

GENÉTICA DE LA AUDICIÓN EN ARGENTINA: ESCUCHANDO AL GENOMA

Palabras clave: Hipoacusia, sordera, genes, diagnóstico molecular.
Key words: Hearing loss, deafness, genes, molecular diagnosis.

La hipoacusia es el desorden neurosensorial más común que afecta aproximadamente a 460 millones de personas en el mundo. En más de la mitad de los casos la causa de la sordera es de origen genético y su prevalencia aumenta con la edad. Se conocen actualmente más de 100 genes que pueden relacionarse con el daño auditivo. La mayoría de los pacientes no evidencian ningún otro síntoma asociado (forma no sindrómica, 70%) y presentan un tipo de herencia autosómica recesiva (80%). Los genes que se encuentran más frecuentemente alterados en individuos con hipoacusia no sindrómica de herencia recesiva son *GJB2* y *GJB6*, que en algunas poblaciones alcanza el 30-50% del diagnóstico. La detección temprana es fundamental, ya que el tratamiento inmediato tiene un impacto exponencial en el desarrollo de las distintas habilidades de la audición y el lenguaje. Es por esto, que entender las causas subyacentes de la hipoacusia hereditaria se convierte en un tema de importancia mayor. En este trabajo resumimos las distintas formas de identificar, describir y estudiar las variantes genéticas en diversos genes relacionados con la patología. Además, diseñamos un algoritmo secuencial para el abordaje multigénico de la hipoacusia, que involucra tanto técnicas rutinarias de biología molecular como estudios de última generación. De este modo, logramos un diagnóstico molecular certero, y en consecuencia, un preciso asesoramiento genético y clínico para el paciente.

■ Paula Buonfiglio, Ana Belén Elgoyhen y Viviana Dalamon*

Laboratorio de Fisiología y Genética de la Audición. Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular “Dr Héctor Torres” - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - INGENI / CONICET - Vuelta de Obligado 2490, CABA

E-mail: vivaldamon@gmail.com*

Hearing loss is the most common sensory disorder affecting approximately 460 million people worldwide. In more than half of the cases, the cause of hearing impairment is genetic and to date more than 100 genes have been related to hearing damage. Most of the patients do not exhibit any other associated symptoms (non-syndromic form, 70%) and present an autosomal recessive mode of inheritance (80%). *GJB2* and *GJB6* are the most frequently altered genes in individuals with recessive inherited non-syndromic hearing loss, which in some populations reach 30-50% of diagnosis rate. Early detection results essential, since treatment has an exponential impact on the development of hearing and language skills. This is the reason why understanding the underlying causes of hereditary hearing loss becomes a major issue. In this work we summarize possible ways to identify, describe and study the prevalence of genetic variants in genes related to the disease. In addition to design a suitable algorithm for the sequential multigenic approach of hearing loss that involves both everyday routine molecular biology techniques and next generation sequencing techniques. In this way, we achieve an accurate molecular diagnosis, and hence, a precise clinical and genetic counseling for the patient.

■ INTRODUCCIÓN:

La pérdida auditiva es el defecto neurosensorial más frecuente en los países desarrollados, se estima que 1 de cada 500 recién nacidos posee una pérdida de audición bilateral moderada en forma permanente, provocando en el afectado dificultades en la producción del lenguaje y el habla, como también en su

desarrollo cognitivo, psico-social y académico, limitando su calidad de vida. La disfunción auditiva es causada tanto por factores ambientales como genéticos y la proporción de casos que pueden ser atribuidos a causas hereditarias aumenta en forma continua.

Acorde a los datos de la OMS, se

calcula que afecta a más de 460 millones de personas en el mundo (más del 5% de la población mundial), de las cuales 34 millones son niños; y se estima que en 2050, más de 900 millones de personas —es decir, una de cada 10— sufrirá una pérdida de audición discapacitante (*Sordera y Pérdida de la Audición*, n.d.). La situación de las personas que padecen

pérdida de audición cambia radicalmente mediante la utilización de audífonos, implantes cocleares y otros dispositivos de ayuda auditiva. Actualmente se encuentran en estudio y desarrollo nuevas estrategias de terapia génica para restaurar y prevenir distintas formas de hipoacusia neurosensorial. Varios trabajos han demostrado el potencial poder terapéutico de agentes moleculares dirigidos al oído interno, corrigiendo o previniendo la hipoacusia y volviendo realidad lo que hasta hace poco parecía imposible (Farooq et al., 2020; Hampton, 2012; Kim et al., 2019; Lustig & Akil, 2019; Omichi et al., 2019). Las nuevas terapias génicas resultan prometedoras ya que ofrecen restaurar la audición, basándose en una terapia dirigida acorde al tipo de variante genética presente en el paciente, volviendo una vez más al estudio genético como punto crítico para el tratamiento futuro (Chien et al., 2015; Ren et al., 2019).

En más de la mitad de los casos la causa de la hipoacusia es genética y se conocen actualmente más de 100 genes que pueden relacionarse con el daño auditivo. Gracias a los programas obligatorios de exploración auditiva en recién nacidos que se han implementado en todo el mundo, es posible detectar la pérdida auditiva de manera temprana, momento en el cual la intervención en cualquiera de sus formas tiene sus mejores resultados. Se ha demostrado que la estimulación temprana es crítica para el desarrollo de los centros corticales involucrados en la audición, facilitando la plasticidad neuronal y favoreciendo la interpretación posterior del sonido. En consecuencia, el conocimiento profundo de las causas genéticas de cada una de las hipoacusias y la implicancia funcional sobre los distintos componentes del sistema auditivo, tiene un impacto inmediato en la implementación de las distintas

terapias (Trumpp & Kiefer, 2018).

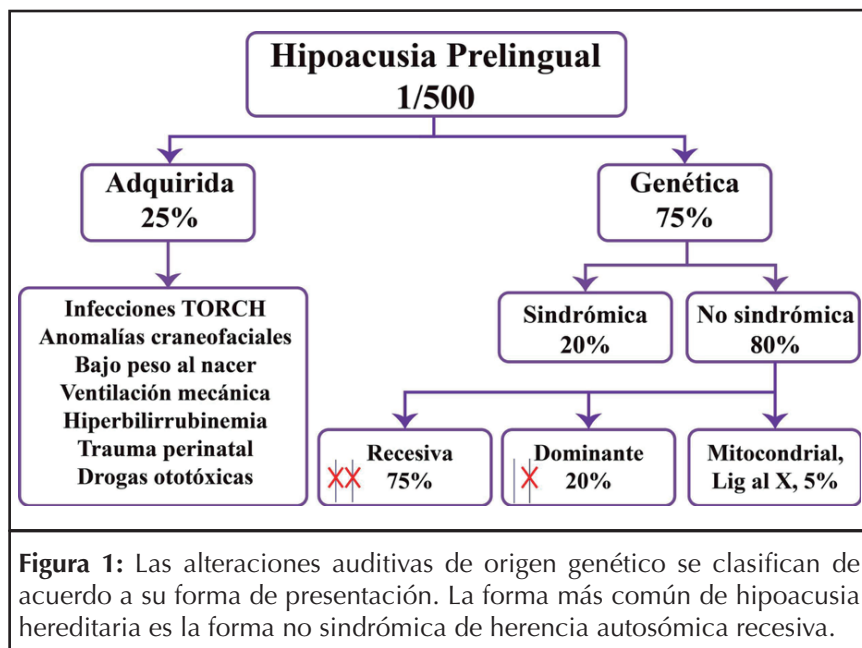
El objetivo principal de los estudios genéticos en pacientes con hipoacusia es elucidar el rol que juegan determinadas alteraciones genéticas en la generación, progresión y severidad de la hipoacusia en humanos. Además, encontrar marcadores de evolución de la enfermedad y del tratamiento instaurado, así como decidir sobre el mejor tratamiento a seguir. El diagnóstico genético impacta en la toma de decisiones personales del afectado y su familia, y por otro lado también permite ahorrar dinero al sistema de salud al dirigir la evaluación clínico-terapéutica y obviar tests innecesarios. Por otro lado, se ha visto que en un gran porcentaje de casos el estudio genético permite la identificación de síndromes que no han sido detectados por la clínica, permitiendo el manejo temprano y la toma de decisiones (Kimberling et al., 2010).

El advenimiento de las técnicas de secuenciación masiva, ha revolucionado el estudio y tratamiento de los pacientes con hipoacusia al convertir los test genéticos en algo cercano y posible (Hilgert, Smith, & Camp, 2009; Shearer et al., 2015). Los estudios genéticos se han vuelto moneda corriente y es por ello que se ha vuelto accesible secuenciar y estudiar la totalidad del genoma, y por ende la cantidad de genes que se desee para la patología. En este trabajo presentaremos los aspectos generales de las hipoacusias hereditarias (tanto sindrómicas como no sindrómicas), así como también el algoritmo de estudio diseñado en nuestro Laboratorio de Fisiología y Genética de la Audición, INGEBI/CONICET - Buenos Aires, Argentina. Además, algunos resultados del estudio de más de 600 pacientes en nuestro laboratorio en los últimos años.

■ PREVALENCIA, ETIOLOGÍA Y TIPOS DE PRESENTACIÓN:

Se considera que 1 de cada 500-1.000 recién nacidos posee algún tipo de deficiencia auditiva, aunque la prevalencia de la hipoacusia neurosensorial continúa aumentando durante la infancia hasta alcanzar valores de 2,7 de cada 1.000 niños menores a 5 años y 3,5 de cada 1.000 durante la adolescencia (Morton & Nance, 2006). Este aumento de la prevalencia con la edad refleja claramente el impacto de la interacción de la genética con el ambiente, como se demuestra en la ototoxicidad generada por los aminoglucósidos, la otitis media secretora y la otoesclerosis (Hilgert, Smith, & Van Camp, 2009).

En los países desarrollados, cerca del 75% de los casos de hipoacusia se atribuyen a causas genéticas. Son muy heterogéneas en su forma de presentación, y son trastornos monogénicos, es decir, causados por mutaciones en un solo gen. La forma más común de hipoacusia hereditaria es la forma no sindrómica (sin otro signo asociado) de herencia autosómica recesiva (80%), es decir en donde ambos padres poseen alguna alteración genética que transmitieron a su descendencia (aún cuando ellos no necesariamente presenten síntomas). El 20% restante se distribuye entre las formas autosómica dominante (12-15%), en donde sólo uno de los progenitores posee alguna alteración genética y su transmisión es suficiente para la aparición de los síntomas, aquellas ligadas al cromosoma X (1-5%) y las de herencia materna por mutaciones en el ADN mitocondrial (1-5%). Son menos frecuentes las formas sindrómicas de la hipoacusia (30%), entre los más vistos tenemos al Síndrome de Pendred (con acueducto vestibular agrandado y alteraciones tiroideas), Usher (retinitis pigmentosa), Waar-



denburg (anormalidades de pigmentación) y el braquio-oto-renal (BOR) (Figura 1). Información detallada puede encontrarse en la página “Hereditary Hearing Loss Homepage” (Welcome to the Hereditary Hearing Loss Homepage, n.d.) .

■ TIPOS DE PÉRDIDA AUDITIVA:

Los individuos con distintas formas de hipoacusia son evaluados audiológicamente mediante distintos estudios que establecen no sólo la severidad de la afección, sino también su localización, las frecuencias afectadas y su evolución en el tiempo. Se clasifican de acuerdo con su severidad en: leve, moderada, severa y profunda. Las curvas audiométricas se clasifican según las frecuencias en que se produce la pérdida auditiva: con caída en agudos, chata, con caída en graves, en U (caída en tonos medios). Según la edad de inicio de la hipoacusia se dividen en: prelingual (antes de la adquisición del habla), perilingual (entre los 2 y 5 años) y postlingual (posterior a la adquisición del habla).

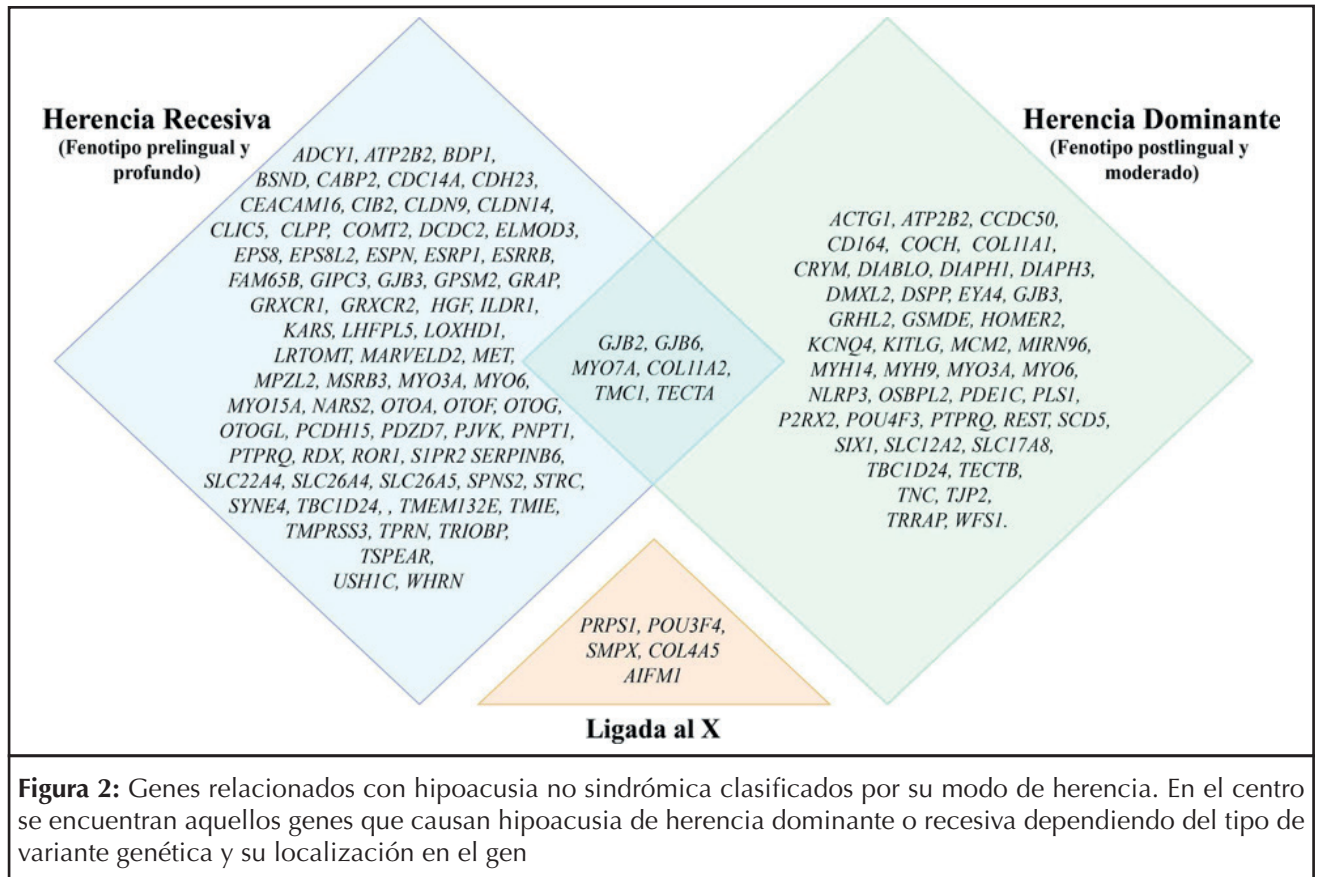
■ CON TANTOS GENES INVOLUCRADOS, ¿CUÁLES SON LOS PRIMEROS EN ESTUDIARSE?

Aproximadamente, el 70% de las hipoacusias hereditarias son no sindrómicas y hasta la fecha se han identificado 121 genes relacionados con la misma: 76 con un modo de herencia recesivo, 49 dominantes y 5 ligados al cromosoma X (algunos genes puede causar hipoacusia de herencia dominante o recesiva dependiendo de cuál sea la mutación que presenten) (Website, n.d.) (Figura 2). Con respecto a la clínica o la forma de presentación, si bien es muy difícil hacer generalizaciones, podríamos decir que la mayoría de las variantes de secuencia en los genes de herencia autosómica dominante se relacionan con hipoacusia postlingual moderada y la mayoría de las alteraciones en los genes de herencia recesiva causan hipoacusia prelingual severa-profunda. Si bien hay algunas excepciones, en la mayoría es posible correlacionar la presentación clínica con la causa genética, lo que permite orientar el estudio genético posterior. Los genes ligados al cromosoma X pueden ser

pre o post linguales y de diversas severidades.

Cabe destacar, que la forma del audiograma puede volverse útil para predecir genes candidatos para el estudio genético. Por ejemplo, los pacientes con variantes genéticas en el gen *WFS1* (hipoacusia no sindrómica de herencia autosómica dominante) poseen un audiograma que afecta inicialmente las frecuencias bajas, pero mantiene las altas frecuencias normales. Otro ejemplo, es el de determinadas mutaciones en el gen *TECTA* que producen un cambio característico en forma de U en el audiograma (al afectar sólo a las frecuencias medias- se lo denomina en “cookie bite”). Características de los audiogramas y los genes a los que se los relaciona pueden deducirse relativamente utilizando el programa “audiogene” de la Universidad Iowa (<https://audiogene.eng.uiowa.edu/audioprofiles>).

Puede decirse en forma muy resumida, que la estrategia diagnóstica se basa primero en encontrar o descartar las causas genéticas más frecuentes, para luego ampliar el estudio en caso de que el paciente resulte negativo en esos genes. En la mayoría de las poblaciones estudiadas, el mayor porcentaje diagnóstico se debe a variantes genéticas en los genes *GJB2* y *GJB6*, que codifican para las proteínas conexina 26 y conexina 30 respectivamente (Dalmón et al., 2010; Estivill et al., 1998; Kelsell et al., 1997; Lee et al., 1992; R. Rabionet et al., 2000a; Sloan-Heggen et al., 2016; Zelante et al., 1997). Las variantes de secuencia en estos dos genes son responsables del 10-25% de las hipoacusias no sindrómicas, por lo que siguen siendo hoy en día el primer blanco de estudio en todos los laboratorios de genética clínica (Kenneson et al., 2002). En varios trabajos publicados



por nuestro laboratorio, hemos podido establecer que las mutaciones en ambos genes son también las más frecuentes en nuestra población, detectando 48 mutaciones distintas en *GJB2* y reportando 4 mutaciones nuevas que fueron subidas a las bases de datos para ser contrastadas en otras poblaciones (Buonfiglio et al., 2020; Dalamon et al., 2016; Dalamon et al., 2005, 2009, 2013; Dalamon et al., 2016).

Hasta la fecha se han detectado más de 300 variantes genéticas distintas en el gen *GJB2* (se pueden consultar en las bases de datos ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) y "Deafness Variation Database" (<http://deafnessvariation-database.org>). Claramente, existen variantes genéticas que se presentan con mayor frecuencia en determinadas poblaciones. Así, se ha descrito que una delección puntual de la guanina en la posición 35 del gen

(c.35del) es responsable del 80% de los alelos mutados en la población Caucásica, la delección de la citosina 235 (c.235del) es la de mayor frecuencia en Japón, China y Corea; y la delección de una timina en la posición 167 del gen (c.167del), se encuentra presente en el 4% de la población de judíos Ashkenazi (Gasparini et al., 2000; Rabionet et al., 2000b; Rabionet et al., 2000; Xia et al., 2019).

En la población Española, se han reportado dos grandes delecciones de 309Kb y 232Kb en el gen *GJB6*, las cuales resultan las mutaciones más frecuente, luego de la c.35del en la conexina 26. Se las denomina del(*GJB6-D13S1830*) y del(*GJB6-D13S1854*) y se las encuentra frecuentemente con otras mutaciones en *GJB2* (del Castillo et al., 2005; Del Castillo et al., 2003; Marlin et al., 2005).

Es preciso mencionar como otro blanco importante de estudio a una delección que involucra a todo el gen *STRC* ubicado en el cromosoma 15q15.3. La incidencia de grandes delecciones en *STRC* sería cercana al 5%, posicionándolo como la segunda causa de sordera genética luego de las mutaciones puntuales en *GJB2* (Francey et al., 2012; Morgan et al., 2020; Shearer et al., 2014; Vona et al., 2015; Yokota et al., 2019). Se ha reportado que algunas delecciones que inactivan al gen *STRC* afectarían al gen vecino *CATSPER2*, involucrado en la motilidad del esperma, por lo que se han relacionado no sólo con hipoacusia sino también con infertilidad en hombres (Zhang et al., 2007).

Otro blanco de estudio que cobra relevancia para la hipoacusia recesiva no sindrómica se encuentra en el gen *OTOF*. Esto se debe a que la mutación Q829X (también llamada

Gln829*) sería la tercera causa más frecuente de sordera en la población Española (Yasunaga, Grati et al. 1999, Migliosi, Modamio-Hoybjor et al. 2002, Rodríguez-Ballesteros, del Castillo et al. 2003).

Por lo tanto, podemos resumir diciendo que los estudios genéticos siguen hoy un algoritmo diagnóstico que involucra primero el estudio de unos pocos genes y una vez descartados, se prosigue con el estudio de la mayoría o todos los genes reportados mediante secuenciación masiva.

■¿PUEDE EL ESTUDIO GENÉTICO AYUDARME A DECIDIR MI TRATAMIENTO?

Más allá de la gran cantidad de genes relacionados con la pérdida auditiva, algunos genes siguen siendo de interés diagnóstico o pronós-

tico, ya que permiten la toma de decisiones con respecto a la evolución de la patología y a la respuesta al tratamiento instaurado. Entre ellos encontramos a determinados genes relacionados con la neuropatía auditiva, el implante de cóclea o a aquellos relacionados con la ototoxicidad a determinadas drogas.

En forma resumida podría decirse que aquellos pacientes con variantes de secuencia identificadas en genes que se expresan en el epitelio sensorial del oído interno, adquirirán mejores y mayores capacidades auditivas y/o lingüísticas comparados con aquellos que posean alteraciones en genes implicados en la funcionalidad de la parte neural; sugiriendo por lo tanto que la identificación de los antecedentes genéticos facilita la predicción de la performance post-implante (Miyagawa et al., 2016). Es

decir, el resultado del implante coclear podría predecirse, en caso de conocer la localización de la lesión o disfunción auditiva (**Figura 3**).

Por ejemplo, los pacientes con alteraciones pre-sinápticas como es el caso de aquellos con variantes genéticas detectadas en el gen *OTOF*, se verían beneficiados por el implante; mientras que se presume que aquellos pacientes con alteraciones en el gen *PJVK* no tendrían un buen pronóstico al implante de cóclea, ya que la localización de la lesión puede considerarse en el nervio auditivo, el cual conduce la señal nerviosa hacia los centros corticales (Park et al., 2017; Rahbar et al., 2006).

Lo que es más, varios autores han sugerido que el diagnóstico molecular debería ser implementado como parte de las evaluaciones pre-quirúr-

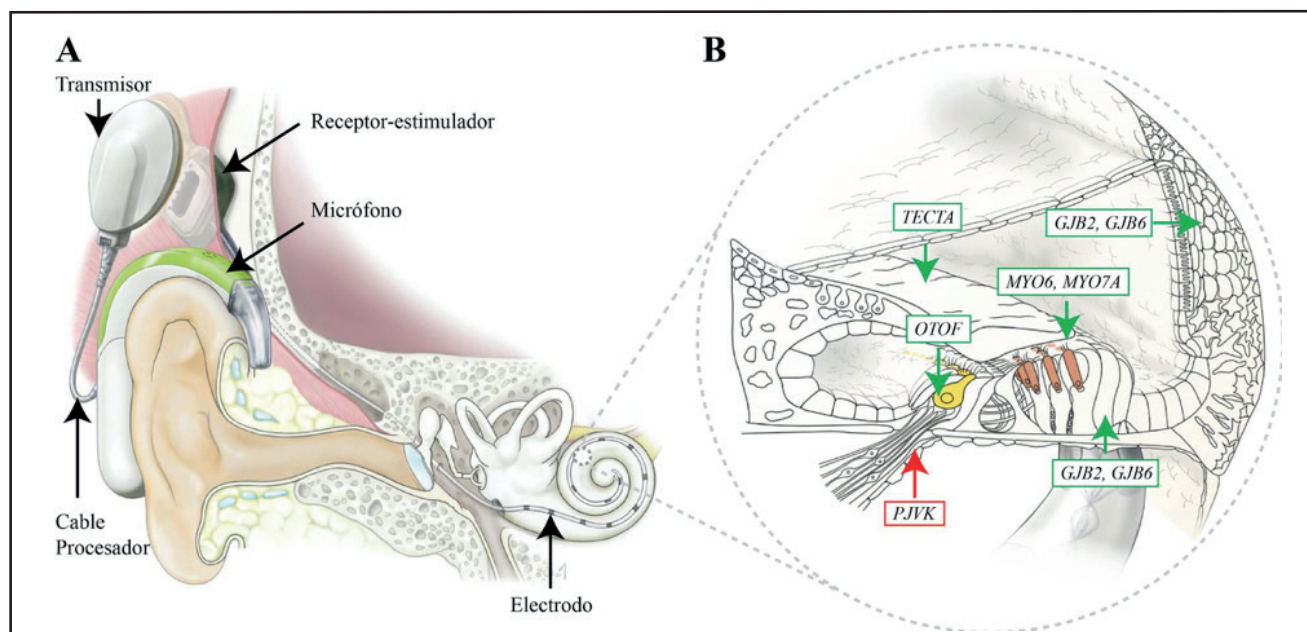


Figura 3: A: Oído humano con implante coclear colocado, la parte externa consta de un procesador de audio y un transmisor y en la parte interna un electrodo que se introduce en la cóclea y que se conecta con el nervio auditivo. B: Zoom sobre el órgano de Corti que se encuentra dentro de la cóclea. En color rojo se marca la flecha que indica la parte neural del sistema auditivo (fibras aferentes nerviosas) mientras que en verde se indican algunos componentes del epitelio sensorial (células ciliadas y células de soporte). Aquellos pacientes con variantes de secuencia identificadas en genes que se expresan en el epitelio sensorial del oído interno (verde), adquirirán mejores capacidades auditivas comparados con aquellos que posean mutaciones en genes que alteren la funcionalidad de la parte neural (rojo); sugiriendo por lo tanto que la identificación del antecedente genético facilita la predicción de la performance post-implante. Imagen editada de (Usami et al., 2020).

gicas del implante, ya que se considera que puede proveer información pronóstica y permitiría dimensionar las expectativas al tratamiento en forma más realista y cuantificable (Yan et al., 2013; Yoshida et al., 2013).

■ GENÉTICA + AMBIENTE. LOS ANTIBIÓTICOS Y LA SORDERA:

Se ha establecido que determinadas mutaciones en el ADN mitocondrial sensibilizarían a las células del oído interno a la toxicidad por aminoglucósidos, utilizadas en el tratamiento contra bacilos gram negativos (como la gentamicina). La hipoacusia es generalmente bilateral y severa-profunda, con un inicio dentro de los días a semanas luego de la administración aún en una sola dosis y en rangos terapéuticos (Prezant et al., 1993; S. Usami et al., 1997; S.-I. Usami & Nishio, 2004). Estas drogas generarían la destrucción de las células ciliadas del oído interno y de neuronas de esa región, con la consecuente pérdida permanente de la audición. La presencia de determinadas mutaciones serían altamente predictivas de riesgo de hipoacusia adquirida post tratamiento antibiótico. En particular las mutaciones m.A1555G, m.C1494T y m.961delT+C(n) en el gene *MT-RNR1* son los primeros blancos de estudio al analizar la hipersensibilidad a aminoglucósidos, que conlleva a la pérdida auditiva. Por ejemplo, la presencia de la variante m.A1555G produce una modificación en el 12 rRNA (ácido ribonucleico), haciendo que su estructura sea muy similar a la región blanco de *E. coli* (bacteria muy común) 16S rRNA, y por lo tanto blanco vulnerable de estos antibióticos (Guaran et al., 2013; Wu et al., 2018).

Por otro lado, ya que el tratamiento con inyecciones de gentamicina trans-timpánica es una opción

importante para aliviar la sintomatología de pacientes con vértigo, el estudio genético de susceptibilidad a la ototoxicidad se realiza en forma previa a realizar el tratamiento, como forma de disminuir el riesgo a perder la audición.

■ HIPOACUSIA SINDRÓMICA:

Las hipoacusias sindrómicas dan cuenta del 30% de los casos, con más de 400 síndromes descriptos. En las formas sindrómicas, la hi-

poacusia es acompañada por signos clínicos adicionales en otros órganos, los más frecuentes involucran la visión, riñones, sistema nervioso, músculo-esquelético, pigmentación, tiroides, etc. (Parker et al., 2015; Toriello & Smith, 2013). Los más frecuentes son de herencia autosómica recesiva, aunque existen de todos los tipos de herencia, severidades y tipos. Entre las formas dominantes, los más frecuentes son el síndrome de Waardenburg (WS) y el Braquio-oto-renal (BOR); entre las formas re-

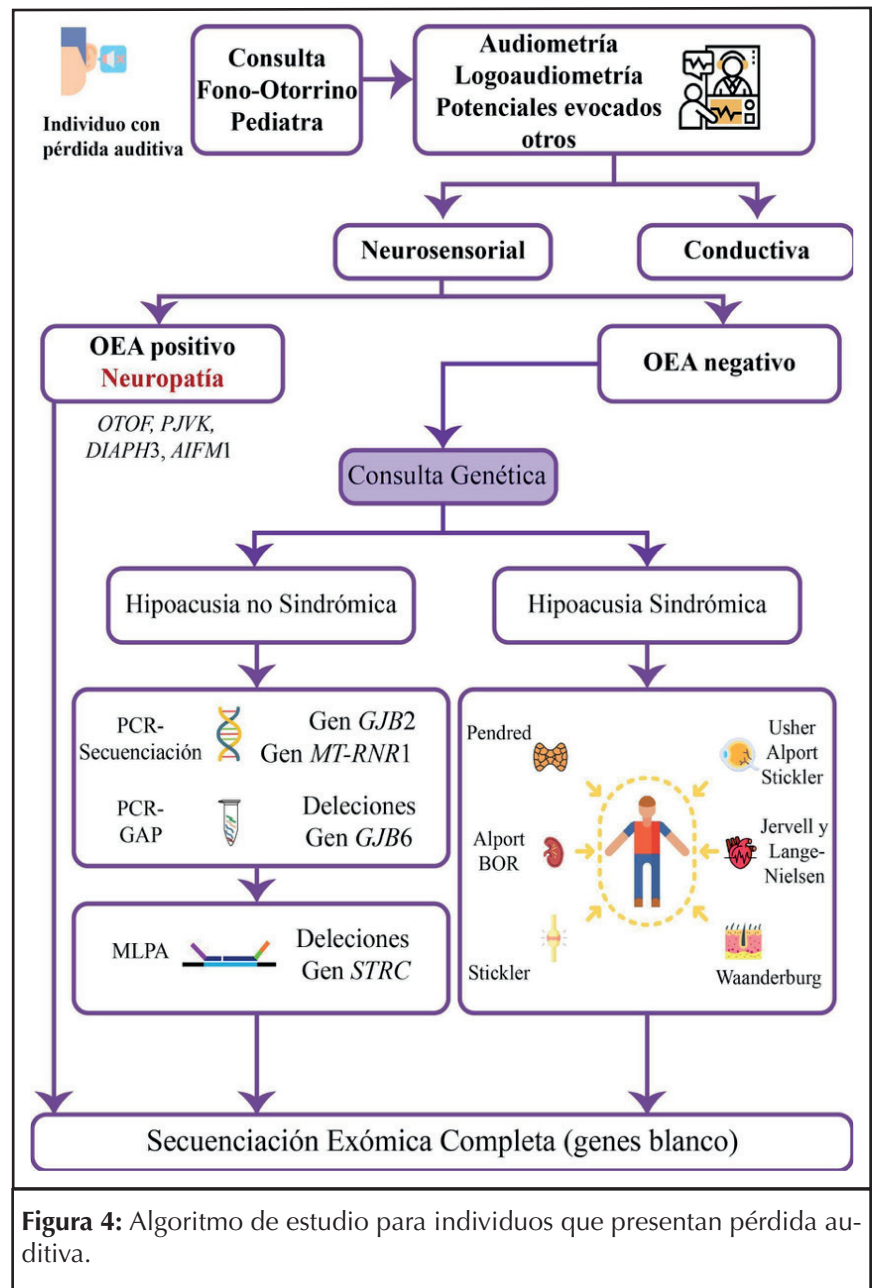


Figura 4: Algoritmo de estudio para individuos que presentan pérdida auditiva.

cesivas el Síndrome de Pendred, el Jervell-lange-Nielsen y Stickler. En muchas de estas formas se conoce el o los genes causales, por lo que se analiza directamente los genes relacionados. Sus características genéticas asociadas pueden encontrarse en la base de datos OMIM (<https://www.omim.org>).

■ ALGORITMO DE ESTUDIO EN ARGENTINA: CON TANTOS GENES DESCRIPTOS, ¿POR DONDE EMPIEZO?

Para decidir si estudiar unos pocos genes o elegir una técnica de secuenciación masiva, se tiene en cuenta y evalúa la frecuencia de aparición de mutaciones en cada gen, las características clínicas del paciente y el tiempo y costo del estudio.

Por este motivo, hemos diseñado un algoritmo de estudio secuencial (**Figura 4**) que establece:

1) el estudio de los genes *GJB2* y *GJB6* como primer test genético a todos los pacientes que acu-

den al laboratorio (buscando no sólo las mutaciones frecuentes, sino también analizando exones no codificantes y sitios de corte y empalme críticos para la maduración de la expresión de los genes).

- 2) analizar los genes relacionados con neuropatía en pacientes a ser implantados (como *OTOF* y *PJVK*), y el gen mitocondrial *MT-RNR1* en pacientes que sufrieron internaciones y pudieran haber recibido antibióticos ototóxicos.
- 3) estudiar las grandes deleciones en el gen *STRC* (especialmente si el paciente presenta hipoacusia moderada).
- 4) secuenciación exómica completa para estudiar todos los genes relacionados con la hipoacusia.
- 5) en caso de que paciente presentara signos y síntomas compatibles con un determinado síndrome, se estudiarán los genes blanco para cada caso.

Siguiendo este algoritmo diagnóstico hemos estudiado en el laboratorio más de 600 pacientes con distintas formas de hipoacusia y se ha probado su eficacia costo-beneficio.

■ ALGUNOS RESULTADOS DE NUESTRO LABORATORIO:

Un total de 600 pacientes con hipoacusia no sindrómica se remitieron al Laboratorio de Fisiología y Genética de la Audición en el IN-GEBI / CONICET. Siguiendo nuestro algoritmo de estudio, comenzamos analizando los genes *GJB2* y *GJB6* mediante PCR-Secuenciación y PCR-GAP (técnicas de análisis de genes), respectivamente. Incluimos no sólo las mutaciones frecuentes, sino también otras zonas no codificantes y sitios de corte y empalme (como ya mencionamos). De los pacientes testeados, se diagnosticaron el 36% de los casos familiares (con antecedentes de hipoacusia en la familia) y el 15.5% de los casos esporádicos (sin antecedentes) (**Figura 5A**). Encontramos también mutaciones nuevas, y probamos con experimen-

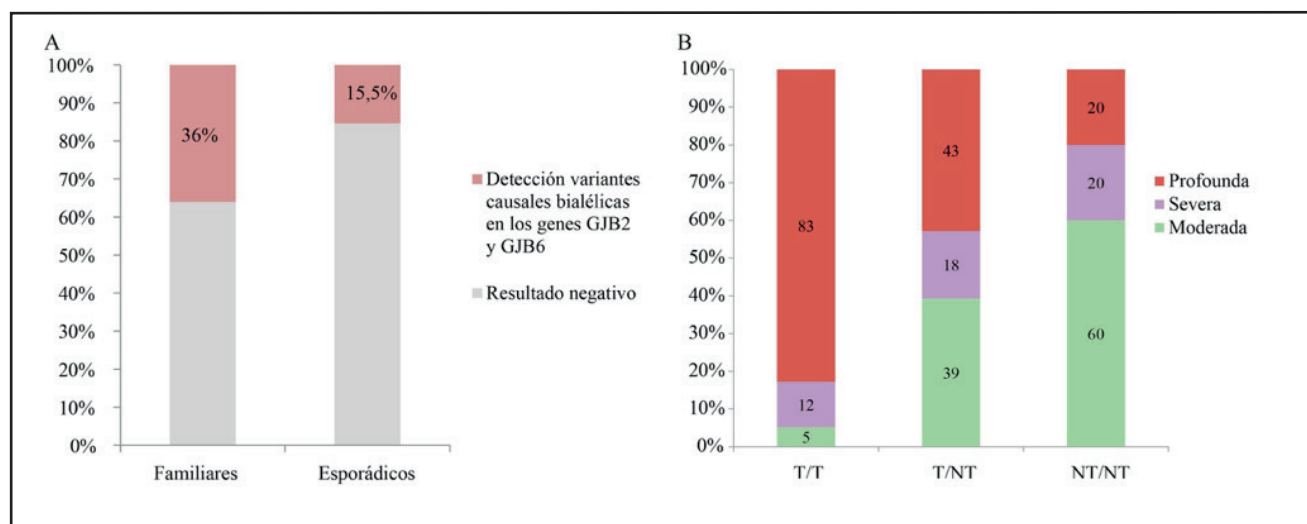


Figura 5: Algunos resultados de nuestro laboratorio. A: Screening de variantes genéticas frecuentes en los genes *GJB2* y *GJB6*. B: En aquellos pacientes en donde ambas mutaciones en el gen *GJB2* eran truncantes (T/T) se observó mayormente un fenotipo más severo y profundo. En los pacientes con dos mutaciones no truncantes (NT/NT) los fenotipos fueron más moderados.

tos en células que estas mutaciones nuevas eran realmente patológicas. Una descripción detallada de los genotipos (o sea la variante genética) detectados, su relación con el fenotipo (es la característica asociada a la variante genética) así como también la interpretación rigurosa de las variantes genéticas identificadas en ambos genes se puede encontrar en nuestras publicaciones (Buonfiglio et al., 2020; Dalamon et al., 2016; Dalamón et al., 2010, 2013). Por otro lado, pudimos establecer que aquellos pacientes en donde ambas mutaciones en el gen *CJB2* eran truncantes (es decir que hacían perder parte de la proteína o generaban que el gen no pueda expresarse), se relacionaban con fenotipos mucho más severos (el 83% de los pacientes tenían hipoacusia profunda); mientras que cuando los pacientes tenían dos mutaciones no-truncantes (cambio

un aminoácido por otro) el grado de sordera era mayormente moderado (Figura 5B).

Al analizar todos los genes reportados para hipoacusia mediante secuenciación exómica completa, se detectaron las variantes genéticas causales de patología en el 53% de los individuos estudiados, confirmando su diagnóstico clínico, siendo los casos familiares y sindrómicos aquellos con mayores tasas de éxito de diagnóstico genético.

Es interesante mencionar, que en aquellos pacientes que exhibían formas no sindrómicas de la patología (es decir que al momento del estudio sólo tenían hipoacusia), el 18% de los mismos presentaron variantes genéticas patológicas en genes relacionados con el Síndrome de Usher (Hipoacusia + Retinitis Pigmento-

sa). Es decir que, sorpresivamente, permitieron redefinir el diagnóstico clínico del paciente y por consiguiente, el seguimiento clínico y asesoramiento genético. Se muestra en la (Figura 6A) un caso esporádico de hipoacusia, en donde se analizó por secuenciación exómica, a una paciente que presentaba sólo hipoacusia congénita. Se identificaron dos variantes genéticas patológicas conocidas en el gen *CDH23*. La paciente debe entonces recibir asesoramiento genético y clínico, ya que se presume desarrollará alteraciones visuales y probablemente ceguera en los próximos años. Se analizó a su hermano, quien resulta portador de una de las mutaciones, por lo tanto, se lo asesora sobre el riesgo de transmisión.

Por otra parte, en una familia con hipoacusia no sindrómica, luego de

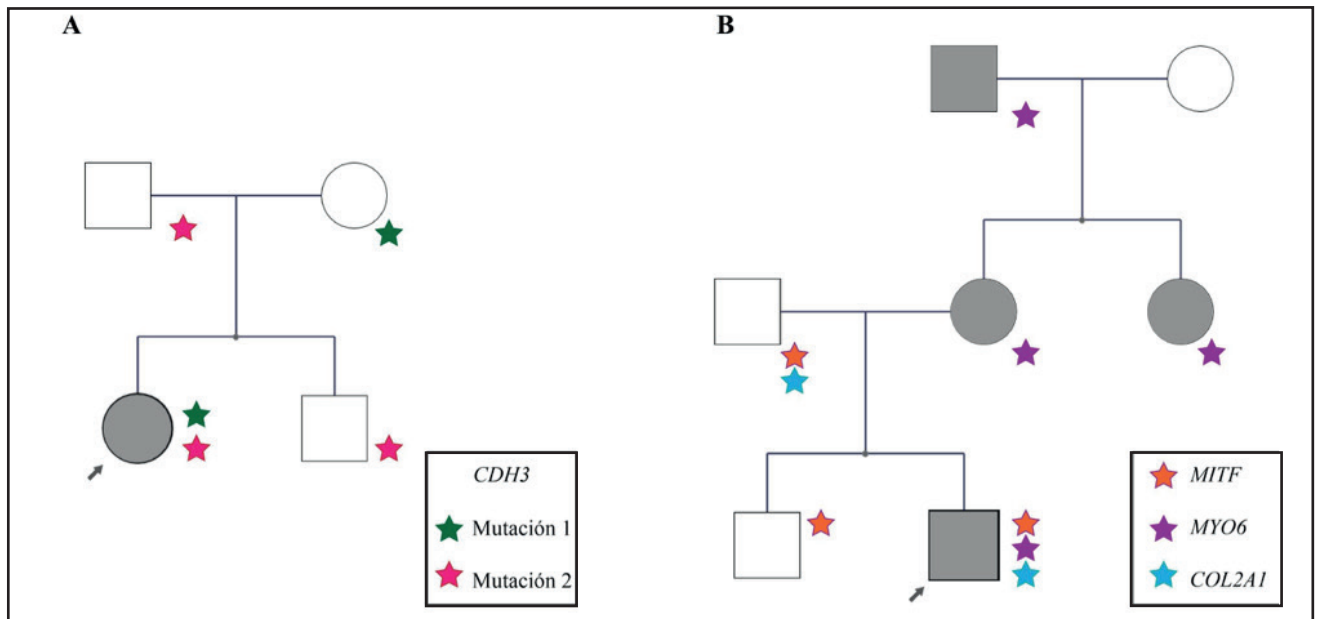


Figura 6: Árbol genealógico y segregación de variantes. **A.** En una familia con hipoacusia no sindrómica, se identificaron dos variantes patológicas conocidas en un gen relacionado con una forma sindrómica de la patología (Síndrome de Usher: Hipoacusia + Retinitis pigmentosa) redefiniendo el diagnóstico clínico. Se estableció al hermano como portador de una variante. **B.** En color gris se señalan aquellos miembros de la familia que presentan hipoacusia postlingual no sindrómica. Se identificaron 3 posibles variantes genéticas en distintos genes y mediante la segregación, fue posible establecer que sólo la variante representada por la estrella color violeta se encontraba presente en todos los afectados de la familia (y ausente en los sanos). Por el contrario, la falta de correlación de las variantes representadas con la estrella celeste y estrella roja, permitieron descartarlas como relacionadas con el desarrollo de la patología.

realizar el estudio de secuenciación exómic, se identificaron 3 variantes genéticas que resultaron candidatas a ser la causa de la patología en la familia. Sin embargo, una de ellas (*COL2A1*) fue descartada al estar relacionada con el síndrome de Stickler, que no concordaba con el fenotipo no sindrómico de la familia. En este caso, fue posible establecer cuál de las otras dos variantes era la causa de la patología en cuestión, al realizar la segregación en los demás miembros de la familia. Al contar con el grupo familiar, fue posible establecer cuál de las variantes era compartida por todos los afectados (como se puede ver en la (Figura 6B), todos los afectados compartían la variante para el gen *MYO6*; mientras que para la variante en el gen *MTF*, varios sanos de la familia resultaban portadores pero no estaba en los afectados, permitiendo por lo tanto descartarla).

■ COMENTARIOS FINALES:

La hipoacusia hereditaria es una condición compleja debido al gran número de genes implicados y la variabilidad de expresión del fenotipo. Sin embargo, el algoritmo de estudio genético resulta beneficioso para identificar las causas genéticas de hipoacusia en nuestra población. Este abordaje genético secuencial resultó en una buena relación costo-beneficio. Realizar los test en laboratorios especializados en genética de la audición es altamente recomendado ya que, los mismos poseerán la capacidad de evaluar con mayor criterio y rigurosidad los resultados obtenidos y tendrán establecidos algoritmos diagnósticos específicos para cada uno de los genes a analizar, derivando en mayor precisión y certeza de la interpretación de las variantes genéticas detectadas (Committee & ACMG Working Group on Update of Genetics Evaluation Guidelines for the Etiologic Diagnosis

of Congenital Hearing Loss; for the Professional Practice and Guidelines Committee, 2014; Shearer et al., 2011). El trabajo interdisciplinario entre el médico otorrinolaringólogo, las fonoaudiólogas, el médico genetista y el laboratorio de biología molecular es una pieza fundamental para alcanzar una correcta correlación genotipo/fenotipo y en consecuencia, un adecuado asesoramiento tanto clínico como genético para el paciente.

■ GLOSARIO

Hipoacusia: Se denomina sordera o hipoacusia al déficit funcional que ocurre cuando una persona pierde capacidad auditiva en menor o mayor grado. Puede presentarse en forma unilateral, cuando afecta a un solo oído, o bilateral, cuando afecta ambos oídos. El umbral considerado normal es 0 a 20 dB.

Audición: es un proceso en el que las ondas sonoras se convierten en señales eléctricas, que luego el nervio auditivo envía del oído al cerebro. La capacidad de oír depende del correcto funcionamiento de la estructura del oído, del nervio auditivo y del área del cerebro encargada de recibir e interpretar los sonidos.

Cóclea: Es una estructura en forma de tubo espiralado situado en el oído interno y que contiene al Órgano de Corti, el cual es el órgano receptor de la audición.

OEAS: Estudio de otoemisiones acústicas, que permite detectar tempranamente la pérdida auditiva en neonatos, evaluando el funcionamiento de unas células denominadas "células ciliadas externas" que se encuentran en la cóclea dentro del oído interno.

Neuropatía auditiva: Es un trastorno de la audición en el cual el oído in-

terno puede detectar el sonido pero no puede transmitirse hacia el sistema nervioso central.

Otitis media secretora: Es una alteración en la cual se acumula líquido en el oído medio.

Otoesclerosis: Es una afectación ósea que causa la fijación de los huesecillos localizados en el oído medio resultando en una pérdida auditiva.

■ BIBLIOGRAFÍA

Buonfiglio, P., Bruque, C. D., Luce, L., Giliberto, F., Lotersztejn, V., Menazzi, S., Paoli, B., Elgoyhen, A. B., & Dalamón, V. (2020). GJB2 and GJB6 Genetic Variant Curation in an Argentinean Non-Syndromic Hearing-Impaired Cohort. In *Genes* (Vol. 11, Issue 10, p. 1233). <https://doi.org/10.3390/genes11101233>

Chien, W. W., Monzack, E. L., McDougald, D. S., & Cunningham, L. L. (2015). Gene therapy for sensorineural hearing loss. *Ear and Hearing*, 36(1), 1–7.

Committee, A. W. G. on U. of G. E. G. F. T. E. D. of C. H. L. F. T. P. P. A. G., & ACMG Working Group on Update of Genetics Evaluation Guidelines for the Etiologic Diagnosis of Congenital Hearing Loss; for the Professional Practice and Guidelines Committee. (2014). American College of Medical Genetics and Genomics guideline for the clinical evaluation and etiologic diagnosis of hearing loss. In *Genetics in Medicine* (Vol. 16, Issue 4, pp. 347–355). <https://doi.org/10.1038/gim.2014.2>

Dalamon, V., Béhèran, A., Diamante, F., Pallares, N., Diamante, V., & Elgoyhen, A. B. (2005). Preva-

- lence of GJB2 mutations and the del(GJB6-D13S1830) in Argentinean non-syndromic deaf patients. *Hearing Research*, 207(1-2), 43–49.
- Dalamon, V., Fiori, M. C., Figueroa, V. A., Oliva, C. A., Del Rio, R., Gonzalez, W., Canan, J., Elgoyhen, A. B., Altenberg, G. A., & Retamal, M. A. (2016). Gap-junctional channel and hemichannel activity of two recently identified connexin 26 mutants associated with deafness. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 468(5), 909–918.
- Dalamon, V., Florencia Wernert, M., Lotersztejn, V., Craig, P. O., Diamante, R. R., Barteik, M. E., Curet, C., Paoli, B., Mansilla, E., & Elgoyhen, A. B. (2013). Identification of four novel connexin 26 mutations in non-syndromic deaf patients: genotype-phenotype analysis in moderate cases. *Molecular Biology Reports*, 40(12), 6945–6955.
- Dalamon, V. K., Buonfiglio, P., Larralde, M., Craig, P., Lotersztejn, V., Choate, K., Pallares, N., Diamante, V., & Elgoyhen, A. B. (2016). Connexin 26 (GJB2) mutation in an Argentinean patient with keratitis-ichthyosis-deafness (KID) syndrome: a case report. *BMC Medical Genetics*, 17(1), 37.
- Dalamon, V., Lotersztejn, V., Bèherán, A., Lipovsek, M., Diamante, F., Pallares, N., Francipane, L., Frechtel, G., Paoli, B., Mansilla, E., Diamante, V., & Elgoyhen, A. B. (2010). GJB2 and GJB6 genes: molecular study and identification of novel GJB2 mutations in the hearing-impaired Argentinean population. *Audiology & Neuro-Otology*, 15(3), 194–202.
- Dalamon, V., Lotersztejn, V., Lipovsek, M., Bèherán, A., Mondino, M. E., Diamante, F., Pallares, N., Diamante, V., & Elgoyhen, A. B. (2009). Performance of speech perception after cochlear implantation in DFNB1 patients. *Acta Oto-Laryngologica*, 129(4), 395–398.
- del Castillo, F. J., Rodríguez-Balasteros, M., Alvarez, A., Hutchin, T., Leonardi, E., de Oliveira, C. A., Azaiez, H., Brownstein, Z., Avenarius, M. R., Marlin, S., Pandya, A., Shahin, H., Siemering, K. R., Weil, D., Wuyts, W., Aguirre, L. A., Martín, Y., Moreno-Pelayo, M. A., Villamar, M., ... del Castillo, I. (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. *Journal of Medical Genetics*, 42(7), 588–594.
- Del Castillo, I., Moreno-Pelayo, M. A., Del Castillo, F. J., Brownstein, Z., Marlin, S., Adina, Q., Cockburn, D. J., Pandya, A., Siemering, K. R., Chamberlin, G. P., Ballana, E., Wuyts, W., Maciel-Guerra, A. T., Alvarez, A., Villamar, M., Shohat, M., Abeliovich, D., Dahl, H.-H. M., Estivill, X., ... Moreno, F. (2003). Prevalence and evolutionary origins of the del(GJB6-D13S1830) mutation in the DFNB1 locus in hearing-impaired subjects: a multicenter study. *American Journal of Human Genetics*, 73(6), 1452–1458.
- Estivill, X., Fortina, P., Surrey, S., Rabionet, R., Melchionda, S., D'Agsuma, L., Mansfield, E., Rappaport, E., Govea, N., Milà, M., Zelante, L., & Gasparini, P. (1998). Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. In *The Lancet* (Vol. 351, Issue 9100, pp. 394–398). [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(97\)11124-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(97)11124-2)
- Farooq, R., Hussain, K., Tariq, M., Farooq, A., & Mustafa, M. (2020). CRISPR/Cas9: targeted genome editing for the treatment of hereditary hearing loss. *Journal of Applied Genetics*, 61(1), 51–65.
- Francey, L. J., Conlin, L. K., Kadesch, H. E., Clark, D., Berrodin, D., Sun, Y., Glessner, J., Hakonarson, H., Jalas, C., Landau, C., Spinner, N. B., Kenna, M., Sagi, M., Rehm, H. L., & Krantz, I. D. (2012). Genome-wide SNP genotyping identifies the Stereocilin (STRC) gene as a major contributor to pediatric bilateral sensorineural hearing impairment. In *American Journal of Medical Genetics Part A* (Vol. 158A, Issue 2, pp. 298–308). <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.34391>
- Gasparini, P., the Genetic Analysis Consortium of GJB235delG, Rabionet, R., Barbujani, G., Melchionda, S., Petersen, M., Brøndum-Nielsen, K., Metspalu, A., Oitmaa, E., Pisano, M., Fortina, P., Zelante, L., & Estivill, X. (2000). High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. In *European Journal of Human Genetics* (Vol. 8, Issue 1, pp. 19–23). <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200406>
- Guaran, V., Astolfi, L., Castiglione, A., Simoni, E., Olivetto, E., Galasso, M., Trevisi, P., Busi, M., Volinia, S., & Martini, A. (2013). Association between idiopathic hearing loss and mitochondrial DNA mutations: A study on 169 hearing-impaired subjects. In *International Journal of Molecular Medicine* (Vol. 32, Issue

- 4, pp. 785–794). <https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1470>
- Hampton, T. (2012). Gene Therapy for Hearing Loss. In *JAMA* (Vol. 308, Issue 9, p. 853). <https://doi.org/10.1001/2012.jama.10869>
- Hilgert, N., Smith, R., & Camp, G. (2009). Function and Expression Pattern of Nonsyndromic Deafness Genes. In *Current Molecular Medicine* (Vol. 9, Issue 5, pp. 546–564). <https://doi.org/10.2174/156652409788488775>
- Hilgert, N., Smith, R. J. H., & Van Camp, G. (2009). Forty-six genes causing nonsyndromic hearing impairment: which ones should be analyzed in DNA diagnostics? *Mutation Research*, 681(2-3), 189–196.
- Kelsell, D. P., Dunlop, J., Stevens, H. P., Lench, N. J., Liang, J. N., Parry, G., Mueller, R. F., & Leigh, I. M. (1997). Connexin 26 mutations in hereditary nonsyndromic sensorineural deafness. In *Nature* (Vol. 387, Issue 6628, pp. 80–83). <https://doi.org/10.1038/387080a0>
- Kenneson, A., Van Naarden Braun, K., & Boyle, C. (2002). GJB2 (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: A HuGE review. In *Genetics in Medicine* (Vol. 4, Issue 4, pp. 258–274). <https://doi.org/10.1097/00125817-200207000-00004>
- Kimberling, W. J., Hildebrand, M. S., Eliot Shearer, A., Jensen, M. L., Halder, J. A., Trzuppek, K., Cohn, E. S., Weleber, R. G., Stone, E. M., & Smith, R. J. H. (2010). Frequency of Usher syndrome in two pediatric populations: Implications for genetic screening of deaf and hard of hearing children. In *Genetics in Medicine* (Vol. 12, Issue 8, pp. 512–516). <https://doi.org/10.1097/gim.0b013e3181e5afb8>
- Kim, M.-A., Kim, S. H., Ryu, N., Ma, J.-H., Kim, Y.-R., Jung, J., Hsu, C.-J., Choi, J. Y., Lee, K.-Y., Wangemann, P., Bok, J., & Kim, U.-K. (2019). Gene therapy for hereditary hearing loss by SLC26A4 mutations in mice reveals distinct functional roles of pendrin in normal hearing. *Theranostics*, 9(24), 7184–7199.
- Lee, S. W., Tomasetto, C., Paul, D., Keyomarsi, K., & Sager, R. (1992). Transcriptional downregulation of gap-junction proteins blocks junctional communication in human mammary tumor cell lines. In *Journal of Cell Biology* (Vol. 118, Issue 5, pp. 1213–1221). <https://doi.org/10.1083/jcb.118.5.1213>
- Lustig, L., & Akil, O. (2019). Cochlear Gene Therapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 9(9). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a033191>
- Marlin, S., Feldmann, D., Blons, H., Loundon, N., Rouillon, I., Albert, S., Chauvin, P., Garabédian, E.-N., Couderc, R., Odent, S., Joannard, A., Schmerber, S., Delobel, B., Leman, J., Journal, H., Catros, H., Lemarechal, C., Dollfus, H., Eliot, M.-M., ... Denoyelle, F. (2005). GJB2 and GJB6 mutations: genotypic and phenotypic correlations in a large cohort of hearing-impaired patients. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*, 131(6), 481–487.
- Miyagawa, M., Nishio, S.-Y., & Usami, S.-I. (2016). A Comprehensive Study on the Etiology of Patients Receiving Cochlear Implantation With Special Emphasis on Genetic Epidemiology. In *Otology & Neurotology* (Vol. 37, Issue 2, pp. e126–e134). <https://doi.org/10.1097/mao.0000000000000936>
- Morgan, A., Lenarduzzi, S., Spedicati, B., Cattaruzzi, E., Murru, F. M., Pelliccione, G., Mazzà, D., Zolli-no, M., Graziano, C., Ambrosetti, U., Seri, M., Faletra, F., & Giroto, G. (2020). Lights and Shadows in the Genetics of Syndromic and Non-Syndromic Hearing Loss in the Italian Population. *Genes*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/genes11111237>
- Morton, C. C., & Nance, W. E. (2006). Newborn Hearing Screening — A Silent Revolution. In *New England Journal of Medicine* (Vol. 354, Issue 20, pp. 2151–2164). <https://doi.org/10.1056/nejmra050700>
- Omichi, R., Shibata, S. B., Morton, C. C., & Smith, R. J. H. (2019). Gene therapy for hearing loss. *Human Molecular Genetics*, 28(R1), R65–R79.
- Parker, M. J., Fryer, A. E., Shears, D. J., Lachlan, K. L., McKee, S. A., Magee, A. C., Mohammed, S., Vasudevan, P. C., Park, S.-M., Benoit, V., Lederer, D., Maystadt, I., DDD study, & FitzPatrick, D. R. (2015). De novo, heterozygous, loss-of-function mutations in SYNGAP1 cause a syndromic form of intellectual disability. In *American Journal of Medical Genetics Part A* (Vol. 167, Issue 10, pp. 2231–2237). <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37189>
- Park, J. H., Kim, A. R., Han, J. H., Kim, S. D., Kim, S. H., Koo, J.-W., Oh, S. H., & Choi, B. Y. (2017). Outcome of Cochlear Implantation in Prelingually Deafened Children According to Molecular

- Genetic Etiology. In *Ear and Hearing* (Vol. 38, Issue 5, pp. e316–e324). <https://doi.org/10.1097/aud.0000000000000437>
- Prezant, T. R., Agapian, J. V., Bohlman, M. C., Bu, X., Oztas, S., Qiu, W. Q., Arnos, K. S., Cortopassi, G. A., Jaber, L., & Rotter, J. I. (1993). Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nature Genetics*, 4(3), 289–294.
- Rabionet, R., Gasparini, P., & Estivill, X. (2000). Molecular genetics of hearing impairment due to mutations in gap junction genes encoding beta connexins. In *Human Mutation* (Vol. 16, Issue 3, pp. 190–202). [https://doi.org/3.0.co;2-i">10.1002/1098-1004\(200009\)16:3<190::aid-humu2>3.0.co;2-i](https://doi.org/3.0.co;2-i)
- Rabionet, R., Zelante, L., López-Bigas, N., D'Agruma, L., Melchionda, S., Restagno, G., Arbonés, M. L., Gasparini, P., & Estivill, X. (2000a). Molecular basis of childhood deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene. In *Human Genetics* (Vol. 106, Issue 1, pp. 40–44). <https://doi.org/10.1007/s004399900192>
- Rabionet, R., Zelante, L., López-Bigas, N., D'Agruma, L., Melchionda, S., Restagno, G., Arbonés, M. L., Gasparini, P., & Estivill, X. (2000b). Molecular basis of childhood deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene. In *Human Genetics* (Vol. 106, Issue 1, pp. 40–44). <https://doi.org/10.1007/s004399900192>
- Rahbar, R., Rouillon, I., Roger, G., Lin, A., Nuss, R. C., Denoyelle, F., McGill, T. J., Healy, G. B., & Garabedian, E.-N. (2006). The Presentation and Management of Laryngeal Cleft. In *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery* (Vol. 132, Issue 12, p. 1335). <https://doi.org/10.1001/archotol.132.12.1335>
- Ren, Y., Landegger, L. D., & Stankovic, K. M. (2019). Gene Therapy for Human Sensorineural Hearing Loss. In *Frontiers in Cellular Neuroscience* (Vol. 13). <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00323>
- Shearer, A. E., Eliot Shearer, A., & Smith, R. J. H. (2015). Massively Parallel Sequencing for Genetic Diagnosis of Hearing Loss. In *Otolaryngology–Head and Neck Surgery* (Vol. 153, Issue 2, pp. 175–182). <https://doi.org/10.1177/0194599815591156>
- Shearer, A. E., Hildebrand, M. S., Sloan, C. M., & Smith, R. J. H. (2011). Deafness in the genomics era. *Hearing Research*, 282(1-2), 1–9.
- Shearer, A. E., Kolbe, D. L., Azaiez, H., Sloan, C. M., Frees, K. L., Weaver, A. E., Clark, E. T., Nishimura, C. J., Black-Ziegelbein, E. A., & Smith, R. J. H. (2014). Copy number variants are a common cause of non-syndromic hearing loss. *Genome Medicine*, 6(5), 37.
- Sloan-Heggen, C. M., Bierer, A. O., Shearer, A. E., Kolbe, D. L., Nishimura, C. J., Frees, K. L., Ephraim, S. S., Shibata, S. B., Booth, K. T., Campbell, C. A., Ranum, P. T., Weaver, A. E., Black-Ziegelbein, E. A., Wang, D., Azaiez, H., & Smith, R. J. H. (2016). Comprehensive genetic testing in the clinical evaluation of 1119 patients with hearing loss. *Human Genetics*, 135(4), 441–450.
- Sordera y pérdida de la audición. (n.d.). Retrieved November 3, 2020, from <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/deafness-and-hearing-loss>
- Toriello, H. V., & Smith, S. D. (2013). *Hereditary Hearing Loss and Its Syndromes*. Oxford University Press.
- Trumpp, N. M., & Kiefer, M. (2018). Functional reorganization of the conceptual brain system after deafness in early childhood. In *PLOS ONE* (Vol. 13, Issue 7, p. e0198894). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198894>
- Usami, S., Abe, S., Kasai, M., Shinkawa, H., Moeller, B., Kenyon, J. B., & Kimberling, W. J. (1997). Genetic and clinical features of sensorineural hearing loss associated with the 1555 mitochondrial mutation. *The Laryngoscope*, 107(4), 483–490.
- Usami, S.-I., & Nishio, S.-Y. (2004). Nonsyndromic Hearing Loss and Deafness, Mitochondrial. In M. P. Adam, H. H. Ardinger, R. A. Pagon, S. E. Wallace, L. J. H. Bean, K. Stephens, & A. Amemiya (Eds.), *GeneReviews*. University of Washington, Seattle.
- Usami, S.-I., Nishio, S.-Y., Moteki, H., Miyagawa, M., & Yoshimura, H. (2020). Cochlear Implantation From the Perspective of Genetic Background. *Anatomical Record*, 303(3), 563–593.
- Vona, B., Hofrichter, M. A. H., Nemer, C., Schröder, J., Gehrig, A., Hennermann, J. B., Kraus, F., Shehata-Dieler, W., Klopocki, E., Nanda, I., & Haaf, T. (2015). DFNB16 is a frequent cause of congenital hearing impairment: implementation of STRC muta-

- tion analysis in routine diagnostics. In *Clinical Genetics* (Vol. 87, Issue 1, pp. 49–55). <https://doi.org/10.1111/cge.12332>
- Website. (n.d.). Retrieved October 25, 2020, from Van Camp G, Smith RJH. Hereditary Hearing Loss Homepage. <https://hereditaryhearingloss.org>. (If you are referring to specific data, please add the month and year when you retrieved the data.)
- Welcome to the Hereditary Hearing Loss Homepage. (n.d.). Retrieved November 4, 2020, from <https://hereditaryhearingloss.org/>
- Wu, L., Li, R., Chen, J., Chen, Y., Yang, M., & Wu, Q. (2018). Analysis of mitochondrial A1555G mutation in infants with hearing impairment. In *Experimental and Therapeutic Medicine*. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6078>
- Xia, H., Huang, X., Xu, H., Zhou, Y.-A., Gong, L., Yang, Z., Lv, J., & Deng, H. (2019). GJB2 c.235delC variant associated with autosomal recessive nonsyndromic hearing loss and auditory neuropathy spectrum disorder. In *Genetics and Molecular Biology* (Vol. 42, Issue 1, pp. 48–51). <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2017-0318>
- Yan, F., Li, J., Xian, J., Wang, Z., & Mo, L. (2013). The Cochlear Nerve Canal and Internal Auditory Canal in Children with Normal Cochlea but Cochlear Nerve Deficiency. In *Acta Radiologica* (Vol. 54, Issue 3, pp. 292–298). <https://doi.org/10.1258/ar.2012.110596>
- Yokota, Y., Moteki, H., Nishio, S.-Y., 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.-I. (2019). Frequency and clinical features of hearing loss caused by STRC deletions. *Scientific Reports*, 9(1), 4408.
- Yoshida, H., Takahashi, H., Kanda, Y., & Usami, S.-I. (2013). Long term speech perception after cochlear implant in pediatric patients with GJB2 mutations. In *Auris Nasus Larynx* (Vol. 40, Issue 5, pp. 435–439). <https://doi.org/10.1016/j.anl.2013.01.006>
- Zelante, L., Gasparini, P., Estivill, X., Melchionda, S., D'Agruma, L., Govea, N., Milá, M., Monica, M. D., Lutfi, J., Shohat, M., Mansfield, E., Delgrosso, K., Rappaport, E., Surrey, S., & Fortina, P. (1997). Connexin26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans. *Human Molecular Genetics*, 6(9), 1605–1609.
- Zhang, Y., Malekpour, M., Al-Madani, N., Kahrizi, K., Zanganeh, M., Lohr, N. J., Mohseni, M., Mojahedi, F., Daneshi, A., Najmabadi, H., & Smith, R. J. H. (2007). Sensorineural deafness and male infertility: a contiguous gene deletion syndrome. *Journal of Medical Genetics*, 44(4), 233–240.