

INVESTIGACIÓN CLÍNICA

ESTUDIO DE UNA FAMILIA CON HIPOACUSIA NEUROSENSORIAL SECUNDARIA A LA MUTACIÓN Q829X EN EL GEN OTOF

J. GALLO-TERÁN*, R. MEGÍA LÓPEZ*, C. MORALES-ANGULO**, I. DEL CASTILLO***,
M. Á. MORENO-PELAYO***, Á. MAZÓN GUTIÉRREZ*, F. MORENO HERRERO***

*SERVICIO DE ORL. HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA (SANTANDER). **SERVICIO DE ORL. HOSPITAL SIERRALLANA (TORRELAVEGA). ***UNIDAD DE GENÉTICA MOLECULAR. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL (MADRID).

RESUMEN

O *bjetivo:* Determinar las características de la hipoacusia secundaria a la mutación Q829X en el gen OTOF, que ha sido descrita como la tercera causa genética más frecuente de hipoacusia prelocutiva en la población española. *Material y métodos:* Se realizó un estudio clínico y genético de 16 individuos pertenecientes a una familia consanguínea de Cantabria en la que cuatro miembros presentaban hipoacusia. *Resultados:* Se detectó en homocigosis la mutación Q829X en el gen OTOF en los cuatro individuos

que presentaban déficit auditivo. La hipoacusia era neurosensorial, bilateral, simétrica, de intensidad profunda y de comienzo prelocutivo. No se encontraron otras alteraciones asociadas. En los portadores heterocigotos de la mutación la audición era normal. *Conclusiones:* La mutación Q829X en el gen OTOF produce hipoacusia neurosensorial de intensidad severa-profunda y de inicio prelocutivo. Es importante la detección precoz de individuos afectados portadores de esta mutación, para iniciar un tratamiento lo antes posible.

PALABRAS CLAVE: Hipoacusia hereditaria. No sindrómica. Otoferlina. OTOF. DFNB9.

ABSTRACT

EVALUATION OF A FAMILY WITH SENSORINEURAL HEARING LOSS DUE TO THE Q829X MUTATION IN THE OTOF GENE

O *bjective:* To determine the features of hearing loss due to the Q829X mutation in the OTOF gene, the third most frequent mutation causing prelingual deafness reported so far in the Spanish population. *Materials and methods:* We carried out genetic characterisation of 16 individuals from a consanguineous family from Cantabria, in which 4 members were affected by deafness. *Results:* All 4 hearing impaired individuals were homozygous for the Q829X mutation in

the OTOF gene. The auditory defect was a profound, bilateral, symmetrical, sensorineural hearing loss of prelingual onset. No other clinical alterations were observed. Individuals heterozygous for the Q829X mutation were unaffected. *Conclusions:* The Q829X mutation in the OTOF gene causes severe to profound sensorineural hearing loss of prelingual onset. Early detection of individuals carrying this mutation is important for the application of palliative treatment and special education.

KEY WORDS: Hereditary hearing loss. Non-syndromic. Otoferlin. OTOF. DFNB9.

Correspondencia: Dr. Carmelo Morales Angulo. Alto de las Veneras, nº 8. 39478 Puente Arce (Cantabria). E-mail: cmorales@mundivia.es

Fecha de recepción: 2-8-2003

Fecha de aceptación: 2-2-2004

INTRODUCCIÓN

Aproximadamente 1 de cada 1.000 recién nacidos padece hipoacusia¹. Cuando la pérdida auditiva se inicia antes de la adquisición del lenguaje (prelocutiva) puede impedir una comunicación normal y afectar de forma importante la calidad de vida². Se estima que en los países desarrollados el 60% de los casos de sordera neonatal son debidos a factores genéticos³. En la mayoría de los casos, la hipoacusia no se asocia a otros signos clínicos (formas no sindrómicas). Se calcula que el 80% de las hipoacusias no sindrómicas de inicio congénito se heredan según un patrón autosómico recesivo (formas designadas DFNB)⁴. Hasta ahora se han identificado 33 loci responsables de sorderas de tipo DFNB, y se han aislado los genes correspondientes a 19 de estos loci (tabla 1)⁵.

Mutaciones en el gen OTOF, que codifica una proteína denominada otoferlina (MIM 603681), son responsables de la hipoacusia de tipo DFNB9 (MIM 601071)^{6,7}. Exceptuando DFNB1, que es causa de hasta el 50% de los casos de hipoacusia no

sindrómica autosómica recesiva en todas las poblaciones estudiadas⁸, son escasas las familias descritas con hipoacusia por mutaciones en cada uno de los loci de sordera. Se han identificado varias mutaciones diferentes en el gen OTOF causantes de hipoacusia (tabla 2)^{6,9-13}. De ellas, Q829X es la tercera mutación más frecuente responsable de hipoacusia prelocutiva en la población española, después de la mutación 35delG en el gen de la conexina 26 y de la delección Δ (GJB6-D13S1830), que trunca el gen de la conexina 30^{8,12}.

En este trabajo presentamos el estudio clínico y genético de una familia consanguínea con hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva debida a la mutación Q829X, y se realiza una revisión de los casos publicados hasta el momento de hipoacusia secundaria a mutaciones en el gen OTOF.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cuatro miembros de una familia consanguínea de Cantabria presentaban hipoacusia neurosensorial. Mediante entrevista con uno de los miembros se completó un árbol genealógico de la familia, que abarca 7 generaciones con 56 individuos, de los cuales 30 estaban vivos (figura 1). Todos los miembros de la familia fueron invitados a participar en un estudio clínico y genético. Sólo 16 de ellos aceptaron la participación, incluyendo los 4 individuos con hipoacusia.

Se obtuvo un consentimiento informado de todos los participantes en el estudio, así como de los padres de los individuos con edades inferiores a los 18 años. Se realizó una anamnesis detallada, incluyendo antecedentes personales y familiares de interés, edad de comienzo de la hipoacusia, factores desencadenantes y evolución de la pérdida auditiva. Todos los individuos fueron examinados mediante otoscopia y una exploración física general, buscando sistemáticamente signos sugerentes de una forma sindrómica de hipoacusia, como anomalías en el pabellón auricular, visuales, en la piel o en las extremidades.

La audición fue examinada mediante audiometría tonal liminar con un audiómetro clínico en una cabina insonorizada. La conducción por vía aérea fue medida en las frecuencias 125-8000 Hz. Se determinó la conducción por vía ósea para identificar el tipo de hipoacusia. Según el promedio de los umbrales auditivos obtenidos en la gama de frecuencias conversacionales (500, 1000 y 2000 Hz), se clasificó la pérdida auditiva como ligera (21-40 dB), moderada (41-70 db), severa (71-90 dB), profunda (91-119 dB), y total o cofosis (120

Tabla 1: Genes clonados responsables de hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva (Julio-2003)⁵

Locus	Gen	Referencia
	GJA1 (Cx43)	Liu et al, 2001
	SLC26A5	Liu et al, 2003
DFNB1	GJB2 (Cx26)	Kelsell et al, 1997
DFNB1	GJB6 (Cx30)	Del Castillo et al, 2002
DFNB2	MYO7A	Liu et al, 1997, Weil et al, 1997
DFNB3	MYO15	Wang et al, 1998
DFNB4	SLC26A4	Li et al, 1998
DFNB6	TMIE	Naz et al, 2002
DFNB7/B11	TMC1	Kurima et al, 2002
DFNB8/B10	TMPRSS3	Scott et al, 2001
DFNB9	OTOF	Yasunaga et al, 1999
DFNB12	CDH23	Bork et al, 2001
DFNB16	STRC	Verpy et al. 2001
DFNB18	USH1C	Ahmed et al, 2002
DFNB21	TECTA	Mustapha et al, 1999
DFNB22	OTOA	Zwaenepoel et al, 2002
DFNB29	CLDN14	Wilcox et al, 2001
DFNB30	MYO3A	Walsh et al, 2002
DFNB37	MYO6	Ahmed et al, 2003

Tabla 2: Resumen de familias con hipoacusia neurosensorial no sindrómica secundaria a mutaciones en el gen OTOF identificadas hasta ahora

Autor	Origen Familia	Consanguíneos	Severidad	Inicio	Mutación
Leal et al. (1998)	Este Turquía	Sí	Profunda	Prelocutivo	Desconocida
Yasunaga et al. (1999)	3 Líbano	3 Sí	Severa-profunda	Prelocutivo	Y1497X
Adato et al. (2000)	Norte Galilea	Sí	Severa-profunda	Prelocutivo	IVS24+1G>A
Yasunaga et al. (2000)	Sur India	Sí	Severa-profunda	Prelocutivo	IVS8-2A>G
Houseman et al. (2001)	Emiratos Árabes Unidos	Sí	Severa-profunda	Prelocutivo	R237X
Migliosi et al. (2002)	11 España 1 Cuba	3 Sí 9 No	Severa-profunda	Prelocutivo	Q829X P1825A
Mirghomizadeh et al. (2002)	Alemania	Sí	Severa-profunda	Prelocutivo	P490Q + I515T
Varga et al. (2003)	Estados Unidos	No	Severa-profunda	Prelocutivo	1651delG R1939Q IVS39+1G>C P1987R

dB)¹⁴. Los perfiles audiométricos de los individuos afectados, representando las frecuencias en las que la pérdida de audición es predominante, se registraron según la clasificación de Liu y Xu¹⁵.

Se realizó un estudio por medio de tomografía computerizada (TC) de alta resolución del hueso temporal, con cortes axiales y coronales de 1 mm de espesor, en los individuos IV: 2, IV: 5 y VII: 3. En todos los sujetos afectados se registraron los potenciales evocados auditivos del tronco cerebral (PEATC) y las otoemisiones acústicas (OEA) con un sistema portátil.

El análisis genético se realizó a partir de una muestra de 10 ml de sangre venosa. Para el estudio de la mutación Q829X, la muestra de DNA de

cada individuo se utilizó para amplificar, por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), un fragmento de DNA de 298 pares de bases (pb) correspondiente al exón 22 del gen OTOF. Este producto de la PCR se sometió a digestión con la endonucleasa de restricción *Bfal*. Los fragmentos resultantes se sometieron a electroforesis en gel de agarosa para determinar su tamaño. El fragmento amplificado tiene una única diana de corte para la enzima *Bfal* en los individuos normales. En dichos individuos la digestión del fragmento produce dos fragmentos más pequeños, uno de 291 pb y otro de 7 pb. En los portadores de la mutación Q829X se crea una nueva diana de corte, que divide el fragmento de 291 pb en uno de 168 pb y otro de 123 pb.

RESULTADOS

Se detectó la mutación Q829X en el gen OTOF en homocigosis en los individuos afectados IV: 2, IV: 5, VI: 5 y VII: 3. La mutación estaba presente en heterocigosis en los padres de los individuos VI: 5 y VII: 3, y en los individuos V: 5, V: 6 y V: 11. No se encontró la mutación en el resto de los sujetos estudiados.

Los cuatro sujetos con pérdida de audición portadores homocigotos de la mutación Q829X (3 varones y 1 mujer) tenían edades comprendidas entre los 5 y 85 años (individuos VI: 5 y IV: 2 respectivamente). No existía evidencia de factores de riesgo adquiridos que hubiesen predispuerto a

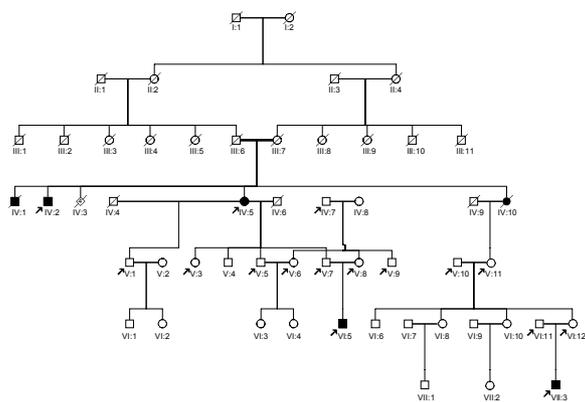


Figura 1. Árbol genealógico de la familia. Los símbolos oscurecidos corresponden a individuos afectados / representan sujetos estudiados.

desarrollar la hipoacusia. La exploración física no detectó otras alteraciones aparte de la sordera, y la otoscopia era normal. En todos los casos la hipoacusia había comenzado antes de los 2 años de edad (prelocutiva). Las audiometrías mostraban una hipoacusia neurosensorial, bilateral y simétrica, de intensidad profunda, afectando a todas las frecuencias (figura 2). El perfil audiométrico era residual en todos los casos. Ninguno de los pacientes refería acúfenos y no había síntomas de afectación vestibular. No se encontraron malformaciones en el oído interno en el estudio mediante TC. No se registraron respuestas en los PEATC ante estímulos en forma de clic de 100 dB HL, y las OEAs estaban ausentes bilateralmente.

Las audiometrías eran normales en el resto de los individuos estudiados, incluidos los portadores en heterocigosis de la mutación Q829X.

DISCUSIÓN

La mutación Q829X en el gen de la otoferlina es la causa de la hipoacusia en la familia que hemos estudiado. La otoferlina es una proteína citosólica perteneciente a una familia de proteínas que incluye al factor de espermatogénesis FER-1 del nemátodo *C. elegans*, y a las proteínas humanas disferlina y mioferlina. Se cree que la otoferlina participa en la fusión, mediada por Ca^{2+} , de las vesículas sinápticas a la membrana plasmática¹⁰. En la cóclea madura, la expresión de la otoferlina está restringida a las células ciliadas internas¹⁰. Hay evidencia de dos tipos de isoformas de la oto-

ferlina, que se generan por *splicing* alternativo combinado con el uso de varios sitios de iniciación de la traducción. El gen consta de 48 exones, siendo exclusivos de las isoformas largas los exones 1-19. Las isoformas largas contienen seis dominios C2 y un dominio transmembrana en el extremo carboxilo-terminal. Las isoformas cortas sólo contienen los tres últimos dominios C2 y el dominio transmembrana¹⁰. Algunas de las mutaciones encontradas en el gen OTOF se localizan en los exones que codifican únicamente las isoformas largas^{9,10,13}, mientras que otras, entre ellas Q829X, se encuentran en los exones comunes a ambas isoformas^{6,11,12}.

Al igual que la mutación Q829X en nuestra familia, todas las mutaciones en el gen OTOF responsables de hipoacusia conocidas siguen un patrón de herencia autosómico recesivo. Sólo los portadores en homocigosis de la mutación están afectados, mientras que los individuos heterocigotos presentan audición normal.

Un dato importante al ofrecer consejo genético a estas familias es que la penetrancia de la enfermedad es completa en la infancia precoz. A diferencia de otras mutaciones, como la A1555G en el genoma mitocondrial, en la que se desarrolla hipoacusia tardíamente, de forma progresiva, y existen portadores de la mutación normoyentes¹⁶, todos los individuos portadores homocigotos de mutaciones en el gen OTOF manifiestan la sordera antes de los dos años de edad.

En ningún caso se han descrito hallazgos clínicos acompañando a la hipoacusia, es decir, se trata de formas no sindrómicas. De igual modo, como se

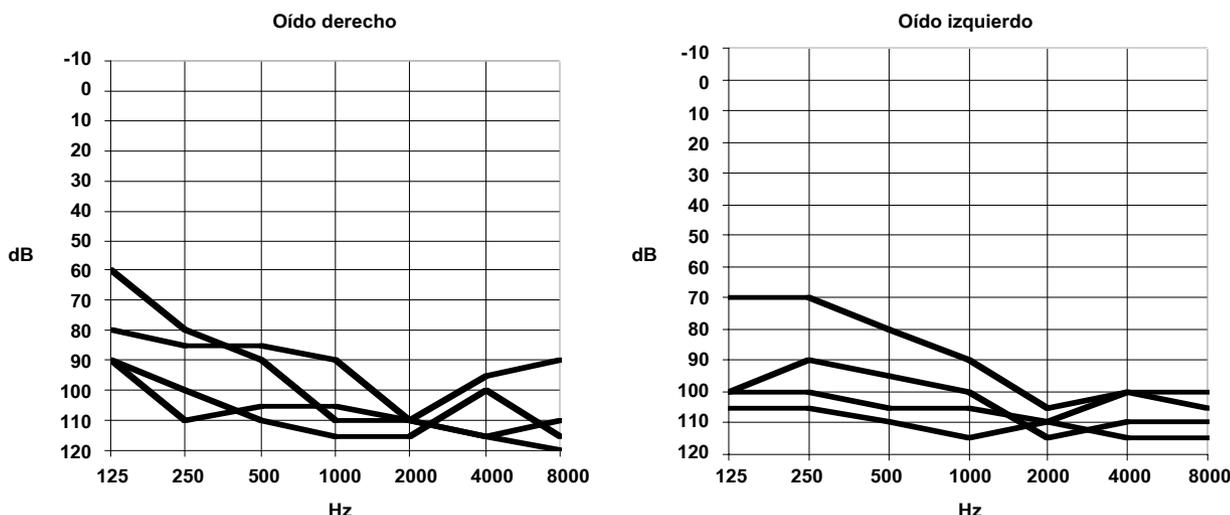


Figura 2. Audiogramas de los individuos homocigotos para la mutación Q829X. Cada línea corresponde a un sujeto. Sólo se representa la vía aérea.

observa en los cuatro sujetos afectados de nuestro trabajo, no se han encontrado variaciones en la expresividad de la pérdida auditiva por mutaciones en el gen OTOF. Todos los miembros de una familia portadores homocigotos de una mutación presentan el mismo grado de afectación: hipoacusia neurosensorial severa-profunda en todas las frecuencias. No se han encontrado diferencias entre familias no relacionadas portadoras de una misma mutación, e incluso diferentes mutaciones en el gen OTOF producen fenotipos similares. En contraste, la severidad de la pérdida auditiva de tipo DFNB1 es extremadamente variable y no puede predecirse, ni siquiera entre miembros de una misma familia¹⁷.

Una alta proporción de las familias con mutaciones en el gen OTOF son consanguíneas, como sucede en nuestro caso^{6,9-13,18}. El antecedente de consanguinidad es frecuente en las enfermedades autosómicas recesivas. Sin embargo, este dato puede estar influenciado porque el principal obstáculo para el diagnóstico molecular de la hipoacusia no sindrómica es su gran heterogeneidad. El estudio de familias consanguíneas amplias afectadas por sordera, que hayan vivido en regiones geográficamente aisladas durante varias generaciones, reduce el riesgo de que sean varios los genes implicados en la pérdida auditiva en estas familias.

A pesar de que se ha detectado expresión del gen ortólogo murino OTOF en varios tejidos, incluido el oído interno, tanto en la cóclea como en el vestíbulo⁶, no existe evidencia de trastornos del equilibrio en humanos, aunque en nuestro trabajo no se realizaron test vestibulares.

El estudio mediante TC del hueso temporal es la primera prueba de imagen recomendada en casos de hipoacusia neurosensorial simétrica, y se

detectan anomalías hasta en el 40% de los pacientes con hipoacusia neurosensorial en la infancia^{19,20}. Según nuestra revisión de la literatura, no hay datos sobre la evaluación radiológica en pacientes con mutaciones en el gen OTOF. No se han encontrado alteraciones en el oído interno en los pacientes de nuestro estudio. Por otra parte, aunque en ninguno de nuestros pacientes se obtuvieron respuestas en los PEATC ni en las OEAs, recientemente se ha publicado que mutaciones en el gen OTOF son causa de neuropatía auditiva no sindrómica de herencia recesiva²¹.

Como conclusiones, la mutación Q829X en el gen OTOF, al igual que otras mutaciones en este gen, produce en los portadores homocigotos una hipoacusia neurosensorial severa-profunda de inicio prelocutivo. La pérdida auditiva no se asocia a otras manifestaciones clínicas. El desarrollo de protocolos de estudio genético de hipoacusias facilitará la identificación de familias portadoras de esta y de otras mutaciones, y conocer la prevalencia de cada una de ellas en la población. La identificación precoz de individuos portadores de esta mutación puede mejorar su calidad de vida gracias a la aplicación temprana de tratamiento con prótesis auditivas o implantes cocleares y de un programa educativo adecuado.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a los miembros de la familia estudiada, a las personas que han colaborado en el estudio clínico y genético, y a la Fundación "Marqués de Valdecilla", por su ayuda para la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- 1.- Morton NE. Genetic epidemiology of hearing impairment. *Ann NY Acad Sci* 1991; 630: 16-31.
- 2.- Gregory S. Deaf children and their families. Cambridge: Cambridge University Press, 1995.
- 3.- Arnos KS, Israël J, Cunningham M. Genetic counseling of the deaf. Medical and cultural considerations. *Ann NY Acad Sci* 1991; 630: 212-22.
- 4.- Van Camp G, Willems PJ, Smith RJH. Nonsyndromic hearing impairment: unparalleled heterogeneity. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 758-64.
- 5.- Van Camp G, Smith RJH. Hereditary Hearing Loss Homepage. World Wide Web URL: <http://dnalab-www.uia.ac.be/dnalab/hhh/>
- 6.- Yasunaga S, Grati M, Cohen-Salmon M, El-Amraoui A, Mustapha M, Salem N, et al. A mutation in OTOF, encoding otoferlin, a FER-1-like protein, causes DFNB9, a nonsyndromic form of deafness. *Nat Genet* 1999; 21: 363-9.
- 7.- Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>.
- 8.- Del Castillo I, Villamar M, Moreno-Pelayo MA, Del Castillo FJ, Álvarez A, Tellería D, et al. A deletion involving the connexin 30 gene in nonsyndromic hearing impairment. *N Engl J Med* 2002; 346: 243-9.
- 9.- Houseman MJ, Jackson AP, Al-Gazali LI, Badin RA, Roberts E, Mueller RF. A novel mutation in a family with non-syndromic sensorineural hearing loss that disrupts the newly characterised OTOF long isoforms. *J Med Genet* 2001; 38: e25.
- 10.- Yasunaga S, Grati M, Charde-noux S, Smith TN, Friedman TB, Lalwani AK, et al. OTOF encodes multiple long and short isoforms: genetic evidence that the long ones underlie recessive deafness DFNB9. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 591-600.
- 11.- Adato A, Raskin L, Petit C, Bonne-Tamir B. Deafness heterogeneity in a Druze isolate from the Middle East: novel OTOF and PDS mutations, low prevalence of GJB2 35delG mutation and indication for a

new DFNB locus. *Eur J Hum Genet* 2000; 8: 437-42.

12.- Migliosi V, Modamio-Hoybjor S, Moreno-Pelayo MA, Rodríguez-Ballesteros M, Villamar M, Tellería D, et al. 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* 2002; 39: 502-6.

13.- Mirghomizadeh F, Pfister M, Apaydin F, Petit C, Kupka S, Pusch CM, et al. Substitutions in the conserved C2C domain of otoferlin cause DFNB9, a form of nonsyndromic

autosomal recessive deafness. *Neurobiol Dis* 2002; 10: 157-64.

14.- Recomendación BIAP (Bureau International d'Audio-Phonologie) 02/1, Lisboa 1997.

15.- Liu X, Xu L. Nonsyndromic hearing loss: an analysis of audiograms. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1994; 103: 428-33.

16.- Estivill X, Govea N, Barceló A, Badenas C, Romero E, Moral L, et al. Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA A1555G mutation and is enhanced by treatment with aminoglycosides. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 27-35.

17.- Denoyelle F, Marlin S, Weil D, Moatti L, Chauvin P, Garabédian E, et al. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counselling. *Lancet* 1999; 353: 1298-303.

18.- Chaïb H, Place C, Salem N, Chardenoux S, Vincent C, Weissenbach J, et al. A gene responsible for a sensorineural nonsyndromic recessive deafness maps to chromosome 2p22-23. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 155-8.

19.- European Work Group on Ge-

netics of Hearing Impairment. Hereditary deafness epidemiology and clinical research info [letter]. November 1996, N° 2.

20.- Mafong DD, Shin EJ, Lalwani AK. Use of laboratory evaluation and radiologic imaging in the diagnostic evaluation of children with sensorineural hearing loss. *Laryngoscope* 2002; 112: 1-7.

21.- Varga R, Kelley PM, Keats BJ, Starr A, Leal SM, Cohn E, et al. Non-syndromic recessive auditory neuropathy is the result of mutations in the otoferlin (OTOF) gene. *J Med Genet* 2003; 40: 45-50.