedad, cuando el pedigrée no incluye un número suficiente de afectados y de normoyentes

# Casos problemáticos

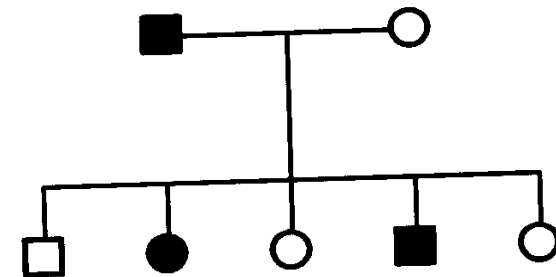
a) Autosómica dominante



b) Autosómica recesiva  
madre portadora de la mutación

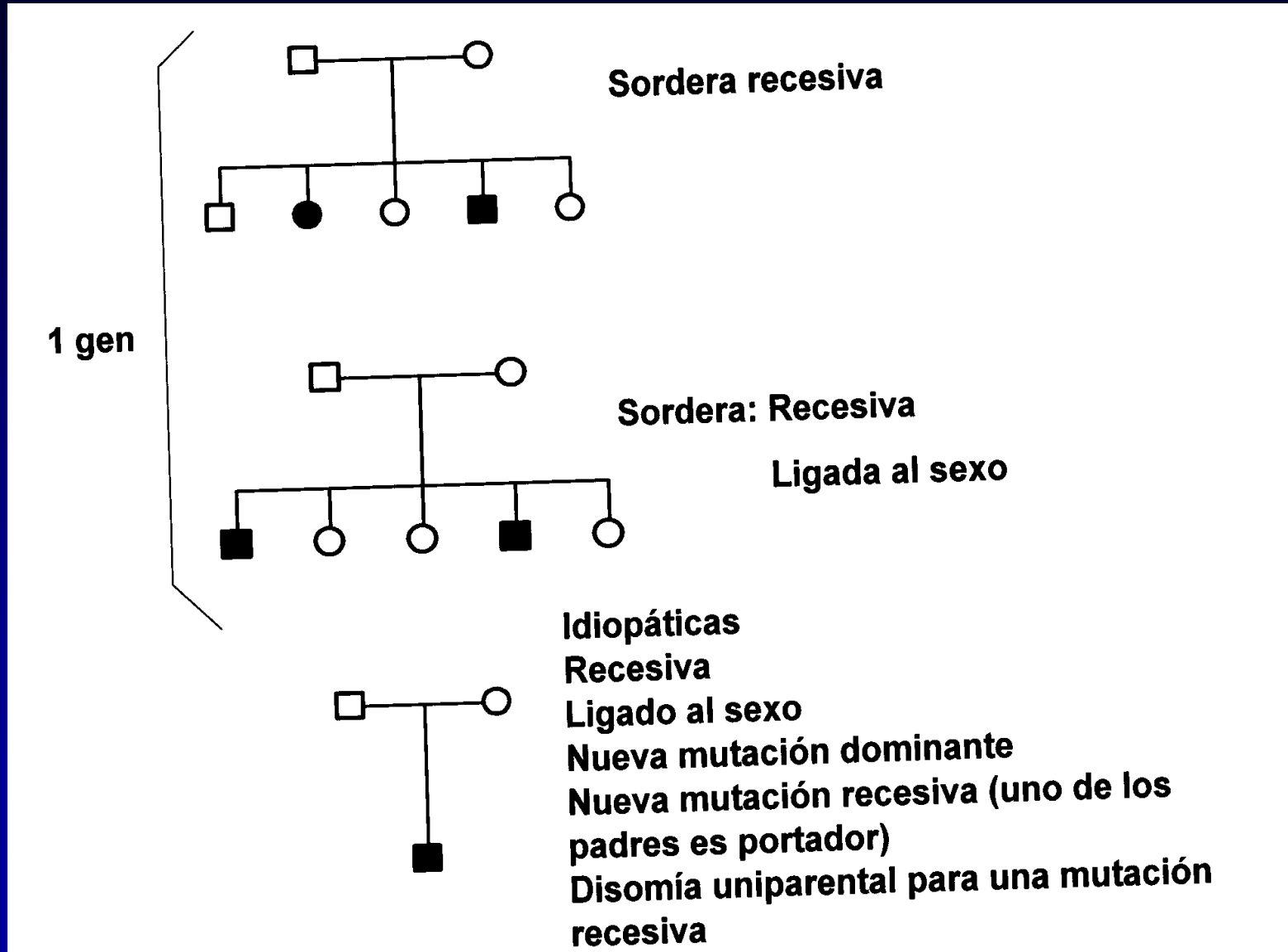


c) Padre: sordera mitocondrial  
Hijos: sordera recesiva





# Casos problemáticos



# Casos problemáticos

