

# La investigación como experiencia pedagógica: Estudios citogenéticos y moleculares en población sorda institucionalizada con síndrome de Waardenburg en Colombia

Martalucía Tamayo F.<sup>1,2</sup>, Nancy Gelvez<sup>1</sup>, Marcela Rodríguez<sup>1</sup>, Silvia Florez<sup>2</sup>,  
Clara Varon<sup>3</sup>, Ma. Claudia Lattig<sup>1</sup> y Jaime Bernal<sup>1</sup>

## Resumen

**D**urante los pasados 4 años, realizamos un programa de tamizaje entre 1,763 individuos sordos a través del país, para detectar Síndrome de Waardenburg (WS), en el cual identificamos 140 individuos afectados pertenecientes a 95 familias. Se confirmó el diagnóstico clínico de WS en 95 propósitos y en 45 parientes afectados, lo que significa una frecuencia del 5.38% de WS entre la población sorda Colombiana. Exámenes audiológicos, oftalmológicos y genéticos fueron practicados para confirmar el diagnóstico. Siguiendo la clasificación del consorcio del WS, modificada por varios autores, basados en el Índice de Waardenburg (WI) que define el tipo de WS, un índice >1.95 fue considerado WS1 (con dystopia canthorum) mientras que un índice por debajo de este valor fue WS2. En nuestra población el 62.1% de los pacientes fueron clasificados como WS2 y el 37.9% como WS1.

Presentamos los resultados del estudio de manifestaciones clínicas, analizando la presencia de estas, la severidad y simetría de los hallazgos clínicos en esta población afectada. En total, entre los 95 propósitos, encontramos que el hallazgo clínico más frecuente fue la sordera sensorial (100%), seguida de raíz nasal amplia (58.9%), un familiar de primer grado afectado

(37.89%), heterocromia irides (36.8%), hipopigmentación de la piel (31.57%), mechón blanco de pelo (28.42%), iris azul intenso (27.36%), sinofris (12.63%), canas prematuras (10.52%), ptosis palpebral (9.47%) e hipoplasia del ala nasal (1.05%).

Nuestros datos confirman una interesante variabilidad inter e intra familiar en cuanto a manifestaciones fenotípicas, así como una extrema variabilidad en la expresión de los genes comprometidos en esta enfermedad. Las dificultades en la investigación, la práctica tutorial de estudiantes y el proceso que deben seguir alumnos y maestros en esta clase de trabajos, demuestran una vez más la importancia de utilizar la investigación científica como una experiencia pedagógica.

**Palabras clave:** Síndrome de Waardenburg, sordera, dominante, hipopigmentación, heterocromia iris, mutación, PAX3, MITF.

## 1. Introducción

El Síndrome de Waardenburg (WS) es un desorden autosómico dominante que se caracteriza por sordera e hipopigmentación en piel, ojos y cabello. Este síndrome es clínico y genéticamente heterogéneo, por lo cual ha sido subdividido en cuatro tipos. Se han

<sup>1</sup> INSTITUTO DE GENÉTICA HUMANA, Pontificia Universidad Javeriana.

<sup>2</sup> FUNDACIÓN OFTALMOLÓGICA NACIONAL.

<sup>3</sup> FUNDACIÓN OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER - Foscal.

realizado diferentes estudios de ligamiento encontrando que el gen PAX 3 es el causante del WS tipo 1 y 3, el gen MITF es el causante del WS tipo 2 y el gen EDNRB o EDN 3 es el causante del WS tipo 4 (Winship y Beighton, 1992; Reynolds y col., 1995; Read y Newton, 1997).

En un estudio piloto, realizado por el programa de estudios genéticos de enfermedades visuales y auditivas del Instituto de Genética Humana en 1992 y de la Fundación Oftalmológica Nacional, se logró establecer la causa de la sordera en 1715 individuos sordos de escuelas para niños con problemas auditivos, encontrando evidencia de causa ambiental en 579 (33.8%) de los casos, causa genética en 608 (35.4%); dentro de éstos últimos, 37 (2.16%) eran individuos con Síndrome de Waardenburg (Tabla 1) (Tamayo y col, 1992).

El Síndrome de Waardenburg es la primera causa de sordera dominante (Arias S. 1971; Martini Alessandro-Editor, 1996; Pardon et al, 2003). A nivel mundial se ha estimado que la frecuencia del síndrome en población sorda se encuentra entre el 2% y el 5% (Farrer y col, 1992; Toriello, 1995). Recientemente, se decidió realizar un estudio completo sobre el síndrome de Waardenburg, con el fin de determinar la frecuencia exacta de éste en población sorda institucionalizada en Colombia (Tamayo et al, 1991). Además, identificar las mutaciones en los genes PAX3 y MITF causantes de este síndrome en nuestra población.

## 2. Marco teórico

### **Síndrome de Waardenburg (WS) (Waardenburg, 1951; Zlotorra et al, 1995)**

- Hipoacusia NS, anomalías pigmentarias en ojo, piel y cabello.
- Clínicamente variable. Existen varios tipos: WS tipo 1, WS tipo2 (WS3, WS4).
- Genéticamente heterogéneo: Genes PAX3, MITF, (también implicados los genes EDN3, EDNRB, RET, SOX10).
- Herencia autosómica dominante. (Baldwin CT, et al, 1995; Bard LA. 1978; DiGeorge AM, 1960; Gorlin RJ. 1995).

### **Criterios diagnósticos de WS:**

Criterios Mayores (Liu, Newton y Read AP, 1995):

- Hipoacusia neurosensorial
- Heterocromía del iris (parcial/ total). o iris azul intenso
- Poliosis
- Distopia cantorum
- Familiar afectado

Criterios MENORES (McKusick, 1994; Partington, 1964; Pierpoint, 1993):

- Hipopigmentación en piel
- Sinofris
- Raíz nasal amplia
- Canas Prematuras

### **Índice de Waardenburg (WI)**

La distopia cantorum esta dada por el índice de Waardenburg (WI), el cual fue propuesto por Arias y Mota (Arias-Mota1978) (fig 1). Este índice es obtenido de la medida de la distancia cantal interna (a), la distancia Interpupilar (b) y la distancia cantal externa (c), donde se aplica la siguiente formula:

$$X = [2^a - (0.2119c + 3.909)]/c$$

$$Y = [2^a - (0.2497b + 3.909)]/b$$

$$W\text{-Index} = X + Y + a/b$$

Individuos con un valor del índice de Waardenburg mayor o igual a 1.95 son clasificados como WS tipo 1 y por debajo de ese valor, se clasifica WS tipo 2. (Hageman y Delleman, 1977; Farrer y col., 1994).

IW ≥ 1.95 WS 1 (dystopia canthorum)-> GEN PAX3  
IW < 1.95 WS 2 -> GEN MITF

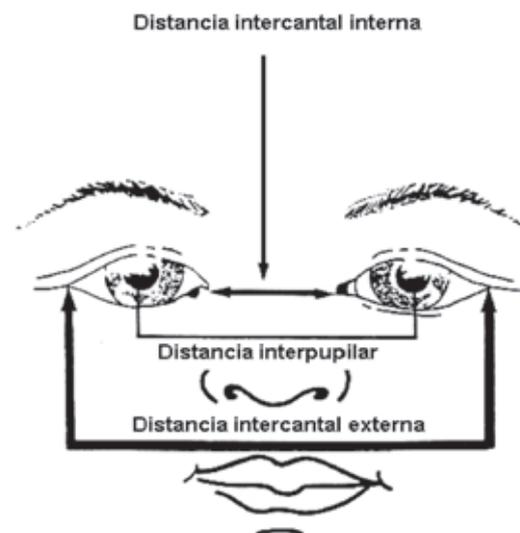


FIG. 1: Medidas para determinar el Índice de Waardenburg

### **Genes responsables del síndrome de Waardenburg**

Asher y Friedman en 1990, sugirieron cuatro posibles localizaciones cromosomales en el humano, basados en la comparación con fenotipos mutantes

en raton y hamster (Edery P, et al., 1996; Hageman MJ., Delleman JW. 1977). Los cuatro posibles loci fueron: en el brazo largo del cromosoma 2 (2q) cerca al gen de la fibronectina 1 (FN1); en el brazo corto del cromosoma 3 (3q) cerca al proto-oncogen RAF1; en el cromosoma 3q cerca al gen de la rodopsina (RHO) y en el cromosoma 4p cerca del gen KIT (Ommenn y McKusick, 1979; Shah, 1981; Puffenberger, 1994). Se han implicado los genes PAX3 (WS tipo 1 y 3), MITF (WS tipo 2) (Lalwani, Morell, Friedman, 1994) y más recientemente, los genes EDN3, EDNRB, RET y SOX10 (Ishikiryama S. 1993; Klein D. 1950).

### **Objetivo general del trabajo**

Definir las características fenotípicas del Síndrome de Waardenburg (WS), e identificar las mutaciones en los genes PAX3 y MITF causantes de esa enfermedad, en una población sorda institucionalizada en Colombia

### **Objetivos específicos del trabajo**

- Determinar la frecuencia del síndrome de Waardenburg en la población sorda estudiada.
- Caracterizar las mutaciones presentes en los genes PAX3 y MITF.
- Establecer la correlación genotipo-fenotipo en los casos en que se encuentre mutación.

## **3. Materiales y Métodos**

### **3.1. Población**

Programa de tamizaje desarrollado durante 3 años para detectar WS. Se visitó cada una de las instituciones para sordos del país y a los individuos seleccionados se les realizó el diagnóstico clínico de WS de acuerdo al valor del índice de Waardenburg y a las características propias del síndrome. Se completó un formato de historia clínica en cada uno de ellos, teniendo en cuenta los antecedentes familiares. Nuestro equipo médico realizó un completo examen genético y audiológico a cada uno de los individuos. Con firma previa del consentimiento informado, se realizó toma de muestra de sangre periférica a cada uno de los individuos incluidos en el estudio.

En general, se identificaron 140 propósitos afectados con WS clásico y 45 familiares afectados. Para un total de 95 familias.

### **3.2 Técnicas moleculares**

**Secuenciación automática:** Después de haber realizado SSCP, se procedió a la secuenciación. El DNA a ser secuenciado es obtenido mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa). El sistema

automáticamente controla las condiciones de temperatura, tiempo y voltaje de la electroforesis. Cuando cada ddNTP pasa por el laser una luz fluorescente es emitida al detector y los datos de cada muestra son inmediatamente almacenados y luego transferidos al software de análisis. Allí, cada secuencia es analizada y se determina la presencia de cualquier variante alélica.

## **4. Resultados y discusión**

**Población:** Se evaluaron 1,763 individuos procedentes de 26 instituciones para sordos en todo el país. De 140 propósitos afectados con WS, se obtiene una frecuencia del 5.38% del total de población sorda estudiada. Según el tipo de WS se obtuvieron estos valores diferenciales:

- Casos WS tipo 2 -> Frecuencia del 62.1%
- Casos WS tipo 1 -> Frecuencia del 37.9%

### **Analisis citogenetico**

El grupo control fue normal. De los cariotipos del grupo de pacientes, 32 resultaron normales y 4 presentaron anomalías cromosómicas, descritas así:

1. Translocación: t(13,21)(13pter,13q21::21q22.1-21qter-21q22.1::1+H25
2. Mosaico: Normal (60%);t(15q,18ter)(40%)
3. Mosaico: Normal (96%);t(10,19),10q22.1;19Pter (4%).
3. 46,XX con duplicación en centrómero del cromosoma 16.

Resulta interesante el caso de una niña afectada con WS tipo 2, que portaba una translocación (13,21), similar al reporte de dos casos descritos por el grupo de Walter Nance y Handig en USA (Nance, et.al, AJHG 53:3;1993), en una niña y un niño con características clínicas parecidas. Aunque los tres casos (el nuestro y los 2 de USA) tenían manifestaciones fenotípicas de WS, en ninguno de ellos se logró demostrar la presencia de mutaciones génicas (Ishikiryama y Niikawa, 1989). Nuestro caso correspondió a una niña de 6 años de edad, de raza negra, con retardo en desarrollo psicomotor, sordera profunda, hipopigmentación segmentaria de iris, microcefalia, pabellones alados en forma de copa, abombamiento frontal leve, narinas hiperplásicas, raíz nasal amplia, cuello corto, prognatismo mandibular, torax en quilla, soplo sistólico G II/VI, sindactilia de tercero y cuarto dedo, clinodactilia de quinto dedo, digitalización del pulgar y acortamiento metafisiario en pie derecho. Cabe anotar que los dos casos descritos en USA han correspondido a translocaciones 13,21 y 13,22, las que evidentemente ocasionan fenotipos similares, sin que llegue a confirmarse en ellos el diagnóstico de WS tipo 1 ó 2.

Ahora bien, todo esto es muy interesante porque estas translocaciones sugieren un nuevo locus para otro tipo de WS. Nuestro paso siguiente, en el futuro, será buscar ligamiento a los genes EDNRB localizado en 13q22 y RET localizado en 13q, para definir algún otro tipo de WS (Sellars, Beighton, 1983).

**Frecuencia de criterios diagnósticos en WS:**

Los criterios diagnósticos globales, en ambos tipos de WS mostraron resultados interesantes. Como puede observarse, la sordera se presentó en el 100% de los propósitos, seguido de cambios en el iris y de pigmentación en pelo y la presencia de un pariente afectado.

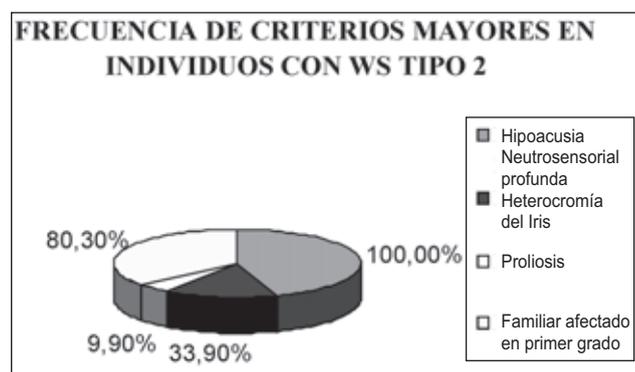
**CRITERIOS MAYORES:**

- Sordera NS (100%)
- Alteraciones de pigmentación Iris (65%)
- "Alt pigmentation" en pelo o cejas (39%)
- Pariente 1er grado afectado (37.89%)

**CRITERIOS MENORES:**

- Raíz nasal prominente (59%)
- Lesiones cutáneas hipopigmentadas (32%)
- Sinofris (13%).

Criterios Diagnósticos en WS2: Ahora bien, como se muestra en la figura 2, estos criterios cambian ligeramente cuando se analiza solamente el tipo 2 del síndrome. Nótese que la presencia de un familiar afectado sube al 2do lugar de frecuencia, lo que hace más relevante el indagar por este hallazgo.



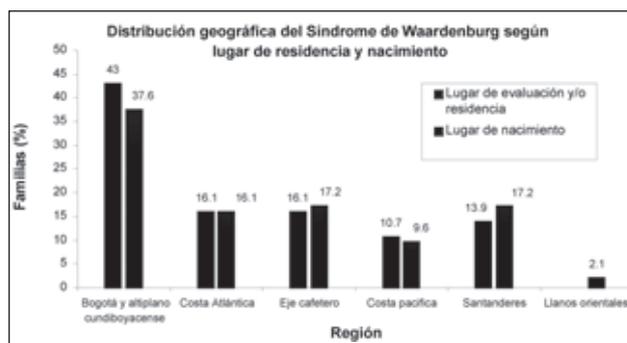
**FIG. 2: Frecuencia de criterios diagnósticos mayores en WS tipo 2**

La hipoacusia encontrada en el 100% de nuestros casos, contrasta un poco con lo reportado por Reynolds y Pandya (50-77%). Se cree que esta diferencia podría estar dada por el hecho de que nuestra muestra se buscó entre institutos de sordos y los reportes de los otros autores pudieron haber incluido en el conteo a

los familiares no sordos. Es notoria la variabilidad clínica en esta muestra y en general en todos los casos publicados. Los Criterios diagnósticos menores se vuelven más relevantes en el WS tipo 2, dada la dificultad diagnóstica de ese tipo y en ese grupo, la presencia del familiar afectado pasa a ser más relevante.

**Distribución del WS en el territorio nacional:**

En la fig. 3 se presenta la distribución geográfica de la muestra, según lugar de residencia y de procedencia. La procedencia podría estar dando información sobre regiones específicas donde podría haber un "cluster" de los genes implicados y la residencia, da una idea de la proporción de casos con la enfermedad en una región específica, dato importante para repensar los servicios de salud que esta población especial requiere. Obviamente hubo mayor número de casos en el altiplano cundiboyacense, porque allí se estudió la mayor cantidad de sordos.



**FIG. 3: Distribución geográfica en el país**

Ahora bien, si se analiza el dato según regiones teniendo en cuenta el total de sordos examinados, las proporciones cambian (Tabla 1).

Región del país y Ciudades	No. Cuestionarios aplicados en c/ciudad	Individuos con WS detectados en c/ciudad No.	Porcentaje de WS en c/ciudad %
REGIÓN CENTRAL: Bogotá	508	46	9.05%
SUR OESTE: Ibagué, Cali, Pasto, Popayan	316	11	3.48%
SANTANDERES Bucaramanga, Cúcuta	211	9	4.26%

Región del país y Ciudades	No. Cuestionarios aplicados en c/ciudad	Individuos con WS detectados en c/ciudad No.	Porcentaje de WS en c/ciudad %
ZONA CAFETERA: Medellín, Manizales, Pereira	528	15	2.84%
COSTA CARIBE: Cartagena, Barranquilla y Sta Marta	200	14	7.0%
TOTAL	1.763	95	5.38%

**TABLA 1: Frecuencia de WS en la población sorda colombiana analizada**

La comparación de frecuencias de WS, según las regiones analizadas, es interesante. Se dividió el país en 5 regiones:

- R. Central: Bogotá y altiplano cundiboyacense
- R. Santanderes: Bucaramanga y Cúcuta
- R. Eje Cafetero: Medellín, Manizales, Pereira
- R. Sur-Oeste: Ibagué, Cali, Pasto, Popayán
- R. Costa Caribe: Cartagena, Barranquilla y Santa Marta.

La comparación de frecuencias de WS entre la Región Central y el Eje Cafetero fue estadísticamente significativa ( $\chi^2=16.9$ ;  $P=0.00003$ ), igual que la comparación entre la Costa Atlántica y el Eje Cafetero ( $\chi^2=5.52$ ;  $P=0.018$ ). Estas diferencias estarían indicando que los genes de WS podrían tener diferentes frecuencias entre las poblaciones que dieron origen a la población actual de nuestro país (Europea, Africana o Aborigen); sin embargo, aún no hay evidencia científica en la literatura respecto a este punto. Otras comparaciones no fueron significativas.

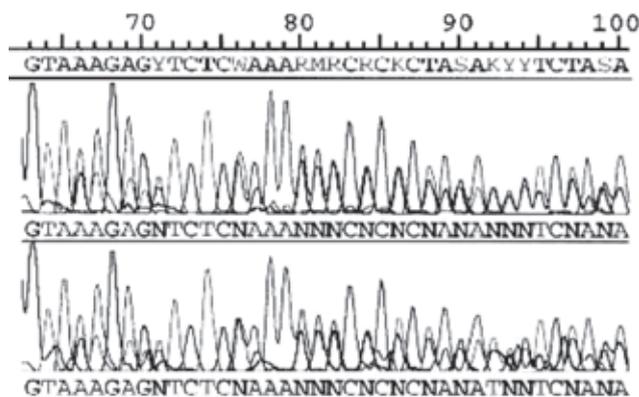
### Resultados de laboratorio

A los individuos que presentaron patrones de migración diferentes en los SSCP, que sugerían posibles mutaciones, se les realizó la secuenciación del exón en el cual presentaban tal diferencia. Nuestro estudio identificó cuatro mutaciones nuevas en el gen PAX3 y tres nuevas en el gen MITF (Tabla 2).

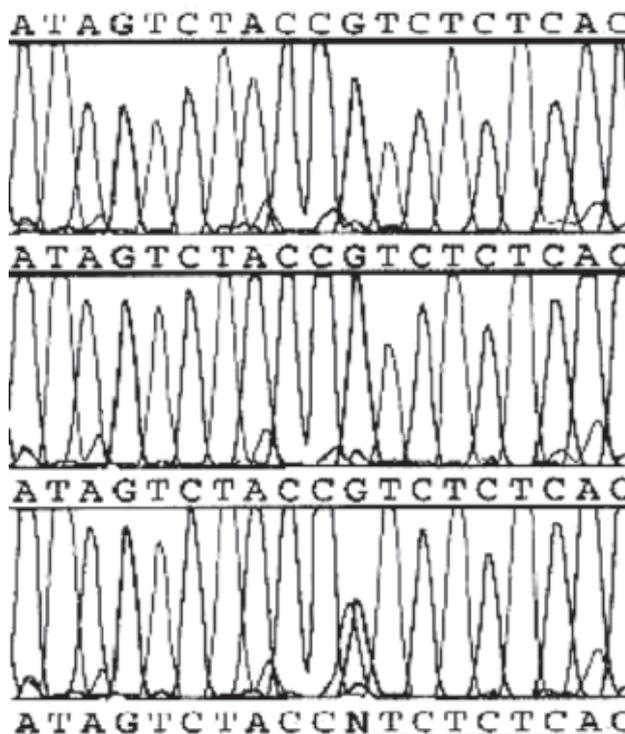
El electroferograma de una mutación en PAX3 se presenta en la figura 4 y de otra mutación en el gen MITF en la figura 5.

Exón	Tipo de mutación	GEN
Exon 2	Transición G A (posición 55)	PAX3
Exón 4	Transversión G C (posición 75)	PAX3
Exón 5	Delección AT posición 140.	PAX3
Exón 4	K172N	PAX3
Exón 7	delR217	MITF
Exón 8	R270STOP	MITF
3' UTR	Transversión C G	MITF

**TABLA 2: Mutaciones nuevas identificadas en este estudio**



**FIG. 4: Electroferograma Mutación gen PAX3.**



**FIG. 5: Secuencia Exon 1 del gen MITF**

## Correlación clínico-molecular

### Caso No. 1

#### Familia WS tipo 2, con mutación en PAX3.

Familia con diagnóstico clínico inicial de WS tipo 2, por ausencia de distopia cantorum. Hallazgo de la mutación K172N en el gen PAX3, no reportada aún en la literatura, lo que cambia el diagnóstico de tipo 2 a WS tipo 1. La variabilidad fenotípica es muy marcada: El padre tiene la mutación y presenta hipoacusia con canas prematuras; la hija con la misma mutación sólo presenta hipoacusia y el hijo con igual mutación presenta iris azul intenso e hipoacusia. Árbol genealógico del caso en la fig. 6.

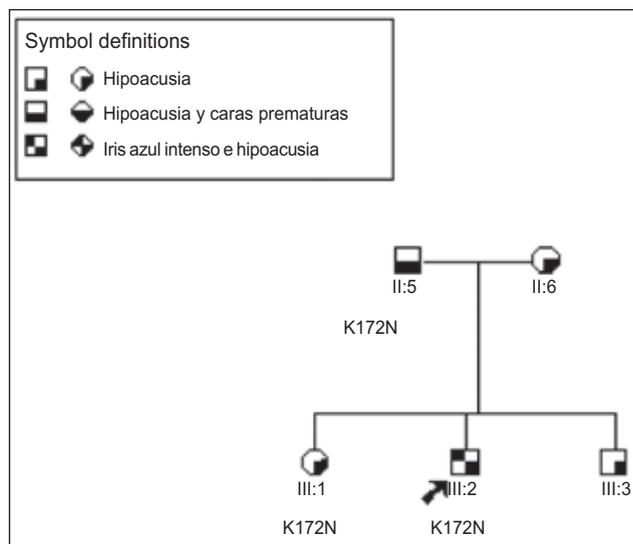


FIG. 6: Caso 1: Árbol genealógico Fenotipo WS2 y Mutación en PAX 3.

### Caso No. 2

#### Familia con Mutación delR217, exón 7 en el gen MITF.

En este caso se identificó una Mutación frameshift, que provoca una proteína más corta. La mutación ya había sido reportada en la literatura mundial por Tassabeji y cols, en un individuo europeo que presentaba un fenotipo completamente diferente al de nuestro caso colombiano. Nuevamente se corrobora la variabilidad fenotípica aún entre poblaciones diferentes. La propositus era la única afectada en esta familia.

### Caso No.3

#### Familia WS tipo 2 con Mutación en la región 3' UTR del gen MITF.

En un individuo de esta familia se detectó una transversión C G en la región 3' UTR del gen MITF.

Este cambio fue analizado en 125 controles normales obtenidos de población general de dentro y fuera del país y no estuvo presente en ninguno de ellos; así que parece estar asociado a la enfermedad. En esta familia, la mutación no fue encontrada en la propositus sorda, sino en una prima oyente pero afectada de WS. Los hallazgos clínicos en esta familia son:

Individuo propositus: Niña con sordera NS profunda bilateral. (Mutación ausente).

Prima afectada: Oyente, con Heterocromía parcial del iris e hipopigmentación cutánea. Presenta la mutación.

Como puede observarse, lo llamativo en esta familia es encontrar la mutación en una persona oyente, mientras que la niña propositus sorda no la tiene (Fig 7). Esto se podría explicar por la posibilidad de que la sordera del individuo propositus sea debida a una mutación en otro gen o a una causa adquirida. Surge la inquietud de explicar cómo es que la niña con hipoacusia no tenga la mutación y la prima oyente con heterocromía del iris si. Ahora bien, ante un caso como este cabe pensar en la posibilidad de que mutaciones en MITF no sean las directamente causales de la sordera observada en el WS tipo 2, pero no se puede negar que si estarían relacionadas con la hipoacusia en alguna forma.

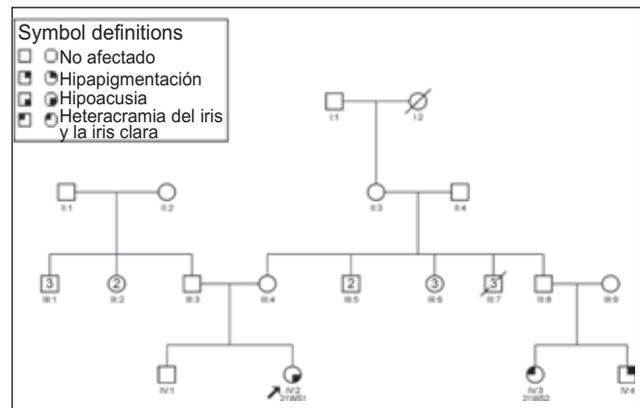


FIG. 7: Caso 3: Árbol genealógico familia WS2 (Cambio 3'UTR).

En todo nuestro estudio ha sido evidente un hecho bien curioso: que la misma mutación en individuos de la misma familia se expresa diferente y que, igual variabilidad se observa entre las diferentes familias que presentan la misma mutación. Esta variabilidad podría ser explicada por el efecto de genes modificadores, donde un cambio en otro gen modifica la expresión del fenotipo. Esta sería la única explicación posible para el hecho de que en las familias analizadas, individuos con la misma mutación presenten hipoacusia bilateral o unilateral, o simplemente no la presentan. Se tiene evidencia de que la condición dominante en el síndrome de Waardenburg, es causada

por la haploinsuficiencia, donde una reducción del 50% en el nivel de la función del gen causa un fenotipo anormal (Nobukuni y col., 1996). Fenotipos dependientes de la haploinsuficiencia son especialmente sensibles al efecto de genes modificadores.

## Conclusiones

1. Las mutaciones detectadas no explican completamente los fenotipos encontrados.
2. Hay casos de WS clásico en los que no se identificó mutación alguna en los genes PAX3 y MITF.
3. La sordera evidenciada en familiares de afectados con WS clásico, no siempre puede ser explicada por mutaciones en el mismo gen.
4. En esas sorderas podría implicarse otro gen, o tener una causa adquirida.
  - Se identificaron 4 mutaciones nuevas en el gen PAX3 y 3 nuevas en el gen MITF.
  - No todas las mutaciones en PAX3 producen fenotipo de WS1.

Nuestros datos confirman una interesante variabilidad Intra e Interfamiliar en las manifestaciones fenotípicas del WS, así como una variabilidad extrema en la expresión de los genes entre los diversos tipos de WS.

Todo esto refuerza la teoría del efecto de genes modificadores: cuando un cambio en otro gen modula la expresión del fenotipo.

## Experiencia Pedagógica

Este proyecto de investigación logró formar a dos personas con tesis de Maestría en Genética; fue trabajo de grado de estudiantes de pregrado; sirvió de práctica para residentes de Oftalmología y de Genética y a todo el grupo, le permitió definir nuevas propuestas de investigación para el futuro. La investigación es definitiva, un proceso de aprendizaje permanente.

## Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por COLCIENCIAS, principalmente por el proyecto No. 1203-04-11775; pero contó con la contribución de otros proyectos de Colciencias: No. 6207-04-965-98; y No.1203-04-088-98. También se recibió financiación de la UNIVERSIDAD JAVERIANA, Instituto de Genética Humana y de la Fundación Oftalmológica Nacional en Bogotá, Colombia.

Otras entidades que participaron: PREGEN (Cito-genética), Boys Town National Research Hospital, Omaha, NE, USA. Especial agradecimiento a los Pacientes e instituciones para sordos, al Dr David Medina, Dr William Kimberling, a los Drs. Angela Umaña e Ignacio

Zarante (antiguos Directores IGH), al Grupo Visual Auditivo y a todo el Personal del IGH-UJ y de Fundonal.

## Referencias

- Arias S. 1971. Genetic heterogeneity in the Waardenburg Syndrome. Birth Defects Orig. Art. Ser. VII(4): 87-101.
- Arias S, Mota M. 1978. Apparent non-penetrance for dystopia in Waardenburg syndrome type I, with some hints on the diagnosis of dystopia canthorum. J Genet Hum. 26:103-31.
- Baldwin CT, Hoth CF, Macina RA, Milunsky A. 1995. Mutations in PAX3 that cause Waardenburg syndrome type I: ten new mutations and review of the literature. Am J Med Genet. 58:115-22. Related Articles, Links.
- Bard LA (1978): Heterogeneity in Waardenburg Syndrome. Arch Ophthalmol 96:1193-1198.
- DiGeorge AM, Olmsted RW, Harley RD (1960): Waardenburg's Syndrome. J. Pediatr 57: 649-669.
- Ederly P., Attie T., Amiel J., Pelet A., Eng C., Hofstra RMW., Martelli H., Bidaud C., Munnich A., Lyonnet S. 1996. Mutation of the endothelin-3-gene in the Waardenburg-Hirschsprung disease (Shah-Waardenburg syndrome). Nature Genet. 12: 442-444.
- Farrer LA., Grundfast KM., Amos J., Arnos KS., Asher JH., Beighton P., Diehl SR., Fex J., Foy C., Friedman TB., Greenberg J., Hoth C., Marazita M., Milunsky A., Morell R., Nance W., Newton V., Ramesar R., San Agustin TB., Skare J., Stevens CA., Wagner RG., Wilcox ER., Winship I., Read AP. 1992. Waardenburg Syndrome (WS) type I is caused by defects at multiple loci, one of which is near ALPP on chromosome 2: first report of the WS consortium. Am. J. Hum. Genet. 50: 902-913.
- Gorlin RJ. 1995. Genetic Hearing Loss with no associated abnormalities In: Gorlin RJ, Toriello HV, Cohen MM. Hereditary hearing loss and its syndromes. Oxford university Press. Oxford, USA pages. 43-61.
- Hageman MJ., Delleman JW. 1977. Heterogeneity in Waardenburg Syndrome. Am. J. Hum. Genet. 29: 468-485.
- Ishikiriyama S., Tonoki H., Shibuya Y., Chin S., Harada N., Abe K., Niikawa N. 1989. A sporadic case of Waardenburg syndrome type 1 associated with de novo inv(2)(q35q37.3). (Abstract) Cytogenet. Cell Genet. 51: 1018.
- Ishikiriyama S. 1993. Gene for Waardenburg Syndrome type 1 is located at 2q35, not 2q37.3 (letter) Am. J. Med. Genet. 46: 608.
- Klein D. 1950. Albinisme partiel (leucisme) avec surditité, blemarophimosis et dysplasie myo-osteo-articulaire. Helv. Paediat. Acta 5: 38-58.
- Liu XZ, Newton VE, Read AP (1995): Waardenburg Syndrome type 2: Phenotypic findings and diagnostic criteria. Am J Med Genet 55: 95-100.
- McKusick VA (1994): Mendelian Inheritance in Man. Catalogs of Autosomal Dominant, Autosomal Recessive and X-Linked phenotypes". 11th edition. Baltimore: Johns Hopkins University Press. (8) 329: 585-586.

- Martini Alessandro - Editor. Martini A, Read A and Stephens D. (1996) Genetics and hearing impairment. Singular Publishing Group, Inc, San Diego, USA.
- Nance, et al. (1993). Waardenburg Syndrome, AJHG 53:3.
- Ommenn G.S. and McKusick V.A. (1979) The association of Waardenburg Síndrome and Hirschprung megacolon. Am. J. Med. Genet. 3: 271-275.
- Pardono E, van Bever Y, van den Ende J, Havrenne P, Iuguetti P, Maestrelli S, Costa O, Richieri-Costa A, Frotta-Pessoa O and Otto P. (2003) Am J Med Genet 117A: 223-235.
- Partington MW (1964): Waardenburg's Syndrome and heterochromia iridum in a deaf school population. Can Med Assoc J 90:1009-1017
- Pierpoint JW, Erikson RP. 1993. Invited editorial: Facts on PAX. Am.J Hum.Genet. 52: 451-454
- Puffenberger EG., Hosoda K., Washington SS., Nakao K., deWit D., Yanagisawa M., Chakravarti A. 1994. A missense mutation of the endothelin-B-receptor gene in multigenic Hirschsprung's disease. Cell 79: 1257-1266.
- Reed WB et al. (1967): Pigmentary disorders in association with congenital deafness. Arch Dermatol 95: 176-186.
- Reynolds JE, Meyer J, Landa B, Stevens C, Arnos K, Israel J, Marazita M, Bodurtha J, Nance W and Diehl S. (1995): Am J Med Genet 57: 540-547.
- Sellars S, Beighton P (1983): The Waardenburg Syndrome in deaf children in Southern Africa. S. Afr Med J 63: 725-728.
- Shah KN., Dalal SJ., Desai MP., Sheth PN., Joshi NC., Ambani LM. 1981. White forelock, pigmentary disorder of irides, and long segment Hirschsprung disease: possible variant of Waardenburg syndrome. J. Pediat. 99: 432-435.
- Tamayo Marta L, Jaime Bernal, Gustavo Tamayo, Jaime Frías, Gustavo Alvira, Oscar Vergara, Vicente Rodríguez, Jose I Uribe and Juan C Silva. 1991. Usher Syndrome: results of a screening program in Colombia. Clin Genet 40: 304-311.
- Tamayo ML., Bernal JE., Tamayo G., Frias JL. 1992. A study of the etiology of deafness in an institutionalized population in Colombia. Am. J. Med. Genet. 44: 405-408.
- Toriello HV. 1995. Genetic Hearing Loss Associated with Integumentary Disorders. In: Gorlin RJ, Toriello HV, Cohen MM. Hereditary hearing loss and its syndromes. Oxford University Press. Oxford, USA pages. 368-372.
- Waardenburg, PJ. 1951. A new syndrome combining developmental anomalies of the eyelids, eyebrows, and nose root with pigmentary of the iris and head hair and with congenital deafness. Am. J. Hum. Genet. 3: 195-201.
- Zlotorra J., Lerer I., Bar-David S., Ergaz Z., Abeliovich D. Homozygosity for Waardenburg Syndrome. Am. J. Hum. Genet. 56: 1173-1178, 1995.