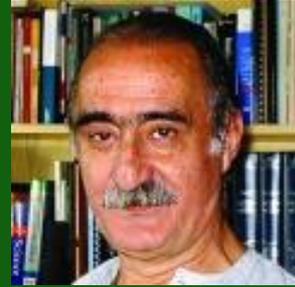


Felipe Moreno Herrero

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

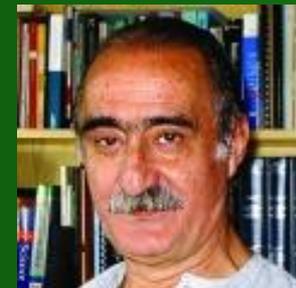


- Director de la Unidad de Genética Molecular del Hospital Universitario Ramón y Cajal
- Dirige un grupo de investigación que centra su trabajo en el diagnóstico genético-molecular de las hipoacusias hereditarias
- Premio Reina Sofía de Prevención de Deficiencias



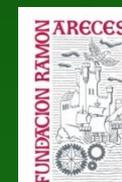
Felipe Moreno Herrero

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

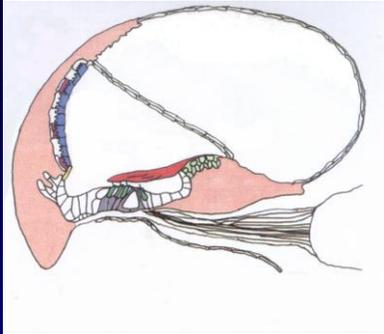


Diagnóstico molecular temprano de la sordera.
Asesoramiento genético familiar, prevención
y predicción

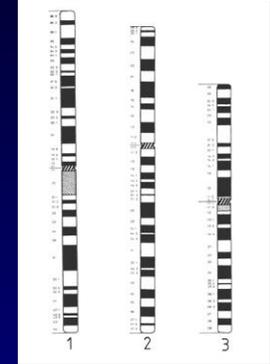
*Early molecular diagnosis of deafness. Genetic
family counselling, prevention and prediction*



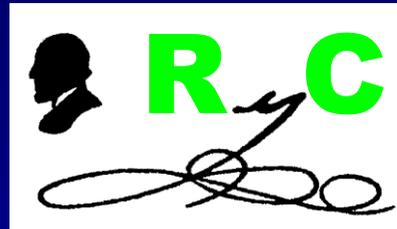
Diagnóstico molecular temprano de la sordera. Asesoramiento genético familiar, prevención y predicción



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



ciberer
Centro de Investigación Biomédica En Red
de Enfermedades Raras



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

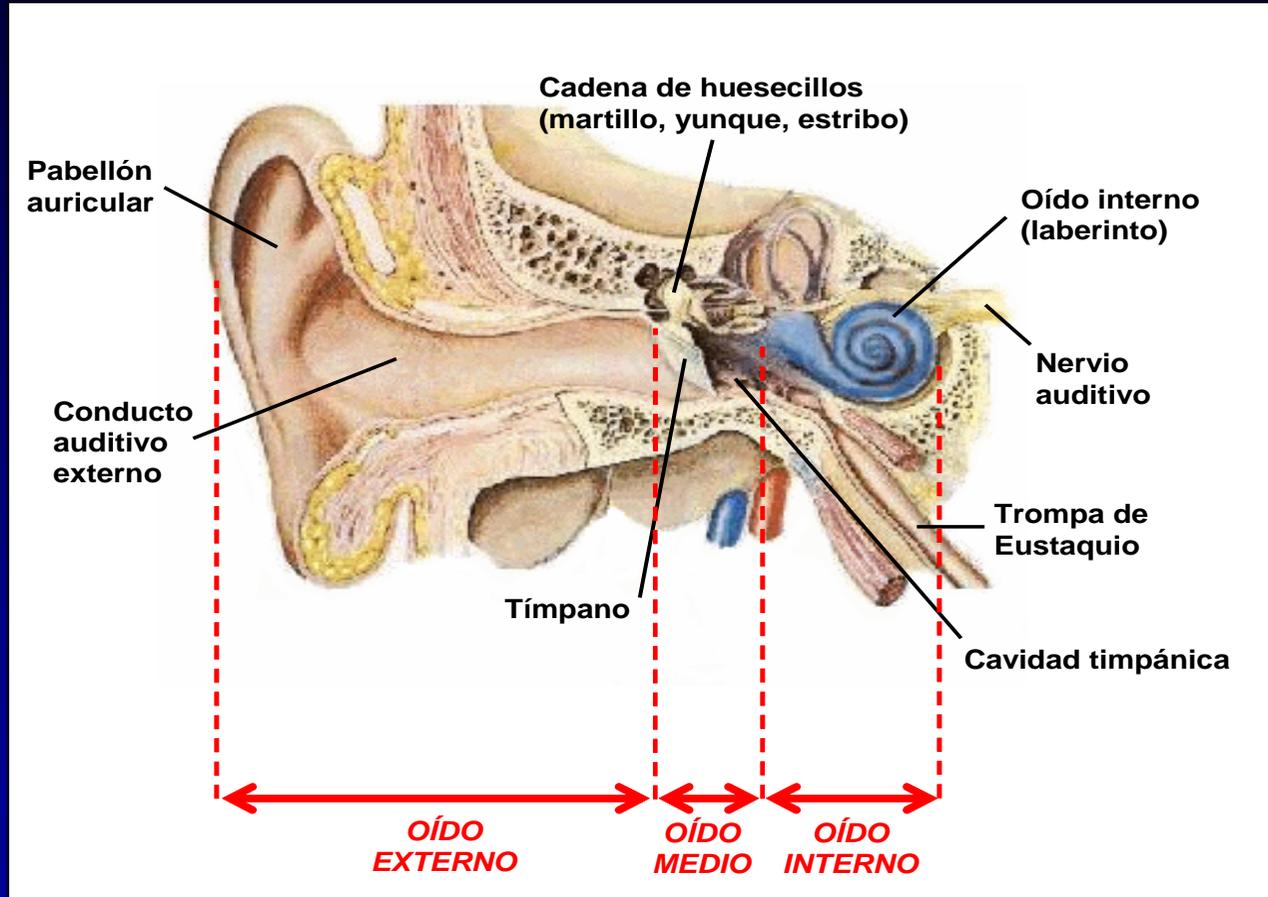
**II Simposio Internacional: Detección, diagnóstico y
tratamiento precoz de la sordera en la infancia**

Fundación Ramón Areces, 26-27 de mayo 2011

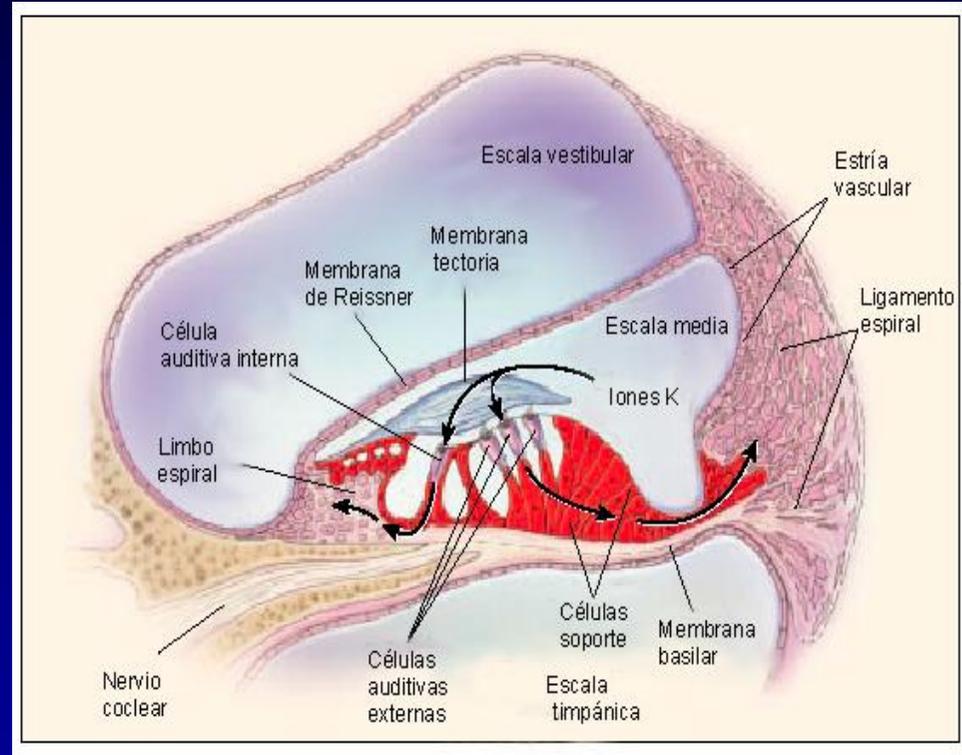
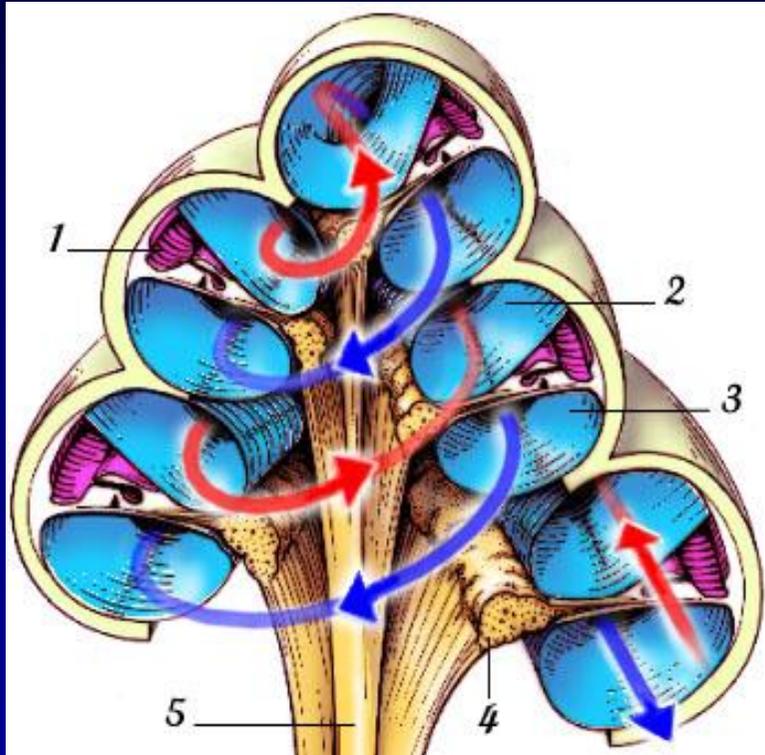
El equipo.....



Anatomía del oído



ESTRUCTURA DE LA CÓCLEA



EPIDEMIOLOGÍA DE LAS HIPOACUSIAS (1)

INCIDENCIA: 1/1000 NACIDOS VIVOS

- ◆ CAUSAS NO GENÉTICAS (40 %)

- Infecciones

- Trauma otoacústico

- Ototoxicidad de fármacos

(Posible susceptibilidad de base genética)

- ◆ CAUSAS GENÉTICAS (60 %)

EPIDEMIOLOGÍA DE LAS HIPOACUSIAS (2)

HIPOACUSIAS DE CAUSA GENÉTICA

◆ SINDRÓMICAS (30 %)

☑ Más de 400 síndromes catalogados. Ejemplos:

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

◆ NO SINDRÓMICAS (70 %)

EPIDEMIOLOGÍA DE LAS HIPOACUSIAS (3)

HIPOACUSIAS NO SINDRÓMICAS

◆ HERENCIA NUCLEAR (85-90 %)

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

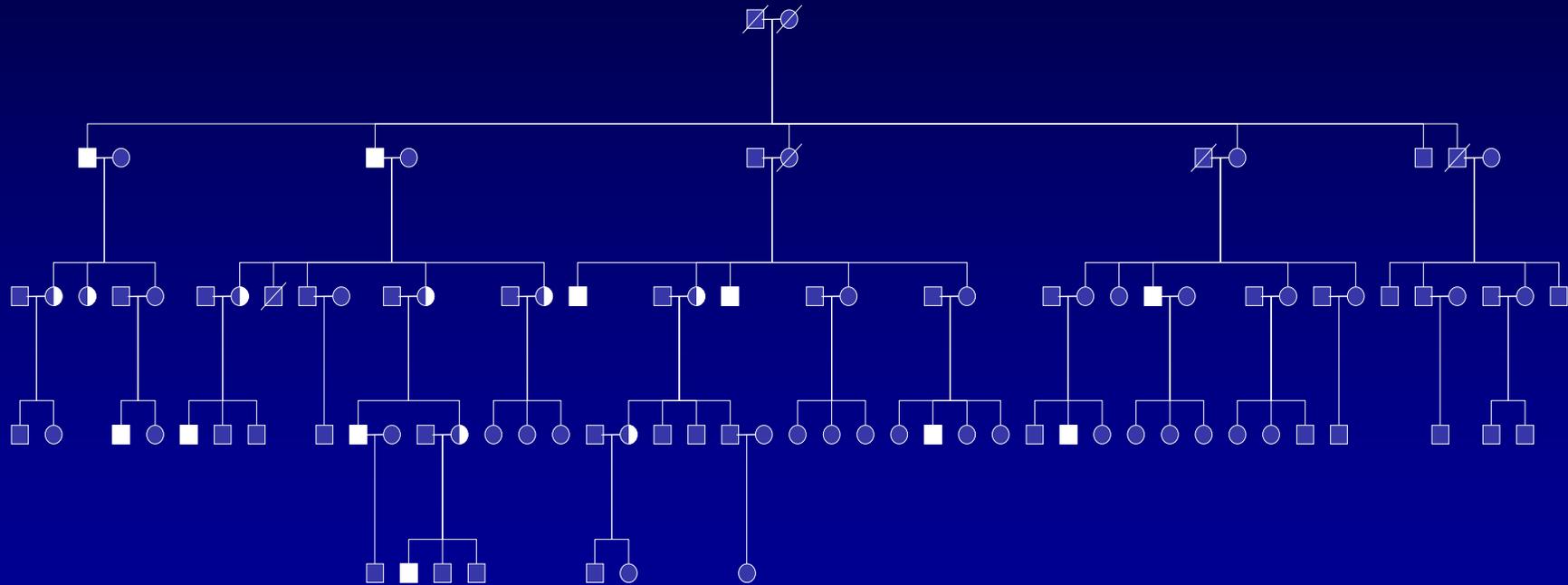
◆ HERENCIA MITOCONDRIAL (10-15%)

ETAPAS DEL ESTUDIO GENÉTICO MOLECULAR

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

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

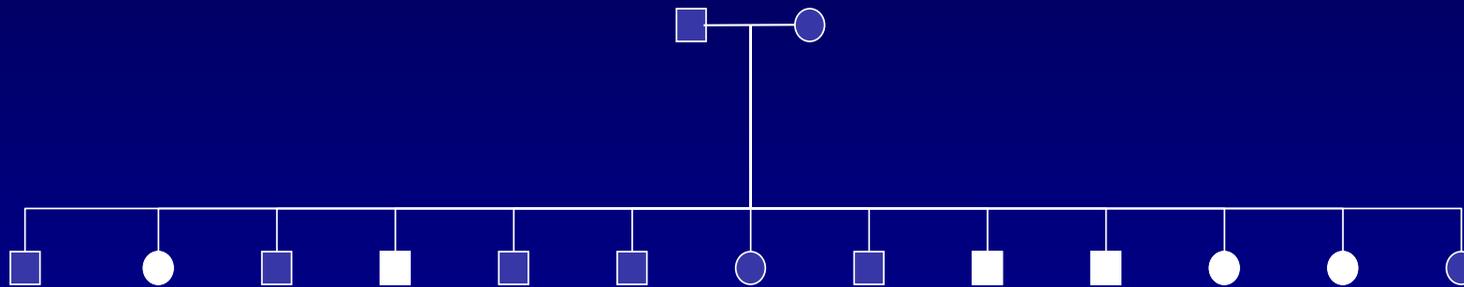
Familia S005 - Herencia ligada al sexo



- □ Normoyentes
- Varón afectado
- ◐ Mujer parcialmente afectada

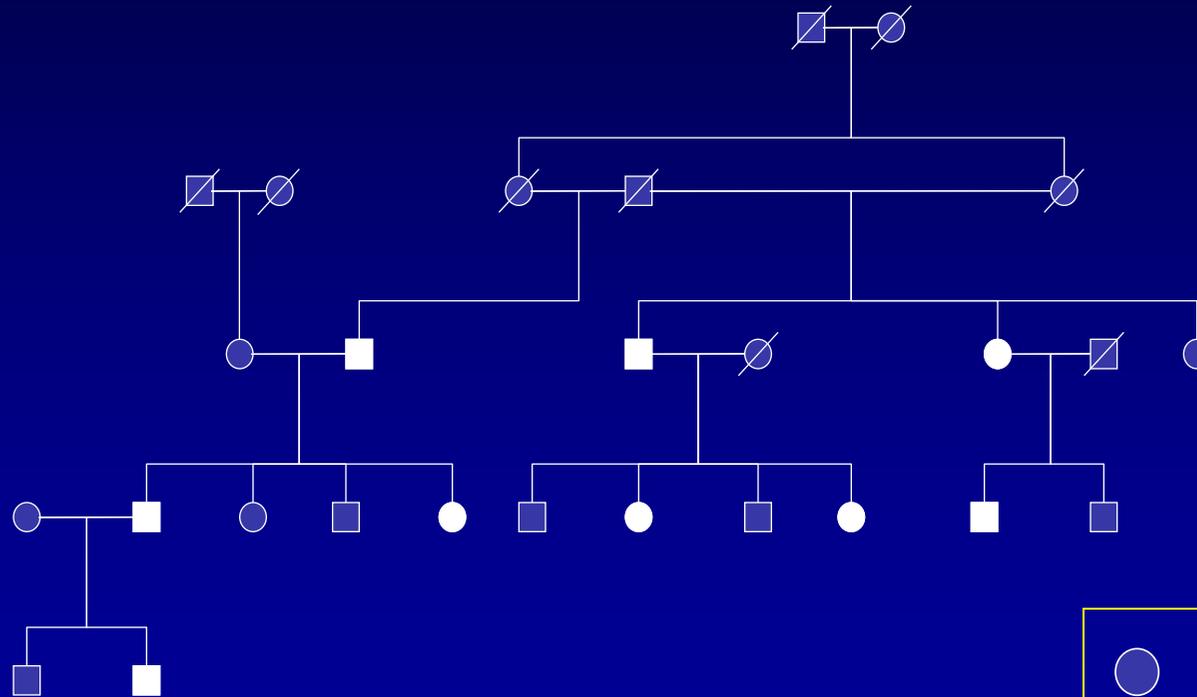
FAMILIAS APTAS PARA LOS ESTUDIOS DE LOCALIZACIÓN DE GENES (2)

Familia S040 - Herencia autosómica recesiva



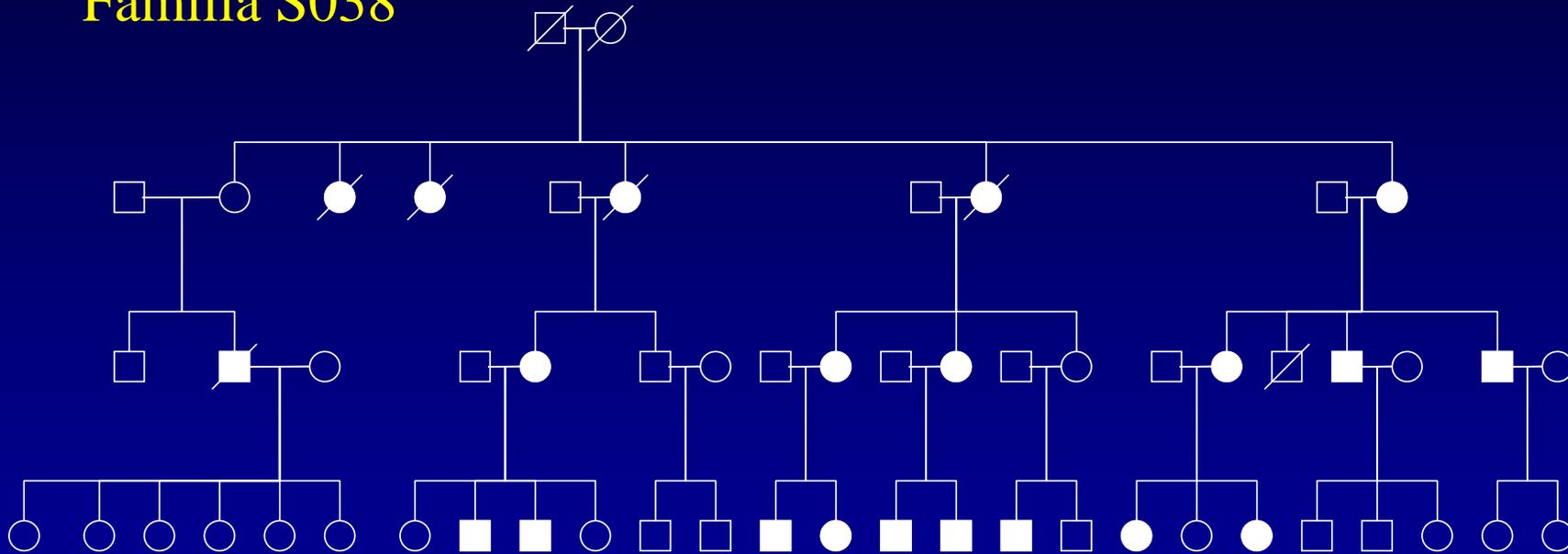
FAMILIAS APTAS PARA LOS ESTUDIOS DE LOCALIZACIÓN DE GENES (3)

Familia S063 - Herencia autosómica dominante



HERENCIA MATERNA (MITOCONDRIAL)

Familia S038



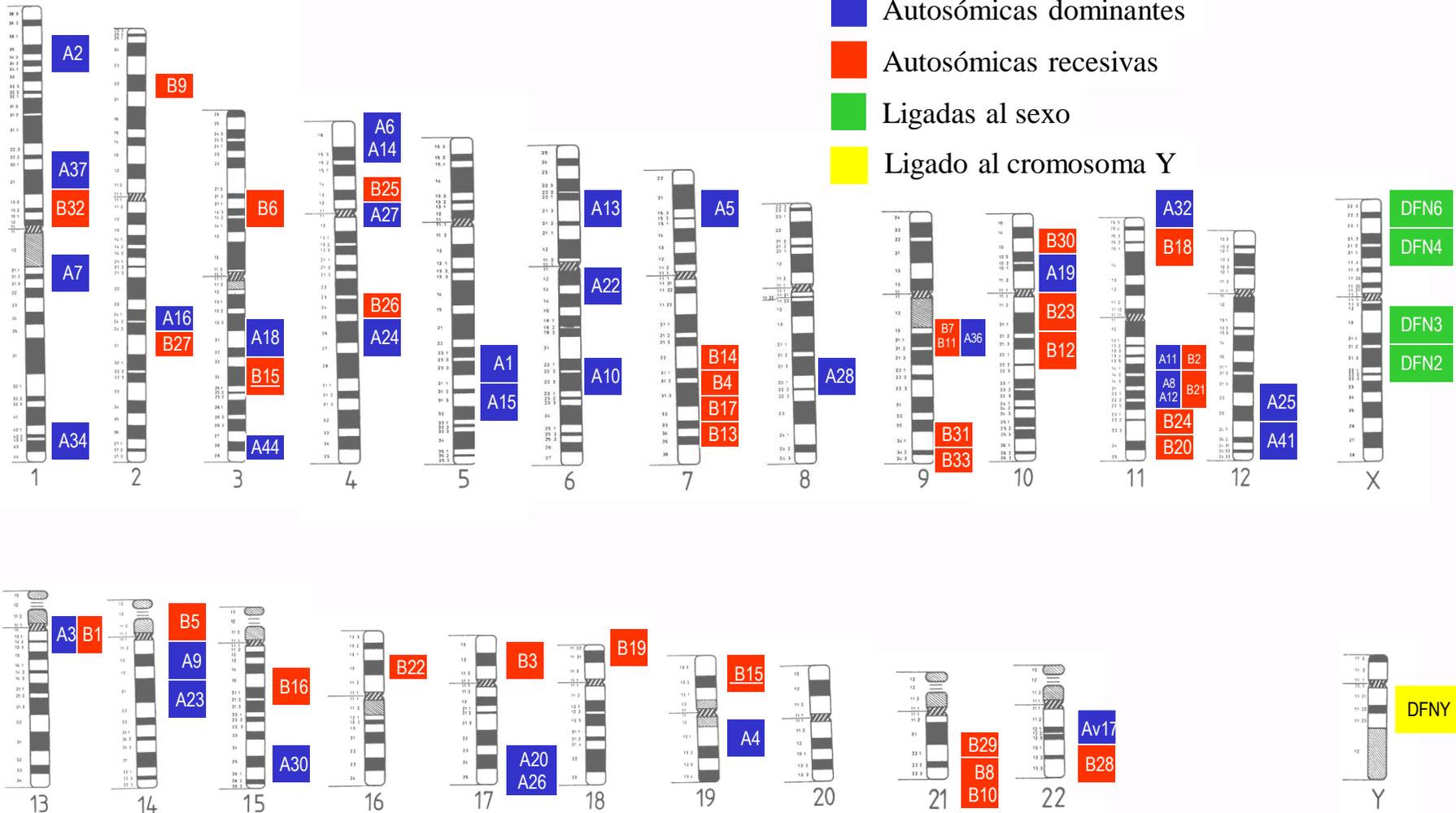
○ □ Normoyentes ● ■ Afectados

GENES LOCALIZADOS: RESUMEN

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

LOCALIZACIÓN DE LOS GENES DE HIPOACUSIAS NO SINDRÓMICAS

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



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

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

DFNA

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

DFNX e Y

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

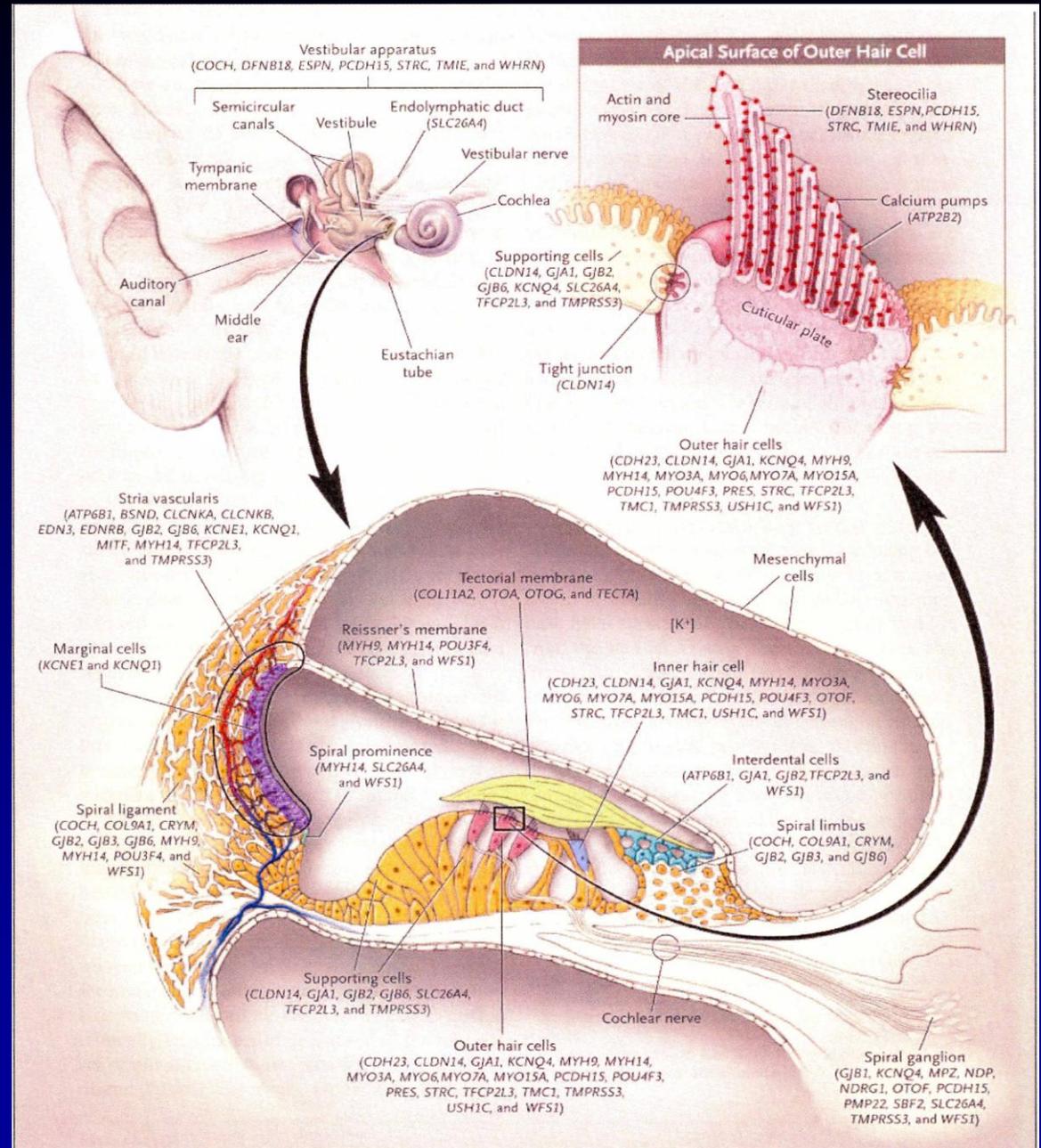
Locus	Cromosoma	Gene
DFNB1	13	GJB2
DFNB1B	13	GJB6
DFNB2	11	MYO7A
DFNB3	17	MYO15A
DFNB4	7	SLC26A4
DFNB5	14	-
DFNB6	3	TMIE
DFNB7/11	9	TMC1
DFNB8/10	21	TMPRSS3
DFNB9	2	OTOF
DFNB12	10	CDH23
DFNB13	7	-
DFNB14	7	-
DFNB15	19	GIPC3
DFNB16	15	STRC
DFNB17	7	-
DFNB18	11	USH1C
DFNB19	18	-
DFNB20	11	-
DFNB21	11	TECTA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

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

DFNB

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

Genes asociados a hipoacusia



GENES IDENTIFICADOS: RESUMEN

◆ Codifican proteínas muy diversas:

☑ **Matriz extracelular:** α -Tectorina, COL11A2 y COCH

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

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

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

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

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

☑ **Proteasa transmembranar:** TMPRSS3

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

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

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

AISLAMIENTO DE GENES DE HIPOACUSIAS NO SINDRÓMICAS

- **Clonación posicional**

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

- **Estrategia del gen candidato**

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

COLECCIÓN DE CASOS

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

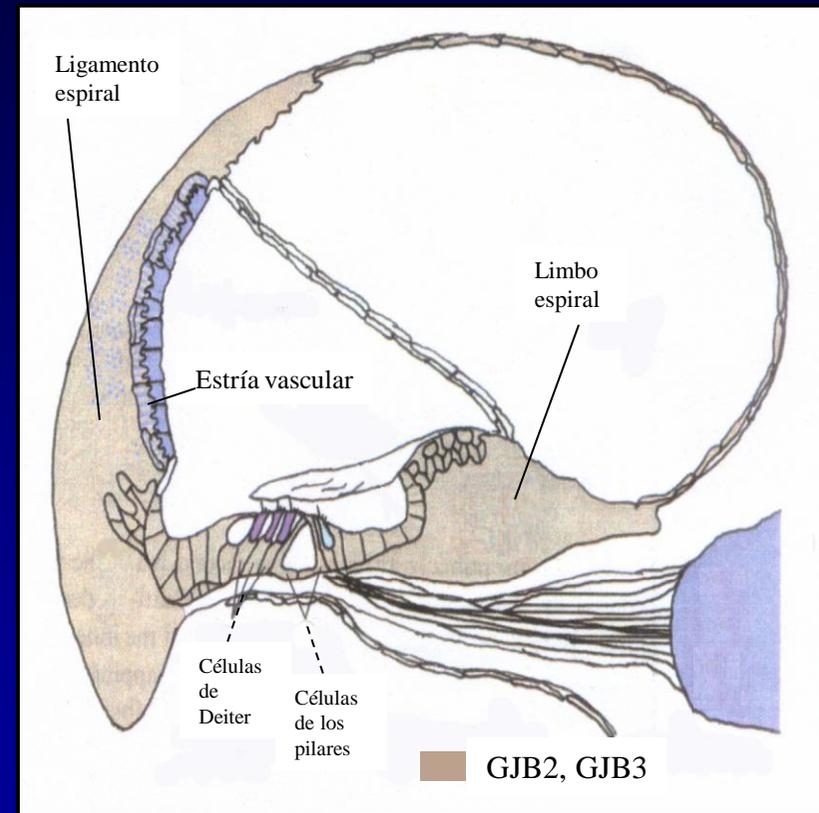
- Hipoacusias sindrómicas:
 - ☑ Pendred.
 - ☑ Waardenburg, Usher, BOR.

EPIDEMIOLOGÍA GENÉTICA

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

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

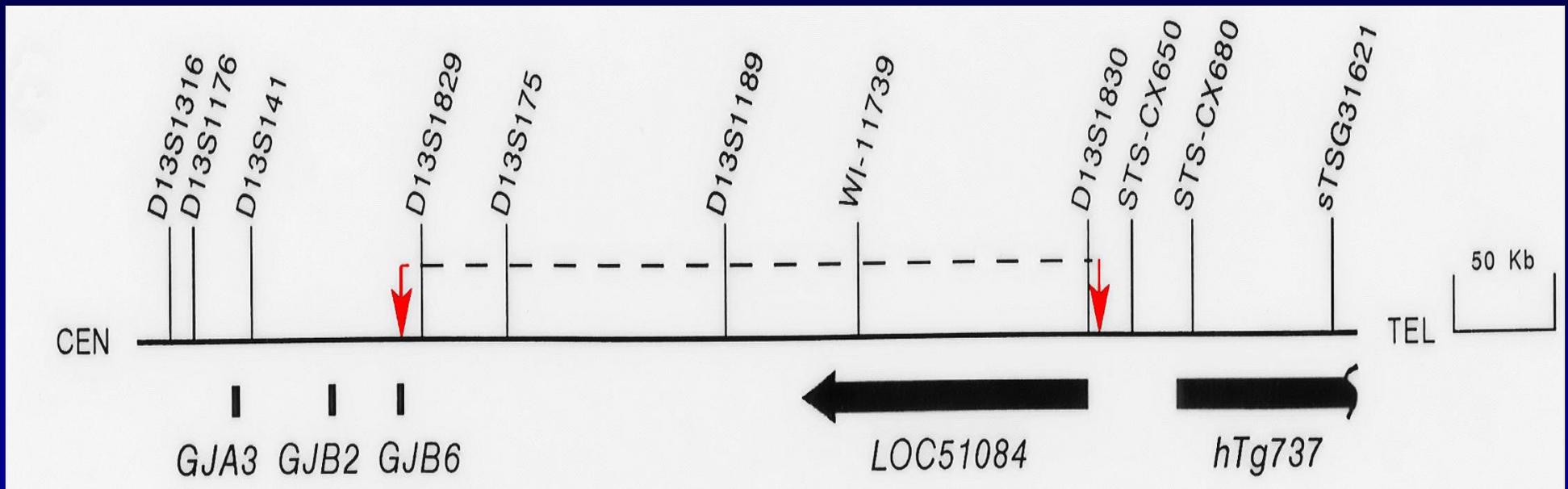
- Gen GJB2: Conexina 26
 - ☑ 13q12, loci **DFNB1** y **DFNA3**
- Gen GJB6: Conexina 30
 - ☑ 13q12, locus **DFNA3**
- Gen GJB3: Conexina 31
 - ☑ 1p34, locus **DFNA2**
- Proteínas: **Canales intercelulares** de tipo gap junction
- Función: **Reciclaje de iones potasio** a través de las células de soporte,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



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

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

The Δ (GJB6-D13S1830) mutation



GJA3: Connexin 46

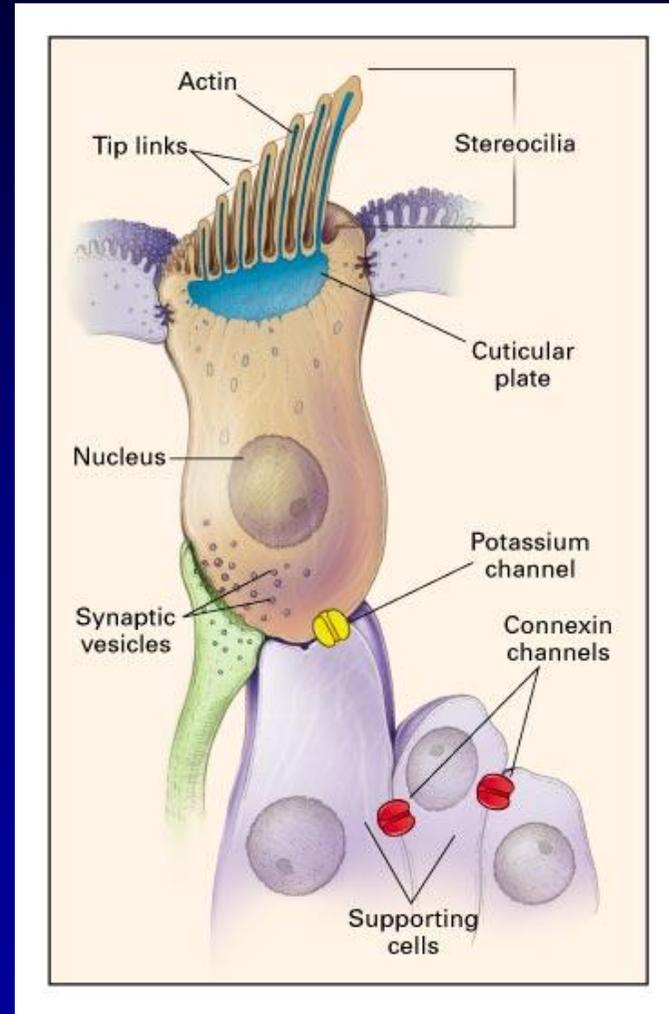
GJB2: Connexin 26

GJB6: Connexin 30

LOC51084: Lambda-crystallin

Gen OTOF: **Otoferlina**

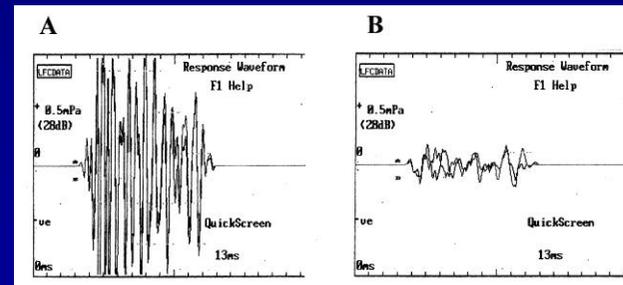
- Gen OTOF - 2p22-p23
- Locus **DFNB9**
- Expresión: **Células ciliadas internas**
- **Otoferlina**: Proteína citosólica anclada a membrana por su dominio C-terminal
- Función (hipotética): **Tráfico de vesículas de membrana**, posiblemente vesículas sinápticas



CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO

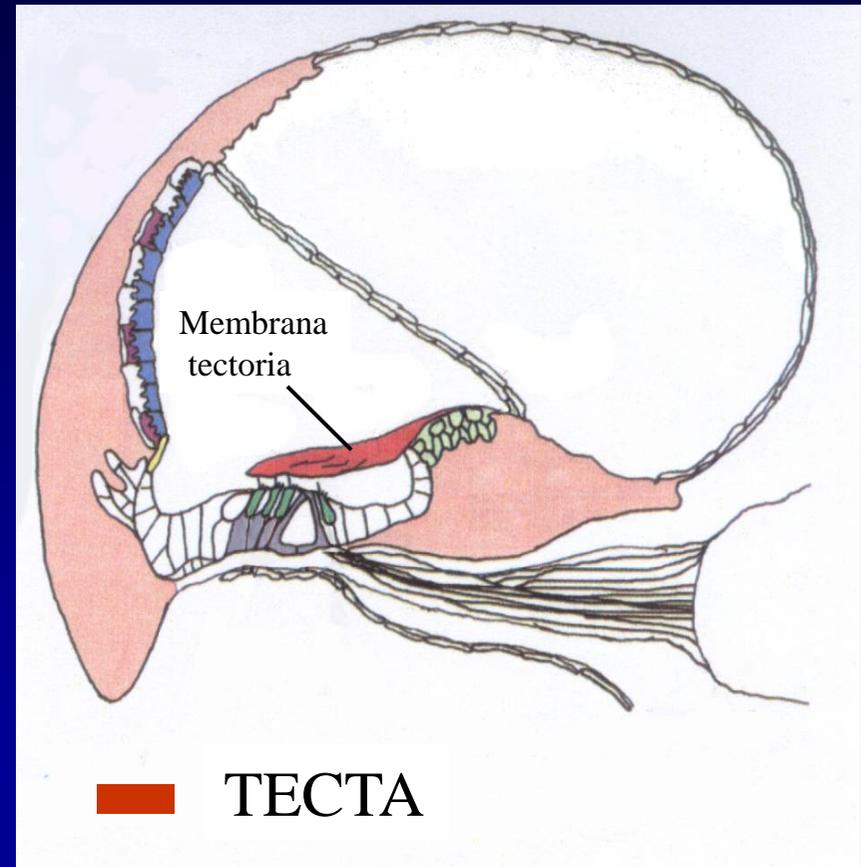
Hipoacusia de tipo DFNB9: 37 pacientes

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



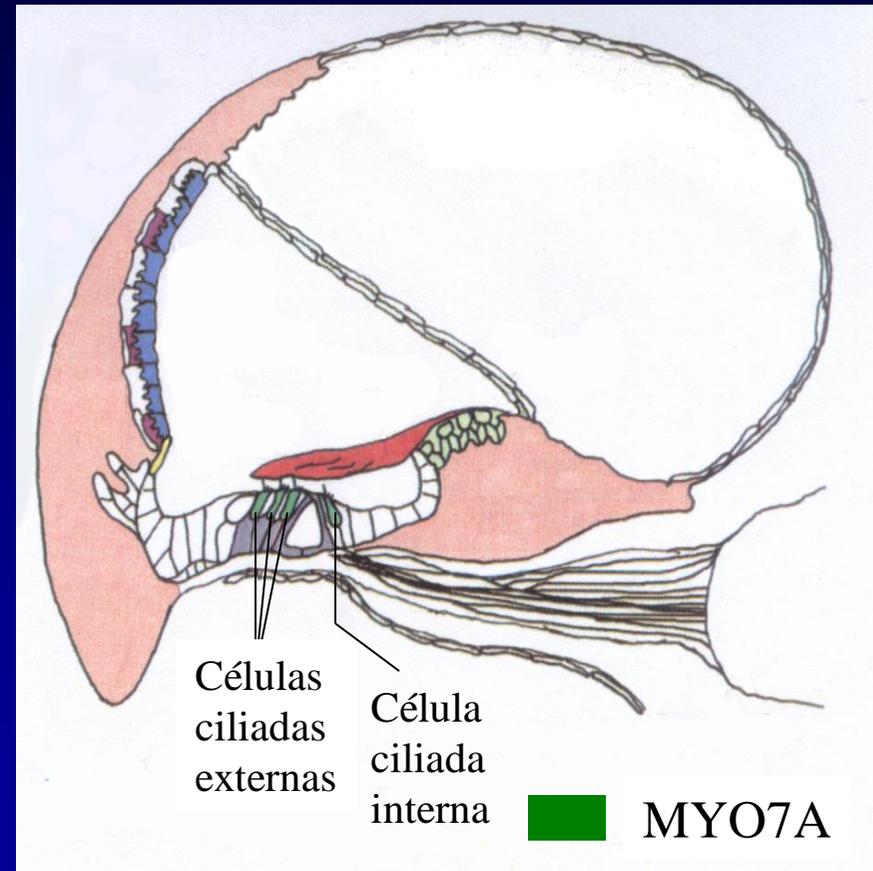
Gen TECTA: α -Tectorina

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



Genes MYO7A y MYO15: Miosinas VIIA y XV

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



Gen MYO7A: Miosina VIIA

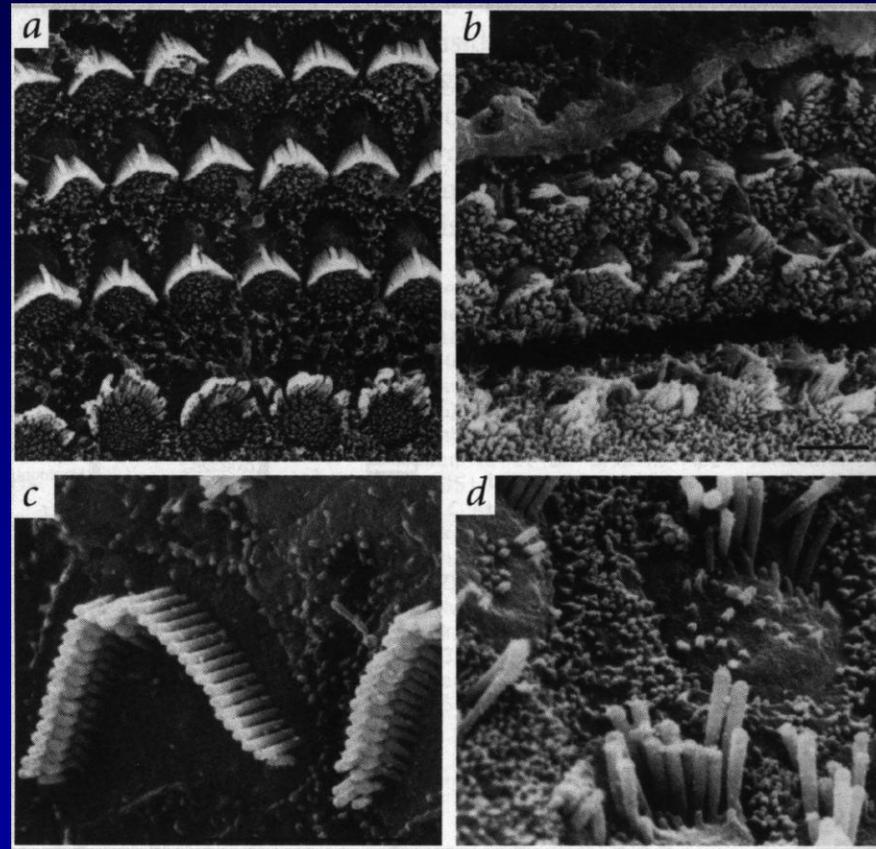
Normal

Mutante

Efecto de mutaciones
en el gen MYO7A:

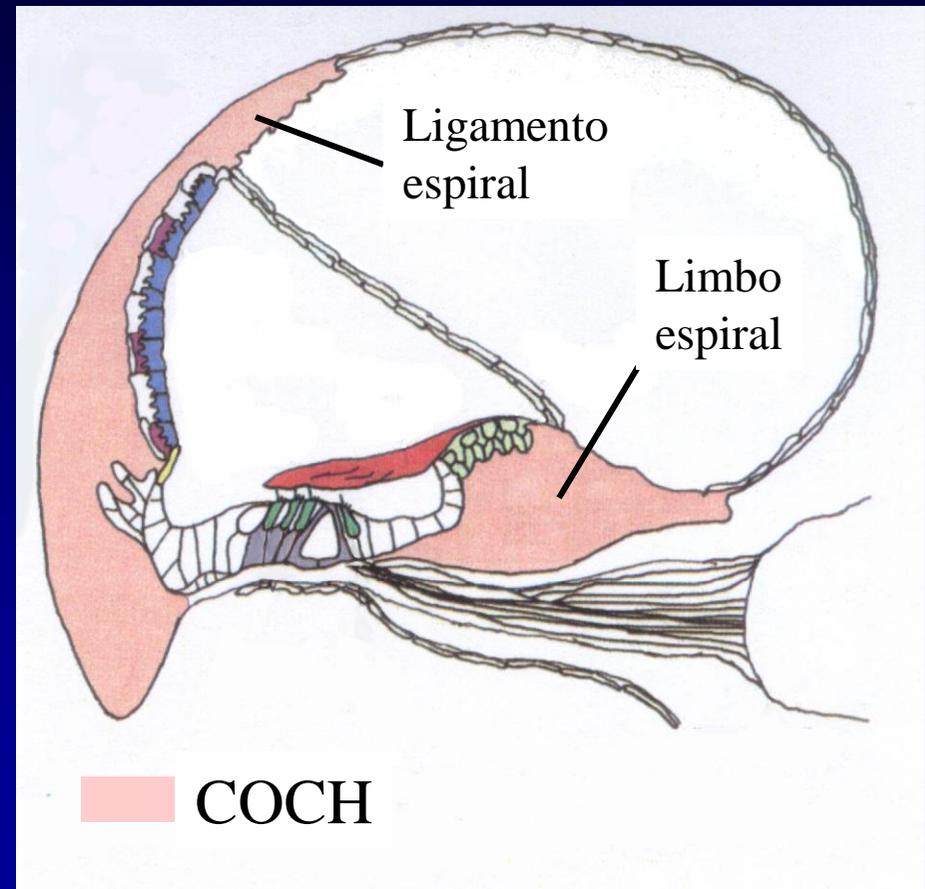
**Desorganización de
los estereocilios** de
las células sensoriales

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



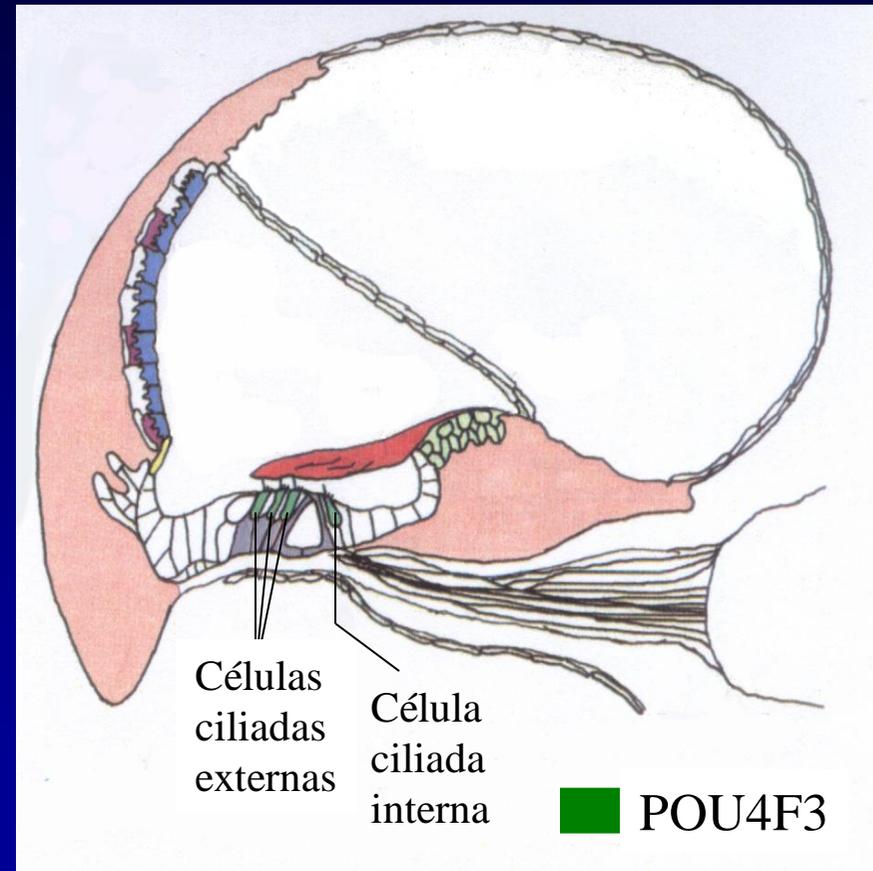
Gen COCH: Proteína COCH

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



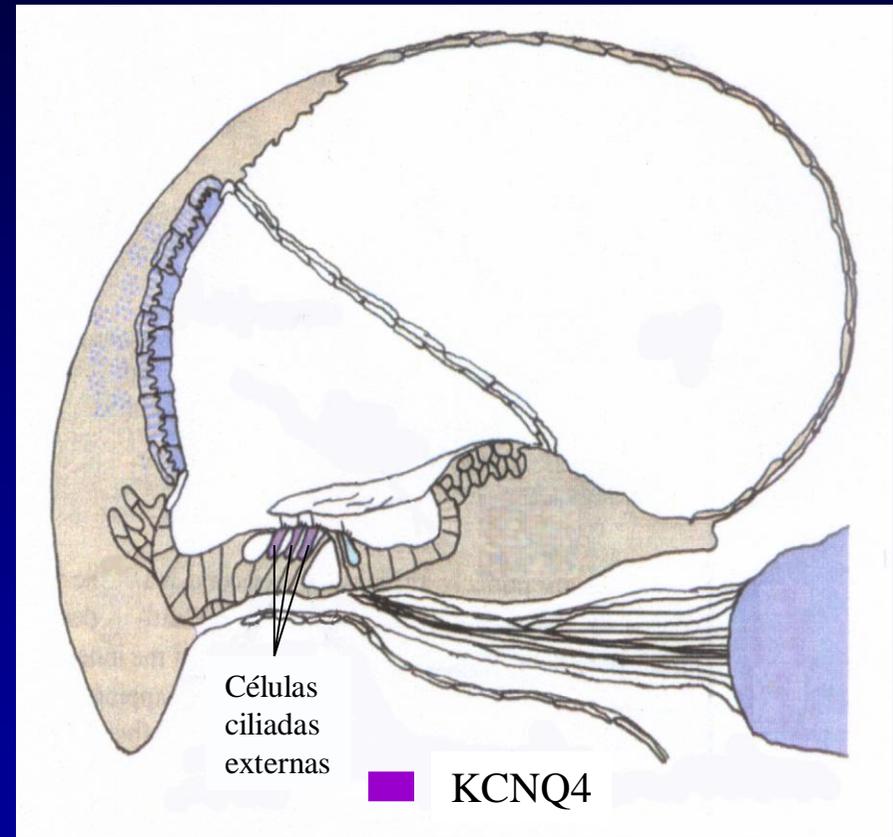
Genes POU3F4 y POU4F3: Factores de transcripción

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



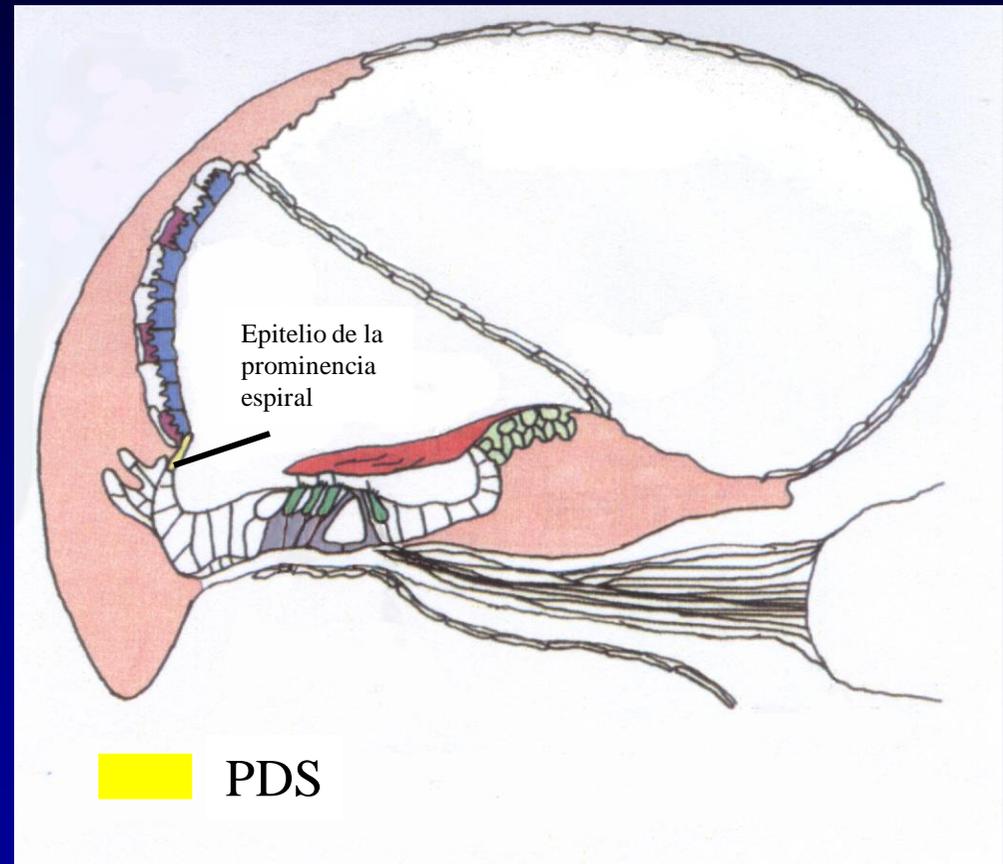
Gen KCNQ4: Canal de potasio KCNQ4

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

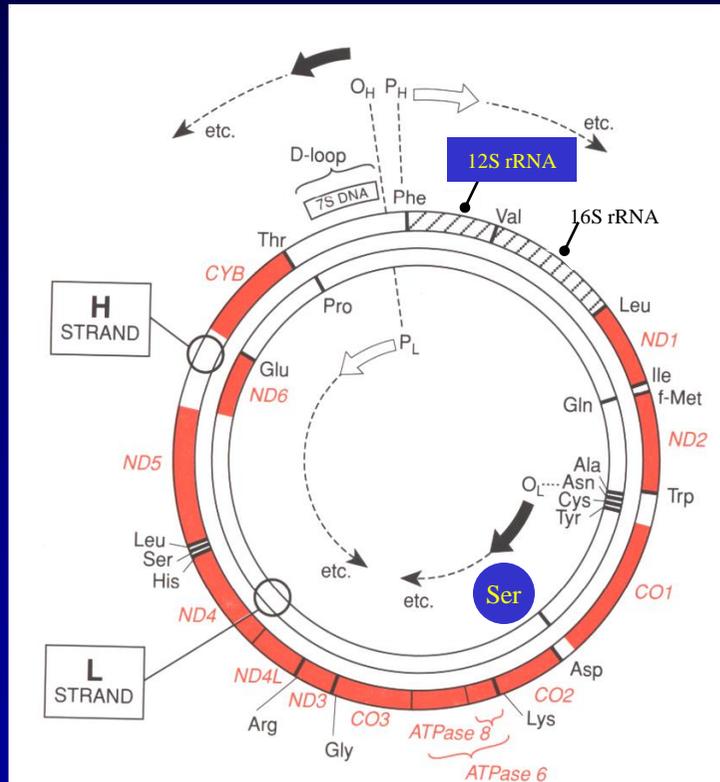


Gen PDS: Pendrina

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



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



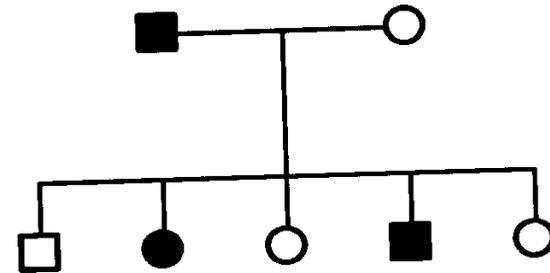
- En el gen del RNA ribosómico mitocondrial 12S:
 - Mutación **A1555G**
- En el gen del tRNA-Ser(UCN):
 - Mutación **T7510C**
 - Mutación **T7511C**

Asesoramiento genético: complicaciones

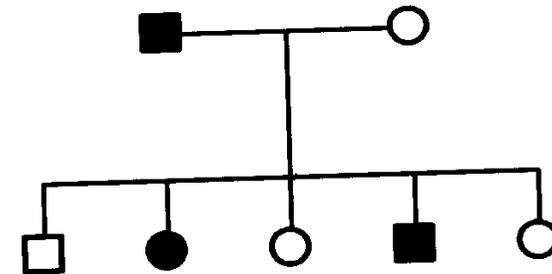
- -Heterogeneidad genética
 - ◆ Muchos genes implicados
 - ◆ Muchas mutaciones distintas en cada gen
 - ◆ El modo de herencia no puede establecerse sin ambigüedad, cuando el pedigrée no incluye un número suficiente de afectados y de normoyentes

Casos problemáticos

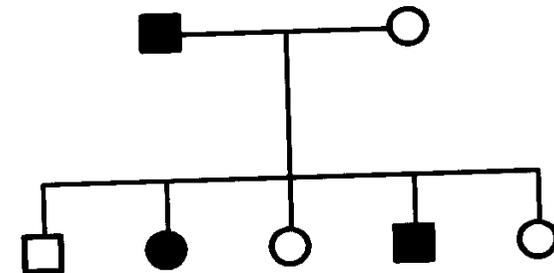
a) Autosómica dominante



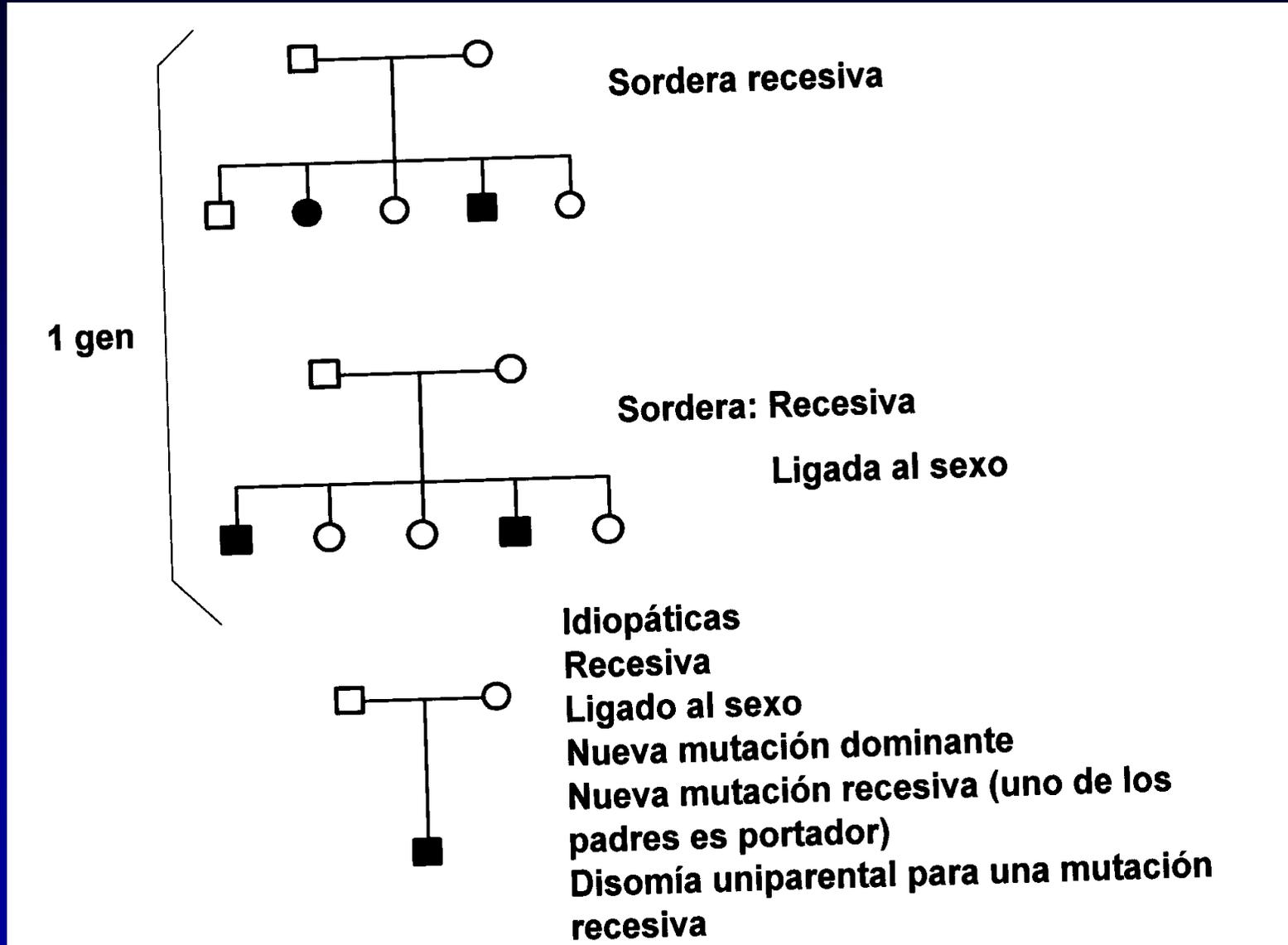
b) Autosómica recesiva
madre portadora de la mutación



c) Padre: sordera mitocondrial
Hijos: sordera recesiva



Casos problemáticos



Casos problemáticos

