

DEFINICIÓN DE SUBTIPOS DEL SÍNDROME DE USHER EN POBLACIÓN COLOMBIANA

USHER SYNDROME SUBTYPES DEFINITION IN COLOMBIAN POPULATION

Greizy López Leal, PhD(c)¹
Nancy Gelvez Moyano, MSc²
Marta L. Tamayo, MD, MSc³

RESUMEN

Introducción. El Síndrome de Usher (USH), de herencia autosómica recesiva, se caracteriza por sordera congénita sensorial, Retinitis Pigmentosa y disfunción vestibular. Se conocen 3 tipos clínicos y 12 subtipos genéticos. En Colombia no se conocen las frecuencias de los subtipos genéticos ni las mutaciones más frecuentes. **Objetivo.** El objetivo de este trabajo fue definir el subtipo genético en 72 individuos con USH e identificar las mutaciones causantes de la enfermedad. **Métodos.** Se identificaron 72 individuos con USH de diferentes ciudades del país. Se realizó análisis de haplotipos para los 12 loci asociados a USH hasta el momento y análisis mutacional de los exones con mayor frecuencia de mutaciones reportadas en los genes USH. **Resultados.** Se logró definir el subtipo genético en 23 individuos y se identificó la mutación causal en 14. Se identificaron dos mutaciones en el gen *MYO7A*, la p.R634X y la p.R1986X; y tres

en el gen *USH2A*, la c.2299delG, la p.R334W, y la g.G129T. **Conclusión.** Se logró identificar el subtipo genético en el 31.9% y la mutación causal en el 19.4% de la población.

Palabras clave: Síndrome de Usher, Retinitis Pigmentosa, Sordera, Hipoacusia Sensorial.

ABSTRACT

Introduction. Usher Syndrome (USH), is an autosomal recessive disorder characterized by the association of sensorineural hearing loss, retinitis pigmentosa (RP) and variable vestibular areflexia. Three clinical types and 12 genetic subtypes have been described. In Colombia, frequencies of genetic subtypes and more frequent mutations are unknown. **Objective.** The aim of this work was to define the genetic subtype in Colombian population with USH. **Methods.** 72 individuals with USH were selected from different cities around

¹ Bacterióloga PhD(c), Instituto de Genética Humana, Pontificia universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

² Bacterióloga MSc, Instituto de Genética Humana, Pontificia universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

³ Correspondencia. Médica Genetista, MSc. Instituto de Genética Humana, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. Carrera 7 No. 40 - 62, Edificio 32. 3208320 ext 2788. mtamayo@javeriana.edu.co. Recibido: Noviembre 10 de 2010. Aceptado: Diciembre 1 de 2010.

the country. Haplotype analysis was performed to identify segregation to any of the 12 known USH loci. Mutational analysis of some exons was performed in USH genes. **Results.** Genetic subtype of 23 individuals and pathological mutation in 14 were identified. Two mutations were identified in *MYO7A* gene, p.R634X and p.R1986X; and three in the *USH2A* gene, c.2299delG, p.R334W, and g.G129T. **Conclusion.** Genetic subtype was identified in 31.9% of the population and pathologic mutation in 19.4%.

Key words: Usher Syndromes, Retinitis Pigmentosa, Deafness, Hearing Loss, Sensorineural.

INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Usher (USH) es una enfermedad genética de herencia autosómica recesiva, que cursa con hipoacusia sensorial, retinitis pigmentosa (RP) y en algunos casos, disfunción vestibular. Es la causa más frecuente de sordoceguera en el mundo (1). Su prevalencia se calcula en un rango de 3,5 a 6,2 casos de cada 100.000 habitantes (2); su frecuencia en Colombia es de 3,2/100.000 habitantes, constituyendo el 9,6% de la población sorda y el 10% de la población ciega (3-5). Se reconocen tres tipos clínicos del síndrome: USH1 con sordera profunda congénita, disfunción vestibular y aparición de RP antes de los 15 años; USH2 con hipoacusia congénita de moderada a severa, respuesta vestibular normal, e inicio de RP después de los 15 años; y USH3 con pérdida auditiva progresiva, respuesta vestibular variable y aparición de RP en edad variable (6).

A cada uno de los tres tipos clínicos le corresponden varios subtipos genéticos. Al tipo I le corresponden siete subtipos (*USH1B-H*) (7-13) y de ellos 5 genes han sido identificados: *MYO7A* (*USH1B*), *USH1C* (*USH1C*), *CDH23* (*USH1D*),

PCDH15 (*USH1F*) y *SANS* (*USH1G*) (14-18). Para el tipo II, tres *loci* han sido descritos y los genes identificados: *USH2A* (*USH2A*), *VLGR1b* (*USH2C*) y *WHRN* (*USH2D*) (19-22). Dos *loci* han sido identificados para el fenotipo USH3, de los cuales solo el gen *USH3A*, ha sido identificado (23, 24). El locus *USH3B* se sobrelapa con el locus *USH1H* (25). De todos los subtipos genéticos, los más frecuentes son el *USH1B* para el tipo I y el *USH2A* para el tipo II (26).

En Colombia no se conocen frecuencias de los subtipos USH y el estudio de los genes asociados al síndrome toma gran relevancia para la clasificación de afectados y posterior genotipificación de sus familias. Los resultados de estos estudios permiten diseñar un panel diagnóstico mutacional para la población colombiana y ofrecer un diagnóstico confirmatorio. El objetivo del trabajo fue definir los subtipos presentes en población colombiana con síndrome de Usher, con el fin de establecer frecuencias e identificar mutaciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

Se evaluaron 1972 individuos de institutos para sordos con el fin de identificar casos de USH, seleccionados en tamizajes previos del Instituto de Genética Humana de la Universidad Javeriana y la Fundación Oftalmológica Nacional en 11 ciudades del país. Se diagnosticaron 72 individuos con síndrome de Usher, a quienes se les realizó fondo de ojo, electroretinograma (ERG), campimetría, angiografía, fotos de fondo de ojo y audiometría. Adicionalmente, se les tomó muestra de 10 ml de sangre periférica por punción venosa, previa firma del consentimiento informado y posteriormente se realizó extracción del ADN por la técnica Fenol-Cloroformo para realizar los estudios moleculares.

Pruebas moleculares

Análisis de haplotipos

El ADN fue extraído por medio de la técnica Fenol-Cloroformo. Se analizaron los 12 loci conocidos asociados al USH en las familias informativas. Se amplificó el DNA por PCR para los marcadores STRP del kit Linkage Mapping Set v2.5 (Applied Biosystems, Foster City, CA). Las PCR fueron purificadas y analizadas en el equipo ABI-PRISM 3130xl, los resultados analizados con el software GeneMapper v4.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA) y los haplotipos construidos con el software GeneScreen (IttyBitty Computers, San Jose, CA).

Análisis de SSCP

Se realizó análisis de SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) para los 21 exones que codifican para la isoforma corta del gen *USH2A* en los individuos con USH tipo II. Las amplificaciones se realizaron en el termociclador icycler BIO-RAD. Se utilizó el siguiente protocolo estándar: un ciclo inicial de 95°C por 5 minutos, 30 ciclos de 95°C por 1 minuto, la temperatura de anillamiento correspondiente en cada caso por 1 minuto y 72°C por 1 minuto, seguidos por un ciclo de elongación final a 72°C por 7 minutos. Una vez obtenidos los productos se realizó análisis de SSCP para cada uno de los exones, en las cámaras DeCode y Mini-Proteam II de BIO-RAD, según las condiciones de estandarización en cada caso. Las bandas fueron visualizadas con tinción de nitrato de plata. Los patrones anormales fueron secuenciados.

Análisis de secuenciación

Se secuenciaron aquellos exones en donde se ha reportado mayor frecuencia de mutaciones de los genes asociados a cada subtipo segregado.

Adicionalmente, se realizó secuenciación del exón 13 y de todos los patrones anormales detectados por análisis de SSCP del gen *USH2A*. El procedimiento utilizado para la secuenciación fue el siguiente: una vez obtenido el producto de PCR se purificó y se realizó la reacción de secuenciación con 2ul de ready reaction mix, 2ul de buffer 5X, 1ul de primer y 5ul de producto purificado. Las condiciones de temperatura fueron: 95°C por 10 segundos, 50°C por 5 segundos y 60°C por 4 minutos, por 35 ciclos. Se realizó la precipitación de la reacción de secuenciación por el método de etanol. Las secuencias se realizaron en el ABI-PRISM 3100-Avant con el kit de secuenciación BigDye terminator versión 3.1. Finalmente, se realizó el análisis de secuencias con el software DNASTar.

RESULTADOS

Se diagnosticaron 72 individuos con USH para el presente estudio: 45 (62.5%) corresponden a USH1, y 27 (37.5%) a USH2. De la población con USH1 (45 individuos) se logró identificar el subtipo genético en 9 de ellos: 6 del subtipo USH1B, uno del USH1D, uno del USH1F y uno del USH1G. Una familia USH1 no mostró segregación con los *loci* conocidos para el USH. Se logró identificar la mutación causal de la enfermedad en tres de los individuos con USH1B.

La primera de las mutaciones identificadas en el gen *MYO7A*, corresponde a una mutación previamente reportada, la c.1900C>T, p.R634X (27) en el exón 16 en un individuo perteneciente a una familia consanguínea clasificada como USH1B (familia 10USH) (figura 1). La mutación se encuentra en estado homocigoto en los 3 individuos afectados y en estado heterocigoto en los 2 progenitores y en 6 de los hermanos sanos. Esta mutación representa una frecuencia alélica del 2.2%.

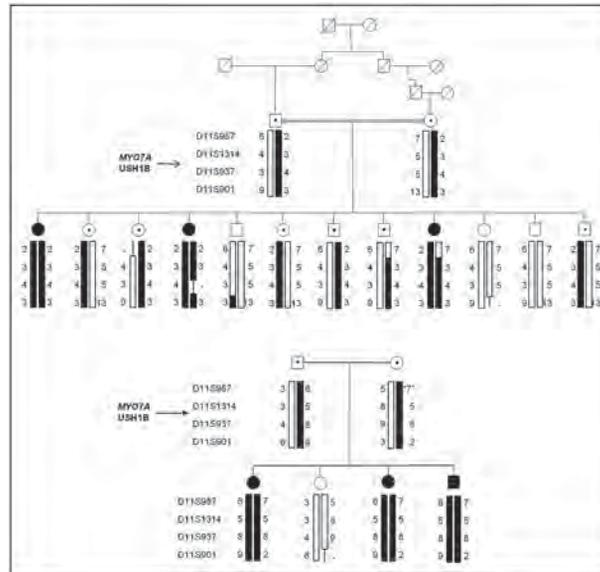


Figura 1. Análisis de haplotipos para los marcadores del locus USH1B en las familias 10USH (arriba) y 35USH (abajo). Los puntos dentro de los individuos indican a los portadores de las mutaciones identificadas.

La segunda mutación se identificó en dos propósitos. Uno de ellos, es un individuo perteneciente a una familia no consanguínea con 3 individuos afectados (familia 35USH) (figura 1). Se trata de un cambio en el exón 45, c.5956C>T, p.R1986X (figura 2). La mutación fue identificada en estado homocigoto en los 3 afectados de la familia y en estado heterocigoto en los dos progenitores y la hermana sana. Esta misma mutación fue identificada en otro individuo no relacionado en estado heterocigoto representando una frecuencia alélica del 3.3% y no fue identificada en 50 controles sa-

nos colombianos no relacionados. Adicionalmente, se identificaron algunos polimorfismos en el gen MYO7A previamente reportados (Tabla 1).

De la población con USH2 (27 individuos), se logró identificar el subtipo genético en 14 de ellos: 13 USH2A y uno USH2C. Se identificaron tres mutaciones en el gen USH2A: La primera de ellas, la mutación c.2299delG en el exón 13 previamente reportada fue identificada en 7 individuos (26), representando una frecuencia alélica del 14.8%; se identificó en estado homocigoto en un individuo

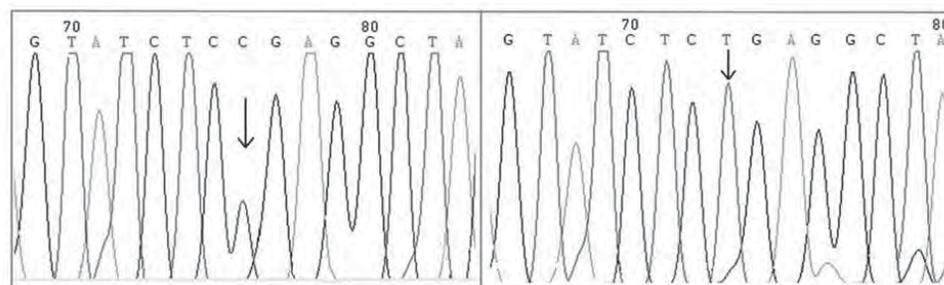


Figura 2. Electroferograma de la mutación c.5956C>T, p.R1986X. A la izquierda, secuencia sin la mutación. A la derecha, secuencia con la mutación en estado homocigoto.

Tabla 1. Presentación global de los resultados moleculares obtenidos en el estudio.

a) Cambios nuevos identificados en este estudio.

b) Dos de estos individuos fueron heterocigotos compuestos para las dos mutaciones.

Tipo	Subtipo	Gen	Número de individuos	Mutaciones identificadas	No. de individuos con la mutación	Polimorfismos identificados
USH I	USH1B	MYO7A	6	c.1900C>T p.R634X c.5956C>T p.R1986X ^a	1 2	c.1936-23G>A c.2035G>A p.V679I c.5326+13C>T
	USH1D	CDH23	1	-	-	c.4738G>A p.A1580T
	USH1F	PCDH15	1	-	-	c.55T>G p.S19A
	USH1G	SANS	1	-	-	-
	No segregación	-	1	-	-	-
	No identificado	-	35	-	-	-
USH II	USH2A	USH2A	13	c.2299delG c.1000C>T p.R334W g.129G>T ^a	7 ^b 4 ^b 1	c.504A>G p.T168T c.1931A>T p.D644V c.4457G>A p.R1486K c.4252-24 _ 13delCTTT ^a
	USH2C	VLGR1b	1	-	-	c.8567-60G>T c.18625-7T>C
	No identificado	-	13	-	-	-

y en sus 2 hermanos afectados. Adicionalmente se identificó en estado heterocigoto en otros 6 individuos no relacionados, en 4 de ellos el otro alelo aún no ha sido identificado y en los otros dos se identificó en estado heterocigoto compuesto con la mutación p.R334W. La mutación, p.R334W presente en el exón 6 previamente reportada (28), también fue identificada en dos individuos no relacionados en estado homocigoto para una frecuencia alélica del 11.1%. La tercera mutación, reportada por los autores previamente (29), se identificó en el exón 1 en la región 5'UTR, en un individuo perteneciente a una familia consanguínea con 3 individuos afectados. Se trata de una transversión G→T en la posición 129, a 259 pb corriente arriba del codón de inicio ATG. El cambio se encuentra en estado homocigoto en los 3 individuos afectados y en estado heterocigoto en todos los demás individuos de la familia. El cambio no fue identificado en 100 controles sanos colombianos. En la familia clasificada como USH2C, no se identificó mutación.

DISCUSIÓN

De la población analizada se diagnosticó un 62.5% como USH1 y 37.5% como USH2. Estudios en Europa muestran una proporción de 25-44% de

USH1, 56-75% de USH2 y cerca del 2% de USH3 (30-32). En el presente estudio, la proporción de individuos con USH2 puede estar siendo subestimada dado que el tamizaje se realizó en escuelas para sordos donde la mayoría presenta pérdidas profundas y por lo tanto hay menos casos tipo 2; mientras que en los países europeos la población suele obtenerse en clínicas oftalmológicas (30-32), en las que identifican más fácilmente los tipo 2 puesto que se realiza el estudio audiológico en población con RP y de este modo logran la detección de individuos con hipoacusias leves o moderadas. Adicionalmente, el diagnóstico del USH2 suele realizarse tardíamente, debido a la edad de aparición de la RP.

Se logró definir el subtipo genético en 23 individuos (31.5%) y la mutación causal en 14 de ellos (19.2%). Un estudio piloto realizado por Tamayo y cols, reveló resultados iniciales que mostraban una mayor frecuencia de los subtipos USH1B y USH2A, lo que ya concordaba con la literatura mundial (33). En este nuevo trabajo, se logró ampliar la muestra y así tener una visión más global de las frecuencias de los subtipos en Colombia. En la tabla 2 se observan las frecuencias de los subtipos dentro de la población genotipificada en este estudio. Una familia tipo I y la familia tipo III

Tabla 2. Frecuencias de los subtipos identificados en la población genotipificada.

Tipo clínico	Subtipo genético	Número de familias	Frecuencia dentro del tipo clínico
Tipo I	USH1B	6	66,7%
	USH1D	1	11,1%
	USH1F	1	11,1%
	USH1G	1	11,1%
Tipo II	USH2A	13	92,8%
	USH2C	1	7,1%
TOTAL		23	

no mostraron segregación con los *loci* conocidos para el síndrome de Usher, lo que deja abierta la posibilidad de proponer al menos un locus nuevo asociado a esta enfermedad.

Los resultados de este trabajo podrían ser comparables con un análisis mutacional de los genes USH1 realizado en los Estados Unidos y el Reino Unido, el cual revela una proporción de USH1B del 39% y de USH1D del 35%, seguidas por un 7% de USH1C, un 11% de USH1F y un 7% de USH1G (34). Los resultados en la población colombiana son concordantes con este reporte en cuanto a la menor proporción de casos USH1F y USH1G; aunque difieren con respecto a las frecuencias de los subtipos USH1C y USH1D, siendo este último el segundo subtipo más común para USH1 en el estudio de la referencia. Según estos resultados, es posible plantear la hipótesis de que la frecuencia de estos subtipos en Colombia es más baja que en otras poblaciones.

Entre los individuos USH1 se identificaron dos mutaciones, las dos en el gen *MYO7A*. La muta-

ción p.R634X, revela con una frecuencia alélica de 2.2% en la población con USH1, y muestra una frecuencia baja en los reportes de la literatura mundial es decir que es igual a lo reportado (27). Esta mutación se encuentra en el dominio de cabeza motora de la proteína mirosina VIIA (figura 3). La segunda mutación identificada, p.R1986X, con una frecuencia alélica de 3.3% en individuos con USH1. Esta mutación es nueva identificada en este estudio y podría tratarse de una mutación propia de población colombiana. Este cambio da como resultado una proteína de solo 1985 aminoácidos, 190 aminoácidos menos que la proteína silvestre. Se encuentra ubicada en el dominio de cola de la proteína (figura 3). La predicción de la proteína indica que pierde el último dominio FERM, importante para la interacción con la proteína Sans en la red de proteínas USH (35, 36). No se lograron identificar las mutaciones causales de la enfermedad en las familias USH1D, USH1F y USH1G, a pesar de que se secuenciaron los exones con más alta mutabilidad, lo que evidencia un comportamiento mutacional diferente a lo reportado.

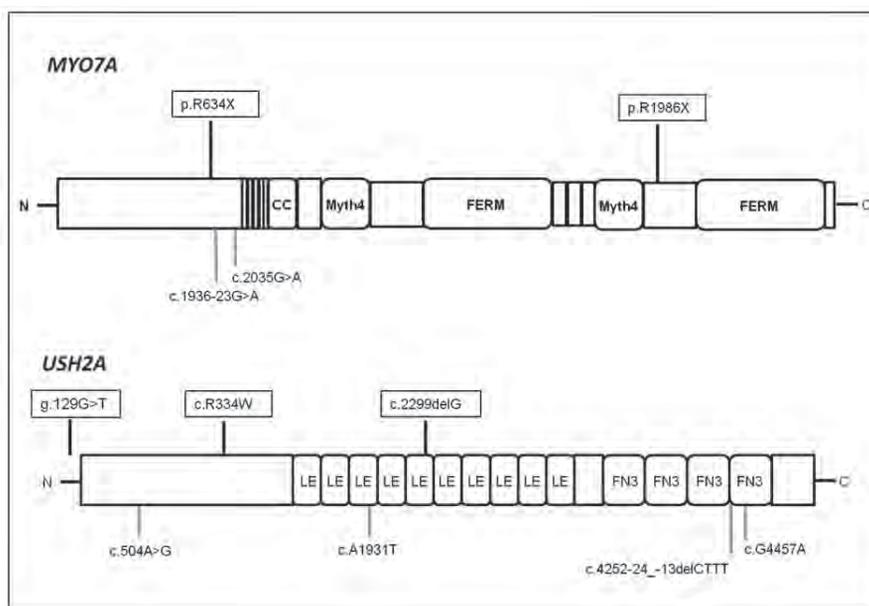


Figura 3. Esquema de los genes MYO7A y USH2A. Ubicación de las mutaciones (enmarcadas en cajas) y los polimorfismos identificados en este estudio.

El 93,8% de los individuos USH2 genotipificados fueron clasificados como USH2A, una frecuencia concordante con la observada a nivel mundial de 90 a 95% (19, 37-39). En resumen, fueron identificadas tres mutaciones en el gen *USH2A*. De un total de 13 individuos USH2A, se identificó la mutación causal en 10 de ellos. En este estudio, la mutación c.2299delG representa una frecuencia alélica del 14.8% y una frecuencia en la población analizada de 25.9%. Ésta se considera la mutación más frecuente en el subtipo USH2A, siendo responsable del fenotipo en el 22 al 25% de las familias USH2A (40, 41). Si se observa la frecuencia alélica en la población estudiada, la mutación c.1000C>T es casi tan frecuente (11.1%) como la c.2299delG, aunque en otras poblaciones su frecuencia no es tan significativa (42, 43). Esta mutación es la segunda mutación más frecuente para USH2A en población colombiana analizada. El cambio g.129G>T, no ha sido identificado previamente en otras poblaciones y presenta una frecuencia del 3.7%. Se definió como mutación porque cumple con 2 de los 3 criterios establecidos: se segrega con la enfermedad y no está presente en población sana (29). Posteriores estudios serán necesarios para definir si causa alteraciones en la expresión de la proteína. Recientemente se han reportado estudios que demuestran la presencia de un gran número de mutaciones en los demás exones que componen la isoforma larga del gen *USH2A* (51 exones adicionales) (44), lo que demuestra que en un futuro, cuando se logre secuenciar la totalidad del gen, se podrá genotipificar a la mayor parte de la población colombiana con USH2.

No se logró identificar mutación alguna en la familia USH2C. El estudio del gen *VLGR1b* asociado a este subtipo, se ha tornado difícil a nivel mundial ya que pocas familias son clasificadas como USH2C y el gen es muy grande (90 exones), lo que dificulta la búsqueda de mutaciones. Recientemente, se reportó una nueva delección asociada

con este fenotipo (45), pero es claro que sólo la secuenciación total del gen podrá aportar datos concluyentes acerca de la presencia de mutaciones en este gen.

En conclusión, en este estudio se logró identificar el subtipo genético en el 31.5% y la mutación causal en el 19% de la población. Se identificaron tres mutaciones previamente reportadas y dos mutaciones nuevas en los genes *MYO7A* y *USH2A*. Estos resultados muestran un buen inicio para establecer un panel mutacional propio de población colombiana. Los resultados permiten obtener una visión global de la distribución de los subtipos genéticos del síndrome de Usher en Colombia. Estos resultados son los primeros reportados en Colombia, constituyen la única bibliografía referenciada sobre el tema en el país y en Sur America. Los hallazgos del trabajo resaltan la importancia de crear un panel diagnóstico mutacional propio de población colombiana, con el que se pueda definir el diagnóstico certero desde temprana edad o en tamizajes neonatales de la población general y establecer una correlación genotipo-fenotipo en población sorda afectada de esta enfermedad. Definir el correcto tipo clínico y el correspondiente subtipo genético de la enfermedad, es una herramienta importante que se puede ofrecer a los pacientes con esta forma de sordoceguera, lo que permite el análisis preciso del fenotipo y facilita el diagnóstico temprano.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Hospital Universitario San Ignacio en Bogotá y al Dr. Vicente Rodríguez Montoya, por las valoraciones audiológicas. A la Fundación Oftalmológica Nacional, a los Drs. David Medina y Silvia Flórez, por las evaluaciones oftalmológicas y a Martha Moncayo por los ERGs. A los Drs. William Kimberling, Richard Smith y Hela Azaiez de la Universidad de Iowa EE.UU. Especial

agradecimiento a los pacientes y sus familias por participar en nuestro programa nacional de tamizaje del Síndrome de Usher.

REFERENCIAS

1. Boughman JA, Vernon M, Shaver KA. Usher syndrome: definition and estimate of prevalence from two high-risk populations. *J Chronic Dis.* 1983;36(8):595-603.
2. Keats BJ, Corey DP. The usher syndromes. *Am J Med Genet.* 1999 Sep 24;89(3):158-66.
3. Tamayo M, Bernal JE, Tamayo GE, Frias JL. Study of the Etiology of Deafness in an Institutionalized Population in Colombia. *Am J Med Genet.* 1992;44:405-8.
4. Tamayo ML, Bernal JE, Tamayo GE, Frias JL, Alvira G, Vergara O, et al. Usher syndrome: results of a screening program in Colombia. *Clin Genet.* 1991 Oct;40(4):304-11.
5. Tamayo ML, Maldonado C, Plaza SL, Alvira GM, Tamayo GE, Zambrano M, et al. Neuroradiology and clinical aspects of Usher syndrome. *Clin Genet.* 1996 Sep;50(3):126-32.
6. Pakarinen L, Tuppurainen K, Laippala P, Mantyjarvi M, Puhakka H. The ophthalmological course of Usher syndrome type III. *Int Ophthalmol.* 1995;19(5):307-11.
7. Kimberling WJ, Moller CG, Davenport S, Priluck IA, Beighton PH, Greenberg J, et al. Linkage of Usher syndrome type I gene (USH1B) to the long arm of chromosome 11. *Genomics.* 1992 Dec;14(4):988-94.
8. Keats BJ, Nouri N, Pelias MZ, Deininger PL, Litt M. Tightly linked flanking microsatellite markers for the Usher syndrome type I locus on the short arm of chromosome 11. *Am J Hum Genet.* 1994 Apr;54(4):681-6.
9. Wayne S, Der Kaloustian VM, Schloss M, Polomeno R, Scott DA, Hejtmancik JF, et al. Localization of the Usher syndrome type ID gene (Ush1D) to chromosome 10. *Hum Mol Genet.* 1996 Oct;5(10):1689-92.
10. 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 Jan;6(1):27-31.
11. Wayne S, Der Kaloustian V, Schloss M, Polomeno R, Scott DA, Sheffield VC, et al. Localization of Usher syndrome type 1F to chromosome 10. *Am J Hum Genet.* 1997;61:A300.
12. Mustapha M, Chouery E, Torchard-Pagnez D, Nouaille S, Khrais A, Sayegh FN, et al. A novel locus for Usher syndrome type I, USH1G, maps to chromosome 17q24-25. *Hum Genet.* 2002 Apr;110(4):348-50.
13. Ahmed ZM, Riazuddin S, Khan SN, Friedman PL, Friedman TB. USH1H, a novel locus for type I Usher syndrome, maps to chromosome 15q22-23. *Clin Genet.* 2009 Jan;75(1):86-91.
14. Weil D, Blanchard S, Kaplan J, Guilford P, Gibson F, Walsh J, et al. Defective myosin VIIA gene responsible for Usher syndrome type 1B. *Nature.* 1995 Mar 2;374(6517):60-1.
15. Verpy E, Leibovici M, Zwaenepoel I, Liu XZ, Gal A, Salem N, et al. A defect in harmonin, a PDZ domain-containing protein expressed in the inner ear sensory hair cells, underlies Usher syndrome type 1C. *Nat Genet.* 2000 Sep;26(1):51-5.
16. Bork JM, Peters LM, Riazuddin S, Bernstein SL, Ahmed ZM, Ness SL, et al. Usher syndrome 1D and nonsyndromic autosomal recessive deafness DFNB12 are caused by allelic mutations of the novel cadherin-like gene CDH23. *Am J Hum Genet.* 2001 Jan;68(1):26-37.
17. Ahmed ZM, Riazuddin S, Bernstein SL, Ahmed Z, Khan S, Griffith AJ, et al. Mutations of the protocadherin gene PCDH15 cause Usher syndrome type 1F. *Am J Hum Genet.* 2001 Jul;69(1):25-34.
18. Weil D, El-Amraoui A, Masmoudi S, Mustapha M, Kikkawa Y, Laine S, et al. Usher syndrome type I G (USH1G) is caused by mutations in the gene encoding SANS, a protein that associates with the USH1C protein, harmonin. *Hum Mol Genet.* 2003 Mar 1;12(5):463-71.
19. Kimberling WJ, Weston MD, Moller C, van Aarem A, Cremers CW, Sumegi J, et al. Gene mapping of Usher syndrome type IIa: localization of the gene to a 2.1-cM segment on chromosome 1q41. *Am J Hum Genet.* 1995 Jan;56(1):216-23.
20. Hmani M, Ghorbel A, Boulila-Elgaied A, Ben Zina Z, 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 Apr;7(3):363-7.
21. Ebermann I, Scholl HP, Charbel Issa P, Becirovic E, Lamprecht J, Jurklics B, et al. A novel gene for Usher syndrome type 2: mutations in the long isoform of whirlin are associated with retinitis pigmentosa and sensorineural hearing loss. *Hum Genet.* 2007 Apr;121(2):203-11.
22. Weston MD, Luijendijk MW, Humphrey KD, Moller C, Kimberling WJ. Mutations in the VLRG1 gene implicate G-protein signaling in the pathogenesis of Usher syndrome type II. *Am J Hum Genet.* 2004 Feb;74(2):357-66.
23. Gasparini P, De Fazio A, Croce AI, Stanziale P, Zelante L. Usher syndrome type III (USH3) linked to chromosome 3q in an Italian family. *J Med Genet.* 1998 Aug;35(8):666-7.
24. Adato A, Vreugde S, Joensuu T, Avidan N, Hamalainen R, Belenkiy O, et al. USH3A transcripts encode clarin-1, a four-transmembrane-domain protein with

- a possible role in sensory synapses. *Eur J Hum Genet.* 2002 Jun;10(6):339-50.
25. Dad S, Ostergaard E, Thykjaer T, Albrechtsen A, Ravn K, Rosenberg T, et al. Identification of a novel locus for a USH3 like syndrome combined with congenital cataract. *Clin Genet.* 2010 Mar 1.
 26. Eudy JD, Weston MD, Yao S, Hoover DM, Rehm HL, Ma-Edmonds M, et al. Mutation of a gene encoding a protein with extracellular matrix motifs in Usher syndrome type IIa. *Science.* 1998 Jun 12;280(5370):1753-7.
 27. Weston MD, Carney C, Rivedal SA, Kimberling BJ. Spectrum of myosin VIIA mutations causing Usher syndrome type 1b. *Assoc Res Otolaryngol.* 1998;Abs:46.
 28. Adato A, Weston MD, Berry A, Kimberling WJ, Bonne-Tamir A. Three novel mutations and twelve polymorphisms identified in the USH2A gene in Israeli USH2 families. *Hum Mutat.* 2000 Apr;15(4):388.
 29. Lopez G, Gelvez N, Tamayo ML. Frecuencia de mutaciones en el gen de la usherina (USH2A) en 26 individuos colombianos con síndrome de Usher tipo II. *Biomédica.* 2011;31(1):[Epub ahead of print]
 30. Hope CI, Bunday S, Proops D, Fielder AR. Usher syndrome in the city of Birmingham--prevalence and clinical classification. *Br J Ophthalmol.* 1997 Jan;81(1):46-53.
 31. Rosenberg T, Haim M, Hauch AM, Parving A. The prevalence of Usher syndrome and other retinal dystrophy-hearing impairment associations. *Clin Genet.* 1997 May;51(5):314-21.
 32. Spandau UH, Rohrschneider K. Prevalence and geographical distribution of Usher syndrome in Germany. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2002 Jun;240(6):495-8.
 33. Tamayo ML, Lopez G, Gelvez N, Medina D, Kimberling WJ, Rodriguez V, et al. Genetic counseling in Usher syndrome: linkage and mutational analysis of 10 Colombian families. *Genet Couns.* 2008;19(1):15-27.
 34. Ouyang XM, Yan D, Du LL, Hejtmancik JF, Jacobson SG, Nance WE, et al. Characterization of Usher syndrome type I gene mutations in an Usher syndrome patient population. *Hum Genet.* 2005 Mar;116(4):292-9.
 35. Wolfrum U. The cellular function of the usher gene product myosin VIIa is specified by its ligands. *Adv Exp Med Biol.* 2003;533:133-42.
 36. Reiners J, Nagel-Wolfrum K, Jurgens K, Marker T, Wolfrum U. Molecular basis of human Usher syndrome: deciphering the meshes of the Usher protein network provides insights into the pathomechanisms of the Usher disease. *Exp Eye Res.* 2006 Jul;83(1):97-119.
 37. Kimberling WJ, Weston MD, Moller C, Davenport SL, Shugart YY, Priluck IA, et al. Localization of Usher syndrome type II to chromosome 1q. *Genomics.* 1990 Jun;7(2):245-9.
 38. Lewis RA, Otterud B, Stauffer D, Lalouel JM, Lepert M. Mapping recessive ophthalmic diseases: linkage of the locus for Usher syndrome type II to a DNA marker on chromosome 1q. *Genomics.* 1990 Jun;7(2):250-6.
 39. Pieke Dahl S, Kimberling WJ, Gorin MB, Weston MD, Furman JM, Pikus A, et al. Genetic heterogeneity of Usher syndrome type II. *J Med Genet.* 1993 Oct;30(10):843-8.
 40. Beneyto MM, Cuevas JM, Millan JM, Espinos C, Mateu E, Gonzalez-Cabo P, et al. Prevalence of 2314delG mutation in Spanish patients with Usher syndrome type II (USH2). *Ophthalmic Genet.* 2000 Jun;21(2):123-8.
 41. Liu XZ, Hope C, Liang CY, Zou JM, Xu LR, Cole T, et al. A mutation (2314delG) in the Usher syndrome type IIA gene: high prevalence and phenotypic variation. *Am J Hum Genet.* 1999 Apr;64(4):1221-5.
 42. Ouyang XM, Hejtmancik JF, Jacobson SG, Li AR, Du LL, Angeli S, et al. Mutational spectrum in Usher syndrome type II. *Clin Genet.* 2004 Apr;65(4):288-93.
 43. Leroy BP, Aragon-Martin JA, Weston MD, Bessant DA, Willis C, Webster AR, et al. Spectrum of mutations in USH2A in British patients with Usher syndrome type II. *Exp Eye Res.* 2001 May;72(5):503-9.
 44. McGee TL, Seyedahmadi BJ, Sweeney MO, Dryja TP, Berson EL. Novel mutations in the long isoform of the USH2A gene in patients with Usher syndrome type II or non-syndromic retinitis pigmentosa. *J Med Genet.* 2010 May 27.
 45. Hilgert N, Kahrizi K, Dieltjens N, Bazazzadegan N, Najmabadi H, Smith RJ, et al. A large deletion in GPR98 causes type IIC Usher syndrome in male and female members of an Iranian family. *J Med Genet.* 2009 Apr;46(4):272-6.