

**ROYAUME DU MAROC**  
**UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH**  
**FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE**

**FES**



**LES SURDITES GENETIQUES NON SYNDROMIQUES  
LIEES AUX MUTATIONS DU GENE DE LA CONNEXINE 26  
(A PROPOS DE 1010 CAS )**

**MEMOIRE PRESENTE PAR :**

**Docteur TAYBI ZAINAB**

**Née le 25 Octobre 1982 à Méknès**

**POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALITE EN MEDECINE  
OPTION : Oto-Rhino-Laryngologie**

**Sous la direction de :  
Professeur EL ALAMI EL AMINE MOHAMED NOUR-DINE**

**Juin 2014**

# PLAN:

|      |   |    |
|------|---|----|
| I-   | Introduction.....   | 3  |
| II-  | Notions fondamentales.....  | 6  |
|      | A- Rappel morphologique de la cochlée .....                             | 7  |
|      | B- Rappel histologique .....  | 8  |
|      | C- Bases fonctionnelles de la cochlée.....                              | 18 |
| III- | La surdité neurosensorielle d'origine génétique .....                   | 21 |
|      | A- Modes de transmission .....  | 22 |
|      | 1- Transmission autosomique récessive.....                              | 22 |
|      | 2- Transmission autosomique dominante .....                             | 22 |
|      | 3- Transmission liée à l'X.....   | 23 |
|      | 4- Transmission par le génome mitochondrial .....                       | 23 |
|      | B- Classification .....   | 27 |
|      | 1- Surdités non syndromiques.....                                       | 27 |
|      | 2- Surdités syndromiques .....  | 28 |
| IV-  | La surdité liée à la Connexine 26 .....                                 | 31 |
|      | A- Connexine 26 .....   | 32 |
|      | 1- Définition .....   | 32 |
|      | 2- Gène codant .....  | 32 |
|      | 3- Rôle .....   | 36 |
|      | B- Physiopathologie.....  | 37 |
|      | 1- Mutations du gène de la Cx26 .....                                   | 37 |
|      | 2- Théories actuelles sur les mécanismes de surdité liée à la Cx26 .... | 39 |
|      | C- Corrélations génotype-phénotype clinique.....                        | 41 |
| V-   | Matériel et méthodes.....   | 43 |
|      | A- Patients et critères d'exclusion .....                               | 44 |
|      | B- Analyse génétique.....   | 45 |
|      | 1- Extraction de l'ADN .....  | 45 |
|      | 2- Analyse séquentielle du gène GJB2 .....                              | 45 |
| VI-  | Résultats .....   | 46 |
|      | A- Données épidémiologiques .....                                       | 47 |
|      | B- Données cliniques.....   | 49 |
|      | C- Résultats moléculaires et génétiques.....                            | 50 |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| VII-  | Discussion.....   | 55 |
|       | A- Analyse phénotypique.....  | 56 |
|       | B- Implication du gène GJB2 dans la surdité non syndromique autosomique<br>récursive au Maroc ..... | 57 |
| VIII- | Conclusion .....  | 63 |
| IX-   | Références .....  | 65 |

# INTRODUCTION

La surdité constitue le déficit sensoriel le plus fréquent. Elle affecte environ 1 enfant sur 1000 et sa prévalence augmente avec l'âge [1]. Actuellement, l'origine génétique est incriminée dans 60-70% des cas [2].

Les surdités génétiques peuvent être syndromiques (associées à d'autres signes cliniques) ou non syndromiques (sans anomalies phénotypiques associées). Le mode de transmission autosomique récessif est prédominant (près de 80%), les formes autosomiques dominantes (20%), liées à l'X (1%) et mitochondriales (<1%) ont également été décrites.

Les surdités génétiques sont, dans la grande majorité des cas, des maladies monogéniques : l'atteinte d'un seul gène est en cause dans chaque forme de surdité et la déficience auditive est le plus souvent due à une atteinte cochléaire [3].

Les différentes formes de surdité non syndromiques ont, en général, été caractérisées par une analyse de liaison génétique dans de grandes familles, permettant de définir un locus, région du génome contenant le gène atteint. Le gène a souvent été identifié dans un second temps et, dans quelques cas, un locus s' st avéré contenir deux gènes de surdité. Une codification internationale a été établie pour nommer chaque locus de surdité non syndromique. Par convention et à mesure de la découverte des loci, le code commence soit par DFNA (pour *deafness*, autosomique dominant) soit par DFNB (pour *deafness*, autosomique récessif), soit par DFNX (pour *deafness*, liée à l'X).

On donne ensuite un numéro par ordre de découverte : DFNB1   98, DFNA1   64.

Plus de 40 gènes incriminés dans les surdités non syndromiques ont été identifiés à ce jour. Dans plus de 50%, elles sont attribuées au gène GJB2, qui code pour la Connexine 26; protéine transmembranaire intervenant dans le transport inter cellulaire au niveau de l'oreille interne.

Plus de 100 mutations du gène GJB2 ont été décrites à ce jour. Une mutation particulière de ce gène; la 35delG est la plus fréquente chez la population européenne [3].

Les mutations de la Connexine 26 sont responsables d'une surdité neurosensorielle congénitale modérée à profonde bilatérale et symétrique non syndromique. Le mode de transmission est le plus souvent autosomique récessif. Une transmission autosomique dominante a été également décrite dans la littérature [4,5].

L'objectif de ce travail est de: déterminer la prévalence et le spectre des mutations du gène codant pour la Connexine 26 (GJB2) et en particulier la mutation 35delG au sein de la population marocaine en vue d'établir un phénotype clinique, de proposer un conseil génétique plus précis, basé sur des données scientifiques et de mettre en œuvre les moyens de réhabilitation adaptés pour un développement optimal dans tous les domaines: perceptif, linguistique, cognitif, affectif et social.

# NOTIONS FONDAMENTALES

La cochlée représente l'organe de l'audition. Elle est formée par un labyrinthe osseux protégeant un labyrinthe membraneux; long tube épithélial différencié par endroits en structures sensorielles : le canal cochléaire dévolu à l'audition et plus précisément à la perception des stimuli sonores.

## A- Rappel morphologique de la cochlée :

La cochlée est un tube recouvert par une paroi osseuse, la capsule otique. Elle est formée de trois rampes enroulées en spirale autour d'un axe osseux portant le nom de modiolus. (Figure 1) Les rampes vestibulaire et tympanique sont remplies de périlymphe et forment le compartiment périlymphatique. Elles communiquent entre elles à la partie la plus apicale de la spirale cochléaire, par un orifice portant le nom d'hélicotrème et sont isolées de l'oreille moyenne à la partie la plus basale de la spirale cochléaire par la fenêtre ovale et la fenêtre ronde. Ces deux rampes entourent le canal cochléaire rempli d'endolymphe.

Le canal cochléaire est prismatique en coupe et présente trois faces:

- Une paroi supérieure ou vestibulaire: la membrane de Reissner qui sépare le canal cochléaire de la rampe vestibulaire.
- Une paroi externe formée par le ligament spiral. Celui-ci représente une zone d'adhérence entre le canal cochléaire et l'endoste du limaçon. De haut en bas, la face interne du ligament spiral présente les reliefs suivants:
  - La crête où s'insère la membrane de Reissner.
  - La strie vasculaire, seul épithélium vascularisé de l'organisme. Ce serait le lieu principal supposé de la sécrétion de l'endolymphe.
  - Le bourrelet spiral soulevé par un canal veineux.
  - La crête basilaire où s'insère la membrane basilaire.

- Une paroi inférieure qui sépare le canal cochléaire de la rampe tympanique. Elle est constituée par la membrane basilaire tendue entre la lame spirale osseuse et la crête basilaire du ligament spiral. Sur la membrane basilaire repose l'organe de Corti, siège de la mécano-transduction.

## B- Rappel histologique :

L'organe de Corti (figure n°2) est l'élément sensoriel où sont situés les récepteurs de l'audition. Il s'enroule de la base à l'apex de la spirale cochléaire et repose sur la membrane basilaire entre deux sillons: le sillon spiral interne et le sillon spiral externe. Il est composé de cellules sensorielles, de fibres nerveuses, de cellules de soutien et de cellules annexes non sensorielles [5].

### 1- Les cellules sensorielles :

Elles sont représentées par trois rangées de cellules ciliées externes et une seule rangée de cellules ciliées internes.

Les stéréocils, principalement constitués d'actine, surmontent les cellules ciliées et sont disposés sur trois rangées.

Ils sont reliés entre eux par de nombreux liens constitués par l'association de plusieurs cadhérines 23. [6,7] Les plus longs stéréocils des CCE sont ancrés dans une structure amorphe recouvrant l'organe de Corti : la membrane tectoriale. Cette dernière est composée de fibres de collagène et par des protéines telles que l'a- et b-tectorine et l'otogeline. [8,9]

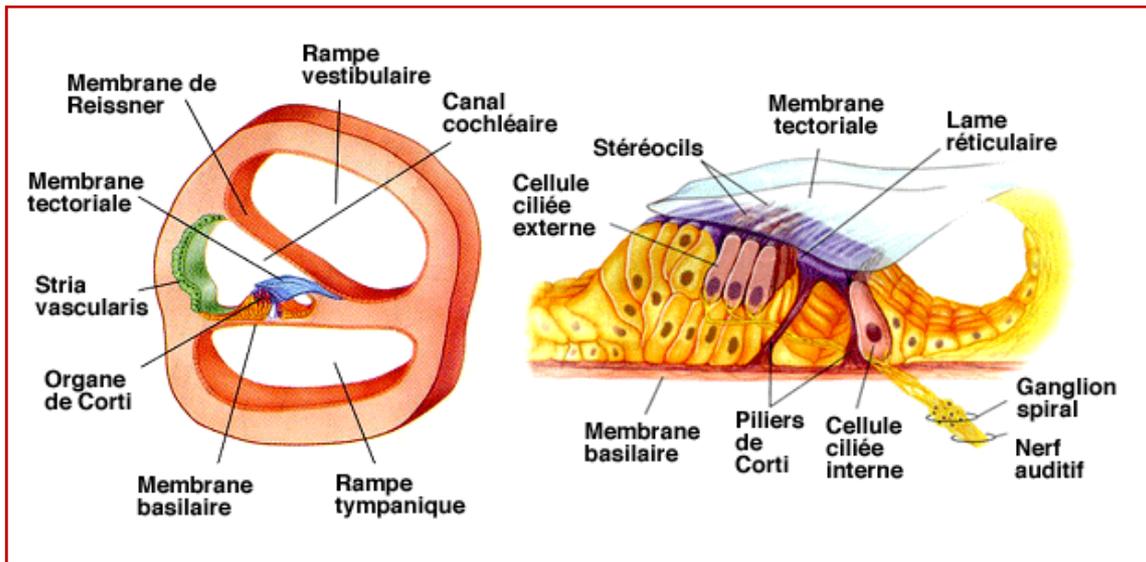


Figure n°1: coupe de la cochlée dans l'axe du modiolus [5']

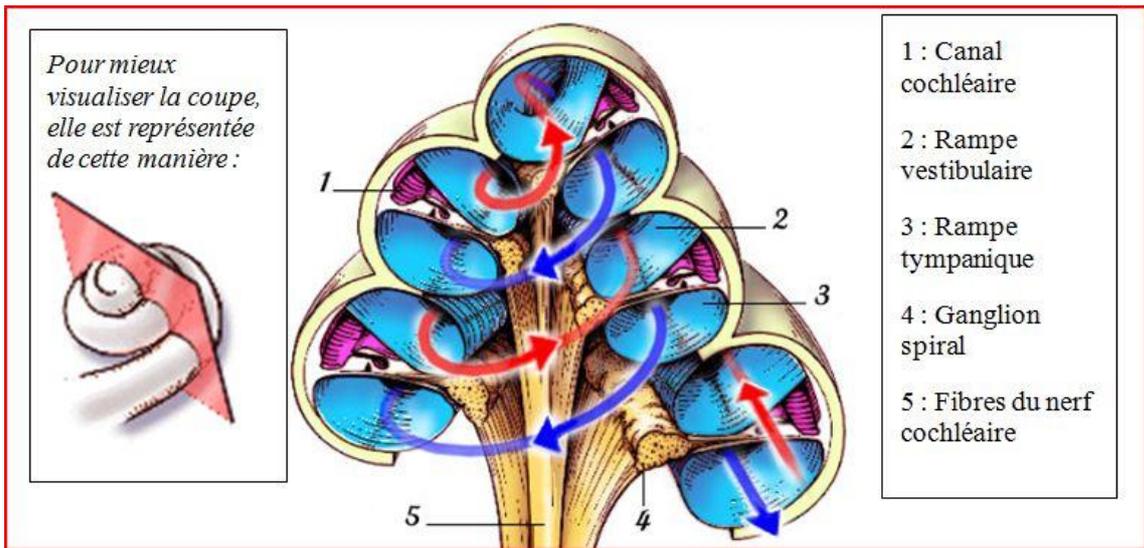


Figure n°2: coupe axiale passant par le canal cochléaire avec agrandissement de l'organe de Corti [5']

## 2- Les cellules sensorielles :

Elles sont représentées par trois rangées de cellules ciliées externes et une seule rangée de cellules ciliées internes.

Les stéréocils, principalement constitués d'actine, surmontent les cellules ciliées et sont disposés sur trois rangées. Ils sont reliés entre eux par de nombreux liens constitués par l'association de plusieurs cadhérines 23. [6,7] Les plus longs stéréocils des CCE sont ancrés dans une structure amorphe recouvrant l'organe de Corti : la membrane tectoriale. Cette dernière est composée de fibres de collagène et par des protéines telles que l'a- et b-tectorine et l'otogeline. [8,9]

Les CCE ont pour rôle d'amplifier l'onde sonore et les CCI de traduire l'information sonore en message nerveux.

### 1. Cellules ciliées externes :

Les cellules ciliées externes, situées sur le bord externe de la spirale cochléaire, sont organisées en trois rangées et sont au nombre d'environ 13 000 par cochlée chez l'homme. D'un point de vue morphologique, les CCE ont une forme parfaitement cylindrique et leur longueur croît régulièrement de la base à l'apex de la cochlée. Leurs stéréocils sont disposés en W sur leur plaque cuticulaire.

Les CCE sont séparées latéralement entre elles par les espaces de Nuel. Elles ne sont en contact avec les cellules de Deiters qu'à leur pôle apical et basal. Le pôle apical des CCE et l'extrémité des phalanges de Deiters forment la lame réticulaire, une mosaïque parfaitement étanche à l'endolymphe. La paroi latérale est tapissée d'un complexe de citernes latérales et de mitochondries. Le noyau des CCE est situé à la base des cellules, juste au-dessus du compartiment synaptique qui renferme de nombreuses mitochondries.

Il semble exister d'importantes variations des propriétés électriques des CCE en fonction de leur position sur la membrane basilaire. Ainsi, les CCE de la base ne

semblent pas avoir de réponse électrique continue, tandis que les CCE des régions plus apicales en ont. Les CCE présentent une très haute sélectivité fréquentielle.

## 2. Cellules ciliées internes :

Les CCI se distinguent des CCE par la forme en poire de leur corps cellulaire (Figure n°3). Au nombre de 3 500 par cochlée, elles sont situées sur le bord interne de l'organe de Corti et sont organisées sur une seule rangée. Contrairement aux CCE, les stéréocils sont disposés en ligne et ne sont pas ancrés dans la membrane tectoriale. Le noyau est en position médiane et la membrane plasmique latérale est classique. Bien que trois fois moins nombreuses que les CCE, les CCI sont les véritables cellules sensorielles. Elles assurent à la fois la transduction de la vibration mécanique en signal électrique et le transfert de l'information par la libération de neurotransmetteur sur les fibres du nerf auditif. Les zones actives des CCI sont caractérisées par la présence d'une structure dense aux électrons appelée bâtonnet (Figure n°4). Ces corps synaptiques sont ancrés à la membrane plasmique et entourés de vésicules synaptiques, lesquelles contiennent le neurotransmetteur des CCI. Généralement, il y a un seul bâtonnet par zone active et une dizaine de zones actives par CCI. Chaque zone active est connectée par la terminaison d'une seule fibre du nerf auditif. Ces cellules présentent un potentiel de repos négatif de  $-40$  mV à la base et de  $-32$  mV à l'apex. Lorsque la cellule est stimulée par un son, elle présente une réponse électrique à deux composantes. La composante continue reproduit l'enveloppe de la stimulation acoustique tandis que la composante alternative en suit la fréquence. Chaque CCI a une réponse électrophysiologique très dépendante de la fréquence du son stimulant.

### 3- Les cellules de soutien :

Elles supportent les cellules sensorielles et entourent complètement les cellules ciliées internes.

On distingue 3 types de cellules:

- Les cellules de Deiters reposent sur la membrane basilaire. Leur pôle supérieur déprimé en cupule reçoit et ancre solidement la base des cellules ciliées externes. Leur apex émet un prolongement (phalange) dont l'extrémité supérieure s'élargit en plateau et comble les espaces en « haltère » séparant les cellules ciliées.
- Les cellules de Hensen sont placées en dehors des cellules de Deiters et tapissent la lèvre interne du sillon spiral externe.
- Les piliers forment deux rangées de cellules qui s'écartent à leur base et se rejoignent à leur sommet en délimitant le tunnel de Corti contenant la cortilymphe.

Enfin, l'ensemble des pôles supérieurs des cellules ciliées externes, des phalanges des cellules de Deiters et des apex élargis en plateau des piliers, toutes cellules reliées par des jonctions serrées, forment la membrane réticulaire. Cette membrane isole le compartiment endolympatique du canal cochléaire du compartiment périlymphatique. En effet, la cortilymphe contenue dans le tunnel de Corti et les espaces de Nuel est de composition peu différente de la périlymphe.

### 4- Fibres nerveuses :

L'organe de Corti reçoit une double innervation, à la fois afférente et efférente. L'innervation afférente provient des neurones de type I et II du ganglion spiral, dont les axones projettent vers les noyaux cochléaires. L'innervation efférente provient de neurones appartenant à deux systèmes distincts dont les corps cellulaires se situent

dans les noyaux du tronc cérébral. Le prolongement axonal de l'ensemble de ces neurones constitue le nerf cochléaire.

a- fibres afférentes :

L'innervation afférente de l'organe de Corti provient des neurones auditifs primaires, dont les corps cellulaires sont situés au niveau du ganglion spiral. Leurs prolongements périphériques se terminent dans l'organe de Corti, au contact des cellules ciliées, et leur prolongement central se termine dans les noyaux cochléaires du tronc cérébral. Ils sont de deux types, appelés neurones ganglionnaires de type I et neurones ganglionnaires de type II. L'innervation afférente des CCI est assurée par les neurones ganglionnaires de type I qui représentent 95 % de la population neuronale du ganglion spiral. Ce sont des neurones de grosse taille myélinisés, dont plusieurs vont contacter une même CCI. Ainsi, chez l'homme, il existe environ 30 000 neurones de type I pour 3 500 CCI.

Le neurotransmetteur utilisé par les CCI est le glutamate. [11]; acide aminé exciteur utilisé par une grande majorité des synapses du système nerveux central.

L'innervation afférente des CCE est assurée par les neurones ganglionnaires de type II (5 % de la population neuronale). Ces derniers sont plus petits que les neurones de type I et ne sont pas myélinisés.

Le prolongement périphérique de ces neurones est ramifié

. Chaque neurone de type II va ainsi établir des synapses avec une dizaine de CCE différentes.

b- Fibres efférentes :

La cochlée est un organe contrôlé par les centres supérieurs. Les cellules ciliées reçoivent une innervation massive de la part de deux systèmes efférents dont les corps cellulaires sont originaires de l'olive bulbaire. Le système efférent médian innerve directement les CCE tandis que le système efférent latéral innerve les

dendrites des fibres de type I du nerf auditif. Le système efférent latéral utilise plusieurs neurotransmetteurs dont l'acétylcholine, l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), la dopamine, et des neuromodulateurs, le "calcitonine gene-related peptide" (CGRP), les enképhalines et les dynorphines. [11]

La dopamine joue un rôle inhibiteur sur l'activité des neurones auditifs primaires. De récents travaux suggèrent que l'activité sécrétrice des différentes zones actives d'une CCI pourrait aussi contribuer aux différences d'activité spontanée des fibres innervant la CCI.

L'innervation efférente des CCE est assurée par le système olivocochléaire efférent médian par l'intermédiaire de grosses terminaisons axoniques.

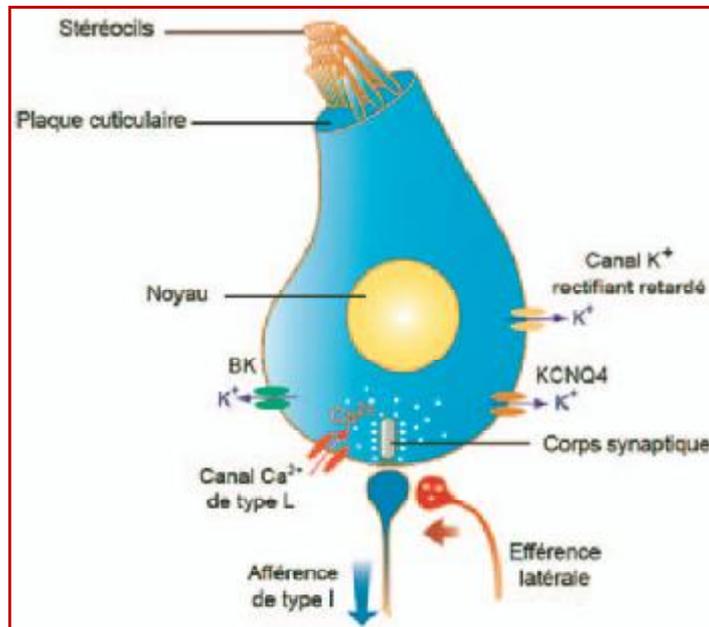


Figure n°3: représentation schématique d'une cellule ciliée interne [5']

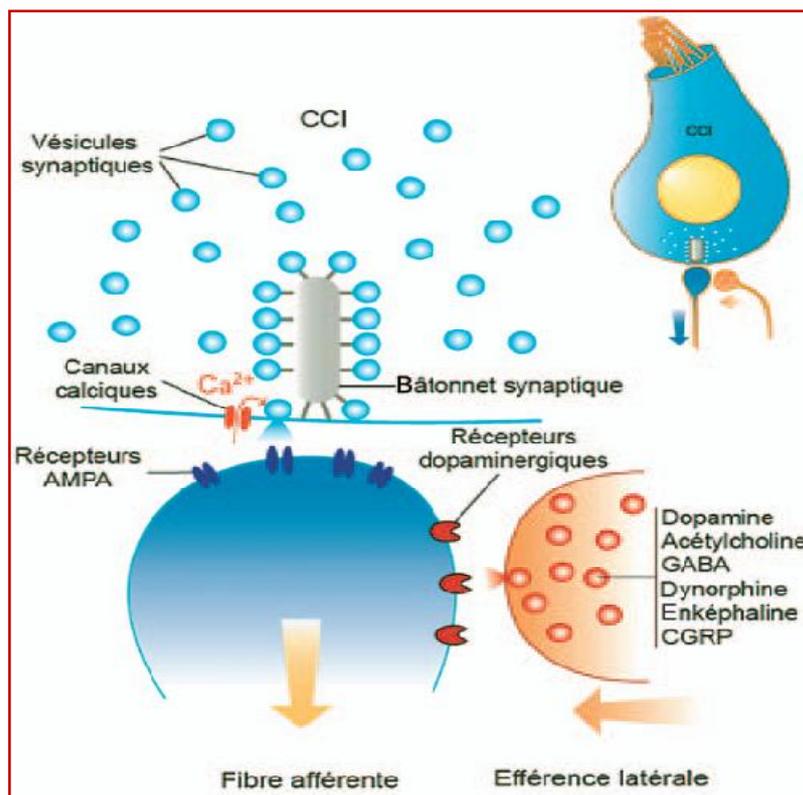


Figure n°4: synapse glutamatergique des cellules ciliées internes [5']

Le neurotransmetteur utilisé par le système efférent médian est l'acétylcholine, qui est responsable d'une hyperpolarisation des CCE (Figure n°5).

En contrôlant le potentiel de membrane des CCE, le système efférent médian module donc l'activité de ces cellules, dont le rôle majeur est d'amplifier l'intensité des ondes sonores. La réduction du gain de l'amplificateur cochléaire permet au système efférent médian d'assurer une protection aux fortes intensités de stimulation.

#### 5- Membrane tectoriale :

Acellulaire elle est constituée d'une couche superficielle fibreuse et une couche profonde gélatineuse. Elle présente trois segments :

- le segment interne, qui repose sur les cellules interdentes situées en dedans du sillon spiral interne. Ces cellules, qui lui donneraient naissance, reposent sur le limbus spiralis ;

- le segment moyen, le plus large, recouvre l'organe de Corti qui y détermine des reliefs linéaires : la ligne de Hensen, située au contact des cellules ciliées internes. En dehors, les trois rangées de cellules ciliées externes déterminent trois profondes lignes d'empreintes correspondantes. Il y aurait à ce niveau des points d'ancrage de la membrane tectoriale.

- le segment externe est au contact des cellules de Deiters et des cellules de Hensen (filet marginal).

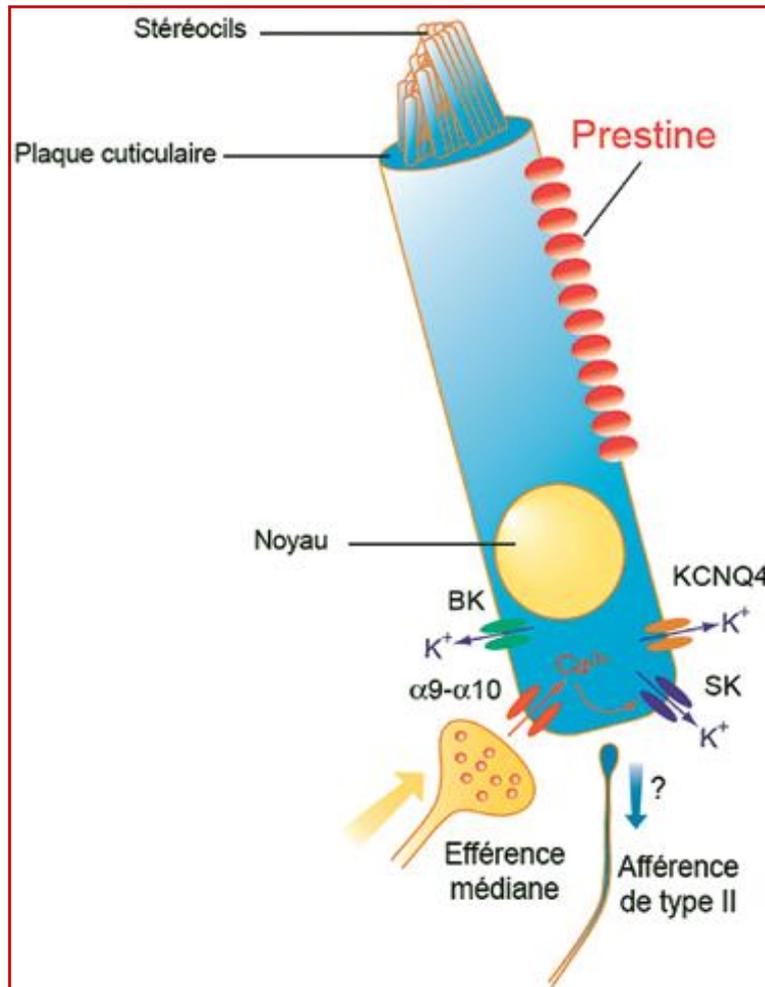


Figure n°5: représentation schématique d'une cellule ciliée externe [5']

## C- Bases fonctionnelles de la cochlée :

### 1- Sélectivité fréquentielle cochléaire :

Dans la cochlée, l'onde de pression générée par un son se propage le long de la membrane basilaire de la base à l'apex de la cochlée. La vibration atteint son amplitude maximale en un point précis, d'autant plus proche de l'apex que la fréquence de stimulation est grave; c'est la tonotopie cochléaire. En plus de cette sélectivité passive, l'organe de Corti doit sa sensibilité et sa sélectivité en fréquence à l'existence de mécanismes actifs endocochléaires. [12]

En effet, les CCE se raccourcissent en réponse à une dépolarisation et à l'inverse s'allongent en réponse à une hyperpolarisation. [13] Ces changements de taille peuvent atteindre jusqu'à 4 % de la longueur des CCE et peuvent suivre des fréquences de stimulation compatibles avec les fréquences audibles. .

Les CCE sont étroitement accordées sur la fréquence à détecter. Aux faibles intensités de stimulation acoustique, elles se contractent en phase avec les déplacements de la membrane, augmentant ainsi considérablement les déplacements des structures qui entraînent l'excitation des CCI. Si la prestine confère à la cochlée sa sensibilité et sa sélectivité en fréquence, un phénomène d'inhibition latérale associée à l'électromotilité des CCE pourrait aussi participer à la sélectivité en fréquence. En effet, la contraction d'une CCE en réponse à un saut de potentiel dépolarisant entraîne l'hyperpolarisation de la CCE voisine, et par conséquent son allongement.

Du côté des CCI, le nombre de synapses varie en fonction de la position sur la membrane basilaire. En effet, on trouve davantage de contacts synaptiques entre les CCI et les neurones ganglionnaires de type I dans la région la plus sensible en fréquence.

## 2- Transduction : les cellules ciliées internes :

La transduction de l'information mécanique en signal électrochimique peut se résumer en cinq étapes.

### a- Propagation de l'onde mécanique dans les fluides cochléaires :

La vibration sonore transmise à la périlymphe par la chaîne des osselets fait onduler la membrane basilaire. L'onde mécanique se propage le long de la membrane basilaire avec un maximum d'amplitude situé d'autant plus près de la base que la fréquence est aiguë (tonotopie passive).

### b- Stimulation des CCE :

Le mouvement de cisaillement de la membrane tectoriale provoque la déflexion des stéréocils des CCE, implantés dans la membrane tectoriale puis la déflexion de l'ensemble des stéréocils grâce aux « tip-links » et aux liens transversaux. Le mouvement des stéréocils favorise l'ouverture des canaux cationiques non spécifiques, situés à chaque extrémité des stéréocils, laissant entrer le potassium de l'endolymphe dans les CCE. [14-15] C'est une transduction mécano électrique.

### c- Mise en jeu des mécanismes actifs :

Les CCE, dépolarisées par l'entrée de potassium, se contractent. Cette contraction modifie le couplage entre la membrane basilaire et la membrane tectoriale et amplifie localement les vibrations de la membrane basilaire grâce aux mécanismes actifs, permettant l'acquisition d'une tonotopie très fine. C'est une transduction électromécanique. Le fonctionnement de la CCE est donc basé sur une double transduction mécano électrique puis électromécanique.

### d- Stimulation des CCI :

De la même façon que pour la CCE, la CCI correspondant à la fréquence de stimulation est activée en réponse à la déflexion de ses stéréocils. À la différence des CCE, les plus grands stéréocils des CCI ne sont pas ancrés à la membrane tectoriale :

la déflexion des stéréocils des CCI est favorisée par le contact direct avec la bande de Hensen de la membrane tectoriale. L'ouverture des canaux mécanosensibles entraîne l'entrée de potassium et par conséquent dépolarise la CCI, avec création d'un potentiel d'action.

e- Libération du neurotransmetteur :

La dépolarisation de la CCI provoque l'ouverture de canaux calciques. L'influx de calcium entraîne la fusion des vésicules synaptiques à la membrane plasmique. La sécrétion synaptique mobilise en partie les vésicules situées sur la face inférieure des corps synaptiques et résulte d'une libération multivésiculaire. Le neurotransmetteur des CCI, le glutamate, libéré dans la fente synaptique active alors les récepteurs AMPA présents sur les fibres du nerf auditif. Les cinétiques d'activation et de désensibilisation de ces récepteurs sont très rapides, ce qui permet une réponse des fibres du nerf auditif appropriée au stimulus acoustique. Un message nerveux va alors être véhiculé par les neurones auditifs de type I et envoyé vers le système nerveux central.

**LA SURDITE**

**NEUROSENSORIELLE**

**D'ORIGINE GENETIQUE**

## A- Modes de transmission :

Tous les modes de transmission sont retrouvés dans les surdités génétiques. En effet, le mode de transmission autosomique récessif est le plus fréquent (près de 80%), mais sont également décrits le mode autosomique dominant (20%), la transmission liée à l'X et la transmission par le génome mitochondrial dans moins de 1% des cas. (Tableau n°1)

### 1- Le mode autosomique récessif (AR):

Dans ce mode de transmission, les deux allèles du gène doivent être mutés pour que le sujet soit sourd. Les deux parents porteurs d'une copie anormale (allèle) du gène en cause (porteurs hétérozygotes) sont normoentendants et, statistiquement, un quart des enfants (garçon ou fille) sont sourds, porteurs de mutations sur les deux allèles du gène (homozygotes). Le mode de transmission autosomique récessif est favorisé par la consanguinité. (figure n°7)

On estime qu'environ trois quarts des surdités non syndromiques se transmettent sur le mode AR et ce mode est le deuxième en fréquence dans les surdités syndromiques.

### 2- Le mode autosomique dominant (AD):

Dans ce mode de transmission, les sujets ayant un seul allèle muté (hétérozygotes) sont sourds. (figure n°6)

Dans les familles atteintes de surdité autosomique dominante, l'un des parents est sourd et porte sur un seul allèle du gène la mutation pathogène, mutation qu'il va transmettre à la moitié de ses enfants qui seront alors sourds. L'expressivité est très souvent variable dans ce mode de transmission, plusieurs sujets atteints dans la famille pouvant présenter des surdités de sévérité très différente. Lorsque la surdité

est syndromique, les signes associés au syndrome peuvent être absents ou discrets chez certains sourds de la famille, chez qui la surdité paraît alors isolée, et certains membres porteurs de l'anomalie génétique peuvent être entendants.

### 3- Le mode de transmission lié à l'X :

Le gène en cause est situé sur le chromosome X. (figure n°8) Chez les garçons qui n'ont qu'un X, la maladie s'exprime et ils sont donc atteints de surdité, alors que les filles sont porteuses de la mutation mais entendantes. Chez les femmes, lorsque l'X porteur de la mutation génétique est en général « compensé » par le deuxième X normal, la surdité est récessive liée à l'X. Rarement, comme dans le syndrome d'Alport, la surdité est dite dominante liée à l'X, et les femmes ne sont alors pas seulement en mesure de transmettre la surdité, elles en sont aussi atteintes, de façon moins sévère que les garçons.

### 4- Le mode de transmission mitochondrial :

Le génome mitochondrial est un petit fragment d'acide désoxyribonucléique (ADN) situé hors du noyau de la cellule, dans la mitochondrie. Il est transmis uniquement par la mère. Lorsqu'un gène de surdité est situé sur l'ADN mitochondrial, l'arbre généalogique est caractéristique car hommes et femmes peuvent être sourds, mais seules les femmes pourront transmettre la surdité à leurs enfants qui sont en théorie tous sourds dans la fratrie.

Tableau 1: résumé des modes de transmission de la surdité génétique

| Modes de transmission | Le sujet sourd  | Les parents   | Le risque de surdité dans la fratrie  |
|-----------------------|---|---|---|
| Autosomique récessif  | Homozygote  | Hétérozygotes sains ou sourds                           | 25%   |
| Autosomique dominant  | Hétérozygote  | Hétérozygotes et un des parents est sourd               | 50%   |
| Lié à l'X             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hétérozygote si masculin</li> <li>• Homozygote si féminin</li> </ul> | Mère hétérozygote conductrice et père hétérozygote sain | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 50% de frères atteints</li> <li>• 50% de sœurs conductrices</li> </ul> |
|                       |   | Mère saine et père hétérozygote sourd                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 100% de fils sains</li> <li>• 100% de filles conductrices</li> </ul>   |
| Mitochondrial         | Mutation mitochondriale   | Mère sourde et père sain ou sourd                       | 100%  |

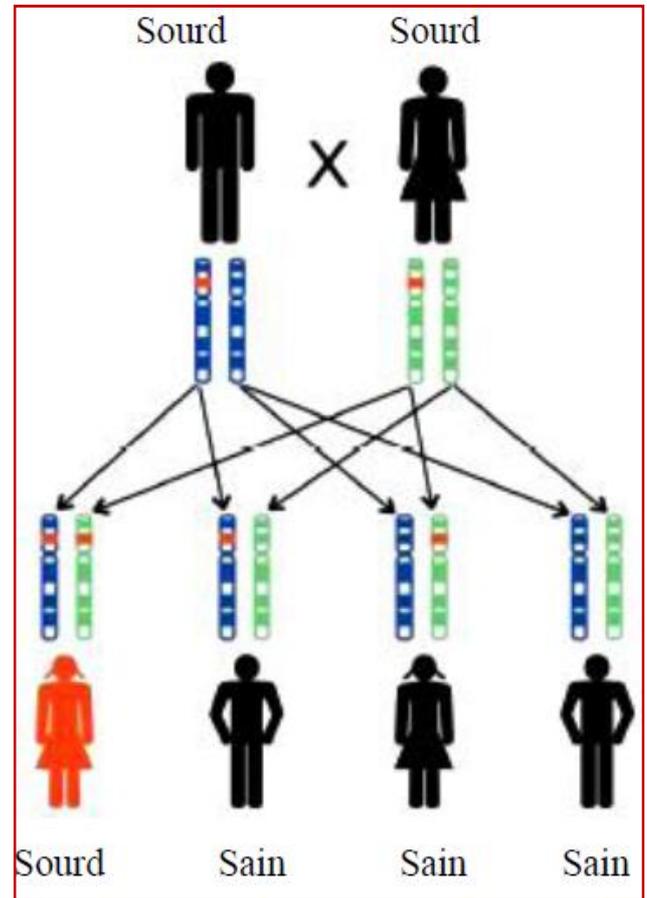
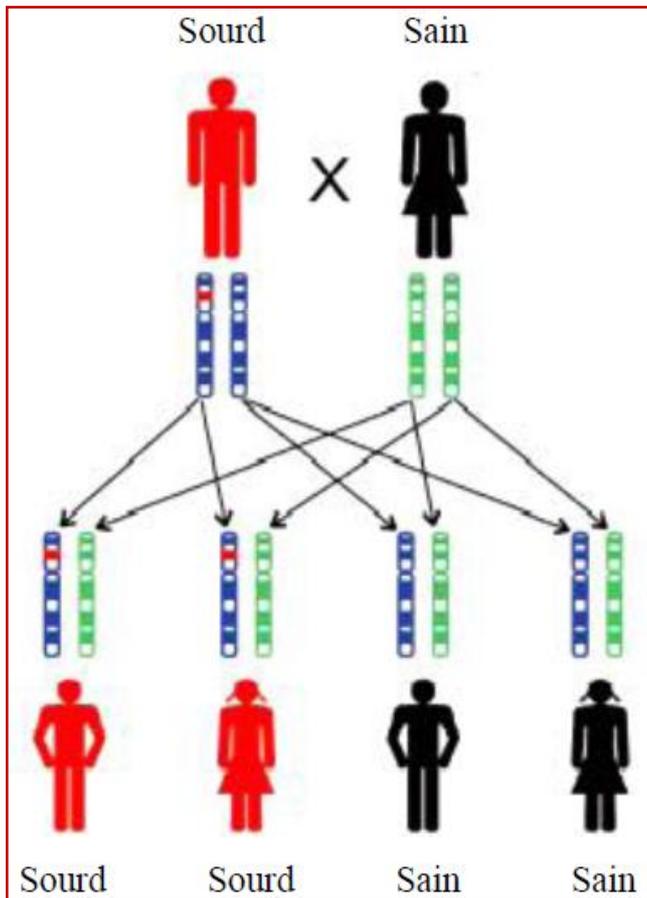


Figure n°6: modèle de transmission d'une maladie autosomique dominante monogénique. Union d'un sujet malade et d'un sujet sain.

Figure n°7: Modèle de transmission d'une maladie autosomique récessive monogénique. Union de deux sujets hétérozygotes

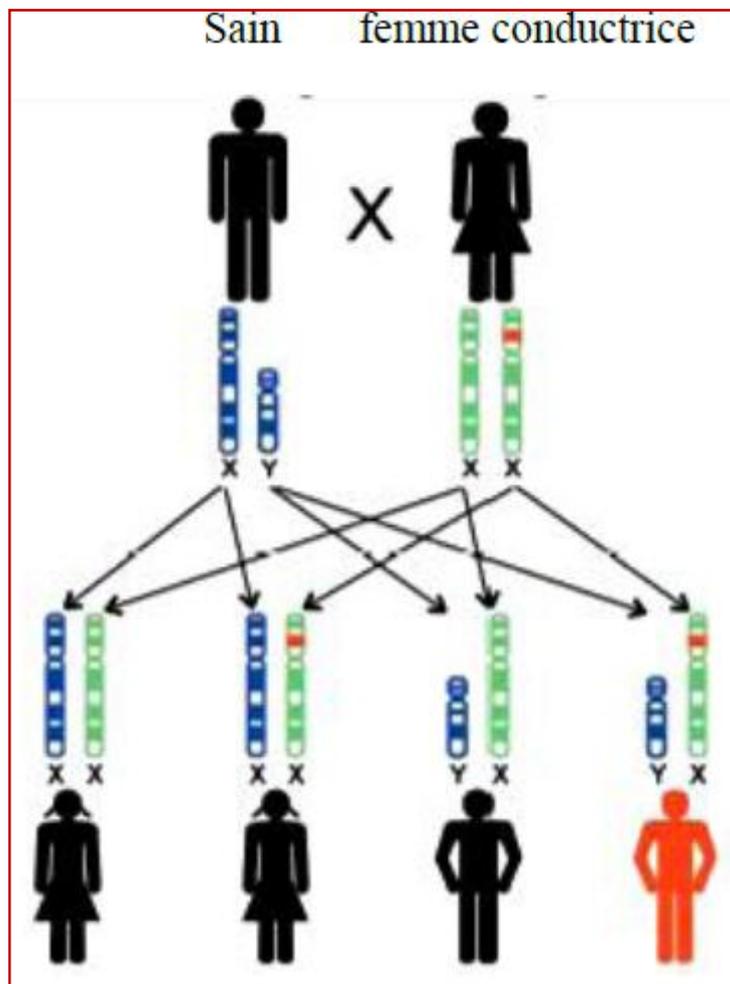


Figure n°8: Modèle de transmission d'une maladie monogénique liée à l'X. Union d'un homme sain et d'une femme conductrice.

## B- Classification :

### 1- Les surdités non syndromiques :

Dans ces formes de surdité sans maladie ou malformation associée, on estime à près de 120 le nombre de gènes localisés sur les chromosomes humains. [16] Ces loci se répartissent de la façon suivante : DFNA1 à 64, DFNB1 à 95, DFNX1 à 5, DFNY. Au sein de ces loci, 60 gènes sont identifiés, auxquels on peut ajouter sept mutations du génome mitochondrial [3]. Ces surdités sont classées selon leur mode de transmission. Les formes autosomiques récessives sont les plus fréquentes et la surdité est en général congénitale. Dans les formes dominantes, la surdité est le plus souvent progressive ou d'apparition retardée, au cours de l'enfance ou à l'âge adulte. [3]

#### a-Les formes autosomiques récessives ou DFNB :

Ce sont les formes les plus fréquentes. Elles représentent 80% des cas de surdité non syndromique. [17,18]. Actuellement, plus de 95 locis sont décrits (DFNB1 à 95) [19]

La DFNB1, liée à la mutation du gène de la Connexine 26 (CX26 ou GJB2), rend compte de près de 50% des surdités héréditaires ou familiales de l'enfant [16,20] et 40% des cas de surdités sporadiques en France [16,18]. Une mutation particulière 35delG est largement prédominante (70% des mutations détectées).

La surdité DFNB4, deuxième en fréquence (5 à 6 % des enfants sourds), est liée à une mutation du gène de la pendrine (SLC26A4). [21,22] Elle ressemble en tous points à celle du syndrome de Pendred dû au même gène mais reste isolée; sans atteinte thyroïdienne.

L'imagerie des rochers est l'élément fondamental pour rattacher une surdité isolée à une anomalie du gène de la pendrine (malformation de l'oreille interne type dilatation de l'aqueduc du vestibule et/ou dilatation cochléovestibulaire).

### b-Les formes autosomiques dominantes ou DFNA :

Elles représentent 12 à 15% des cas de surdité isolée. [17,18,23] DFNA2 semble être une forme fréquente de surdité autosomique dominante. Il s'agit d'une surdité de perception débutant sur les fréquences aiguës, progressive, d'environ 1dB par an. [24]

### c-Les formes liées à l'X ou DFN :

Elles représentent 1 à 3% des cas de surdité isolée. [17,18] la forme la plus fréquente (DFN3) est due à des mutations du gène POU3F4. Elles représenteraient 0,5% des surdités de l'enfant. [25] Il s'agit, chez un garçon, d'une surdité mixte, sévère à profonde, rapidement progressive, débutant dans l'enfance, associée à une dysfonction vestibulaire.

## 2- Les surdités syndromiques :

Les surdités syndromiques ne rendent compte que d'une faible proportion des surdités de l'enfant (10 à 15 % environ) et une part mal connue, probablement inférieure, des surdités de l'adulte. Environ 400 syndromes avec surdité ont été décrits [26,27], et plus d'une centaine de gènes sont identifiés à ce jour. Il est cependant important de connaître et de rechercher les principaux syndromes car la prise en charge et le bilan étiologique seront différents d'une surdité non syndromique.

Cependant, la surdité est le plus souvent patente et le reste des éléments cliniques du syndrome sont plus difficilement décelables ou surviennent plus tardivement. Par conséquent, certains enfants sont, à tort, initialement étiquetés comme atteints de surdité non syndromique.

En raison du très grand nombre de syndromes rares avec surdité, toute pathologie malformative chez l'enfant doit faire pratiquer un bilan auditif

systematique. De plus, pour les surdités syndromiques comprenant une atteinte malformative cranio- faciale, la surdité est très souvent majorée par une otite chronique, et une surveillance otologique régulière s'impose.

Le Tableau 2 résume les sept surdités syndromiques les plus importantes et qui doivent être connues des différents spécialistes prenant en charge des surdités en raison de leur fréquence et/ou de leur gravité potentielle.

Tableau n°2 : surdités syndromiques les plus fréquentes ou nécessitant une prise en charge spécifique AD: autosomique dominant, AR: autosomique récessif, ECG: électrocardiogramme, FO: fond d'œil

| Nom du syndrome          | Mode de transmission           | Gènes en cause   | Principaux signes cliniques  | Examens nécessaires  |
|--------------------------|--------------------------------|--|--|--|
| Waardenburg type I       | AD<br>(expressivité variable)  | PAX3   | Mèches blanches<br>Yeux vairons ou très bleus<br>Dépigmentation rétinienne au FO                       | FO   |
| Waardenburg type II      | AD<br>(expressivité variable)  | MTIF<br>SLUG   |  | FO   |
| Waardenburg type III     | AD<br>(expressivité variable)  | PAX3   | +/- malformations des extrémités<br>Dystopie canthale  | FO   |
| Waardenburg type IV      | AR                             | EDNRB<br>EDN3<br>SOW10                                       | +/- maladie de Hirschprung   | FO   |
| Branchio-oto-rénal       | AD<br>(expressivité variable)  | EYA1AUTRE G7NE<br>SUR 1q31                                   | Anomalies de l'oreille externe et/ou moyenne<br>Fistules ou kystes branchiaux<br>Malformations rénales | Echographie rénale   |
| Stickler                 | AD<br>(expressivité variable)  | STL1<br>STL2<br>STL3   | Fente palatine<br>Association de Robin<br>Anomalies squelettiques                                      | Examen ophtalmologique   |
| Usher                    | AR                             | MYOVIIA<br>CDH23<br>PCDH15<br>USH1C<br>SANS<br>USH2A<br>USH3 | Rétinite pigmentaire progressive aboutissant à la cécité   | Examen ophtalmologique + FO électrorétinogramme                            |
| Pendred                  | AR                             | PDS  | Goitre<br>Malformation de l'oreille interne  | Scanner des rochers<br>scintigraphie thyroïdienne avec test au perchlorate |
| Jervell et Lange-Nielsen | AR                             | KVLQT1<br>KCNE1  | Malaises, mort subite  | ECG  |
| Alport                   | Dominant lié à l'X<br>AR<br>AR | COL4A3<br>COL4A4<br>COL4A5                                   | Hématurie puis protéinurie => insuffisance rénale  | Bandelettes urinaires  |

# LA SURDITE LIEE A LA CONNEXINE 26

## A- Connexine 26 :

### 1- Définition :

Les connexines sont de petites protéines transmembranaires, impliquées dans la formation de jonctions communicantes (GAP junctions) entre cellules adjacentes, pour la majorité des cellules de l'organisme. (Figure n°9)

La jonction communicante est formée de deux connexons, un par membrane. Chaque connexon est un hexamère formé de 6 connexines ménageant entre elles un canal hydrophile de 2 nm de diamètre.

Les connexines (Figure 10) possèdent quatre domaines transmembranaires (M1 à M4), dont le troisième, le plus hydrophile, constitue l'intérieur du canal. Les extrémités amino- et carboxy-terminales sont cytoplasmiques et les deux boucles extracellulaires sont responsables de l'interaction entre deux connexons. Les connexines diffèrent principalement par la longueur et la composition de leur extrémité carboxy-terminale.

Quinze connexines différentes sont actuellement connues chez les mammifères. [3,27] Elles sont désignées en fonction de leur poids moléculaire. Par exemple, la connexine 26 a un poids moléculaire de 26,000 daltons.

### 2- Gène codant :

Quatre gènes de connexine, exprimés dans l'oreille interne, peuvent être impliqués dans des surdités isolées ou syndromiques :

- GJB2 (connexine 26, en 13q11.q12)
- GJB6 (connexine 30, en 13q11.q12)
- GJB3 (connexine 32, en Xq13.1)
- GJB1 (connexine 31, en 1p34)

Le gène GJB2 codant pour la connexine 26 est un petit gène constitué de deux exons, le premier exon n'est pas transcrit, le deuxième constitue la partie codante du gène.[32]

Le gène GJB2 est situé avec le gène GJB6 sur le locus DFNB1 qui est localisé sur le bras court du chromosome 13 (13q12.11). Ce locus est le premier locus responsable de surdité neurosensorielle autosomique récessive à être identifié par Guilford et al en 1994 chez une famille tunisienne. [33]

Plus de 100 mutations sur la partie codante du gène GJB2 responsables de surdité ont été identifiées à ce jour. [28,29,30,31]

La mutation 35delG secondaire à une délétion d'un nucléotide (guanine) en position 35 est la plus fréquente dans les pays occidentaux et méditerranéens. [3,27,30,34,35,36].

Elle entraîne un décalage du cadre de lecture et aboutit donc à l'apparition d'un codon stop prématuré au codon 13 et par conséquent à la formation d'une protéine tronquée non fonctionnelle. D'autres mutations majoritaires sont retrouvées dans certaines populations : 167delT dans la population juive ashkénaze [37], 235delC au Japon, en Chine et en Corée [38,39]...

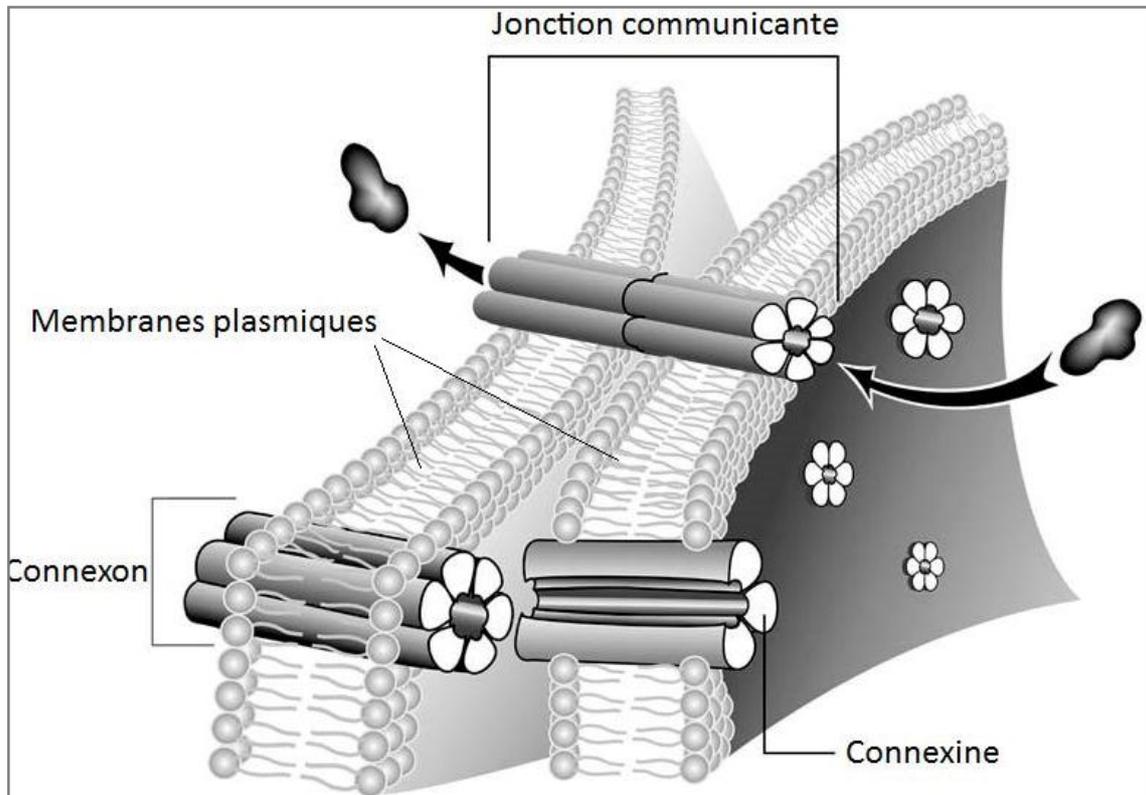
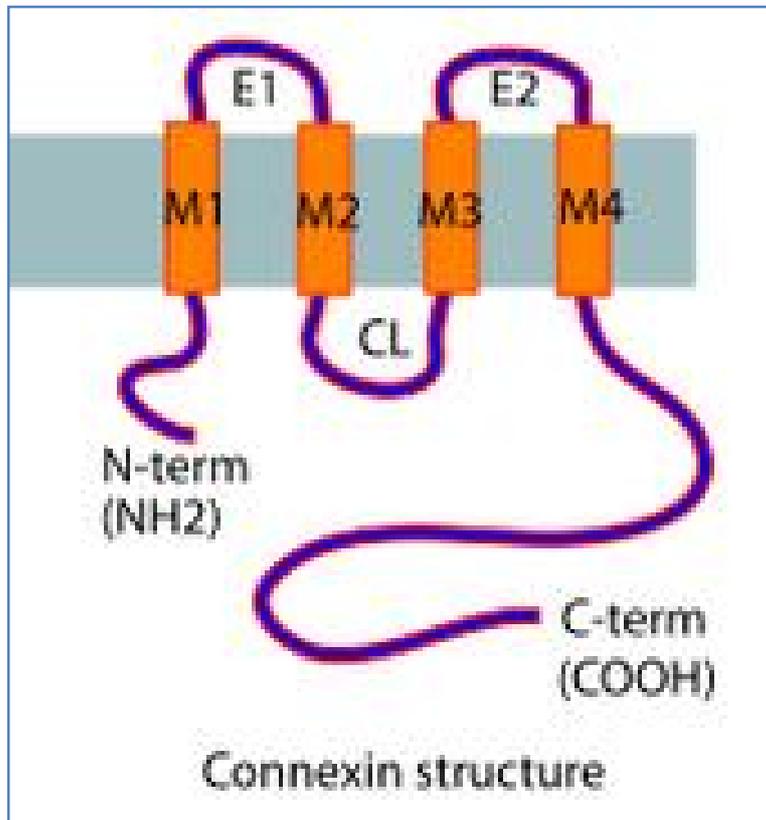


Figure n°9: schéma d'une jonction communicante entre 2 cellules adjacentes

(Revue des sciences 10/10 Jean Zi n)



**Figure n°10: schéma d'une jonction communicante entre 2 cellules adjacentes**

(Connexon, Wikipedia)

### 3- Rôle :

Durant le développement embryonnaire l'expression de la connexine 26 ainsi que la connexine 30 a été détectée dès 11 semaines de gestation. Le taux adulte est atteint à 20 semaines de gestation.

Des études d'immunomarquage sur des cochlées de souris ont montré que la connexine 26 est présente au niveau du limbe spiral, du ligament spiral, des cellules de soutien de l'organe de Corti, des cellules ciliées internes et externes et au niveau de la strie vasculaire ainsi que sur la plupart (> 85%) des GAP jonctions de la cochlée. [28]

Il a été démontré par co-immunoprécipitation que la connexine 26 est présente seule ou associée à la connexine 30 sur une même GAP jonction. [28,40,41,42] (figure n°11)

Ces études laissent suggérer que la connexine 26 ainsi que la connexine 30 sont impliquées dans le recyclage du potassium (K<sup>+</sup>) en facilitant son transport rapide à travers le réseau des cellules de soutien vers la strie vasculaire, où il est activement attiré vers l'endolymphe.

Une théorie plus récente, envisage une possible contribution du réseau de Gap jonctions cochléaire à l'homéostasie de l'épithélium sensoriel avasculaire de l'organe de Corti. [43]

## B- Physiopathologie :

### 1- Mutations du gène de la connexine 26 : (figure n°12)

#### a- Mutations empêchant la formation de Gap junctions :

Le cycle de vie de la connexine 26 comporte la synthèse de la protéine, son transport vers la membrane plasmique, son insertion membranaire et la formation de connexons puis sa dégradation. [44]

Ce type de mutations peut créer un dysfonctionnement ou une dégradation prématurée de la connexine avant son arrivée au niveau de la membrane cellulaire ou encore affecter les liaisons avec d'autres protéines intracellulaires.

#### b- Mutations entraînant la formation de Gap junctions non fonctionnelles :

Le couplage ionique intercellulaire est affecté, à l'origine d'un dysfonctionnement de la jonction intercellulaire ou encore d'une anomalie d'alignement de deux connexons [28].

#### c- Mutations entraînant une perte spécifique dans le couplage biochimique intercellulaire :

Ce type de mutations modifie la perméabilité des Gap junctions pour certaines molécules.

Chang et al. [43] a mis en évidence, chez des souris présentant ce type de mutations de la Cx30, une réduction dramatique du transport du glucose par les Gap junctions avec des taux élevés de radicaux libres dans les cellules de soutien de la cochlée.

Cette étude laisse suggérer l'hypothèse que le transport du glucose au niveau des Gap junctions pourrait également être perturbé en cas de mutation de la Cx26.

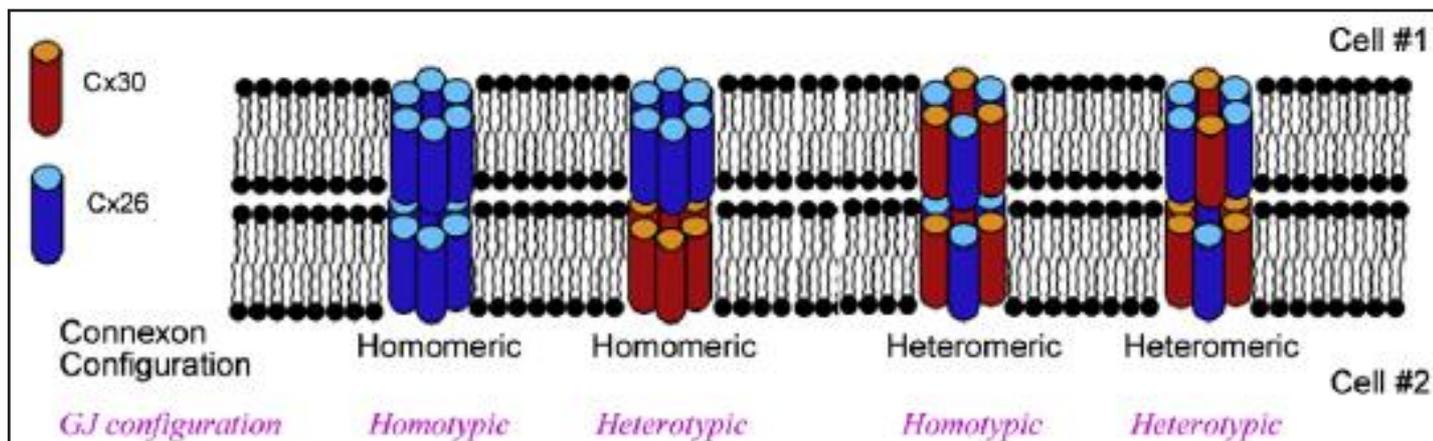


Figure n°11: configuration moléculaire des Gap jonctions cochléaires formées par l'union des connexines 26 et 30 au niveau de la membrane cellulaire. [28]

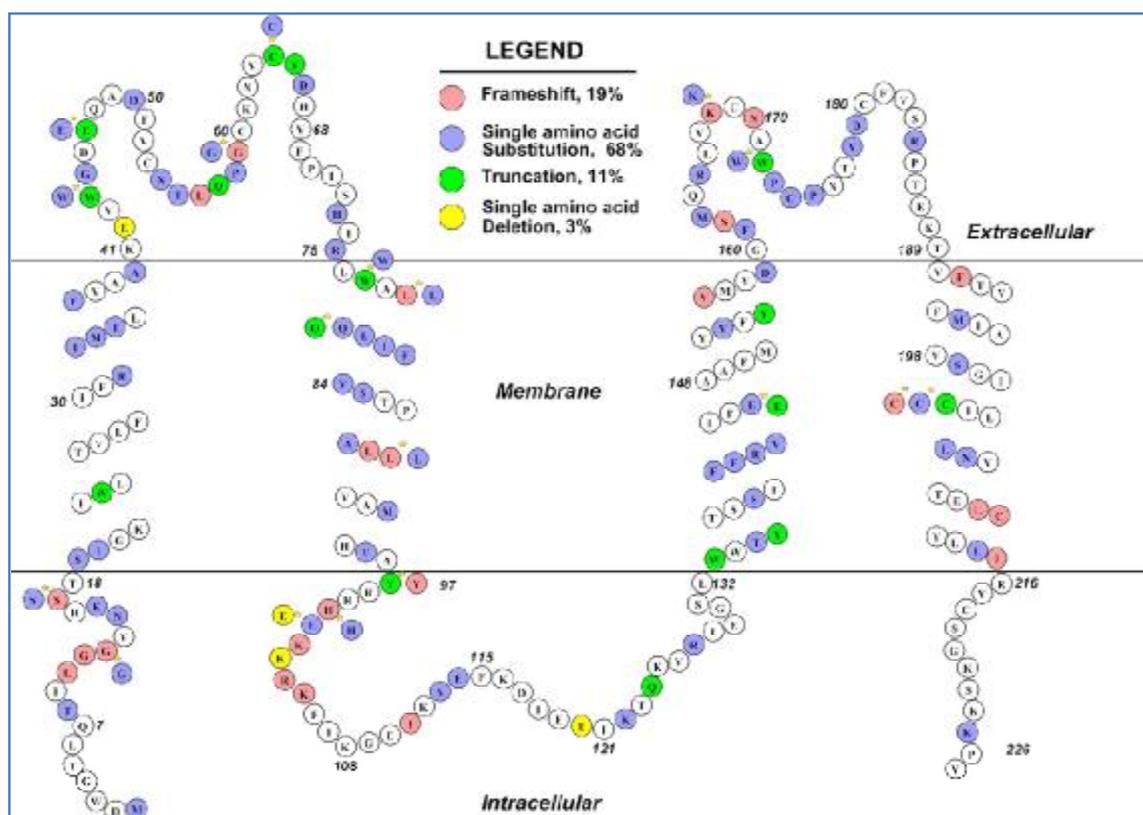


Figure n°12: localisations des mutations de la connexine 26 rapportées dans la littérature et liées à la surdité. [28]

Le glucose étant la source majeure d'énergie pour l'activité métabolique des cellules, un déficit chronique au niveau de l'organe de Corti, où la microcirculation est généralement pauvre, peut avoir des effets néfastes sur la survie et les fonctions cellulaires.

d- Mutations causant un gain de fonction: hémi canal anormal s'ouvrant à l'état de repos :

Une mutation particulière de la Cx26 (G45E) est responsable d'un changement de charge de la chaîne d'acide aminé du neutre au négatif. Il est donc probable qu'elle affecte la fixation du  $Ca^{2+}$  aux hémi canaux. Les essais de marquage par colorant montrent, qu'en présence de concentrations extra cellulaires normales en  $Ca^{2+}$ , survient une fuite à travers les canaux des Gap junctions, ce qui crée une surcharge et finalement une mort cellulaire. Stong et al. [45] rapportent la survenue d'une apoptose puis d'une mort cellulaire dans les 24h.

2- Théories actuelles sur les mécanismes de surdités liées à la connexine 26 :

a- Perturbation du recyclage endo-cochléaire du  $K^{+}$  :

La notion d'implication des mutations des Gap junctions cochléaires dans le recyclage du  $K^{+}$  est remise en cause. En effet, de nouvelles données indiquent que le canal intercellulaire formé par les Gap junctions n'est pas significativement perturbé par l'absence de la Cx26 ou la Cx30 seules. Les données de l'immunomarquage obtenues à partir de modèles de cochlées de souris avec délétion totale ou partielle de la Cx26, confirment la présence de Gap junctions monomériques dans les cochlées de souris mutées. [46]

Les mutations de la connexine 26 qui affectent spécifiquement le couplage biochimique sont suffisantes pour être responsables de surdité chez l'homme. [47,48]

ceci indique que les anomalies du transfert des grosses molécules à travers les Gap jonctions peuvent être à la base des mécanismes de surdité.

b- Rupture de la barrière endothéliale:

Il est bien connu que la perte du potentiel endolymphatique (+80mV) est directement responsable de surdité. Les cellules endothéliales endommagées tapissant les micro vaisseaux de la strie vasculaire pourraient engendrer une fuite avec surcharge du mécanisme générateur du potentiel endolymphatique. Pourtant, la connexine 26 n'est pas exprimée au niveau des cellules endothéliales de la strie vasculaire. La relation entre dysfonctionnement des Gap jonctions et les dégâts sur la barrière endothéliale reste donc non encore expliquée.

Ainsi de nouvelles études doivent être réalisées pour tester la nouvelle théorie qui lie la surdité à une rupture de la barrière endothéliale au niveau de la strie vasculaire.

c- Déficit dans le transport facilité des métabolites à travers les Gap jonctions:

Des études récentes montrent que le glucose de la circulation sanguine, pourrait atteindre les cellules de soutien de la cochlée [43], les fibrocytes de la paroi latérale du canal cochléaire [49] et le limbe spiral [50] grâce aux Gap jonctions.

Chang et al. [43] montrent qu'il existe un déficit chronique en glucose, et non un blocage de la voie de recyclage du K<sup>+</sup> chez les souris avec Cx30 non fonctionnelle. Ils ont également prouvé une réduction du transport du glucose à travers les Gap jonctions et l'augmentation de la production de ROS (reactive oxygen species: générés par l'épuisement d'ATP en cas de déficit en glucose) au niveau des cellules de soutien.

En se basant sur ces résultats, Chang et al. [43] suggèrent que la surdité liée à des mutations responsables d'une perte de fonction des connexines, est due à une

réduction de l'efficacité du transfert des métabolites énergétiques (ex. glucose) à travers le réseau intercellulaire des Gap junctions, particulièrement au niveau des régions de la cochlée où la circulation est pauvre (ex. organe de Corti). L'effet néfaste accumulé sur l'homéostasie cellulaire devient destructeur quand des quantités importantes de ROS sont produites, conduisant à une mort cellulaire et un dysfonctionnement cochléaire.

## C- Corrélations génotype-phénotype clinique :

Le gène GJB2 est en cause d'une part dans la forme majoritaire de surdité de l'enfant, la surdité autosomique récessive DFNB1, et d'autre part dans une forme rare de surdité autosomique dominante, DFNA3. [51,52] Des mutations particulières de ce gène rendent compte également de trois syndromes rares.

### 1- La surdité autosomique récessive DFNB1 :

Soixante mutations du gène GJB2 ont été décrites dans le monde.

Au Maroc, comme dans les pays occidentaux et méditerranéens, une mutation prédomine largement: 35delG. Elle est due à la délétion d'une base d'ADN, une guanine, en position 35 dans la partie codante du gène. Cette mutation entraîne un décalage du cadre de lecture et aboutit à la formation d'une protéine tronquée.

La déficience auditive est congénitale et stable dans la majorité des cas (une évolutivité est observée dans moins de 20 % des cas, le plus souvent faible). Aucun épisode d'aggravation brutale de surdité n'a été décrit dans cette forme de surdité. La surdité est de tous degrés mais est le plus souvent sévère à profonde. Les courbes audiométriques sont, dans la grande majorité des cas, plates (atteinte similaire de toutes les fréquences) ou descendantes (atteinte préférentielle des fréquences

aiguës). La tomodensitométrie des rochers et les épreuves vestibulaires caloriques sont normales.

## 2- La surdité autosomique dominante DFNA3 :

L'implication du gène de la connexine 26 dans la forme de surdité DFNA3 a fait longtemps l'objet de controverses.

Les caractéristiques de la surdité, transmise dans tous les cas sur un mode autosomique dominant, sont très différentes en fonction des mutations : par exemple pour la mutation W44C, la surdité est prélinguale, bilatérale et symétrique, modérée à profonde et atteint toutes les fréquences alors que pour la mutation C202F, la surdité apparaît entre 10 et 20 ans atteint initialement les hautes fréquences et évolue lentement pour devenir légère à moyenne à 50 ans. [53,54]

## 3- La surdité syndromique :

La surdité liée à la connexine 26 est le plus souvent isolée. Néanmoins, l'association à des signes cutanés a été décrite dans la littérature. Il s'agit de l'hyperkératose palmo plantaire associée à la mutation dominante G59A [55], la kératodermie mutilante ou syndrome de Vohwinkel associée à la mutation D66H [56] et enfin le KID syndrome (kératodermie- ichthyose-surdité [57]).

# MATERIEL ET METHODES

## A- Patients et critères d'exclusion :

A travers une étude rétrospective entre Avril 2003 et Avril 2013, nous avons recensé 1010 sujets dont 386 cas témoins, cliniquement normaux et n'ayant aucun lien de parenté avec un sujet sourd et 624 patients présentant une surdité isolée, recrutés en consultation ORL et auprès d'associations et d'écoles pour enfants sourds à travers les différentes régions du Maroc. (Tableau n°3)

La majorité des patients ont bénéficié d'un interrogatoire détaillé, d'un examen ORL et général systématiques associés à une exploration fonctionnelle de l'audition et une imagerie du rocher, ainsi qu'une consultation génétique.

On a exclue de l'étude les patients présentant une surdité syndromique ou de cause environnementale, telle un ictère néonatal, une méningite bactérienne, une prématurité ou encore une infection virale prénatale.

Tableau n°3 : Associations, services et centres médicaux ayant recruté les patients de l'étude

| Association / service                  | Ville              |
|--|--------------------|
| Service ORL                            | CHU Hassan II, Fès |
| Association AMAL pour enfants sourds   | Oujda              |
| Association HANANE                     | Tétouan            |
| association Youssouffia                | Youssoufia         |
| Ecole LALA ASMAE                       | Rabat              |
| Ecole MABROUKA (classe enfants sourds) | Tanger             |
| Association ANASSR                     | Rabat              |
| Association ALAMAL                     | El Jadida          |

## B- Etude clinique et para clinique :

Tous les patients ainsi que leurs familles (en cas de surdité familiale) ont bénéficié d'un interrogatoire détaillé et d'un examen ORL et général systématiques.

Les potentiels évoqués auditifs précoces (PEAP) ont été réalisés pour les cas où l'audiométrie n'était pas réalisable.

Le bilan clinique a souvent été complété par une tomодensitом trie des rochers et un bilan biologique.

Enfin un arbre généalogique a été réalisé pour orienter l'étude génétique ultérieure.

## C- Analyse génétique :

### 1- Extraction de l'ADN :

Un prélèvement de sang périphérique a été réalisé sur deux tubes type EDTA. L'extraction de l'ADN a été ensuite réalisée selon la méthode classique phénol et chloroforme.

### 2- Analyse séquentielle du gène GJB2 :

Un séquençage direct de toute la région codante du gène GJB2 a été réalisé à l'aide d'amorces. Un criblage systématique de la mutation 35delG a été réalisé par PSDM "PCR Site Directed Mutagenesis" et séquençage automatique fluorescent. L'étude a été complétée par la recherche d'éventuelles autres mutations si les patients ne sont pas porteurs de la mutation 35delG.

# RESULTATS

## A- Données épidémiologiques :

Nous avons recensé 624 cas de surdité autosomique récessive non syndromique, dont 380 cas appartenant à 144 familles et 244 cas sporadiques. Ainsi que 386 cas témoins.

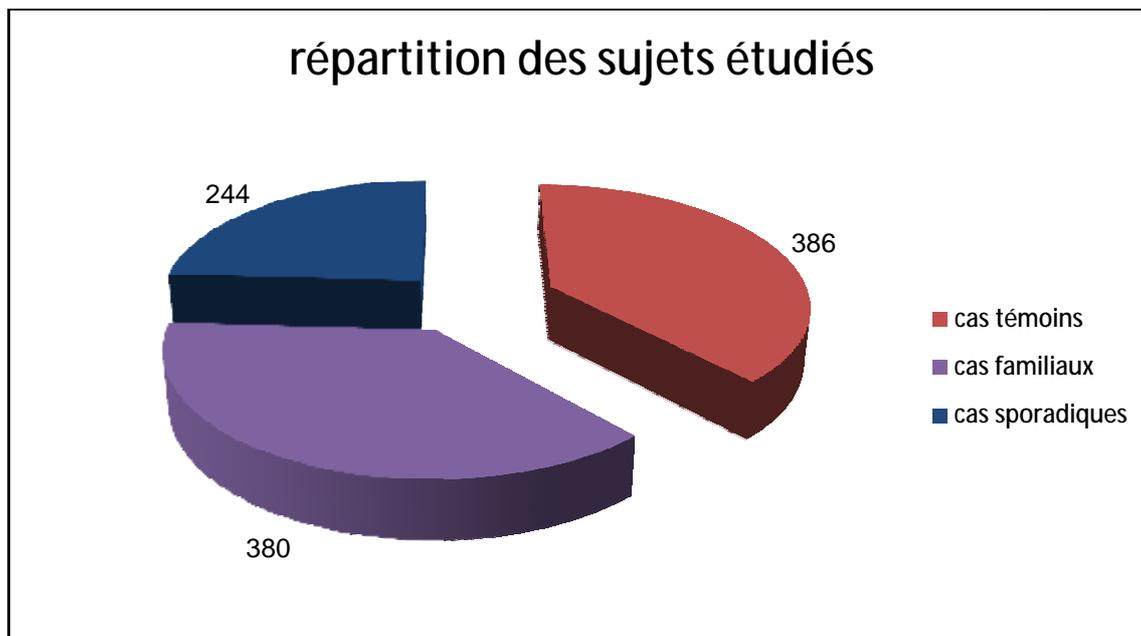


Figure n 13 : répartition des sujets inclus dans l'étude

L'âge moyen des patients était de 10 ans avec des extrêmes d'âge allant de 1 mois à 60 ans.

Le sexe ratio était de 1,08 en faveur des hommes.

La notion de consanguinité a été retrouvée dans 25% des cas.

Le nombre de sujets atteints par famille était très variable allant jusqu'à 8 sujets sourds par famille.

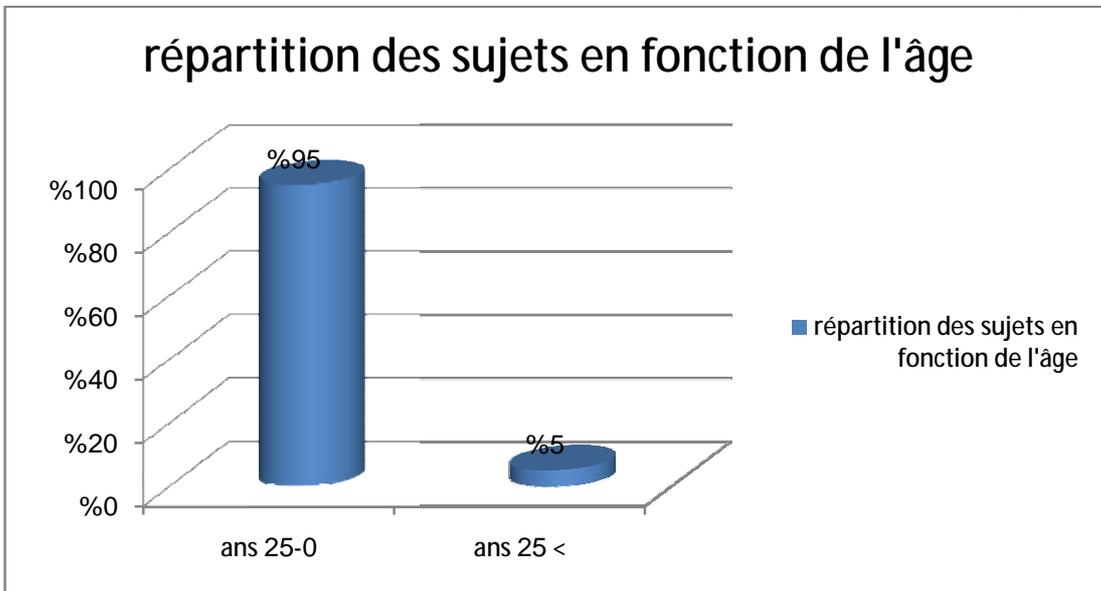


Figure n°14: répartition des sujets sourds en fonction de l'âge

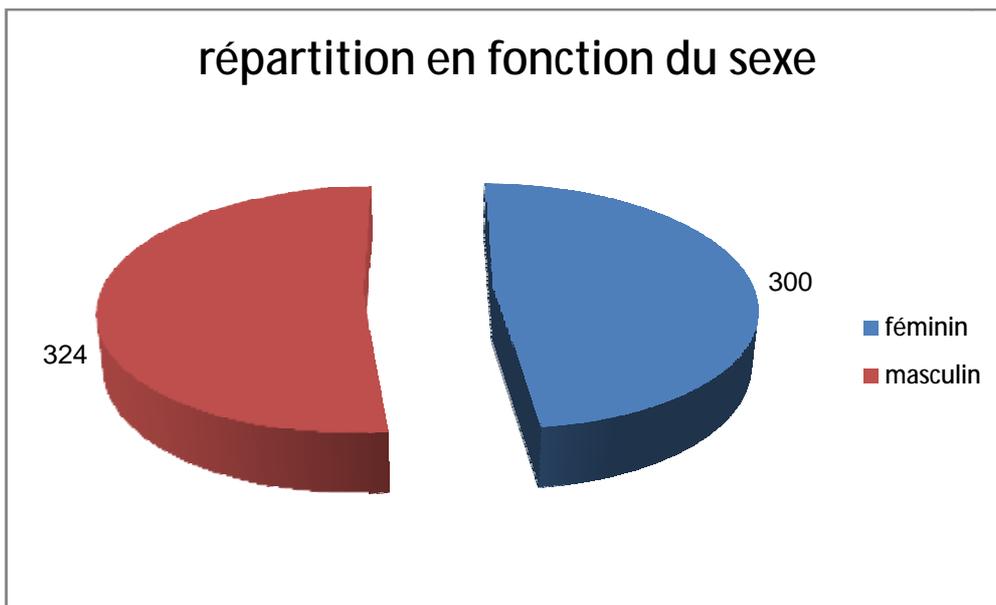


Figure n°15: répartition des patients en fonction de l'âge

## B- Données cliniques :

Tous les patients présentaient une surdité pré linguale bilatérale non évolutive, intéressant toutes les fréquences.

Le degré de surdité était variable. Il s'agissait le plus souvent d'une surdité profonde.

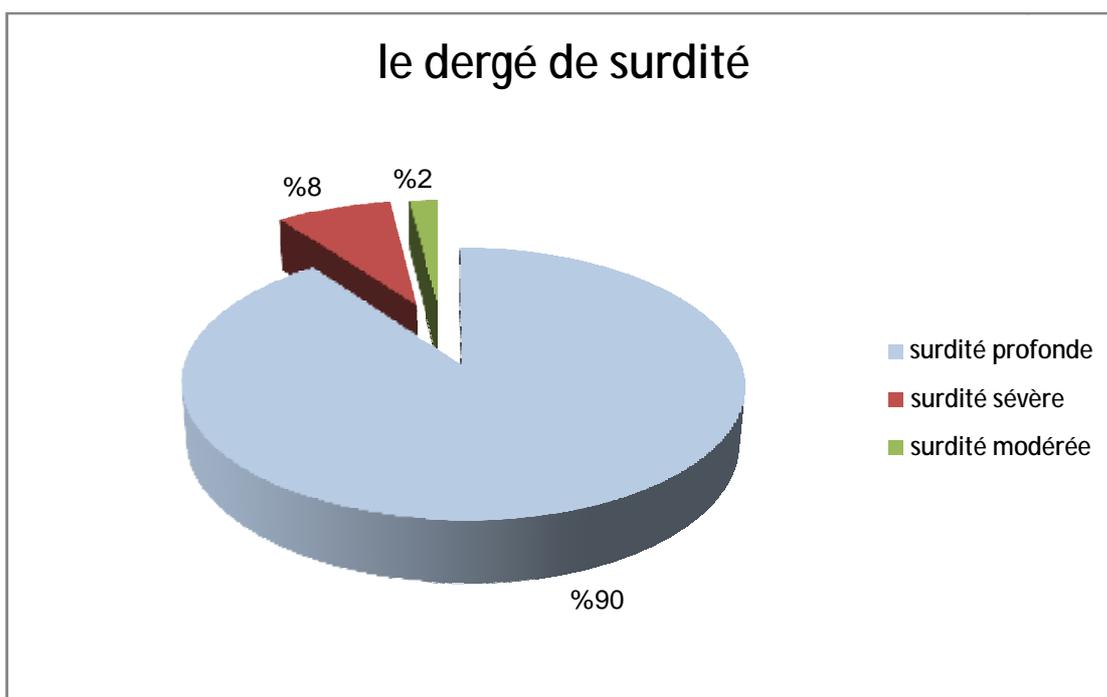


Figure n°16: données du bilan audiolgique des patients sourds

## C- Résultats génétiques :

### 1- Génotype et fréquence de la mutation 35delG (tableau n°4):

Parmi les 380 cas de surdité familiale, 90 patients étaient porteurs de la mutation 35delG à l'état homozygote avec une fréquence de 23,68%. Cette même mutation a été retrouvée à l'état hétérozygote chez 8 patients soit avec une fréquence de 2,1%.

La fréquence dans les cas sporadiques était de 1,63% autant à l'état homozygote qu'à l'état hétérozygote.

La mutation 35delG a été retrouvée à l'état hétérozygote chez 8 sujets sains appartenant à la population témoin avec une prévalence de 2,07%.

Tableau n°4 : fréquence de la mutation 35delG dans la population étudiée

| Génotype                        | Cas familiaux<br>n (%) | Cas<br>sporadiques<br>n (%) | Cas témoins<br>n (%) |
|---------------------------------|------------------------|-----------------------------|----------------------|
| Homozygote<br>35delG+/35delG+   | 90 (23,68%)            | 4 (1,63%)                   | 0                    |
| Hétérozygote<br>35delG+/35delG- | 8 (2,1%)               | 4 (1,63%)                   | 8 (2,07%)            |

La mutation 35delG a également été retrouvée à l'état hétérozygote sur un allèle associée à la mutation E47X présente sur l'autre allèle et ce, chez 3 patients appartenant à la même famille avec une fréquence de 0,78%

## 2- Autres mutations identifiées du gène de la connexine 26:

L'étude du gène GJB2 a pu identifier, en plus de la mutation 35delG, quatre autres mutations. (tableau n°5) Une délétion (delGAG358-360), une mutation faux sens (109G>A), une mutation non sens (139G>T) et la mutation 598G>A. Les mutations 109G>A et 139G>T ont été décrites pour la première fois dans la population marocaine.

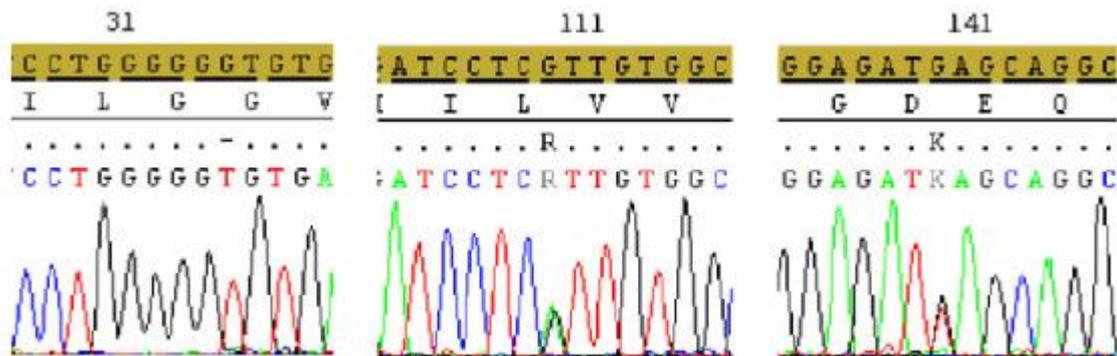


Figure n°17: électrophérogramme montrant des exemples de mutations retrouvées chez les patients étudiés

La fréquence des mutations de gène GJB2 dans la population étudiée était de 18,98%. La mutation 35delG était la plus fréquente avec une proportion de 85,65% par rapport aux autres mutations du même gène.

Tableau n°5 : mutations du gène GJB2 identifiées dans la population étudiée

| Génotype             | Cas familiaux<br>n (%) | Cas sporadiques<br>n (%) |
|----------------------|------------------------|--------------------------|
| 139G>T/35delG        | 3 (0,78%)              | -                        |
| DelGAG358-360/109G>A | 3 (0,78%)              | -                        |
| 109G>A+/-            | 21 (5,52%)             | -                        |
| 598G>A+/-            | -                      | 2 (0,81%)                |

Les fréquences et proportions des différentes mutations du gène de la connexine 26 identifiées au sein des patients présentant une surdité non syndromique, familiale ou sporadique, sont résumées dans le tableau n°6.

La mutation 35delG était de loin la plus fréquente avec une proportion de 85,65% par rapport aux autres mutations.

La deuxième mutation en termes de fréquence était la mutation V37I (24/237 allèle) soit avec une fréquence de 10,13%.

Tableau n°6 : spectre et fréquence allélique des mutations du gène GJB2 dans la population étudiée

| Changement du nucléotide | Changement de l'acide aminé | Fréquence allélique | Proportions de la mutation (n=allèle) |
|--------------------------|-----------------------------|---------------------|---------------------------------------|
| 35delG                   | V12G (codon stop)           | 16,26%              | 85,65% (203/237)                      |
| 109G>A                   | V37I                        | 1,92%               | 10,13% (24/237)                       |
| 139G>T                   | E47X                        | 0,24%               | 1,26% (3/237)                         |
| delGAG358-360            | del120E                     | 0,24%               | 1,26% (3/237)                         |
| 598G>A                   | G200R                       | 0,32%               | 1,7% (4/237)                          |
| Total                    | -                           | 18,98%              | 100%                                  |

Environ 21,64% (135/624 patients sourds) des patients présentaient une mutation du gène GJB2 sur au moins un chromosome.

16,2% des patients présentaient une mutation du gène GJB2 à l'état homozygote dont 15,06% étaient porteurs de la mutation 35delG à l'état homozygote.

Six génotypes ont été retrouvés dans la population étudiés. (tableau n°7)

Deux mutations bi géniques ; impliquant deux gènes sur les deux allèles du gène GJB2 ont été retrouvées. Il s'agit du génotype E47X/35delG et del120E/V37I.

Chez 489 patients nous n'avons pas pu retrouvé une mutation du gène GJB2. Une recherche de mutations d'autres gènes a été réalisées chez ces patients, notamment sur le gène GJB6. La recherche a été complétée par un génome scan avec analyse de liaison pour identification de nouveaux gènes.

Tableau n°7 : génotypes retrouvés dans la population de patients sourds

| Génotype                 | Nombre de patients | Pourcentage (%) |
|--------------------------|--------------------|-----------------|
| 35delG +/-               | 94                 | 15,06%          |
| 35delG +/-               | 12                 | 1,92%           |
| E47X / V12G (codon stop) | 3                  | 0,48%           |
| Del120E / V37I           | 3                  | 0,48%           |
| V37I +/-                 | 21                 | 3,37%           |
| G200R / G200R            | 2                  | 0,32%           |
| Total                    | 135                | 21,64%          |
| Mutation -/-             | 489                | 78,36%          |

L'analyse génétique de tous les membres de la famille des patients présentant la mutation combinée 35delG/E47X, a trouvé que la mère est porteuse de la mutation 35delG, alors que le père était porteur de la mutation E47X. La combinaison des deux allèles mutés était responsable de la surdité au sein de cette famille.

L'arbre généalogique de la famille porteuse de cette mutation est représenté sur la figure n 18

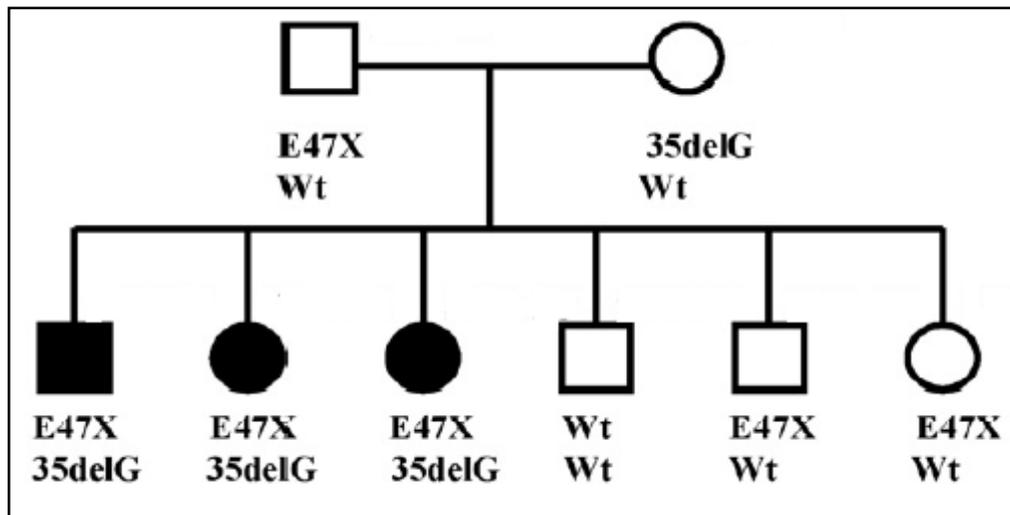


Figure n°18: arbre généalogique de la famille qui présente la mutation 35delG/E47X

# DISCUSSION

La surdité est le déficit neurosensoriel le plus fréquent chez l'enfant. La prévalence des surdités bilatérales sévères et profondes est estimée entre 0,5 à deux enfants pour 1000 naissances [58,59]. Au Maroc on compte environ 640000 naissances par an [60] ce qui correspondrait à 640 nouveau-nés qui naissent avec une surdité bilatérale sévère ou profonde par an sans énumérer les surdités acquises.

Ces chiffres affirment que la surdité de l'enfant doit être considérée comme un problème de la santé publique au Maroc.

Au Maroc, 34,8% des surdités neurosensorielles de l'enfant sont d'origine génétique [61].

Le gène GJB2 étant le premier en cause de surdité d'origine génétique chez la population marocaine, [36,62] nous avons voulu, à travers une étude rétrospective portant sur des patients sourds ainsi que des sujets sains (cas témoins), préciser l'implication réelle de ce gène dans la surdité génétique au Maroc et notamment celle de la mutation 35delG.

## A- Analyse phénotypique :

Nous avons essayé, à travers ce travail, de recruter un échantillon représentatif de la population Marocaine qui soit diversifié de point de vu de l'âge (extrêmes de 1 mois à 60 ans) et de l'origine géographique (diverses régions du Maroc). Nous avons également inclus 386 sujets sains représentant des cas témoins, afin d'identifier la prévalence des porteurs sains de la mutation 35delG du gène de la connexine 26 dans la population marocaine.

Les études anthropog n tiques, ont démontré le caractère hétérogène de la population Marocaine qui se présente comme un mélange de composante africaine, caucaso de, asiatique et arabe.

La population marocaine est également une population à haut degré de consanguinité, pour des raisons principalement culturelles, socio-économiques et linguistiques. En effet, nous avons soulevé la notion de consanguinité chez 25% des sujets étudiés.

Ce haut degré de consanguinité est responsable de l'apparition plus fréquente de maladies génétiques à transmission récessive et concentre certaines caractéristiques génétiques y compris celles considérées comme défavorables. Ainsi certaines mutations se propagent mieux en raison d'un stock de gènes initialement plus faible.

La consanguinité et l'hétérogénéité sont deux caractéristiques essentielles qui font de notre population un bon modèle d'étude des maladies génétiques surtout celles à caractère récessif et favorisent l'apparition des isolats géographiques.

Les mutations du gène de la connexine 26 sont connues pour être responsables d'une surdité pré linguale légère à profonde non progressive [3,18]. C'est le cas de tous nos patients qui présentaient une surdité modérée à profonde pré linguale.

## **B- Implication du gène GJB2 dans la surdité non syndromique autosomique récessive au Maroc :**

Les mutations du gène GJB2 sont connues pour être la cause la plus fréquente cause de surdité non syndromique autosomique récessive dans de nombreux pays y compris les pays du pourtour méditerranéen. Néanmoins, le spectre et la fréquence des mutations de ce gène peuvent varier d'un pays à l'autre voire d'une région d'un même pays à l'autre.

Le tableau n°8 montre que le pourcentage des patients avec surdité autosomique récessive non syndromique qui présentent une mutation bi allélique du

gène GJB2, est très variable entre les différents pays. Il varie entre 0% dans la population omani [63] et 45,6% dans la population slovaque [64].

Cette grande variabilité pourrait être due à l'origine ethnique des populations étudiées, aux méthodes moléculaires utilisées pour le séquençage des mutations, aux critères de sélection des patients ou encore au nombre réduit de certaines études.

Notre étude menée sur une population de 624 sujets présentant une surdité congénitale isolée montre que la prévalence des mutations du gène GJB2 était de 21,64 %. Ces résultats sont proches de ceux retrouvés dans les pays du pourtour méditerranéen.

Ainsi, nos résultats confirment les résultats de la littérature [62,65], qui affirment le rôle majeur du gène GJB2 dans la surdité génétique au Maroc.

**Tableau n°8 : proportions des surdités liées aux mutations bi alléliques du gène GJB2 dans différentes populations**

| Pays               | Patients (n) | GJB2 (%) | 35delG/35delG (%) | Références  |
|--------------------|--------------|----------|-------------------|-------------|
| France             | 88           | 39,8     | 28,4              | [66]        |
| Italie/ Espagne    | 136          | 36,8     | 32,4              | [67]        |
| Grèce              | 210          | 33,3     | 30                | [68]        |
| Liban              | 48           | 33,3     | 31,3              | [69]        |
| Turquie            | 60           | 31,1     | 20,4              | [70]        |
| Chine              | 118          | 16,1     | 0                 | [71]        |
| Egypte             | 111          | 14,4     | 9                 | [72]        |
| République Tchèque | 156          | 37,8     | 28,8              | [73]        |
| Oman               | 51           | 0        | 0                 | [63]        |
| Slovaquie          | 90           | 45,6     | 40                | [64]        |
| Maroc              | 81           | 40,12    | 35,8              | [62]        |
| Maroc              | 116          | -        | 24                | [65]        |
| Maroc              | 624          |          | 15,06             | Notre série |

Cette grande variabilité pourrait être due à l'origine ethnique des populations étudiées, aux méthodes moléculaires utilisées pour le séquençage des mutations, aux critères de sélection des patients ou encore au nombre réduit de certaines études.

Notre étude menée sur une population de 624 sujets présentant une surdité congénitale isolée montre que la prévalence des mutations du gène GJB2 était de 21,64 %. Ces résultats sont proches de ceux retrouvés dans les pays du pourtour méditerranéen.

Ainsi, nos résultats confirment les résultats de la littérature [64,65], qui affirment le rôle majeur du gène GJB2 dans la surdité génétique au Maroc.

#### 1- Place de la mutation 35delG dans la surdité liée au gène GJB2 :

Les résultats de notre étude affirment que la mutation 35delG est de loin la mutation la plus fréquente en cause de surdité au Maroc avec une proportion de 85,65% par rapport aux autres mutations retrouvées du gène GJB2.

Cette haute fréquence pourrait refléter la présence d'un point mutationnel chaud (mutational hot spot) sur le gène GJB2 [20,74,75,76,77].

Par ailleurs, la fréquence des porteurs sains hétérozygotes dans notre population est estimée à 2,1%, ce qui rejoint les résultats retrouvés dans la population méditerranéenne (tableau n°9), soit 2,73% en France [78], 2,31% en Espagne [79], 2,33% au Liban [69] et 3,54% en Grèce [80].

En effet, les pays du sud de l'Europe et du pourtour méditerranéen et notamment la Grèce présentent la prévalence la plus haute de la mutation 35delG dans le monde (3,54% pour la Grèce [80]) ce qui rend cette région le centre géographique de cette mutation.

Tableau n°9 : prévalence de la mutation 35delG dans les populations méditerranéennes

| Pays                | Fréquence des porteurs sains (%) |
|---------------------|----------------------------------|
| France [70]         | 2,73                             |
| Espagne [71]        | 2,31                             |
| Liban [57]          | 2,33                             |
| Grèce [72]          | 3,54                             |
| Maroc (notre série) | 2,1                              |

Par ailleurs, nous constatons à travers notre étude que 1,92% des patients sourds étaient porteurs de la mutation 35delG à l'état hétérozygote, sans autre mutation sur la partie codante du gène GJB2. Ce qui laisse suggérer que le GJB2 n'est pas responsable de la surdité chez ces patients. Une analyse additionnelle du gène GJB6 a été réalisée chez ces patients, se révélant négative.

Ces résultats suggèrent l'implication d'autres facteurs génétiques ou environnementaux ayant un rôle dans la manifestation de la surdité chez ces patients.

Les bases génétiques de ces variations restent inconnues à ce jour. Des explications peuvent être proposées, telles des mutations sur des gènes codant pour d'autres connexines en relation ou en interaction avec les gènes GJB2 et/ou GJB6 sur la région promotrice au niveau de l'oreille interne [81,82], ou encore l'existence de gènes appelés "modifiants". [83]

En conséquent, ces patients et familles ont besoin d'une étude moléculaire plus poussée afin d'identifier des mutations sur d'autres gènes ou loci sur le chromosome 13 ou ailleurs.

## 2- Autres mutations du gène GJB2 :

La mutation 35delG a longtemps été considérée comme la seule mutation du gène GJB2 identifiée chez les patients présentant une surdité non syndromique autosomique récessive au Maroc. [64,74]

A travers notre étude, nous avons identifié 4 nouvelles mutations, présentes à l'état homozygote ou hétérozygote.

Le génotype E47X/35delG a été retrouvé chez 3 patients avec une fréquence de 0,48%. Ce génotype est décrit par différentes études comme étant associé à une surdité sévère à profonde. [84,85,86]

Une autre mutation V37I a été retrouvée à l'état hétérozygote avec une fréquence de 3,37%. Cette mutation a été initialement décrite dans la littérature dans une population contrôle avec une fréquence de 0,5% [67], puis retrouvée dans d'autres études dans les populations aussi bien contrôle et malade.

Paradoxalement, certaines études confirment le caractère pathogène de cette mutation à l'état homozygote et hétérozygote [71,85].

Les sujets contrôles ainsi que les familles des patients présentant cette mutation devront être réexaminés afin de déterminer et mieux discuter le statut de la mutation V37I et son implication dans la surdité récessive non syndromique.

La mutation V37I a également été retrouvée chez nos patients dans le cadre du génotype del120E/V37I avec une fréquence de 0,48%.

Enfin, la dernière mutation identifiée est la mutation G200R retrouvée à l'état homozygote avec une fréquence de 0,32%.

# CONCLUSION

A travers notre étude, nous confirmons l'implication incontestable et fréquente des mutations du gène GJB2 dans la surdité autosomique récessive non syndromique au Maroc, comme c'est le cas dans d'autres pays du pourtour méditerranéen.

Ainsi, ce type de surdité constitue un véritable problème de santé publique, vue sa grande fréquence au sein de la population marocaine.

La forte prévalence des mutations du gène GJB2 et surtout de la mutation 35delG peut être expliquée par:

- ✓ La longue tradition de mariage consanguin (25-35% selon les régions), responsable de la concentration de certaines caractéristiques génétiques et mutations, mais aussi l'apparition plus fréquente de maladies congénitales à transmission autosomique récessive.
- ✓ La prévalence élevée des porteurs hétérozygotes dans la population contrôle (2,07%).

Nous avons également pu à travers notre étude identifier quatre autres mutations du gène de la connexine 26, V37I, E37X, G200R et 120delE.

Ces résultats incitent à réaliser un diagnostic moléculaire comprenant une recherche systématique de la mutation 35delG chez les enfants présentant une surdité isolée congénitale. Un séquençage de toute la partie codante du gène GJB2 doit être entrepris en l'absence de cette mutation.

L'absence d'altérations génétiques dans notre population (78,36%) suggère clairement l'implication d'autres gènes nécessitant une analyse génétique plus poussée.

Le diagnostic moléculaire des surdités chez nos patients nous permet d'une part d'entamer une prise en charge précoce et d'autre part de proposer aux familles un conseil génétique basé sur des données scientifiques précises.

# REFERENCES

- [1] Vincent C. Les surdités génétiques. *Archives de Pédiatrie* (2003) 10S1:150-2.
- [2] Vincent C. surdités génétiques: mise au point. *La Revue de médecine interne* 32S (2011) S2-S4
- [3] F. Denoyelle, S. Marlin. Surdités de perception d'origine génétique. *EMC-Oto-rhino-laryngologie 2* (2005) 343-364
- [4] Kelsell DP, Dunlop J, Stevens HP et al. Connexin 26 mutations in hereditary nonsyndromic sensorineural deafness. *Nature* (1997); 387:80-3.
- [5] Denoyelle F, Lina-Granade G, Plauchu H et al. Connexin26 gene linked to a dominant deafness. *Nature* (1998) ;393:319-20.
- [5'] R. Nouvian, D. Malinvaud, T. Van den Abbeele et al. Physiologie de l'audition. *EMC Oto-rhino-laryngologie* (2006) 20-030-A-10
- [6] Siemens J, Lillo C, Dumont RA et al. Cadherin 23 is a component of the tip link in haircell stereocilia. *Nature*( 2004) ;428:950-5.
- [7] Sollner C, Rauch GJ, Siemens J et al. Mutations in cadherin 23 affect tip links in zebrafish sensory hair cells. *Nature* (2004);428:955-9.
- [8] Cohen-Salmon M, El-Amraoui A, Leibovici M, Petit C. Otogelin: a glycoprotein specific to the acellular membranes of the inner ear. *Proc Natl Acad Sci USA* (1997); 94:14450-5.-
- [10] Legan PK, Rau A, Keen JN, Richardson GP. The mouse tectorins: modular matrix proteins of the inner ear homologous to components of the sperm-egg adhesion system. *J Biol Chem* (1997); 272:8791-801.
- [11] Puel JL. Chemical synaptic transmission in the cochlea. *Prog Neurobiol* (1995); 47:449-62.
- [12] Dallos P. The active cochlea. *J Neurosci* (1992);12:4575-85.

- [13] Brownell WE, Bader CR, Bertrand D et al. Evoked mechanical responses of isolated cochlear outer hair-cells. *Science* (1985); 227:194-6.
- [14] Wallner M, Meera P, Toro L. Molecular basis of fast inactivation in voltage and Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels: a transmembrane betasubunit homolog. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:4137-42.
- [15] Sidi S, Friedrich RW, Nicolson T. NompC TRP channel required for vertebrate sensory hair cell mechanotransduction. *Science* 2003;301: 96-9.
- [16] M. Blanchard, B. Thierry, S. Marlin, F. Denoyelle. Aspects génétiques de la surdité. *Archives de p diatrie* 19 (2012) 886-889
- [17] Petit C, Levilliers J, Hardelin JP. Molecular genetics of hearing loss. *Annu Rev Genet* (2001), 35:589-646
- [18] Denoyelle F, Marlin S, Petit C, Garabedian EN. Hereditary sensorineural deafness. *Rev Prat* (2000); 15:146-9
- [19] Van Camp G, Smith R. Hereditary hearing loss homepage [Internet]. Available from: <http://hereditaryhearingloss.org>.
- [20] Denoyelle F, Weil D, Maw MA et al. Prelingual deafness: high prevalence of a 35delG mutation in the connexin 26 gene. *Hum Mol Genet* (1997) Nov;6 (12): 2173-7
- [21] Albert S, Blons H, Jonard L, et al. SLC26A4 gene is frequently involved in nonsyndromic hearing impairment with enlarged vestibular aqueduct in Caucasian populations. *EJHG* (2006);14(6):773-9.
- [22] Jonard L, Niasme-Grare M, Bonnet C, et al. Screening of SLC26A4, FOXI1 and KCNJ10 genes in unilateral hearing impairment with ipsilateral enlarged vestibular aqueduct. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* (2010);74(9):1049-53.

- [23] A. Marcolla, P Bouchetembe, Y. Lerosey et al. Surdités d'origine génétique. Annales d'otorhinolaryngologie et de chirurgie cervicofaciale (2006). 123,3,143-147
- [24] Stern RE, Lalwani AK. Audiologic evidence for further genetic heterogeneity at DFNA2. Acta Otolaryngol (2002); 122:730-5
- [25] OH N, Kupka S, Mirghmizadeh F et al. Clinical and molecular genetic analysis of monozygotic twins displaying stapes gusher syndrome (DFN3). HNO (2003); 51:629-33
- [26] Gorlin RJ, Toriello HV, Cohen MM. Hereditary hearing loss and its syndromes. New York: Oxford University Press;(1995).
- [27] Walter E. Nance. The genetics of deafness. Mental retardation and developmental disabilities. Research reviews (2003) 9: 109-119.
- [28] E Hoang Dinh, Shoeb Ahmad, Qing Chang et al. Diverse deafness mechanisms of connexin mutations revealed by studies using in vitro approaches and mouse models. Brain research 1277 (2009) 52-69
- [29] Ballana, E., Ventayol, M., Rabionet, R., Gasparini, P., Estivill, X., 2005. Connexins and deafness homepage. <http://davinci.crg.es/deafness/>.
- [30] Chang, E.H., Van Camp, G., Smith, R.J. The role of connexins in human disease. Ear Hear. (2003) 24, 314-323.
- [31] White, T.W., Deans, M.R., Kelsell, D.P., Paul, D.L. Connexin mutations in deafness. Nature. (1998) 394, 630-631.
- [32] Kiang D.T, Jin N, Tu ZJ et al. Upstream genomic sequence of the human connexin 26 gene. Gene. (1997); 199(1-2):165-71
- [33] Guilford P, Ben Arab S, Blanchard S et al. A nonsyndromic form of neurosensory, recessive deafness maps to the pericentromeric region of chromosome 13q. Nat Gen (1994);6:24-28.

- [34] Cremers Cor WRJ, Smith RJH (eds): Genetic Hearing Impairment. Adv Otorhinolaryngol. Basel, Karger,( 2002), vol 61, pp 113–119
- [35] O Abidi, R Boulouiz, H Nahili et al. GJB2 (connexin 26) gene mutations in Moroccan patients with autosomal recessive non-syndromic hearing loss and carrier frequency of the common GJB2—35delG mutation. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology (2007) 71, 1239—1245
- [36] H Nahili, M Ridal, R Boulouiz et al. Absence of GJB3 and GJB6 mutations in Moroccan familial and sporadic patients with autosomal recessive non-syndromic deafness. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology (2008) 72, 1633—1636
- [37] R.J. Morell, H.J. Kim, L.J. Hood, L. et al. Mutations in the connexin 26 gene (GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness, N. Engl. J. Med. 339 (1998) 1500—1505.
- [38] S. Abe, S. Usami, H. Shinkawa, P.M. Kelley, W.J. Kimberling. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese, J. Med. Genet. 37 (2000) 41—43.
- [39] Y.C. Wang, C.Y. Kung, M.C. Su et al., Mutations of Cx26 gene (GJB2) for prelingual deafness in Taiwan, Eur. J. Hum. Genet. 10 (2002) 495—498.
- [40] Sun, J., Ahmad, S., Chen, S. et al. Cochlear gap junctions coassembled from Cx26 and 30 show faster intercellular Ca<sup>2+</sup> signaling than homomeric counterparts. Am. J. Physiol. Cell. Physiol. (2005) 288, C613–C623.
- [41] Ahmad, S., Chen, S., Sun, J., Lin, X. Connexins 26 and 30 are co-assembled to form gap junctions in the cochlea of mice. Biochem. Biophys. Res. Commun. (2003) 307, 362–368.

- [42] Forge, A., Becker, D., Casalotti et al. Gap junctions in the inner ear: comparison of distribution patterns in different vertebrates and assessment of connexin composition in mammals. *J. Comp. Neurol.* (2003a) 467, 207–231.
- [43] Chang, Q., Tang, W., Ahmad et al. Gap junction mediated intercellular metabolite transfer in the cochlea is compromised in connexin 30 null mice. (2008) *PLoS ONE* 3, e4088
- [44] Laird, D.W. Life cycle of connexins in health and disease. *Biochem. J.* (2006) 394, 527–543.
- [45] Stong, B.C., Chang, Q., Ahmad, S. A novel mechanism for connexin 26 mutation linked deafness: cell death caused by leaky gap junction hemichannels. *Laryngoscope.* (2006) 116, 2205–2210.
- [46] Cohen-Salmon, M., Ott, T., Michel, V et al. Targeted ablation of connexin26 in the inner ear epithelial gap junction network causes hearing impairment and cell death. *Curr. Biol.* (2002) 12, 1106–1111.
- [47] Beltramello, M., Piazza, V., Bukauskas, F.F et al. Impaired permeability to Ins(1,4,5)P3 in a mutant connexin underlies recessive hereditary deafness. *Nat. Cell. Biol.* (2005) 7, 63–69.
- [48] Zhang, Y., Tang, W., Ahmad S et al. Gap junction-mediated intercellular biochemical coupling in cochlear supporting cells is required for normal cochlear functions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (2005) 102, 15201–15206.
- [49] Suzuki, T., Matsunami, T., Hisa, Y et al. Roles of gap junctions in glucose transport from glucose transporter 1-positive to -negative cells in the lateral wall of the rat cochlea. *Histochem. Cell. Biol.* (2009) 131, 89–102.

- [50] Matsunami, T., Suzuki, T., Hisa, Y et al. Gap junctions mediate glucose transport between GLUT1-positive and -negative cells in the spiral limbus of the rat cochlea. *Cell. Commun. Adhes.* (2006) 13, 93–102.
- [51] Parry G, et al. Connexin 26 mutations in hereditary nonsyndromic sensorineural deafness. *Nature* 1997;387:80–3.
- [52] Denoyelle F, Lina-Granade G, Plauchu H et al. Connexin26 gene linked to a dominant deafness. *Nature* 1998;393:319–20.
- [53] Feldmann D, Denoyelle F, Loundon N et al. Clinical evidence of the nonpathogenic nature of the M34T variant in the connexin26 gene. *Eur J Hum Genet* 2004;12:279–84.
- [54] Morlé L, Bozon M, Alloisio N et al. A novel C202F mutation in the connexin26 gene (GJB2) associated with autosomal dominant isolated hearing loss. *J Med Genet* 2000;37:368–9.
- [55] Heathcote K, Syrris P, Carter ND, et al. A connexin 26 mutation causes a syndrome of sensorineural hearing loss and palmoplantar hyperkeratosis *J Med Genet* (2000) 37:50–51.
- [56] Maestrini E, Korge BP, Ocana-Sierra J, et al. A missense mutation in connexin26, D66H, causes mutilating keratoderma with sensorineural deafness (Vohwinkel's syndrome) in three unrelated families. *Hum Mol Genet* (1999) 8:1237–1243.
- [57] Richard G, Rouan F, Willoughby CE, et al. Missense mutations in GJB2 encoding connexin-26 cause the ectodermal dysplasia keratitis- ichthyosis- deafness syndrome. *Am J Hum Genet* (2002) 70:1341–1348.
- [58] Elzière M, Roman S, Nicolas R, Triglia JM. Value of systematic aetiological investigation in children with sensorineural hearing loss. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* 2012;129(4):185-189

- [59] C POI. Epidémiologie et étiologies des surdités de l'enfant. *Archiv pédiatr.* 2003; 10 Suppl 1: 148s-150s.
- [60] Santé en chiffre 2010. Direction de la Planification et des ressources financières, division de la planification et des études, Service des études et de l'information sanitaire. 2010. Ministère de la santé, Royaume du Maroc.
- [61] Ridal M, N Ouattassi, Z Taybi et al. Profil étiologique des surdités neurosensorielles sévères et profondes de l'enfant dans la région du centre-nord du Maroc. *Pan African Journal of Medicine* 2014
- [62] O Abidi, R Boulouiz, H Nahili et al. GJB2 (connexin 26) gene mutations in Moroccan patients with autosomal recessive non-syndromic hearing loss and carrier frequency of the common GJB2—35delG mutation. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* (2007) 71, 1239—1245
- [63] M. Simsek, N. Al-Wardy, A. Al-Khayat et al., Absence of deafness-associated connexin-26 (GJB2) gene mutations in the Omani population, *Hum. Mutat.* 18 (2001) 545—546.
- [64] G. Minarik, E. Ferakova, A. Ficek, et al. GJB2 gene mutations in Slovak hearing-impaired patients of Caucasian origin: spectrum, frequencies and SNP analysis, *Clin. Genet.* 68 (2005) 554—557.
- [65] B. Gazzaz, D. Weil, L. Rais et al. Autosomal recessive and sporadic deafness in Morocco: high frequency of the 35delG GJB2 mutation and absence of the 342-kb GJB6 variant, *Heart Res.* 210 (2005) 80—84.
- [66] F. Denoyelle, S. Marlin, D. Weil et al. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counselling, *Lancet* 353 (1999) 1298—1303.
- [67] X. Estivill, P. Fortina, S. Surrey, R. Rabionet et al., Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness, *Lancet* 351 (1998) 394-398.

- [68] A. Pampanos, J. Economides, V. Iliadou, P. Neou, P. Leotsakos, N. Voyiatzis, et al., Prevalence of GJB2 mutations in prelingual deafness in the Greek population, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 65 (2002) 101—108.
- [69] M. Mustapha, N. Salem, V. Delague et al., Autosomal recessive non-syndromic hearing loss in the Lebanese population: prevalence of the 30delG mutation and report of two novel mutations in the connexin 26 (GJB2) gene, *J. Med. Genet.* 38 (2001) E36.
- [70] O. Uyguner, M. Emiroglu, A. Uzumcu et al., Frequencies of gap- and tight-junction mutations in Turkish families with autosomal-recessive nonsyndromic hearing loss, *Clin. Genet.* 64 (2003) 65—69.
- [71] X.Z. Liu, X.J. Xia, X.M. Ke et al., The prevalence of connexin 26 (GJB2) mutations in the Chinese population, *Hum. Genet.* 111 (2002) 394—397.
- [72] R.L. Snoeckx, D.M. Hassan, N.M. Kamal et al. Mutation analysis of the GJB2 (connexin 26) gene in Egypt, *Hum. Mutat.* 26 (2005) 60—61.
- [73] P. Seeman, M. Malikova, D. Raskova et al., Spectrum and frequencies of mutations in the GJB2 (Cx26) gene among 156 Czech patients with prelingual deafness, *Clin. Genet.* 66 (2004) 152—157.
- [74] N.J. Lench, A.F. Markham, R.F. Mueller et al., A Moroccan family with autosomal recessive sensorineural hearing loss caused by a mutation in the gap junction protein gene connexin 26 (GJB2), *J. Med. Genet.* 35 (1998) 151—152.
- [75] P.M. Kelley, D.J. Harris, B.C. Comer et al., Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss, *Am. J. Hum. Genet.* 62 (1998) 792—799.
- [76] M.M. Carrasquillo, J. Zlotogora, S. Barges, A. Chakravarti, Two different connexin 26 mutations in an inbred kindred segregating non-syndromic

- recessive deafness: implications for genetic studies in isolated populations, *Hum. Mol. Genet.* 6 (1997) 2163—2172.
- [77] R.J. Morell, H.J. Kim, L.J. Hood, L. et al. Mutations in the connexin 26 gene (GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness, *N. Engl. J. Med.* 339 (1998) 1500—1505.
- [78] G. Lucotte, C. Bathelier, T. Champenois, PCR test for diagnosis of the common GJB2 (connexin 26) 35delG mutation on dried blood spots and determination of the carrier frequency in France, *Mol. Cell Probes* 15 (2001) 57—59.
- [79] R. Rabionet, L. Zelante, N. Lopez-Bigas et al., Molecular basis of childhood deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene, *Hum. Genet.* 106 (2000) 40—44.
- [80] T. Antoniadis, R. Rabionet, C. Kroupis *et al.* High prevalence in the Greek population of the 35delG mutation in the connexin 26 gene causing prelingual deafness *Clin. Genet.*, 55 (1999), pp. 581–582
- [81] Liu, X.Z., Xia, X.J., Adams, J. et al. Mutations in GJA1 (Connexin 43) are associated with non syndromic autosomal recessive deafness. *Hum. Mol. Genet.* (2001) 10, 2945–2951.
- [82] Liu, X.Z., Xia, X.J., Xu, L.R et al. Mutations in connexin 31 underlie recessive as well as dominant non syndromic hearing loss. *Hum. Mol. Genet.* (2000) 9, 63–67.
- [83] Ruazidin, S., Castelein, C.M., Ahmed, Z.M. et al. Dominant modifier DFMN1 suppresses recessive deafness DFNB26. *Nat. Genet.* (2000) 26, 431–434.
- [84] A.F. Roux, N. Pallares-Ruiz, A. Vielle et al., Molecular epidemiology of DFNB1 deafness in France, *BMC Med. Genet.* 5 (2004) 5.

- [85] S. Marlin, E.N. Garabedian, G. Roger et al., Connexin 26 gene mutations in congenitally deaf children: pitfalls for genetic counseling, *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 127 (2001) 927—933.
- [86] I. Medica, G. Rudolf, M. Balaban, B.C. Peterlin, 35delG/GJB2 and del(GJB6-D13S1830) mutations in Croatians with prelingual non-syndromic hearing impairment, *BMC Ear Nose Throat Disord.* 5 (2005) 11.