

Estudio genético molecular del síndrome de Usher en España

T. Jaijo¹, E. Aller^{1,2}, M. Beneyto¹, C. Nájera², J. M. Millán¹

¹Unidad de Genética. Hospital Universitario La Fe. Valencia. ²Departamento de Genética. Universidad de Valencia. Valencia.

Resumen: El síndrome de Usher (USH) asocia sordera y retinosis pigmentaria (RP). Es una enfermedad heterogénea tanto clínica como genéticamente. Su modo de transmisión es autosómico recesivo y su prevalencia la convierte en la asociación de sordera y ceguera de origen genético más frecuente. Clínicamente, el síndrome de Usher se divide en los tipos I (USH1), II (USH2) y III (USH3) en función de la gravedad de la sordera, la edad de aparición de la RP y la presencia o no de disfunción vestibular. Existen al menos 7 localizaciones distintas para el USH1 y se han aislado 5 genes responsables de la enfermedad. Respecto al USH2 se han localizado 3 loci y se han aislado dos genes. El USH3 está causado por el gen clarina-1. Nuestro objetivo es la caracterización clínica y genética de los pacientes con síndrome de Usher en España mediante la búsqueda de mutaciones en los genes implicados en la enfermedad y la correlación con el fenotipo.

Palabras clave: Síndrome de Usher. Retinosis pigmentaria. Arreflexia vestibular. Caracterización molecular.

Molecular genetic study of Usher syndrome in Spain

Abstract: Usher syndrome (USH) associates deafness and retinitis pigmentosa (RP). It is a disease both clinically and genetically heterogeneous. It is inherited as an autosomal recessive trait and its prevalence makes it the most frequent association of hearing loss and RP. Clinically Usher syndrome is divided into type I (USH1), II (USH2) and III (USH3), according to the severity of hearing loss, age of onset of RP and the existence or not of vestibular dysfunction. There are at least 7 different localizations for USH1 and 5 genes have been identified. For USH2, 3 loci and 2 genes have been reported and USH3 is due to Clarin-1 gene. Our aim is to

perform a clinical and genetic characterization of all Usher syndrome patients in Spain.

Key words: Usher syndrome. Retinitis pigmentosa. Vestibular arreflexia. Molecular characterization.

ANTECEDENTES

El síndrome de Usher es una enfermedad que asocia sordera neurosensorial, retinosis pigmentaria (RP) y en algunos casos disfunción vestibular. Es una enfermedad heterogénea tanto clínica como genéticamente que, desde el punto de vista sanitario, tiene un interés elevado por el alto grado de incomunicación social que representa para los pacientes. Su modo de transmisión es autosómico recesivo y su prevalencia la convierte en la asociación de sordera y ceguera de origen genético más frecuente. Esta prevalencia se estima entre 3,8-4,4/100.000 habitantes^{1,2}. En nuestra población la prevalencia del síndrome de Usher se ha estimado en un 4,2/100.000³, aunque recientemente estas estimaciones están en revisión y se considera que la prevalencia de la enfermedad podría llegar incluso al triple⁴.

Desde el punto de vista clínico, la mayoría de los pacientes que sufren este síndrome se engloban en una de las dos categorías más frecuentes de la enfermedad. El síndrome de Usher tipo I (USH1), caracterizado por una sordera profunda y una disfunción vestibular congénitas y RP de aparición prepuberal normalmente. El síndrome de Usher tipo II (USH2) suele presentarse como una pérdida de audición más leve, sin afectación vestibular y con una aparición de la RP más tardía que en la forma USH1. El diagnóstico medio de la RP es de alrededor de los 15 años para el USH1 y de 24 para el USH2. Existe una tercera categoría, el Usher tipo III (USH3)⁵ que aparece frecuentemente entre los pacientes finlandeses afectados de este síndrome en los que tanto la sordera como la RP son progresivas y la afectación vestibular es variable. Algunos casos de síndrome de Usher no pueden catalogarse fácilmente y no entran en ninguna de estas categorías: es el síndrome de Usher atípico^{6,9} (tabla 1).

GENÉTICA DEL SÍNDROME DE USHER

Genéticamente, existen al menos 7 localizaciones distintas para el USH1 (USH1A a USH1G) y se han aislado los

Correspondencia: José M. Millán.
Unidad de Genética Hospital Universitario La Fe.
Avda. Campanar, 21 - 46009 Valencia.
E-mail: millan_jos@gva.es
Fecha de recepción: 31-3-2005
Fecha de aceptación: 25-4-2005

Tabla 1: Características clínicas del síndrome de Usher

| Manifestación clínica | USH1 | USH2 | USH3 |
|-----------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| Pérdida auditiva | Profunda a severa Estable | Severa-moderada Estable | Severa-moderada Progresiva |
| Función vestibular | Alterada | Normal | Variable |
| Aparición RP | Normalmente prepuberal | Peri o postpuberal | Peripuberal |
| Lenguaje | Ininteligible | Inteligible | Inteligible |

Tabla 2: Loci y genes implicados en el síndrome de Usher

| USH locus | Cromosom. | Gen/Proteína | Referencia |
|--------------|-----------|--------------------------|------------|
| USH1A | 14q32 | -/- | 10 |
| USH1B/DFNB2 | | | |
| DFNA11 | 11q13.5 | MYO7A/miosina VIIA | 11, 12, 13 |
| USH1C/DFNB18 | 11p15.1 | USH1C/harmonina | 14 |
| USH1D/DFNB12 | 10q22.1 | CDH23/cadherina 23 | 15 |
| USH1E | 21q21 | -/- | 16 |
| USH1F/DFNB23 | 10q21.1 | PCDH15/protocadherina 15 | 17 |
| USH1G | 17q25.1 | SANS/SANS | 18 |
| USH2A/RP | 1q41 | USH2A/usherina | 19 |
| USH2B | 3p23-24 | -/- | 20 |
| USH2C | 5q14.3 | VLGR1 | 21 |
| USH3A | 3q25.1 | USH3A/clarina-1 | 5 |

USH (síndrome de Usher); DFNA (sordera autosómica dominante); DFNB (sordera autosómica recesiva).

genes responsables de la enfermedad en 5 de estas 7 localizaciones: la miosina VIIA para el USH1B, la harmonina para el USH1C, la cadherina 23 para el Usher 1D, la protocadherina 15 para el USH1F y el gen SANS para el USH1G. La mayoría de estos genes también están implicados en sorderas no asociadas a RP, tanto dominantes (DFNA) como recesivas (DFNB). Respecto al USH2 se han localizado al menos 3 loci implicados en la enfermedad (USH2A, USH2B y USH2C) y dos genes: la usherina, que corresponde a la localización USH2A, y que también está implicado en RP aislada, sin asociación a sordera y el recientemente clonado gen VLGR1 que corresponde al locus USH2C. Finalmente, el USH3 está causado por el gen clarina-1.

La clasificación genética de este síndrome, los loci responsables, los genes clonados hasta el momento y la implicación de estos genes en sorderas o RP aislada, así como las referencias para cada uno de estos trabajos se refleja en la tabla 2.

PREVALENCIA DE LAS DISTINTAS FORMAS DE LA ENFERMEDAD

La prevalencia global de la enfermedad se ha estimado en un 4,2/100.000 en la población española, lo que supone un número de afectados superior a 1.600 en toda España. En cuanto a las distintas formas de la enfermedad y a la vista de nuestros datos, la prevalencia de la forma USH2 es el doble que la USH1, siendo el USH3 una forma muy poco frecuente de la enfermedad en España.

El hecho de que el diagnóstico medio de la RP en el

USH2 sea a los 24 años implica que un alto porcentaje de pacientes por debajo de esta edad estén diagnosticados de hipoacusia pero no de síndrome de Usher. Esto supone que la prevalencia en realidad sea mucho mayor pudiendo llegar incluso a un 11,5/100.000, con una tasa de portadores en la población de 1/116⁴.

En cuanto a la implicación de los distintos loci, tanto según nuestros datos como por datos de otros investigadores pertenecientes a otras poblaciones, se estima que en el 50% de los pacientes USH1 el gen responsable es el MYO7A, en el 30% aproximadamente es la CDH23 y el 20% restante se repartiría entre los otros genes/loci implicados, siendo la prevalencia de estos últimos mucho menos importante²².

El 85% de los casos USH2 presentan mutaciones en el gen de la usherina. En el resto, las mutaciones responsables de la enfermedad habría que buscarlas en el gen VLGR1 o en el gen todavía desconocido localizado en 3p (USH2B).

Respecto al USH3, como se ha comentado anteriormente, es una forma muy poco prevalente de la enfermedad en poblaciones que no sean la finlandesa, la sueca o judía askenazi y concretamente la nuestra no presenta una prevalencia superior al 2%²³.

De todos los genes implicados en el síndrome de Usher, la miosina VIIA es quizá el mejor estudiado. La miosina VIIA forma parte de la familia de las miosinas no convencionales entre las cuales hay varias implicadas en distintas enfermedades humanas, especialmente en sorderas neurosensoriales. La tabla 3 indica las miosinas no convencionales implicadas en diferentes procesos patológicos tanto en humanos como en otros organismos.

Tabla 3: Miosinas no convencionales implicadas en diferentes procesos patológicos

| Miosina | Patología | Organismo |
|--------------------------|---------------------------------|------------|
| Miosina β cardiaca | Miocardopatía hipertrófica | Humanos |
| Miosina III | Degeneración retiniana | Drosophila |
| Miosina VIIA | Sordera neurosensorial y RP | Humanos |
| Miosina IIA | Sordera neurosensorial (DFNA17) | Humanos |
| Miosina IIIA | Sordera neurosensorial (DFNB30) | Humanos |
| Miosina VI | Sordera neurosensorial (DFNA22) | Humanos |
| Miosina XV | Sordera neurosensorial (DFNB3) | Humanos |

Los mutantes murinos existentes tanto para las distintas miosinas implicadas en sorderas como para las otras proteínas implicadas en síndrome de Usher demuestran que estas proteínas forman parte del armazón que conforma los estereocilios de las células ciliadas que forman parte del órgano de Corti y las uniones existentes entre las tres hileras de estereocilios que hacen funcional su estructura. Están interconectadas entre sí y los defectos en estas proteínas dan lugar a la desorganización o al deficiente desarrollo de la típica disposición espacial en escalera de los estereocilios de las células ciliadas y las uniones entre los mismos que es fundamental para una correcta audición^{24,25} (figuras 1 y 2).

RIESGO DE RECURRENCIA. EFECTO DE LAS FORMAS DE HERENCIA COMPLEJAS

El síndrome de Usher es una enfermedad autosómica recesiva, esto es, que es necesario que las dos copias del gen responsable estén alteradas para que se produzca la enfer-

medad. Cuando uno de los dos alelos del gen está alterado y el otro es normal se es portador asintomático de la enfermedad y el riesgo de transmitir la enfermedad a la descendencia sería de un 25% siempre y cuando la pareja sea también portadora. La probabilidad de que esto ocurra aumenta con el grado de consanguinidad. Por lo tanto el riesgo de recurrencia para una pareja que previamente ha tenido un niño con síndrome de Usher es del 25%. Sin embargo, los avances producidos en cuanto al conocimiento de los genes implicados en distrofias retinianas, sorderas y síndrome de Usher hacen pensar que se podrían producir formas de herencia que se desvíen de los tipos de transmisión típicamente mendelianos.

En primer lugar, como hemos visto en la *Introducción*, los genes que producen síndrome de Usher producen también sordera no sindrómica y uno de ellos (usherina) RP aislada. La asociación de determinadas mutaciones dentro del mismo gen podría dar lugar a efectos diversos causando una enfermedad u otra²⁶.

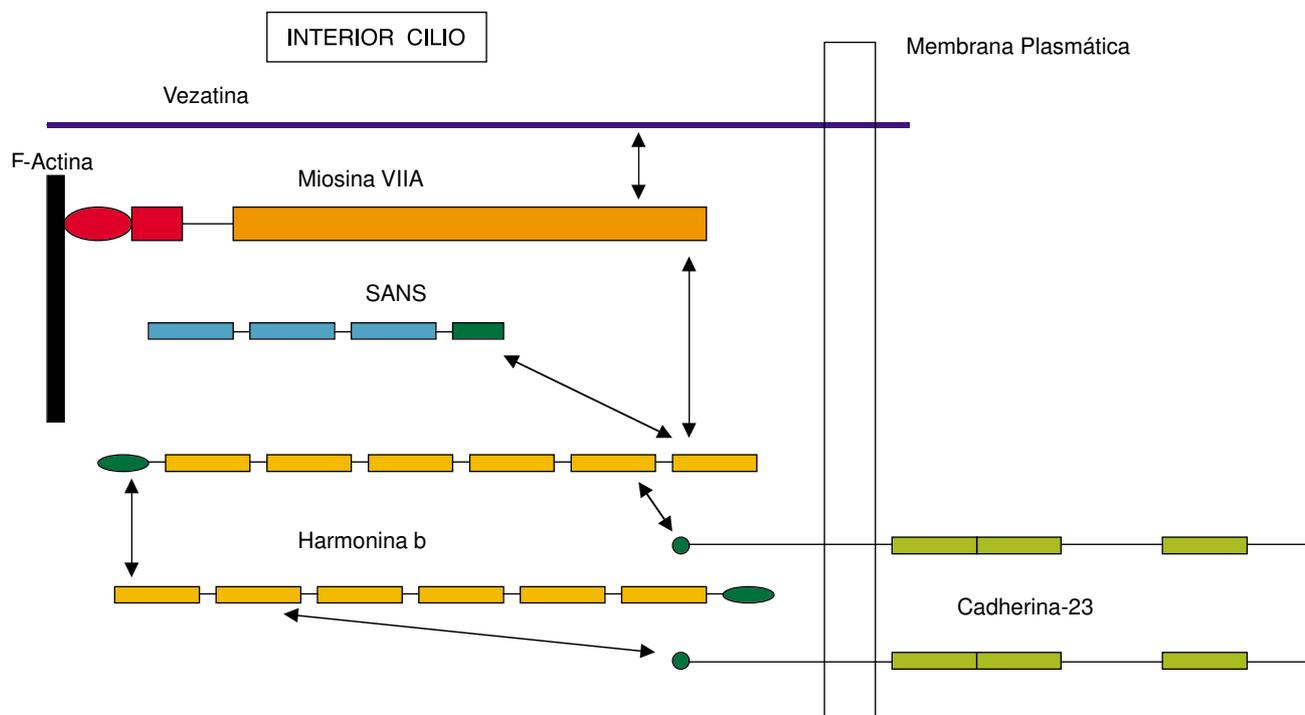


Figura 1. Esquema de la interacción entre los dominios funcionales de las distintas proteínas implicadas en el síndrome de Usher en el interior de los cilios de las células ciliadas del órgano de Corti.

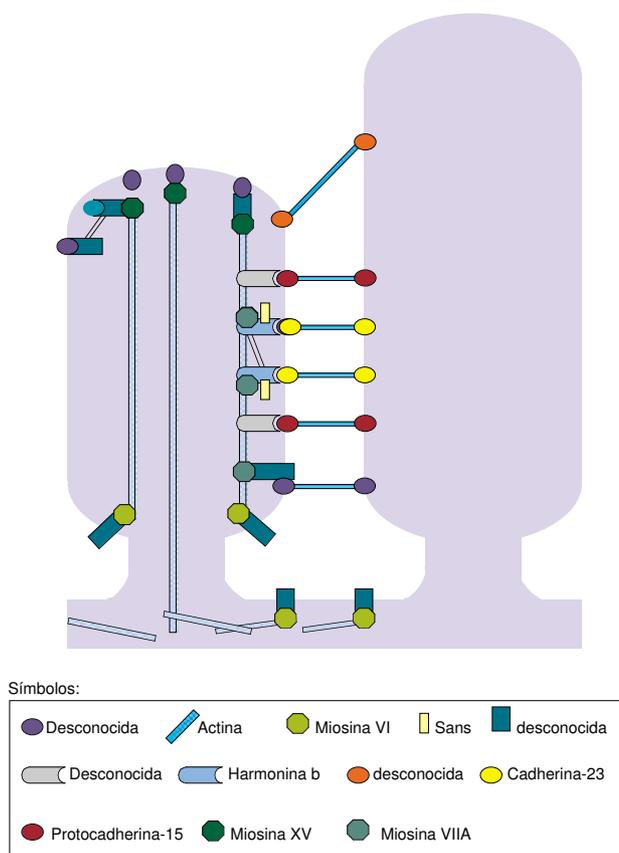


Figura 2. Esquema de las proteínas que forman los complejos de adhesión en el interior de la membrana plasmática de los estereocilios.

En segundo lugar, no se ha de descartar la posibilidad de formas de herencia complejas como la herencia digénica. En esta forma de transmisión, la presencia de mutaciones en heterocigosis en dos genes distintos que actúan de forma recesiva, coincidiendo dentro del mismo individuo (doble heterocigoto), darán lugar al síndrome de Usher.

Un tercer hecho observado y comprobado es el efecto de determinadas mutaciones adicionales en el fenotipo (herencia epistática)²⁷. De esta manera, el efecto de determinadas mutaciones en otros genes distintos al responsable de la aparición de la enfermedad podría dar lugar a fenotipos totalmente distintos.

Este tipo de herencias se ha demostrado ya en el síndrome de Usher, en la retinosis pigmentaria (RP) y en las sorderas hereditarias²⁷⁻²⁹.

IMPLICACIONES DE LA CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD Y DE LAS FORMAS COMPLEJAS DE HERENCIA

Existen dos puntos importantes a tratar bajo este epígrafe. El primero es, de nuevo, la aparición tardía de la RP. La RP aparece siempre posteriormente a la sordera, alrededor de la adolescencia en las formas II y III del síndrome o prepuberalmente en el tipo I pero en cualquier caso este hecho da lugar a que algunos de los casos de niños con sorde-

ra neurosensorial puedan estar diagnosticados incorrectamente en un inicio debido a que la RP todavía no ha aparecido. Algunos autores indican que estos casos podrían suponer entre un 3 a un 6% de las sorderas neurosensoriales congénitas.

El segundo se deriva de la implicación de un mismo gen tanto en sordera aislada como en síndrome de Usher (el gen de la miosina VIIA es responsable de hasta 3 entidades diferentes, Usher, una sordera dominante y otra recesiva), de las posibles relaciones entre genes distintos implicados en la misma enfermedad y de la endogamia que se presenta entre las personas sordas. Estos hechos, conjuntamente, pueden dar lugar a las ya mencionadas formas de herencia complejas y, por lo tanto, a la posibilidad de que la descendencia entre una persona sorda y otra afectada por el síndrome de Usher o entre dos personas sordas sea afectada por una u otra enfermedad aunque sus progenitores presenten mutaciones en genes distintos.

FUTURAS TERAPIAS

Aunque se han llevado a cabo grandes esfuerzos en el aislamiento y conocimiento de la función de los genes implicados en el síndrome que han conducido a grandes avances en este campo, éstos no se han traducido todavía en un método diagnóstico genético aplicable asistencialmente a los pacientes ni en una terapia claramente eficaz.

Actualmente, desde el punto de vista asistencial, la detección de las mutaciones responsables del síndrome en una familia determinada es muy costoso tanto en tiempo, esfuerzo técnico como económico, de forma que el estudio genético de estos pacientes sólo puede abordarse a través de proyectos de investigación. Por otra parte, las actuales terapias dependen del órgano afectado; así para la audición el implante coclear se está mostrando como una terapia interesante, especialmente en niños menores de 3 años, mientras que para la retinosis pigmentaria el tratamiento con vitamina A puede ralentizar la progresión de la enfermedad en algunos casos. En un futuro la terapia génica, la terapia mediante células madre, la tecnología de células encapsuladas o tratamientos que impliquen la suma de estas tres podrían suponer el tratamiento definitivo contra la enfermedad, sin embargo, estas terapias tan prometedoras se deben tomar con mucha cautela.

EXPERIENCIA DEL GRUPO INVESTIGADOR

Nuestro grupo lleva trabajando en epidemiología y genética de las retinopatías hereditarias y síndrome de Usher desde 1991.

Nuestro trabajo se ha centrado básicamente en el estudio clínico, epidemiológico y genético de la enfermedad. Actualmente estamos realizando la búsqueda de mutaciones en los genes usherina (USH2A), clarina-1 (USH3A), SANS (USH1G) y miosina VIIA (USH1B) y un *screening* para las cuatro mutaciones más frecuentes en el gen de la harmonina (USH1C). Este proyecto de investigación tiene co-

mo objetivos: 1- la catalogación genética de los pacientes; 2- la correlación genotipo-fenotipo. Para ello, además de encontrar las mutaciones responsables de la enfermedad, es imprescindible un completo estudio clínico de cada paciente y 3- contribuir a la comprensión de las bases genéticas de la enfermedad que permita en un futuro a medio plazo la consecución de una terapia racional.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la participación de los pacientes y sus familiares que se han prestado a este estudio así como a la Federación de Asociaciones de Afectados por Retinosis Pigmentaria del estado Español (FAARPEE) por su ayuda y cooperación. Este trabajo ha sido financiado por el Fondo de Investigación Sanitaria (Proyecto FIS PI04 0918), la Fundación ONCE y las Redes Temáticas de Investigación (FIS G03/018 y G03/203). Elena Aller disfruta de una beca de la Agencia Valenciana de Ciencia y Tecnología (CTBPRB/2003/122).

Referencias

- Haim M. Prevalence of retinitis pigmentosa and allied disorders in Denmark. II. Systemic involvement and age of onset. *Acta Ophthalmol* 1992;70:417-426.
- Hope CI, Bunday S, Proops D, Fielder AR. Usher syndrome in the city of Birmingham-prevalence and clinical classification. *Br J Ophthalmol* 1997;81:46-53.
- Espinós C, Millán JM, Beneyto M, Nájera C. Epidemiology of Usher syndrome in Valencia and Spain. *Community Genet* 1998;1:223-228.
- Usher Syndrome Conference: The State of the Art. Gothenburg, Suecia. 31 Enero a 2 Febrero. 2005
- Sankila EM, Pakarinen L, Kaariainen H, Aitomaki K, Karjalainen S, Sistonen P. Assignment of an Usher syndrome type III (USH3) gene to chromosome 3q. *Hum Mol Genet* 1995;4:93-98.
- Smith RJH, Berlin CI, Hejtmancik JF, Keats BJB, Kimberling WJ, Lewis RA et al. Clinical diagnosis of the Usher syndromes. Usher Syndrome Consortium. *Am J Med Genet* 1994;50:32-38.
- Tsilou ET, Rubin BI, Caruso RC, Reed GF, Pikus A, Hejtmancik JF et al. Usher syndrome clinical types I and II: could ocular symptoms and signs differentiate between the two types? *Acta Ophthalmol Scand* 2002;80:196-200.
- Wagenaar M, Van Aarem A, Huygen P, Pteke-Dahl S, Kimberling WJ, Cremers C. Hearing impairment related to age in Usher syndromes types 1B and 2A. *Arch. Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;125:441-445.
- Otterstedde CR, Spandau U, Blankenagel A, Kimberling WJ, Reisser C. A new clinical classification for Usher's syndrome based on a new subtype of Usher's syndrome type I. *Laryngoscope* 2001;111:84-86.
- Kaplan J, Gerber DB, Bonneau D, Rozet JM, Delrieu O, Briard ML et al. A gene for Usher syndrome type I (USH1A) maps to chromosome 14q. *Genomics* 1992;14:979-987.
- Liu XZ, Walsh J, Tamagawa Y, Kitamura K, Nishizawa M, Steel KP et al. Autosomal dominant non-syndromic deafness caused by a mutation in the myosin VIIA gene. *Nat Genet* 1997;17:268-269.
- Liu XZ, Walsh J, Mburu P, Kendrick-Jones J, Cope JTV, Steel KP et al. Mutations in the Myosin VIIA gene cause non-syndromic recessive deafness. *Nat Genet* 1997;16:188-190.
- Guilford P, Ayadi H, Blanchard S, Chaib H, Le Paslier D, Weissenbach J et al. A human gene responsible for neurosensory, non-syndromic recessive deafness is a candidate homologue of the mouse sh-1 gene. *Hum Mol Genet* 1994;3:989-993.
- Jain PK, Lalwani AK, Li XC, Singleton TL, Smith TN, Chen A et al. A gene for recessive nonsyndromic sensorineural deafness (DFNB18) maps to the chromosomal region 11p14-p15.1 containing the Usher syndrome type 1C gene. *Genomics* 1998;50:290-292.
- Chaib H, Place C, Salem N, Dodé C, Chardenoux S, Weissenbach J et al. Mapping of DFNB12, a gene for a non-syndromal autosomal recessive deafness to chromosome 10q21-22. *Hum Mol Genet* 1996;5:1061-1064.
- Chaib H, Kaplan J, Gerber S, Vincent C, Ayadi H, Slim R et al. A newly identified locus for Usher syndrome type I, USH1E, maps to chromosome 21q21. *Hum Mol Genet* 1997;6:27-31.
- Wayne S, Lowry RB, McLeod DR, Knaus R, Farr C, Smith RJH et al. Localization of the Usher syndrome type 1F (USH1F) to chromosome 10. *Am J Hum Genet* 1997;61:A300.
- Mustapha M, Chouery E, Torchard-Pagnez D, Nouaille S, Khrais A, Sayegh FN. A novel locus for Usher syndrome type I, USH1G, maps to chromosome 17q24-25. *Hum Genet* 2002;110:348-350.
- Kimberling WJ, Weston MD, Moller CG, Davenport SLH, Shugart YY, Priluck IA et al. Localization of Usher syndrome type II to chromosome 1q. *Genomics* 1990;7:245-249.
- Hmani M, Ghorbel A, Boulila-Elgaied A, Zina ZB, Kammoun W, Drira M et al. A novel locus for Usher syndrome type II, USH2B, maps to chromosome 3 at p23-24.2. *Eur J Hum Genet* 1999;7:363-367.
- Weston MD, Lujendijk MWJ, Humphrey KD, Moller C, Kimberling WJ. Mutations in the VLGR1 gene implicate G-protein signalling in the pathogenesis of Usher syndrome type II. *Am J Hum Genet* 2004;74:357-366.
- Ahmed ZM, Riazuddin S, Riazuddin S, Wilcox ER. The molecular genetics of Usher syndrome. *Clin Genet* 2003;63:431-444.
- Aller E, Jaijo T, Oltra S, Alió J, Galán F, Nájera C et al. Mutation screening of USH3A gene (clarín-1) in Spanish patients with Usher syndrome: low prevalence and phenotypic variability. *Clin Genet* 2004;66:525-529.
- Petit C. Usher syndrome: from genetics to pathogenesis. *Ann Rev Genomics Hum Genet* 2001;2:271-297.
- Frolenkov GI, Belyantseva IA, Friedman TB, Griffith AJ. Genetics insights into the morphogenesis of inner ear hair cells. *Nature Reviews/Genetics* 2004;5:489-498.
- Aller E, Nájera C, Millán JM, Oltra JS, Pérez-Garrigues H, Vilela C et al. Genetic analysis of 2299delG and C759F mutations (USH2A) in patients with visual and/or auditory impairments. *Eur J Hum Genet* 2004;12:407-410.
- Adato A, Vreugde S, Joensuu T, Avidan N, Hamalainen R, Belenkiy O et al. USH3 transcripts encode clarín-1, a four-transmembrane-domain protein with a possible role in sensory synapses. *Eur J Hum Genet* 2002;10:339-350.
- Dryja TD, Hahn LB, Kajiwaru K, Berson EL. Dominant and digenic mutations in the peripherin/RDS and ROM1 genes in retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:1972-1982.
- Balciuniene J, Dahl N, Borg E, Samuelsson E, Koisti MJ, Pettersson U et al. Evidence for digenic inheritance of nonsyndromic hereditary hearing loss in a Swedish family. *Am J Hum Genet* 1998;63:786-793.