

# Espectro de mutaciones en el gen de la Otoferlina (OTOF) en pacientes argentinos con hipoacusia no sindrómica y neuropatía auditiva

## *Spectrum Of Mutations In The Otoferlin Gene (OTOF) In Subjects With Nonsyndromic Hearing Impairment And Auditory Neuropathy*

M. Barteik<sup>1,3</sup>; R. Reynoso<sup>1</sup>; M. Martín<sup>1</sup>; C. Curet<sup>2</sup>; J. Moreno Barral<sup>1</sup>

### Abstract

Autosomal recessive nonsyndromic deafness is genetically very heterogeneous with 53 mapped loci and 29 identified genes. One of these genes, OTOF, locus DFNB9, codifies otoferlin, the intracytosolic-calcium binding protein which, anchored in the plasmatic membrane, participates in the exocytosis of synaptic vesicles in the internal ciliated cells of the cochlea. We enrolled a cohort of 30 unrelated Argentinean subjects specifically selected because of having autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment (NSHI), of varying degree, for the p.Gln829X mutation, the most prevailing in the Spanish populations. These patients make up the cohort of a multicenter study carried out by Spain, Colombia and Argentina. Only four (4) out of thirty (30) Argentinean patients present mutations in the OTOF gene. Three (3) of them are composed heterozygous: two (2) composed heterozygous for p.Gln829X/c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA mutations and one composed heterozygous for c.4227+1G>T/ c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA mutations. One (1) patient of the same cohort resulted homozygous for c.4227+1G>T/ c.4227+1G>T mutation. These last two, c.4227+1G>T/ c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA, resulted in new pathogenic mutations, not currently reported in literature. The c.4227+1G>T mutation is a change of G for T in the exon-intron border (G>T) in the intron 35 of the OTOF gene; while

the c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA mutation is the result of deletion of 19 pb and insertiom of 11 pb in the exon 25. The finding of the new mutation c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA biallelic with p.Gln829X, in non-family patients, suggests a founder effect of that allele in our population. These results confirm that mutations in the OTOF gene correlate with prelingual and deep nonsyndromic sensorineural deafness and that they are the main cause of hereditary auditory neuropathy. Therefore, genetic diagnosis of these subjects should be directed to the OTOF gene.

**Key Words:** Hearing Impairment, DFNB9, OTOF, Otoferlin, Auditory Neuropathy.

### Resumen

La hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva es una condición heterogénea para la cual han sido reportados hasta la fecha 53 loci genéticos y 29 genes. Uno de estos genes, OTOF, locus DFNB9 (Deafness del inglés: sordera, B: herencia recesiva y locus No: 9), codifica para otoferlina, proteína de unión a calcio intracitosólico, que anclada en la membrana plasmática, participa en la exocitosis de las vesículas sinápticas en las células ciliadas internas de la cóclea. Se estudiaron treinta pacientes argentinos no relacionados entre sí, con hipoacusia neurosensorial no sindrómica autosómica recesiva (HNNSAR) de grado variable, para la mutación p.Gln829X, muy frecuente en la población española. Estos pacientes integran la cohorte de un estudio multicéntrico realizado por España, Colombia y Argentina. Sólo cuatro, de los treinta pacientes argentinos, presentaron mutaciones en el gen OTOF. Tres de ellos son heterocigotas compuestas: dos heterocigotas compuestas para las mutaciones p.Gln829X/c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA y uno heterocigota compuesto para las mutaciones

<sup>1</sup> CEPIDEM (Centro Piloto de Detección de Errores Metabólicos - Pilot Center for the Detection of Metabolic Errors). Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

<sup>2</sup> COAT (Centro Otorrinolaringológico de Alta Tecnología - High Tech Center of Otorhinolaryngology). Córdoba.

<sup>3</sup> barteik3@yahoo.com

c.4227+1G>T/ c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA. Un paciente de la misma cohorte resultó homocigota para la mutación c.4227+1G>T/ c.4227+1G>T. Estas dos últimas (c.4227+1G>T/ c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA), resultaron nuevas mutaciones patogénicas, no reportadas hasta hoy, en la literatura. La mutación c.4227+1G>T resulta de un cambio en el sitio de corte y empalme de unión del exón/intrón 35; mientras que la mutación c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA es una inserción-delección en el exón 25. El análisis de haplotipos para marcadores relacionados al gen OTOF sugiere un efecto fundador para la novel mutación c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA. Estos resultados confirman que las mutaciones en el gen OTOF, correlacionan con sordera neurosensorial no sindrómica, prelingual y profunda, y sugieren además que estas mutaciones son la mayor causa de neuropatía auditiva hereditaria, por lo que el diagnóstico genético en estos individuos debe ser dirigido al gen OTOF.

**Palabras Claves:** Hipoacusia; DFNB9; OTOF; Otoferlina; Neuropatía Auditiva.

## Introducción

La hipoacusia es un grupo altamente heterogéneo de desórdenes causados por factores genéticos y ambientales, con una incidencia global de alrededor de 1 cada 650-1000 nacidos vivos (14). Cuando la hipoacusia se manifiesta antes de la adquisición del lenguaje (prelingual), representa un serio obstáculo para la comunicación e integración social del individuo. En los países desarrollados más del 60% de los casos de hipoacusia son de causa genética (14). La sordera no sindrómica presenta como hecho común el no estar asociada a otro signo clínico (representa el 70% de todas las hipoacusias). En ella se observan distintos patrones de herencia aunque la más común es la herencia autosómica recesiva.

En la actualidad se conoce que 53 loci genéticos y 29 genes están involucrados en las Hipoacusias Neurosensoriales No Sindrómicas Autosómicas Recesivas (HNNSAR) (Hereditary Hearing Loss homepage, <http://webh01.ua.ac.be/hhh>).

Esta heterogeneidad genética determina diferencias en la presentación de las HNNSAR entre distintas poblaciones y complica el diagnóstico molecular (10, 14).

El gen OTOF, que codifica otoferlina, es uno de los 29 genes involucrados en las HNNSAR, está localizado en el locus DFNB9 (2p22-p23) (17). El gen contiene 49 exones (1 a 48 y 5'UTRsf1- del inglés: región 5' no traducida) y codifica para múltiples isoformas cortas y largas de la proteína, por splicing

(del inglés: corte y empalme) alternativo combinado que utiliza varios sitios de iniciación de la transcripción (13, 18).

Los 19 primeros exones son exclusivos de las isoformas largas. Otoferlina pertenece a una familia de proteínas citosólicas que contiene secuencias repetidas de un módulo estructural de enlace a calcio (dominio C2) (17) involucradas en la fusión de vesículas de membrana (17, 18). Las formas largas tienen seis dominios mientras que las formas cortas sólo tienen tres dominios C2.

La proteína otoferlina se expresa en la cóclea, vestíbulo y cerebro, y parece jugar un rol muy importante en el mecanismo de exocitosis de las vesículas sinápticas, en las sinapsis de las células ciliadas del oído interno (17, 18).

En la actualidad, 24 formas diferentes de alelos mutantes patogénicos del gen OTOF se han reportado en sujetos con HNNSAR (1, 12, 15, 16, 17, 18). La mayoría de estas mutaciones son únicas, cada una de las cuales se ha reportado en sólo una familia. Una excepción la constituye la mutación c.2485C>T (p.Gln829X), encontrada en cerca del 3% de los casos de la HNNSAR de la población española (13, 17, 18).

Los estudios clínicos en los cuatro pacientes estudiados, con ambos alelos mutantes del gen OTOF, muestran un genotipo homogéneo de sordera neurosensorial no sindrómica, profunda y prelingual. Presentan, además, signos de neuropatía auditiva: preservación de otoemisiones acústicas (OEOAs) y disminución o ausencia de respuestas auditivas de tronco cerebral (ABR) (16, 17).

En este estudio presentamos el espectro de mutaciones en el gen OTOF obtenido en nuestros pacientes, tanto como las correlaciones genotipo-fenotipo para este tipo de sordera neurosensorial no sindrómica.

## Material y métodos

### Sujetos

Se seleccionaron 30 pacientes (10 casos familiares y 20 casos esporádicos) con sordera neurosensorial bilateral de grado variable, en los cuales el modo de herencia era compatible con un patrón autosómico recesivo. Cuatro pacientes, menores de quince años, presentaban, junto a HNNSAR, diagnóstico de neuropatía auditiva.

Los pacientes fueron informados acerca del estudio y firmaron su consentimiento. De acuerdo a la historia clínica y a los hallazgos de los exámenes clínicos, ninguno de ellos tenía asociados otros signos clínicos acompañantes. Los pacientes cuya hipoacu-

sia podría tener una causa ambiental no fueron incluidos en el estudio. Se puso especial atención en excluir las causas ambientales de la neuropatía auditiva, tales como hiperbilirrubinemia severa neonatal, hipoxia neonatal y prematuridad con bajo peso al nacer (4).

### Test clínicos

La hipoacusia se evaluó al menos por una de estas técnicas, dependiendo de la conveniencia y la disponibilidad: i) audiometría de tono puro, para conducción aérea (frecuencias de 250 a 8.000 Hz) y para conducción ósea (frecuencias de 250 a 4000 Hz), ii) respuestas auditivas de tronco cerebral (ABR); iii) otoemisiones acústicas transitorias (OEATs). El grado de hipoacusia se clasificó como: media (en el rango de 21-40 dB), moderada (41-70 dB), severa (71-90 dB) o profunda (>90 dB). La neuropatía auditiva fue diagnosticada en base a la ausencia de ABRs y preservación de OEATs (4).

### Técnicas genéticas

El ADN se extrajo de sangre periférica por procedimientos estándares (2, 6). Los tests genéticos para mutaciones en gen de la conexina 26 y para las grandes deleciones que afectan a la conexina 30 en el locus DFNB1, se realizaron de acuerdo a lo publicado por Álvarez y cols., 2005 (2); del Castillo y cols., 2005 (6). El test genético para la detección de p.Gln829X fue realizado mediante amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) seguido de corte con enzima de restricción, según técnica clásica (12). Los primers y las condiciones de la amplificación (PCR) y el secuenciamiento de cada exón del gen OTOF se llevó a cabo en las familias heterocigotas (p.Gln829X/otra) o con diagnóstico de neuropatía auditiva (12).

La mutación c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA se caracterizó por amplificación por PCR del exón 25 y por clonado en forma separada de los productos correspondientes a los dos alelos en el vector plasmídico pUC19. De esta manera, la secuencia de ADN de cada uno de los alelos clonados pudo ser determinada sin ambigüedad. El genotipado de los microsatélites marcadores D2S158, D2S2223, D2S2350 y D2S174, se realizó según lo descrito por Dib y cols. en 1996, y Migliosi y cols. en 2002 (8, 12).

**Tabla 2. Pacientes con HNNSAR portadores de dos alelos mutantes en el gen OTOF.**

Paciente	Tipo	Edad(años)	Genotipo	Manifestación	Severidad	OEATs
AEF005	Esporádica	13	[p.Gln829X] + [c.2905_2923delinsCTCCGAGCGCA]	Prelingual	Profunda	Ausente
AEF027	Esporádica	12	[p.Gln829X] + [c.2905_2923delinsCTCCGAGCGCA]	Prelingual	Profunda	No Test
NAEF012	Familiar	2	[c.4227+1G>T] + [c.4227+1G>T]	Prelingual	Profunda	Presente
NAEF022	Esporádica	4	[c.4227+1G>T] + [c.2905_2923delinsCTCCGAGCGCA]	Prelingual	Profunda	Presente

## Resultados

Se escrutaron 30 pacientes argentinos con HNNSAR de grado variable (cuatro de ellos con diagnóstico de neuropatía auditiva) para la mutación p.Gln829X (c.2485C>T) del gen OTOF (Tabla 1). Se encontraron dos pacientes heterocigotas para p.Gln829X, identificándose en ambos casos el segundo alelo mutante, por secuenciamiento de ADN. Ninguno de los sujetos con los dos alelos mutados tenía alguna mutación patogénica en el locus DFNB1 (conexinas 26 y 30).

**Tabla 1. Composición de la cohorte de pacientes con HNNSAR incluidos en este estudio.**

Número de la Cohorte	Edad de la hipoacusia	Grado de severidad de la hipoacusia			
		Media	Moderada	Severa	Profunda
30	100% Prelingual	0%	15 %	8%	77%

Se investigaron, también, los casos de los otros dos pacientes con diagnóstico de neuropatía auditiva por secuenciamiento de la región codificante de todo el gen OTOF, encontrándose en ambos dos alelos mutantes diferentes de los anteriores (Tabla 2).

Estas nuevas variantes incluyeron una mutación con cambio del marco de lectura, que resultaba en un codon stop prematuro: c.2905-2923delinsCTCCGAGCGCA (ver en página siguiente Figura 2). También se caracterizó otra nueva mutación patogénica c.4227+1G>T, en el sitio de corte y empalme de unión del exón/intrón 35, que resulta en corrimiento del marco de lectura con las consecuencias predecibles para el ARN maduro y la proteína codificante (Tabla 3).

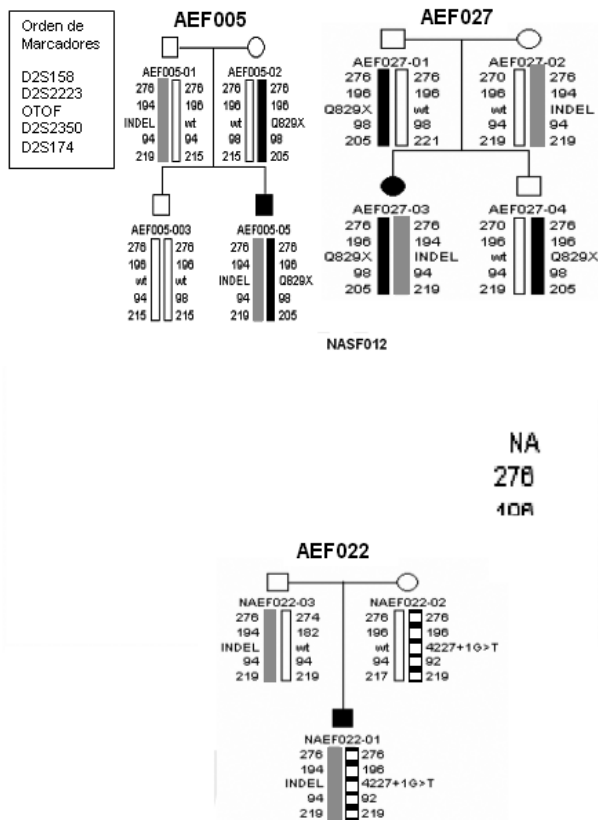
**Tabla 3. Caracterización de las secuencias patogénicas reportadas en este trabajo en el gen OTOF. Mutaciones que afectan a ambas isoformas largas y cortas de la proteína otoferlina.**

Localización	A nivel del ADN	A nivel de proteína	Referencias
Exón 22	c.2485C>T	p.Gln829x	Migliosi y col., 2002 Rodríguez-Ballesteros y col., 2003 Rouillon y col., 2006 Varga y col., 2006 Este trabajo
Exón 25	c.2905_2923delinsCTCCGAGCGCA	p.Ala969_Ala975>LeuArgAlaHisfX27	Este trabajo
Intrón 3	c.4227+1G>T		Este trabajo

Las mutaciones encontradas en estas familias no fueron reportadas en otros estudios del gen OTOF.

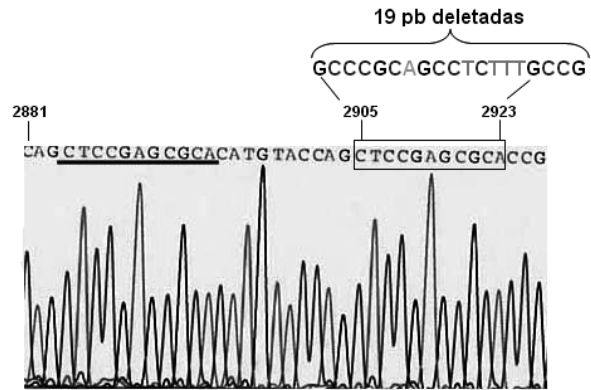
Las mutaciones c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA y la c.4227+1G>T se encontraron en forma repetida en estas familias. Para investigar su origen evolutivo, se genotiparon los ADN de las familias portadoras de estas mutaciones para cuatro marcadores microsatélites intragénicos (D2S2350) o muy próximos (D2S158, D2S2223 y D2S174) para el gen OTOF (8), y se realizó el análisis de haplotipo (Figura 1). Un solo haplotipo (276-194-94-219) está asociado con c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA en las familias analizadas portadoras de esta mutación (Figura 2).

Figura 1. Análisis de los haplotipos de familias que segregan para las mutaciones encontradas en este trabajo: el código de cada familia se muestra arriba del árbol familiar. Los números en los alelos indican el tamaño del alelo (Dib y cols. 1996). Los haplotipos se indican en las barras verticales. El haplotipo asociado con cada mutación se indica con un color diferente. En grisado: c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA; en línea entrecortada: c.4227+1G>T. Alelo normal: wt.



En un estudio previo realizado por Migliosi y cols. en 2002 (12), se reportó que la mutación p.Gln829X tenía efecto fundador en la población española. Nosotros, en este trabajo, encontramos esta mutación en dos familias argentinas. El análisis por haplotipos reveló que el haplotipo asociado con p.Gln829X en estas familias (276-196-98-205) es el mismo que aparecía en la población española, por

Figura 2. Mutación c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA en el gen OTOF. Secuencia de ADN entre los nucleótidos 2881-2926 en la cadena codificante del exón 25 mutado. Los 19 pb deletados se muestran encima del gráfico. Los 11 pb insertados se muestran en el recuadro y un rango de 11 pb idénticos localizados corriente arriba, están subrayados.



lo que podemos asumir la hipótesis de un origen común en ambas poblaciones.

### Discusión

La mayoría de los estudios genéticos de hipoacusia no sindrómica, suponen la existencia de diferencias en el espectro de mutaciones que causan sordera, como así también la de aquellas prevalentes en diferentes poblaciones, aun de regiones cercanas geográficamente. Las mutaciones en el gen OTOF son responsables de un fenotipo muy homogéneo de sordera neurosensorial no sindrómica, prelingual y profunda, sin malformaciones asociadas al oído interno. Además, los pacientes afectados de sordera del tipo DFNB9 presentan neuropatía auditiva, siendo esto un signo clínico distintivo en estos sujetos. Esta neuropatía puede ser causada por factores ambientales, tales como hiperbilirrubinemia severa o hipoxia neonatal, y por factores genéticos. Pueden ser parte de signos de una enfermedad neurodegenerativa sistémica (neuropatía periférica de Charcot-Marie-Tooth, ataxia de Friedreich, desórdenes mitocondriales), o constituir una entidad clínica aislada (neuropatía auditiva no sindrómica) (3, 4, 9).

En las neuropatías auditivas la preservación de las OEATs (13), indica una función normal de las células ciliadas externas del órgano de Corti. En los pacientes con esta patología, las otoemisiones acústicas pueden estar preservadas en los primeros años de vida y luego desaparecer con el transcurso del tiempo (esto debe tenerse en cuenta en los programas de screening auditivo universal, ya que los sujetos con mutaciones en el gen OTOF y OEATs preservadas, nunca serían considerados de riesgo y

pasarían el screening neonatal como falsos negativos). La lesión primaria podría estar localizada en las células ciliadas internas, en el nervio auditivo, o en las sinapsis nerviosas (4).

En adultos, la expresión de la otoferlina en el oído interno está restringida a las células ciliadas internas (1, 4). De acuerdo con esto, y los buenos resultados obtenidos en los implantes cocleares a sujetos portadores de dos alelos mutantes para OTOF, se ha sugerido que la lesión primaria en este tipo de neuropatía no sindrómica podría ser coclear, específicamente localizada en las células ciliadas internas (4, 5).

Datos recientes sugieren que la otoferlina se requiere para la exocitosis de las vesículas sinápticas generadas en las células ciliadas internas, a nivel de las sinapsis (10). Las mutaciones en el gen OTOF que presentan los pacientes con hipoacusia neurosensorial no sindrómica y neuropatía auditiva, deberán ser analizadas desde el punto de vista funcional a fin de contribuir al entendimiento del rol específico de la otoferlina en los procesos fisiológicos.

La mutación c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA, encontrada en 3 pacientes argentinos no relacionados, muestra el mismo haplotipo asociado a la mutación en todos los casos, sugiriendo un origen común. La presencia de esta mutación no ha sido reportada en la literatura mundial ni se ha encontrado en sujetos españoles con hipoacusia no sindrómica. Esto último nos sugeriría que el origen de la mutación no radica en España (12).

## Conclusión

Nuestros resultados amplían el espectro de mutaciones conocidas en el gen OTOF, localizándose además de, en el exón 22 (p.Gln829X) ya conocida, en el 25 (c.2905\_2923delinsCTCCGAGCGCA-este trabajo) y en el intrón 35 (c.4227+1G>T-este trabajo). La información dada por el conocimiento de estas mutaciones debería ayudar a planificar estrategias de diagnóstico efectivas.

## Bibliografía

- 1- Adato A, Raskin L, Petit C, Bonne-Tamir B. 2000. 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* 8:437-442.
- 2- Álvarez A, del Castillo I, Villamar M, Aguirre LA, González-Neira A, López-Nevot A, Moreno-Pelayo MA, Moreno F. 2005. High prevalence of the W24X mutation in the gene encoding connexin-26 (GJB2) in Spanish Romani (gypsies) with autosomal recessive non-syndromic hearing loss. *Am J Med Genet* 137A:255-258.
- 3- Collin RWJ, Kalay E, Oostrik J, Çaylan R, Wollnik B, Arslan S, den Hollander AI, Birinci Y, Lichtner P, Strom TM, Toraman B, Hoefsloot LH, Cremers CWRJ, Brunner HG, Cremers FPM, Karaguzel A, Kremer H. 2007. Involvement of DFNB59 mutations in autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment. *Hum Mutat* 28:718-723.
- 4- Cone-Wesson B, Rance G. 2000. Auditory neuropathy: a brief review. *Curr Opin Otolaryngol* 8:421-425.
- 5- Del Castillo I, Moreno-Pelayo MA, del Castillo FJ, Brownstein Z, Marlin S, Adina Q, Cockburn DJ, Pandya A, Siemering KR, Chamberlin GP, Ballana E, Wuyts W, Maciel-Guerra AT, Álvarez A, Villamar M, Shohat M, Abeliovich D, Dahl HHM, Estivill X, Gasparini P, Hutchin T, Nance WE, Sartorato EL, Smith RJH, Van Camp G, Avraham KB, Petit C, Moreno F. 2003. Prevalence and evolutionary origins of the del(GJB6-D13S1830) mutation in the DFNB1 locus in hearing impaired subjects: a multicenter study. *Am J Hum Genet* 73:1452-1458.
- 6- Del Castillo FJ, Rodríguez-Ballesteros M, Alvarez A, Hutchin T, Leonardi E, de Oliveira CA, Azaiez H, Brownstein Z, Avenarius MR, Marlin S, Pandya A, Shahin H, Siemering KR, Weil D, Wuyts W, Aguirre LA, Martin Y, Moreno-Pelayo MA, Villamar M, Avraham KB, Dahl HH, Kanaan M, Nance WE, Petit C, Smith RJ, Van Camp G, Sartorato EL, Murgia A, Moreno F, 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. *J Med Genet* 42:588-594.
- 7- Delmaghani S, Del Castillo FJ, Michel V, Leibovici M, Aghaie A, Ron U, Van Laer L, Ben-Tal N, Van Camp G, Weil D, Langa F, Lathrop M, Avan P, Petit C. 2006. Mutations in the gene encoding pejvakin, a newly identified protein of the afferent auditory pathway, cause DFNB59 auditory neuropathy. *Nat Genet* 38:770-778.
- 8- Dib C, Fauré S, Fizames C, Samson D, Drouot N, Vignal A, Millasseau P, Marc S, Hazan J, Seboun E, Lathrop M, Gyapay G, Morissette J, Weissenbach J. 1996. A comprehensive genetic map of the human genome based on 5,264 microsatellites. *Nature* 380:152-154.
- 9- Ebermann I, Walger M, Scholl HPN, Issa PC, Lüke C, Nürnberg G, Lang-Roth R, Becker C, Nürnberg P, Bolz HJ. 2007. Truncating mutation of the DFNB59 gene causes cochlear hearing impairment and central vestibular dysfunction. *Hum Mutat* 28:571-577.
- 10- Friedman TB, Griffith AJ. 2003. Human nonsyndromic sensorineural deafness. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 4:341-402.
- 11- Kemp DT. 2002. Otoacoustic emissions, their origin in cochlear function, and use. *Br Med Bull* 63:223-241.
- 12- Migliosi V, Modamio-Hoybjor S, Moreno-Pelayo MA, Rodríguez-Ballesteros M, Villamar M, Telleria D, Menéndez I, Moreno F, del Castillo I. 2002. 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* 39:502-506.

- 13- Mirghomizadeh F, Pfister M, Blin N, Pusch CM. 2003. Uncommon cytidine-homopolymer dimorphism in 5'-UTR of the human otoferlin gene. *Int J Mol Med* 11:63-64.
- 14- Morton, NE. 1991. Genetic epidemiology of hearing impairment. *Ann N Y Acad Sci* 630:16-31.
- 15- Rouillon I, Marcolla A, Roux I, Marlin S, Feldmann D, Couderc R, Jonard L, Petit C, Denoyelle F, Garabedian EN, Loundon N. 2006. Results of cochlear implantation in two children with mutations in the OTOF gene. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 70:689-696.
- 16- Varga R, Avenarius MR, Kelley PM, Keats BJ, Hood LJ, Berlin CI, Morlet TG, Brashears SM, Starr A, Cohn ES, Smith RJ, Kimberling WJ. 2006. OTOF mutations revealed by genetic analysis of hearing loss families including a potential temperature-sensitive auditory neuropathy allele. *J Med Genet* 43:576-581.
- 17- Yasunaga S, Grati M, Cohen-Salmon M, El-Amraoui A, Mustapha M, Salem N, El-Zir E, Loiselet J, Petit C. 1999. A mutation in OTOF, encoding otoferlin, a FER-1-like protein, causes DFNB9, a nonsyndromic form of deafness. *Nat Genet* 21:363-369.
- 18- Yasunaga S, Grati M, Chardenoux S, Smith TN, Friedman TB, Lalwani AK, Wilcox ER, Petit C. 2000. OTOF encodes multiple long and short isoforms: genetic evidence that the long ones underlie recessive deafness DFNB9. *Am J Hum Genet* 67:591-600.

# im INSTRUMED

INSTRUMENTAL MEDICO  
PARA OTORRINOLARINGOLOGIA  
CLAUDIO A. CAPARRA



YA CON MAS DE 25 AÑOS EN EL MISMO LUGAR Y CON LA MISMA DISPOSICION DE SIEMPRE PARA ATENDERLO

**DISTRIBUIDOR OFICIAL DE: ORZAN INSTRUMENTAL QUIRURGICO (Córdoba – Argentina):**



TODA LA LINEA COMPLETA EN INSTRUMENTAL PARA MICROCIJURUGIA DE LARINGE, NARIZ, OIDO, ENDOSCOPICA Y ENDONASAL, EN ACERO INOXIDABLE DE PRIMERA CALIDAD Y PRECISION, CON MAS DE 25 AÑOS DE EXPERIENCIA Y TRADICION.

Y además, como siempre: tubos de ventilación, "diábolos", vinchas para protección auditiva, tapones de siliconas para oídos y tapones oclusores nasales

Y productos GNICAR, IVALON, KIFER, MICROMEDICS, SANJOR, SILFAB y WELCH ALLYN

PAGOS CON CHEQUES, TARJETAS DE CREDITO VISA, MASTERCARD, AMERICAN EXPRESS Y NARANJA HASTA EN 3 CUOTAS O CON TARJETAS DE DEBITO VISA ELECTRON Y MAESTRO EN UN PAGO, SIN RECARGO

**ENVIENOS SU DIRECCION ELECTRONICA Y RECIBA SIN CARGO LISTAS DE PRECIOS E INFORMACION SOBRE CURSOS Y CONGRESOS REGULARMENTE**

Sánchez de Bustamante 1695 - 4ºD - C1425DUG CIUDAD DE BUENOS AIRES -

TELEFAX (011) 48216870 / 48243875

Email: instrumed@hotmail.com

HORARIO DE ATENCION: LUNES A VIERNES DE 14 A 19 HS

Con su compra, Usted contribuye a la Fundación "Felices los Caparra".  
Muchas gracias por su colaboración.