



Identificación y caracterización de variantes génicas relacionadas con hipoacusia en Argentina

Katherina Walz, Ph.D.

Investigador Independiente, IQUIBICEN-CONICET, Argentina

Associate Professor, Hussman Institute of Human Genetics, University
of Miami, USA

La elucidación de la base genética de las enfermedades humanas es vital

- Proporciona información sobre los mecanismos moleculares relacionados a procesos fisiológicos
- Identifica vías metabólicas o regulatorias relevantes y posibles proteínas blanco para tratamiento.

Relevancia clínica

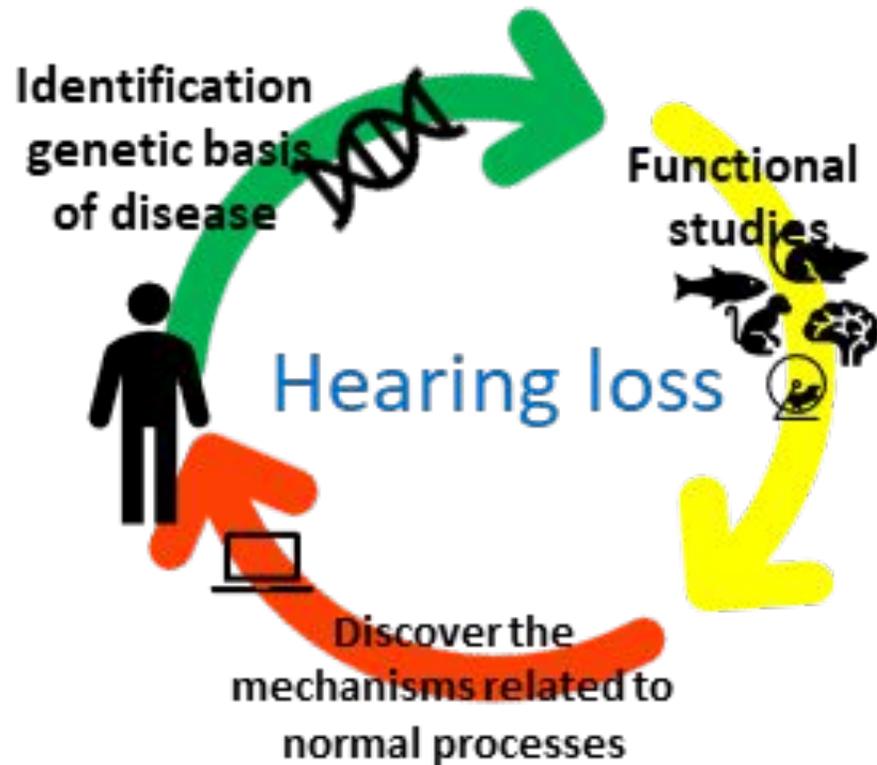
1. Diagnóstico genético
2. Asesoramiento genético
3. Riesgo de recurrencia
4. Prognosis
5. Potencial de nuevas terapias

Medicina de precisión

Hipoacusia

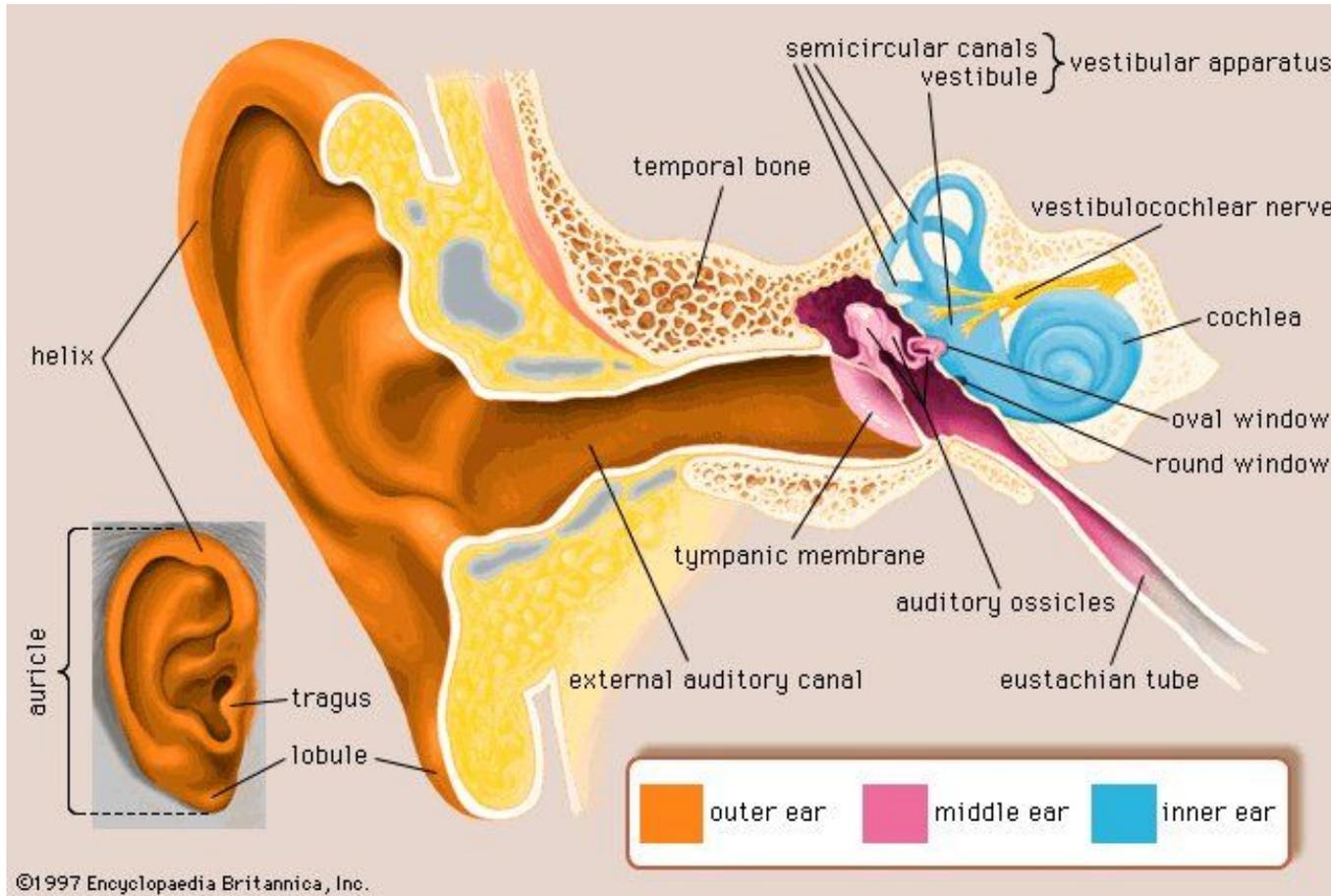
- La pérdida auditiva es la discapacidad sensorial más común y afecta a millones de personas en todo el mundo.
- Incidencia 1/1000 recién nacidos.
- Al menos la mitad de las sorderas congénitas se deben a factores genéticos, la gran mayoría de los cuales son monogénicos. Gran heterogeneidad génica.
- Aproximadamente el 70% de la sordera congénita se presenta sin otros síntomas (no sindrómica), el 30% restante presenta otros síntomas (sindrómica)

OBJETIVO GENERAL



Desarrollo y la aplicación de una **estrategia para el diagnóstico** molecular de variantes potencialmente responsables de hipoacusia profunda combinando tecnologías NGS, con técnicas de biología molecular para su verificación, y una **mejor comprensión de la etiología de esta enfermedad**

Desarrollo coclear



©1997 Encyclopaedia Britannica, Inc.

Los mecanismos moleculares que rigen el desarrollo coclear de los mamíferos siguen siendo en gran parte desconocidos.

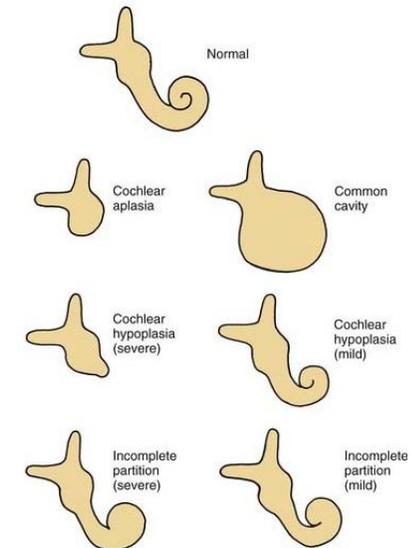
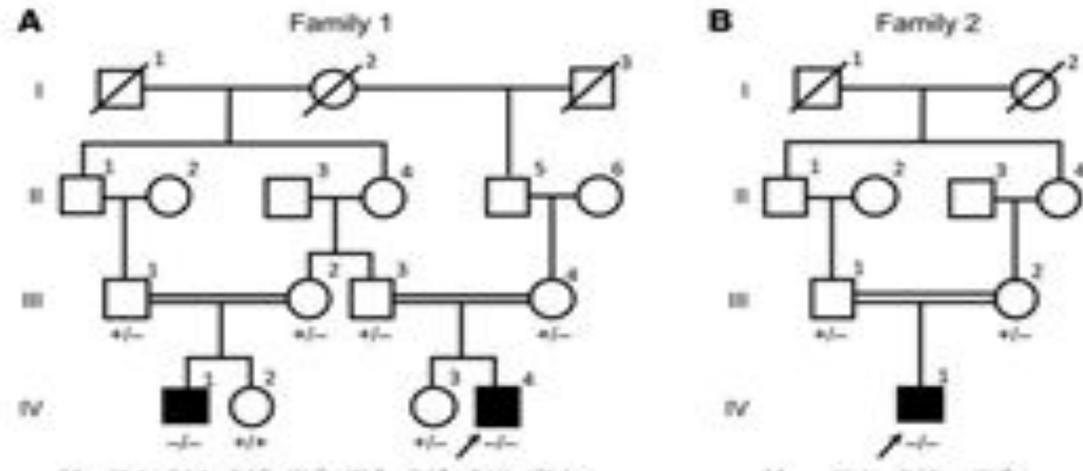


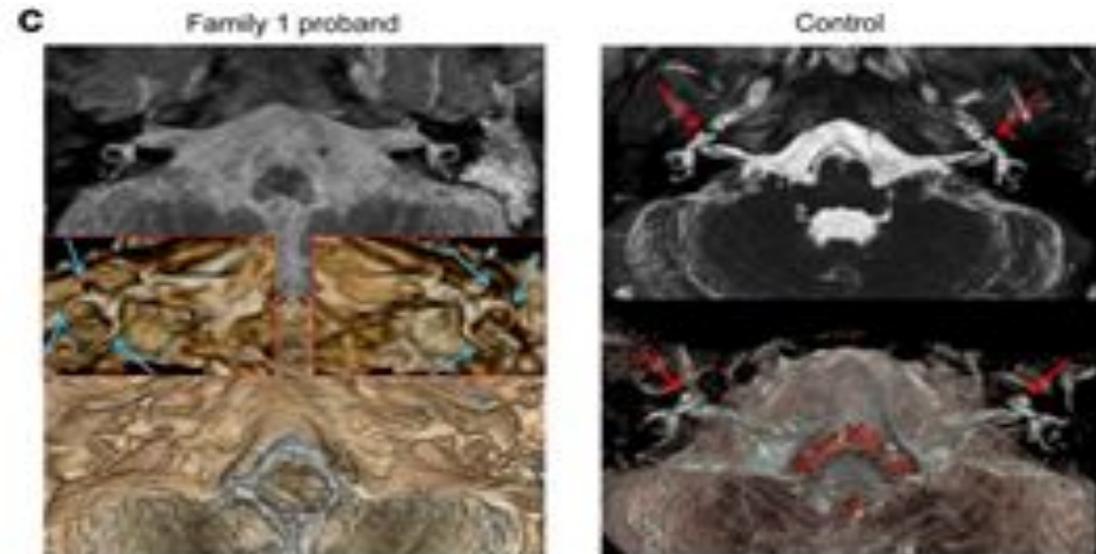
Figure 191-1. Cochlear malformations. Drawings were made from coronal computed tomography scans.

(From Jackier RK, Luford WM, House WF. Congenital malformations of the inner ear: a classification based on embryogenesis. *Laryngoscope*. 1987;97[Suppl 40]:2.)



•(A and B) Pedigrees of the studied families

•(C) Heavily T2-weighted MRI of temporal bone, axial maximum intensity projection, and volume-rendered images when the proband of family 1 was 9 years old, showing complete absence of the cochlea. Vestibule and semicircular canals (blue arrows) are of normal shape and caliper. Control: MRI of a normal 9-year-old male reveals normal cochleas (red arrows) and semicircular canals.

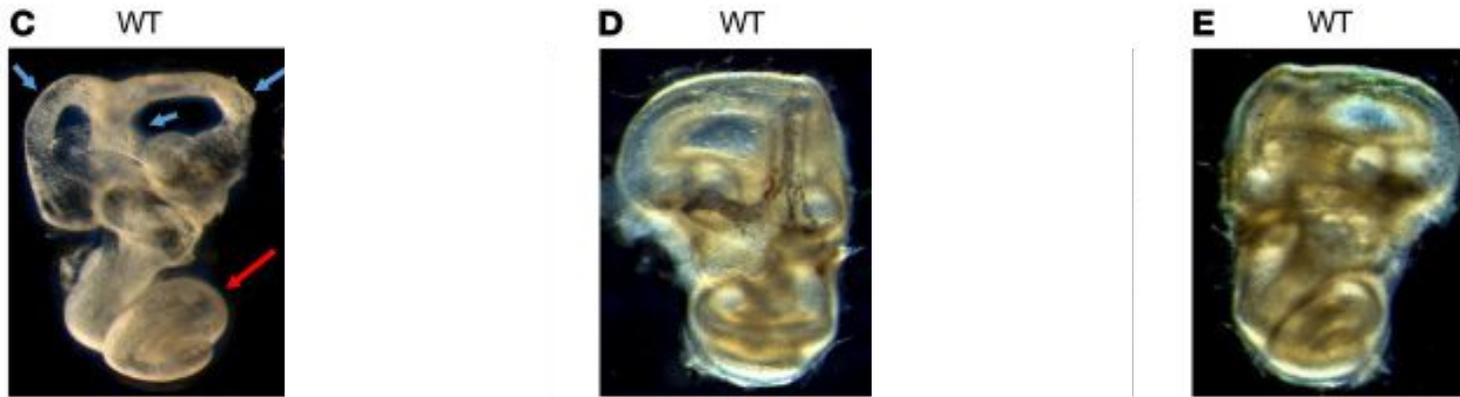


A través de la secuenciación del genoma en 3 sujetos de 2 familias con aplasia coclear no sindrómica, se identificaron deleciones homocigotas de 221 kb y 338 kb en una región no codificante en el cromosoma 8 con una sección superpuesta de aproximadamente 200 kb.

La ubicación genómica de la región eliminada superpuesta era un desierto de genes.

La ubicación genómica de la región eliminada superpuesta comenzó desde aproximadamente 350 kb aguas abajo de *GDF6*, que codifica para el factor 6 de crecimiento y diferenciación.

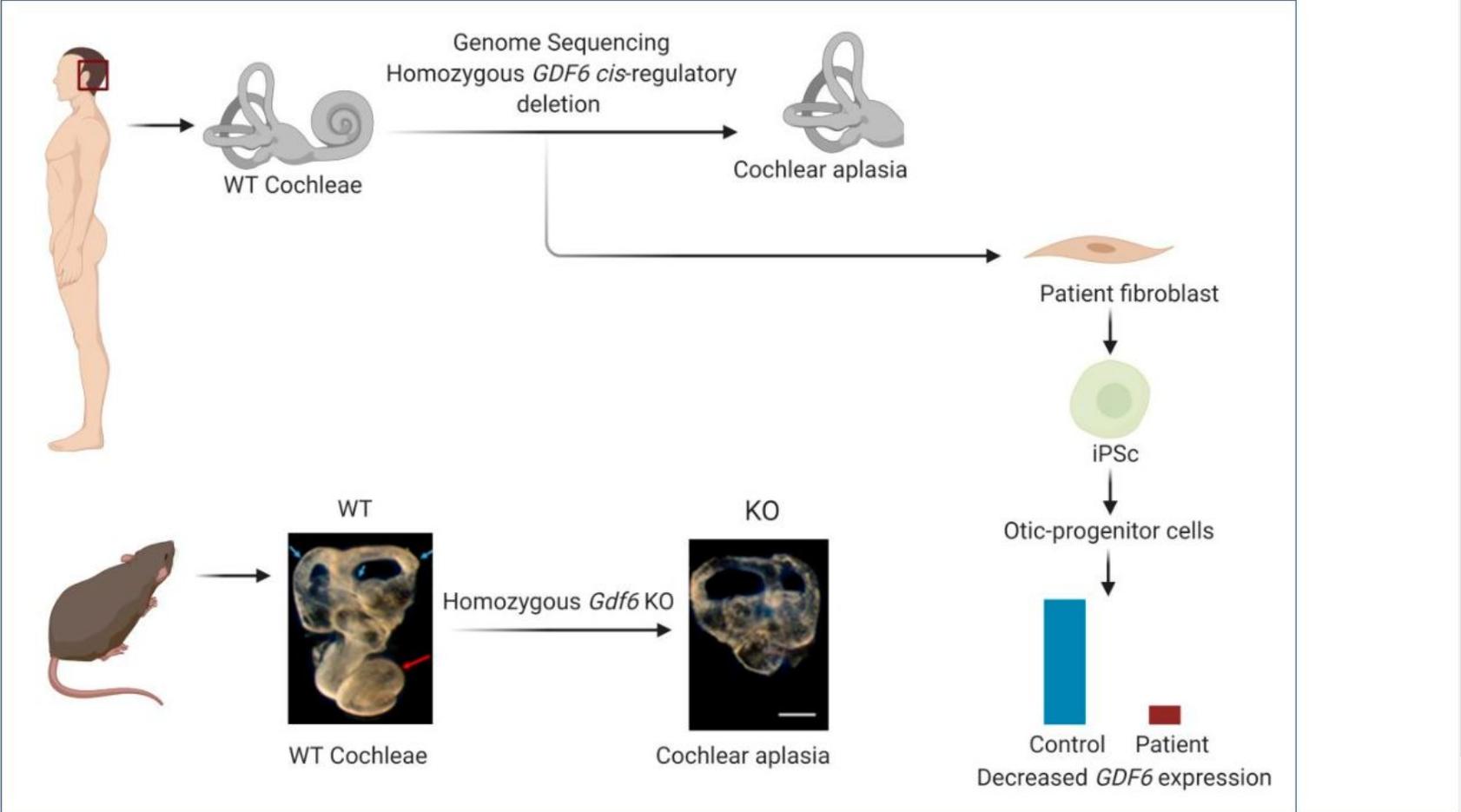
Cochlear aplasia in *Gdf6*^{-/-} mutants



Dissection and paint-filling of *Gdf6*-mutant mouse inner ears was performed to assess anomalies indicative of the human phenotype.

The mutant mice showed cochlear aplasia, while the vestibular anatomy is normal.

Options: Click-Drag image to reposition | View smaller image | Expand to full image width | Reset image



Bademci G, Abad C, Cengiz FB, *et al.* Long-range cis-regulatory elements controlling *GDF6* expression are essential for ear development. *J Clin Invest* ;130(8):4213-4217; 2020

Descubrimientos del laboratorio

1. Desarrollo coclear

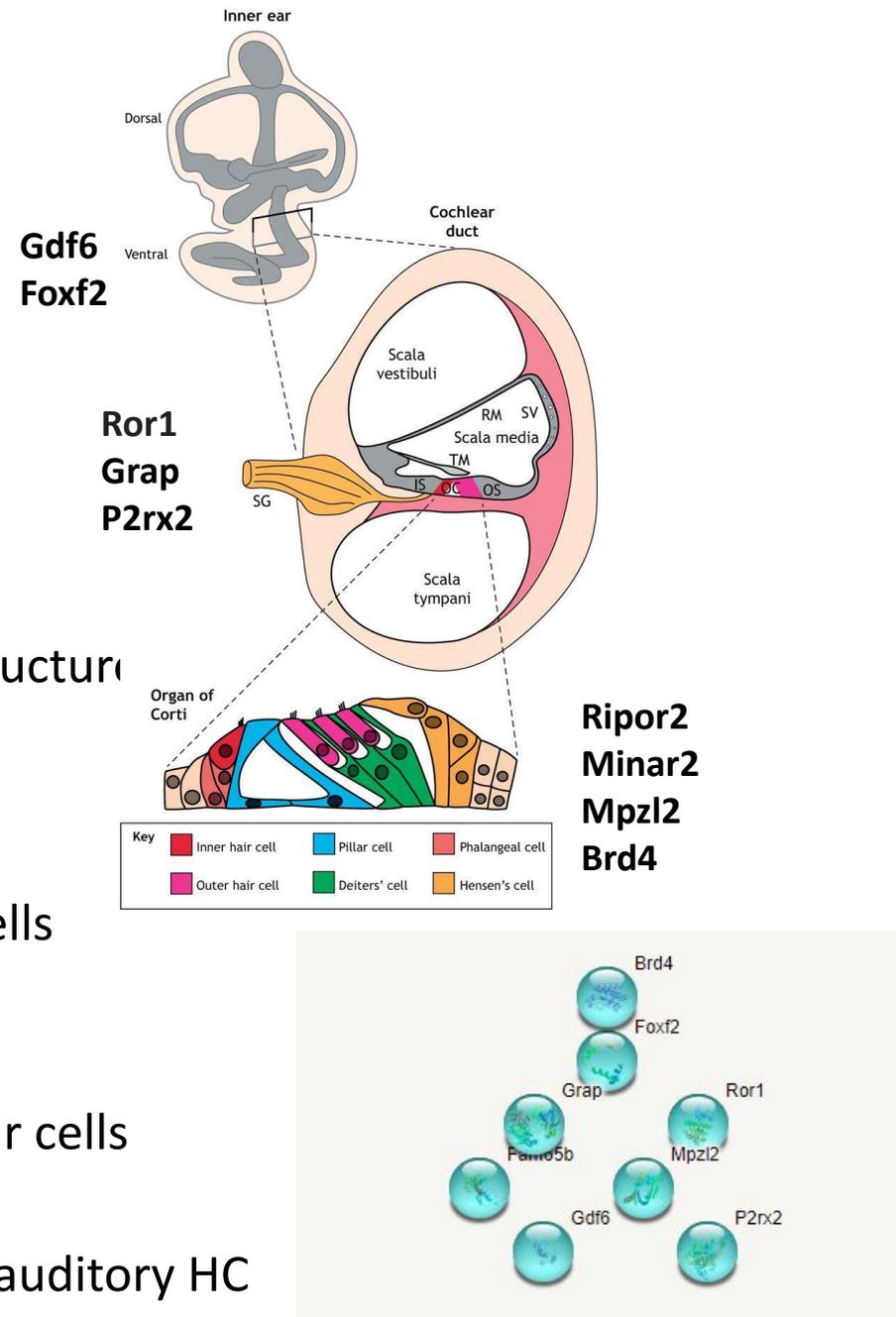
- Gdf6** essential for cochlear development
- Foxf2** major role in cochlear development.

2. Mantenimiento y función de las células ciliadas auditivas

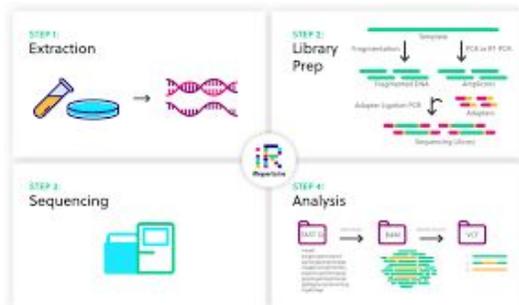
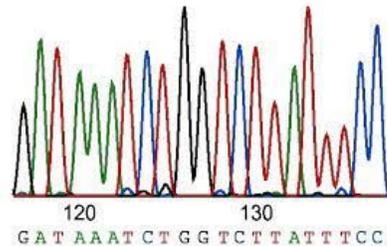
- Ripor2** involved in auditory HC stereociliary bundle structure orientation,
- Brd4** auditory hair cell survival.
- Minar2** role in hearing activation
- Mpzl2** localizes in the auditory inner and outer hair cells

3. Patrón y mantenimiento de la innervación

- Ror1** is essential for proper innervation of auditory hair cells
- P2rx2** related to synapsis and innervation patterning
- Grap** is present at the neuronal fibers innervating the auditory HC



Pasos relevantes para identificar variantes genéticas relacionadas con sordera en Argentina



1. Identificación clínica de pacientes (CI)

2. Extracción de ADN

3. Identificación de variantes génicas en genes comunes

4. Identificación variantes en genes poco frecuentes



1. Identificación clínica de pacientes

Criterios de inclusión:

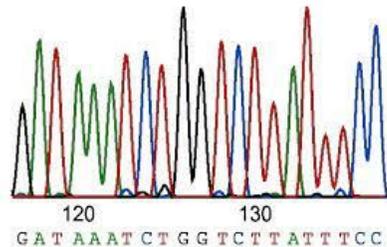
1. Sordera no sindrómica:

- sordera no sindrómica (es decir sin otros síntomas obvios).
- Ser derivado por un especialista.
- Tener hecho algún tipo de test que indique que es sordera senso-neurológica, ABR por ejemplo .
- Early onset: no mayor de 18 años (salvo que sea familiar).
- Si es familiar mejor pero no excluyente.

2. Sordera relacionada a malformaciones del oído interno.

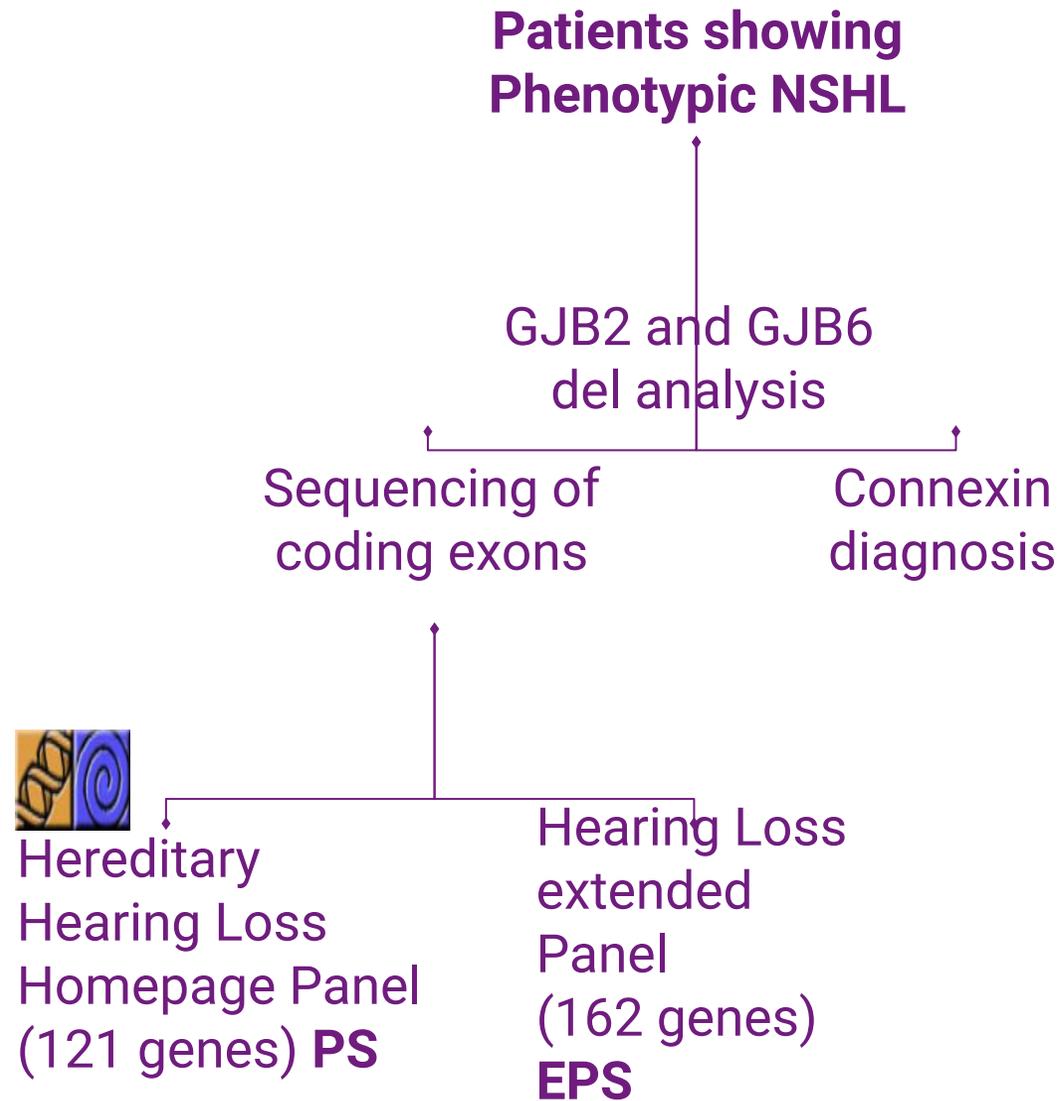
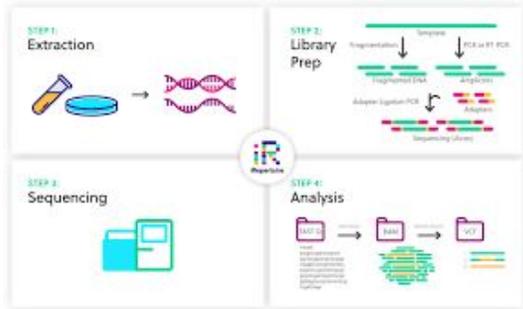


2 y 3. Extracción de ADN e identificación de variantes génicas en las conexinas



- Obtener muestras y extraer DNA
- Testeamos primero Connexin 26 variantes y deleciones en connexin 30, (DNFB1 es el mas prevalente)

4. Identificación variantes en genes poco frecuentes



Cohorte del HRG, Junio 2023, Argentina

- Los pacientes de este grupo (n=15) ~50% mujeres, 50% varones
- Recibieron un diagnóstico clínico de sordera profunda a una edad promedio de 4+/-1 años
- El tiempo promedio transcurrido entre el diagnóstico clínico y la colocación del primer implante fue de 5+/-1 años
- Para todos ellos esta es la primera vez que tienen acceso a un examen genético, siendo la edad promedio actual de este grupo 10.6+/-2 años

Muestra de ADN obtenida de 15 pacientes y sus padres (trios).

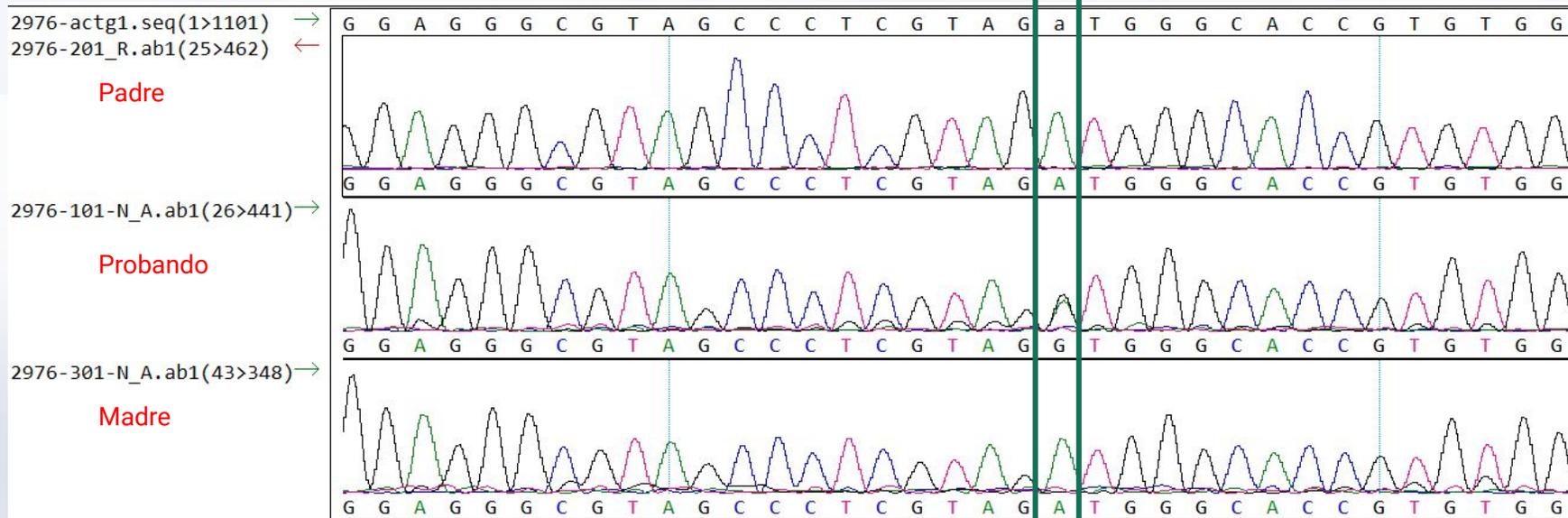
- Inicialmente se realizó un testeo por Sanger para determinar la presencia de mutaciones en GJB2 y/o deleciones en GJB6 (DFNB1 locus).
- Mutaciones causales de sordera se encontraron en tres de los pacientes: en uno de ellos una mutación en homocigosis de la variante GJB2(NM_004004.6):c.35del y en el otro una heterocigosis compuesta digénica; c.35del en GJB2 y del(GJB6-D13S1830) y el tercero GJB2:c.283G>A/GJB2:c.375G>T
- Dos pacientes son portadores de la variante GJB2:c.35del
- El porcentaje de alelos que presentan mutaciones en el locus DFNB1 es ~27% y **el porcentaje de casos** cuya sordera puede ser explicada **por este locus es 20%**.

Patient PS0002

A 10 year-old Male, pre-lingual non-syndromic sensorineural hearing loss (SNHL) severe to profound. He was diagnosed and received bilateral cochlear implants at 4 years old after the hearing loss was detected at 3 years old due to a lack of verbal communication.

Variant	GT	REVEL	Classification	OMIM
ACTG1:c.494T>C, p.Ile165Thr	HET	0.948	LP : PP3 PM5 PM2_S PP2	AD 102560

ACTG1 gene encodes Actin gamma 1, a cytoplasmic actin found in all cell types involved in various types of cell **motility and in maintenance of the cytoskeleton**. Has been reported in both autosomal dominant nonsyndromic hearing loss (ADNSHL) DFNA20/26 with or without vestibular involvement and autosomal dominant Baraitser-Winter syndrome (BWS).



PM5: chr17:79478523 T⇒C (Ile165Val) is classified Likely Pathogenic

PP2: 96 out of 99 non-VUS missense variants in gene ACTG1 are pathogenic = 97.0%

Resumen

- Total de casos con las conexinas analizadas: 15

Resueltos: 3/15 (20%)

- Total de casos analizados con NGS, exoma: 9

de casos con variantes encontradas para verificar segregacion: 3/9

Resueltos: 1/9

Total casos resueltos: 4/10 ~40%

Conclusiones

- Familias argentinas recibieron estudios y asesoramiento genéticos, mejorando con estos conocimientos su calidad de vida.
- Nuestros datos, aunque todavía escasos, confirman incidencias y mutaciones encontradas anteriormente en el DNFB1 locus por otros grupos en nuestro país.
- Mediante el análisis de exoma identificamos una nueva variante en el gen ATCG1 relacionada con hipoacusia, ampliando el espectro fenotípico relacionado a este gen.



Maria Bernardi, IQUIBICEN, FCEN
M. Agustina de Rosa, IQUIBICEN, FCEN
Memoona Ramzan, HIHG, UM
Mustafa Tekin, MD, HIHG, UM

Silvina Olha, MD y grupo Otorrino, HRG
Claudia Arberas, MD y grupo de Genetica, HRG
Gabriela Ropelato, Ph D y grupo de Endocrinologia, HRG
Marcelo Marti, PhD IQUIBICEN, FCEN
Betina Beider, MD Otorrino, H. Trauma

Pacientes y familias

Contacto: kwalz@med.miami.edu
proyectosordera@gmail.com

