



UNIVERSITÉ DE LILLE  
**FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG**  
Année : 2020-2021

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Diagnostic des surdités d'origine génétique au CHU de Lille :  
caractérisation clinique et moléculaire d'une cohorte de 692  
patients**

Présentée et soutenue publiquement le 18 juin 2021 à 14 heures  
au Pôle Formation  
par **Simon BOUSSION**

---

**JURY**

**Président :**

**Madame le Professeur Sylvie MANOUVRIER**

**Assesseurs :**

**Madame le Professeur Florence PETIT**

**Madame le Docteur Claire-Marie DHAENENS**

**Monsieur le Docteur Nicolas-Xavier BONNE**

**Directeur de thèse :**

**Madame le Docteur Catherine VINCENT-DELORME**

---



## AVERTISSEMENT

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

# Table des matières

<b>RESUME .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>2</b>
<b>I. QUELQUES NOTIONS D'ACOUSTIQUE ET DE PSYCHO-ACOUSTIQUE .....</b>	<b>4</b>
A. DEFINITION DU SON .....	4
B. FREQUENCE D'UN SON .....	4
C. L'INTENSITE ACOUSTIQUE.....	5
D. LA SONIE .....	5
E. LA TONIE .....	6
F. LE CHAMP AUDITIF .....	7
<b>II. ANATOMIE DE L'OREILLE.....</b>	<b>8</b>
A. L'OREILLE EXTERNE.....	8
B. L'OREILLE MOYENNE.....	9
C. L'OREILLE INTERNE .....	10
1. <i>Le labyrinthe vestibulaire</i> .....	11
2. <i>Le labyrinthe cochléaire</i> .....	12
3. <i>L'organe de Corti</i> .....	13
D. LES VOIES NERVEUSES AUDITIVES .....	15
<b>III. EMBRYOLOGIE DE L'OREILLE.....</b>	<b>18</b>
A. L'APPAREIL PHARYNGE .....	18
B. DEVELOPPEMENT DE L'OREILLE EXTERNE .....	19
C. DEVELOPPEMENT DE L'OREILLE MOYENNE .....	19
D. DEVELOPPEMENT DE L'OREILLE INTERNE .....	20
E. DEVELOPPEMENT DES STEREOCILS .....	20
<b>IV. PHYSIOLOGIE DE L'AUDITION : MECANISME DE TRANSDUCTION DU SON .....</b>	<b>21</b>
A. TRANSMISSION ET ADAPTATION DU SON DU MILIEU EXTERIEUR A L'OREILLE INTERNE .....	22
B. FONCTIONNEMENT DE L'OREILLE INTERNE .....	23
1. <i>Vibrations des milieux liquidiens et de la membrane basilaire</i> .....	23
2. <i>Structure et fonction des stéréocils</i> .....	25
3. <i>Les flux ioniques au-travers des cellules ciliées</i> .....	27
4. <i>Le rôle des cellules ciliées externes</i> .....	28
5. <i>Fonction des cellules ciliées internes</i> .....	29
6. <i>Fibres nerveuses</i> .....	30
7. <i>Le recyclage du potassium et la strie vasculaire</i> .....	31
<b>V. LA SURDITE EN PATHOLOGIE HUMAINE ET LES SURDITES HEREDITAIRES.....</b>	<b>33</b>
A. DEFINITIONS ET SEMIOLOGIE DES SURDITES.....	33
B. EPIDEMIOLOGIE.....	35
C. SURDITES ACQUISES.....	36
D. SURDITES HEREDITAIRES .....	37
1. <i>Epidémiologie des surdités héréditaires</i> .....	37
2. <i>Surdités isolées</i> .....	39
3. <i>Surdités syndromiques</i> .....	60
4. <i>Les surdités mitochondriales</i> .....	75
<b>VI. LE DIAGNOSTIC DES SURDITES .....</b>	<b>77</b>
A. METHODES D'EXPLORATION FONCTIONNELLE DES SURDITES : .....	77
1. <i>Examen clinique</i> .....	77
2. <i>Audiométrie tonale</i> .....	79
3. <i>Audiométrie vocale</i> .....	80
4. <i>Potentiels évoqués auditifs précoces du tronc cérébral</i> .....	81

5.	<i>Oto-émissions acoustiques</i> .....	83
B.	LE DEPISTAGE DE LA SURDITE .....	84
1.	<i>Le dépistage néonatal de la surdité</i> .....	84
2.	<i>Le dépistage de la surdité au cours de l'enfance</i> .....	86
C.	PLACE DE LA GENETIQUE DANS LE DIAGNOSTIC DES SURDITES.....	86
1.	<i>Démarche diagnostique des surdités en génétique clinique</i> .....	86
2.	<i>Démarche diagnostique en biologie moléculaire</i> .....	88
3.	<i>Evolution de la biologie moléculaire dans le diagnostic des surdités héréditaires</i> .....	90
4.	<i>Enjeux du diagnostic des surdités d'origine génétique</i> .....	92
<b>VII.</b>	<b>CONTEXTE</b> .....	<b>93</b>
	<b>MATERIEL ET METHODES</b> .....	<b>95</b>
<b>I.</b>	<b>OBJECTIFS DE L'ETUDE</b> .....	<b>95</b>
<b>II.</b>	<b>PATIENTS</b> .....	<b>95</b>
A.	RECRUTEMENT DES PATIENTS .....	95
B.	RECUEIL DES DONNEES CLINIQUES .....	96
C.	RECUEIL DES DONNEES MOLECULAIRES .....	97
D.	TRAITEMENT PARTICULIER DE CERTAINES DONNEES.....	98
<b>III.</b>	<b>ANALYSES STATISTIQUES</b> .....	<b>99</b>
<b>IV.</b>	<b>ANALYSES MOLECULAIRES</b> .....	<b>100</b>
A.	EXTRACTION D'ADN .....	101
B.	ANALYSES NGS.....	101
1.	<i>Préparation de la librairie</i> .....	101
2.	<i>Amplification clonale et séquençage</i> .....	102
3.	<i>Analyse des données de séquençage</i> .....	102
C.	SEQUENÇAGE SANGER .....	103
D.	ANALYSE DES CNV.....	103
E.	ANALYSES MITOCHONDRIALES.....	103
	<b>RESULTATS</b> .....	<b>105</b>
<b>I.</b>	<b>ACTIVITE DU LABORATOIRE</b> .....	<b>105</b>
<b>II.</b>	<b>DESCRIPTION DE LA COHORTE</b> .....	<b>114</b>
A.	CONSTITUTION DE LA COHORTE .....	114
B.	DONNEES DEMOGRAPHIQUES .....	116
C.	CARACTERISTIQUES DE L'ENSEMBLE DES PATIENTS .....	116
<b>III.</b>	<b>RESULTATS DU PANEL POUR L'ENSEMBLE DE LA COHORTE</b> .....	<b>120</b>
A.	PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES DU PANEL DE GENES .....	120
B.	TAUX DE CONCORDANCE ENTRE LE TYPE DE PRESENTATION CLINIQUE ET LES RESULTATS MOLECULAIRES.....	124
C.	EVALUATION DES ANTECEDENTS FAMILIAUX ET DE FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX SUR LES RESULTATS MOLECULAIRES .	125
1.	<i>Impact des antécédents familiaux</i> .....	125
2.	<i>Impact des facteurs de risques anténataux et néonataux de surdité</i> .....	126
<b>IV.</b>	<b>ANALYSE DU GROUPE DES PATIENTS ATTEINTS DE SURDITE ISOLEE</b> .....	<b>127</b>
A.	PERFORMANCE DIAGNOSTIQUE DU PANEL POUR LES SURDITES ISOLEES .....	127
B.	CARACTERISTIQUES CLINIQUES DES PATIENTS EN FONCTION DES RESULTATS DE SEQUENÇAGE.....	128
C.	GENES IDENTIFIES ET MODES DE TRANSMISSION.....	130
<b>V.</b>	<b>ANALYSE DU GROUPE DES PATIENTS ATTEINTS DE SURDITE SYNDROMIQUE</b> .....	<b>133</b>
A.	PERFORMANCE DIAGNOSTIQUE DU PANEL POUR LES SURDITES SYNDROMIQUES.....	133
B.	CARACTERISTIQUES DE LA SURDITE DES PATIENTS SYNDROMIQUES .....	136
C.	SIGNES ASSOCIES .....	140
1.	<i>Atteintes spécifiques d'organes</i> .....	140

2.	<i>Atteintes neuro-développementales et anomalies de croissance</i> .....	144
D.	CORRELATION ENTRE LA PRESENTATION CLINIQUE ET LES RESULTATS MOLECULAIRES .....	146
1.	<i>Importance de l'hypothèse étiologique</i> .....	146
2.	<i>Valeur prédictive positive et spécificité des présentations syndromiques</i> .....	148
3.	<i>Influence du nombre de signes associés sur les résultats moléculaires</i> .....	151
E.	CAS DES PATIENTS NE PRESENTANT PAS D'ATTEINTE SPECIFIQUE D'ORGANE.....	152
	<b>DISCUSSION</b> .....	<b>154</b>
I.	<b>ANALYSE GLOBALE DES RESULTATS DU PANEL NSG-SURDITES</b> .....	<b>154</b>
A.	PRESENTATIONS CLINIQUES DES PATIENTS .....	154
B.	TAUX DIAGNOSTIQUE.....	155
1.	<i>Taux diagnostique global</i> .....	155
2.	<i>Taux diagnostique en fonction de la présentation clinique</i> .....	158
3.	<i>Nombre de VSI</i> .....	158
II.	<b>COMPARAISON DE NOTRE COHORTE AVEC LES DONNEES DE LA LITTERATURE</b> .....	<b>159</b>
A.	EFFECTIFS .....	160
B.	PROFILS DES PATIENTS.....	160
C.	STRATEGIE D'ANALYSES MOLECULAIRES .....	161
D.	TAUX DIAGNOSTIQUES .....	162
III.	<b>LES DIAGNOSTICS IDENTIFIES EN NGS</b> .....	<b>164</b>
A.	RATIO DE DIAGNOSTICS DE SURDITE ISOLEE PAR RAPPORT AUX DIAGNOSTICS DE SURDITE SYNDROMIQUE .....	164
B.	LES GENES DE SURDITES ISOLEE IDENTIFIES.....	165
C.	LES GENES DE SURDITE SYNDROMIQUE IDENTIFIES .....	165
D.	CONCORDANCE CLINICO-BIOLOGIQUE .....	167
IV.	<b>ANALYSE DU PHENOTYPE DES PATIENTS</b> .....	<b>169</b>
A.	RECUEIL RETROSPECTIF DES DONNEES CLINIQUES.....	169
B.	PATIENTS PRESENTANT UNE SURDITE ISOLEE .....	170
C.	PATIENTS PRESENTANT UNE SURDITE SYNDROMIQUE.....	172
1.	<i>Analyse des cas positifs selon les syndromes identifiés</i> .....	172
2.	<i>Signes évocateurs des étiologies identifiées parmi les patients positifs</i> .....	176
3.	<i>Evaluation des signes cliniques associés à la surdité dans l'ensemble du groupe de surdité syndromique et intérêt pour la démarche étiologique</i> .....	177
4.	<i>Evaluation de l'intérêt d'autres paramètres cliniques dans la démarche étiologique</i> .....	180
5.	<i>Cas des patients ne présentant que des atteintes neuro-développementales et/ou des anomalies de croissance</i> .....	182
6.	<i>Conclusions de l'analyse des signes cliniques associés</i> .....	183
V.	<b>LE CONSEIL GENETIQUE DANS LE DOMAINE DES SURDITES HEREDITAIRES</b> .....	<b>185</b>
VI.	<b>L'ACTIVITE DE DIAGNOSTIC DES SURDITES GENETIQUES AU CHU DE LILLE</b> .....	<b>186</b>
VII.	<b>POINTS FORTS ET LIMITES DE L'ETUDE</b> .....	<b>189</b>
A.	POINTS FORTS.....	189
B.	LIMITES DE L'ETUDE.....	190
VIII.	<b>PERSPECTIVES</b> .....	<b>192</b>
	<b>CONCLUSION</b> .....	<b>194</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>196</b>
	<b>ANNEXES</b> .....	<b>207</b>

# Liste des abréviations

**ACMG** : *American College of Medical Genetics and Genomics*

**AD** : Mode de transmission autosomique dominant

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ANSD** : *Auditory Neuropathy Spectrum Disorder* (pathologies du spectre des neuropathies auditives)

**AR** : Mode de transmission autosomique récessif

**ATP** : Adénosine tri-phosphate

**AVC** : Accident Vasculaire Cérébral

**BOR** : syndrome Branchio-Oto-Rénal

**BU** : Bandelette urinaire

**Ca<sup>2+</sup>** : Ion calcium

**CAE** : Conduit auditif externe

**CAI** : Conduit auditif interne

**CAV** : Canal atrio-ventriculaire

**CCE** : Cellules ciliées externes

**CCI** : Cellules ciliées internes

**CH** : Centre Hospitalier

**CHARGE** : *Coloboma, Heart defect, choanal Atresia, Retarded growth and development, Genital anomalies, Ear anomalies*

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire

**CMV** : Cytomégalovirus

**CNV** : *Copy Number Variation* ou Variation du Nombre de Copies

**CSC** : Canal semi-circulaire

**dB** : Décibel

**del** : délétion

**DFNA** : Surdité non syndromique autosomique dominante

**DFNB** : Surdité non syndromique autosomique récessive

**DFNM** : Surdité non syndromique mitochondriale

**DFNX** : Surdité non syndromique liée au chromosome X

**DFNY** : Surdité non syndromique liée au chromosome Y

**Dup** : duplication

**ECG** : Electrocardiogramme

**FO** : Examen du fond d'œil

**HAS** : Haute Autorité de Santé

**HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>** : Ion bicarbonate

**I<sup>-</sup>** : Ion iodure

**IRM** : Imagerie par Résonance Magnétique

**IRT** : Insuffisance rénale terminale

**K<sup>+</sup>** : Ion potassium

**LX** : Mode de transmission liée au chromosome X

**MELAS** : *Mitochondrial Encephalopathy, Lactic Acidosis, Stroke-like episodes*

**MERRF** : *Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers*

**MET** : *Mechano-Electrical Transducer channels*

**MLPA** : *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*

**mV** : Millivolt

**Na<sup>+</sup>** : Ion sodium

**NARP** : *Neuropathy Ataxia and Retinis Pigmentosa*

**OE** : Oreille externe

**OEA** : Oto-émissions acoustiques

**OEAP** : Oto-émissions acoustiques provoquées

**OI** : Oreille interne

**OM** : Oreille moyenne

**ORL** : Oto-Rhino-Laryngologie

**PA** : Potentiel d'action

**PCR** : *Polymerase Chain Reaction*

**PE** : Potentiel endolymphatique

**PEA** : Potentiels évoqués auditifs

**PEAA** : Potentiels évoqués auditifs automatisés

**PEAP** : Potentiels évoqués auditifs précoces

**qPCR** : PCR quantitative (*quantitative Polymerase Chain Reaction*)

**Se** : Sensibilité

**Sp** : Spécificité

**TDM** : Tomosdensitométrie

**VPP** : Valeur prédictive positive

**VSI** : variant de signification indéterminée

**WS** : Syndrome de Waardenburg







# Résumé

La surdité est le handicap sensoriel le plus répandu dans les pays développés. Son incidence est estimée entre 1/1000 et 1/500 naissances. Les surdités congénitales sont d'origine génétique dans 60 à 80% des cas. Ces pathologies sont hétérogènes cliniquement et génétiquement. Le séquençage à haut débit (NGS) a permis de grandes avancées dans leur diagnostic étiologique. Les implications de celui-ci sont nombreuses : conseil génétique, pronostic, optimisation de la prise en charge ORL, dépistage des atteintes associées. L'objectif principal de cette étude rétrospective et multicentrique est l'analyse descriptive clinique et moléculaire des patients ayant bénéficié de l'analyse NGS du panel de gènes associés aux surdités au CHU de Lille de 2018 à 2020. Notre cohorte comprend 692 patients, dont 304 cas de surdité isolée et 388 cas de surdité syndromique. Le taux diagnostique du panel est de 26%. Il est significativement plus élevé dans les formes familiales que pour les cas sporadiques. Les 75 cas positifs de surdité isolée présentent tous une atteinte bilatérale. Les profils sont variables par ailleurs. Les 97 cas positifs de surdité syndromique sont répartis parmi 15 syndromes différents. Les plus fréquents sont les syndromes d'Usher (n=24), Waardenburg (n=11), Stickler (n=11), BOR (n=9) et Pendred (n=7). Certains signes cliniques sont fortement prédictifs d'un diagnostic précis. Nous nuancions le caractère prédictif d'autres signes classiquement associés à un syndrome particulier. Il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la littérature, les stratégies d'analyses variant selon les études. La description de larges cohortes améliore les connaissances cliniques et biologiques des surdités génétiques. Un nombre conséquent de cas négatifs de surdité isolée familiale, non éligibles au plan France Médecine Génomique, incite à proposer localement des analyses plus larges.

# Introduction

La surdité est le handicap neurosensoriel le plus fréquent dans les pays développés (1). Selon l'organisation mondiale de la santé, 466 millions de personnes dans le monde souffrent de surdité neuro-sensorielle, parmi lesquels 34 millions d'enfants (2,3). La part des étiologies génétiques de surdité est particulièrement importante parmi la population pédiatrique. En effet, 60 à 80% des surdités congénitales sont d'origine génétique (4).

Les surdités d'origine génétique, ou surdités héréditaires, forment une classe de pathologies très hétérogène. Sur le plan clinique, on distingue les surdités isolées ou non syndromiques, où la surdité représente la seule atteinte, des surdités syndromiques, dans lesquelles des atteintes d'organes très diverses sont associées à la surdité. Sur le plan moléculaire, 123 gènes sont associés à des surdités neuro-sensorielles non syndromiques (5), et la surdité est un symptôme décrit dans plusieurs centaines de syndromes génétiques (1).

Pour ces raisons cliniques couplées à des raisons techniques, le diagnostic étiologique des surdités héréditaires est longtemps resté limité. L'avènement du séquençage à haut débit (*Next Generation Sequencing* ou NGS) au début des années 2010 a révolutionné l'approche du diagnostic moléculaire dans le domaine des surdités héréditaires, permettant un séquençage plus accessible et simultané de nombreux gènes, y compris ceux de grande taille, chez plusieurs patients à la fois.

Le diagnostic étiologique précis d'une surdité génétique est important pour plusieurs raisons : il permet un conseil génétique fiable, une adaptation de la prise en charge et une évaluation pronostique de la surdité en raison de nombreuses corrélations génotype-phénotype qui ont été établies ou encore une surveillance adaptée voire anticipée des éventuelles manifestations extra-ORL.

Au CHU de Lille, le diagnostic des surdités héréditaires par NGS a été mis en place en 2014. Il s'est développé régulièrement depuis cette date, au fil de l'évolution des connaissances scientifiques dans ce domaine.

Dans un premier temps, nous introduirons quelques notions à connaître dans le domaine des surdités génétiques : nous verrons quelques bases de psycho-acoustique et d'anatomie de l'oreille, nous expliquerons les principes fondamentaux de la physiologie de l'audition. Puis nous définirons les notions clés de la surdité en pathologie humaine, nous détaillerons les principales étiologies de surdités et nous nous intéresserons plus en détail aux étiologies des surdités d'origine génétique. Nous détaillerons les principaux gènes impliqués dans les surdités non syndromiques et les principaux syndromes génétiques associés à des surdités. Nous verrons quelles méthodes sont utilisées en ORL pour diagnostiquer les surdités. Nous préciserons enfin la place de la consultation de génétique et de la biologie moléculaire dans le diagnostic des surdités.

Dans un second temps, nous aborderons le travail de thèse proprement dit. L'objectif de ce travail est d'analyser de manière rétrospective une cohorte des 692 patients ayant bénéficié de l'analyse NGS du panel de gènes impliqués dans les surdités génétiques au laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Lille entre janvier 2018 et juin 2020.

Après avoir expliqué notre méthode de recueil et d'analyses des données, nous présenterons nos principaux résultats. Nous commencerons par détailler les données démographiques de l'activité de séquençage du laboratoire. Nous nous intéresserons ensuite aux résultats globaux de notre panel de gènes et nous les comparerons aux données de la littérature. Nous détaillerons ensuite les données cliniques et moléculaires du groupe de patients atteints de surdité non syndromique puis du groupe

de patients atteints de surdité syndromique. Nous essaierons d'identifier les données cliniques pertinentes associées à chaque groupe permettant de guider le clinicien dans sa démarche diagnostique. Les résultats de ce travail seront enfin discutés.

## I. Quelques notions d'acoustique et de psycho-acoustique

### A. Définition du son

Du point de vue physique, un son peut ˆtre défini comme une onde de pression se propageant au sein d'un milieu mécanique.

Lorsque les particules d'un milieu mécanique vibrent autour d'une position de repos, elles génèrent localement une alternance de phénomènes de compression et décompression. La propagation de ces variations de pression au sein du milieu sans transport de matière correspond à une onde sonore (6).

### B. Fréquence d'un son

La plupart des ondes sonores sont périodiques. Un son périodique est caractérisé par :

- sa période  $T$  (exprimée en secondes (s)) : durée minimale séparant deux  tats vibratoires identiques d'un point du milieu ;
- sa fréquence  $f$  (exprimée en Hertz (Hz)) : nombre de période par unité de temps (c'est donc l'inverse de la période) ;
- Sa longueur d'onde  $\lambda$  (exprimée en mètres (m)) : distance minimale séparant deux points du milieu dans le mˆme état vibratoire (cela correspond également à la distance parcourue par l'onde sonore au cours d'une période).

Ces paramètres sont liés entre eux de la manière suivante :

$$\lambda = c \cdot T = c / f$$

où  $c$  est la vitesse de propagation de l'onde sonore dans le milieu (en  $m \cdot s^{-1}$ ).

### C. L'intensité acoustique

La propagation d'une onde sonore entraîne un transfert d'énergie. La puissance acoustique correspond à l'énergie générée chaque seconde par la propagation d'une onde sonore. En acoustique, elle est généralement rapportée à une unité de surface : on parle de puissance surfacique, ou intensité acoustique (7). Plus une onde sonore génère des variations de pression importantes, plus son intensité acoustique est élevée (Figure 1).

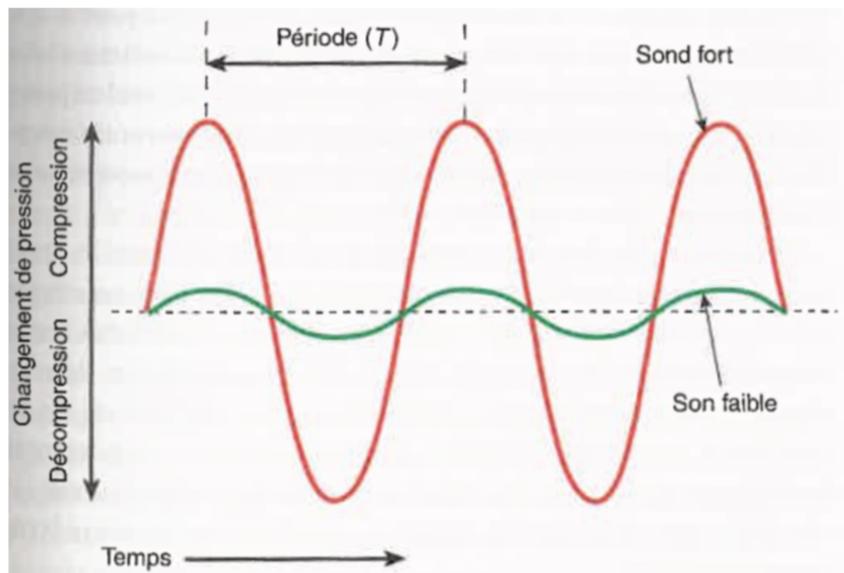


Figure 1 : Représentation schématique de deux sons purs sous la forme d'ondes de pression sinusoïdales. Les courbes décrivent l'évolution de la pression d'un point du milieu de propagation en fonction du temps. Les ondes sonores ont la même période (et donc la même fréquence) mais une intensité différente : la courbe rouge a une amplitude plus importante que la courbe verte, elle représente donc un son de plus forte intensité. D'après (7).

### D. La sonie

La sonie est la sensation de perception de l'intensité acoustique par l'oreille, c'est-à-dire la sensation de « volume » d'un son ou de « niveau sonore ».

L'intensité acoustique minimale perceptible par l'oreille humaine définit le seuil absolu d'audition. Il est en moyenne de  $10^{-12} \text{ W.m}^{-2}$  mais varie pour chaque fréquence (7).

Le seuil douloureux correspond à l'intensité acoustique à partir de laquelle un son génère une sensation d'inconfort pour l'oreille humaine. Il varie également selon les fréquences mais est en moyenne de  $1 \text{ W.m}^{-2}$  (7).

L'intensité acoustique est généralement exprimée de manière relative, comme une variation de l'intensité acoustique par rapport à l'intensité acoustique de référence. On utilise pour cela une échelle logarithmique, l'échelle des Bels. La relation entre le niveau sonore et l'intensité acoustique absolue est définie par :

$$L = 10 \cdot \log ( I / I_R )$$

où L est le niveau sonore, en décibels (dB *SPL* (*Sound Pressure Level*))

I est l'intensité acoustique (en  $W.m^{-2}$ )

$I_R = 10^{-12} W.m^{-2}$  : intensité acoustique de référence (seuil absolu d'audition).

Suivant cette échelle, le seuil moyen de l'audition humaine est de 0 dB et le seuil douloureux est de 120 dB (pour une fréquence de 1000 Hz).

### **E. La tonie**

La tonie est la sensation de perception de la hauteur d'un son. Elle est principalement corrélée à la fréquence du son. De manière générale, plus la fréquence d'un son est élevée, plus le son sera perçu comme aigu par l'oreille humaine et inversement.

L'oreille humaine perçoit les sons dont la fréquence est comprise entre 20 Hz et 20000 Hz. Les sons de fréquence inférieure à 20 Hz sont les infrasons. Les sons de fréquence supérieure à 20000 Hz sont les ultrasons (6).

La tonie influence la sonie : la sensation de perception du niveau sonore n'est pas la même pour chaque fréquence. Plus les sons sont aigus ou graves, plus l'intensité acoustique devra être importante pour générer la même sensation de sonie. Il est ainsi possible de déterminer des courbes d'isotonie : il s'agit des niveaux d'intensité acoustique qui génèrent la même sensation de sonie pour l'ensemble des fréquences du spectre auditif (Figure 2). Ces sensations identiques s'expriment en phones (6).

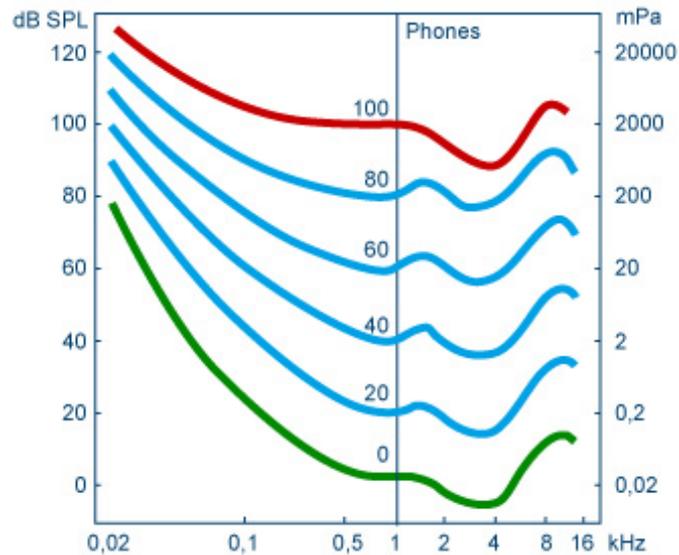


Figure 2 : Représentation schématique des courbes d'isophonie : chaque courbe représente les niveaux d'intensité sonore nécessaires pour générer la même sensation de sonie en fonction des fréquences. Les courbes verte et rouge représentent respectivement les courbes d'isophonie du seuil absolu d'audition et du seuil douloureux d'audition. D'après (6).

## F. Le champ auditif

Il désigne l'ensemble des sons détectables par l'oreille humaine, c'est-à-dire les sons compris entre 20 et 20000 Hz et d'intensité comprise entre le seuil auditif absolu et le seuil douloureux (Figure 3).

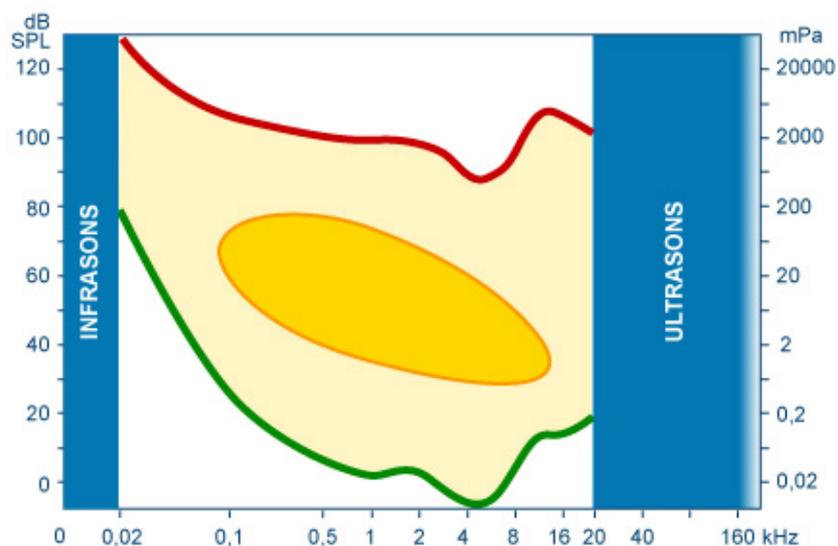


Figure 3 : Représentation schématique du champ auditif de l'oreille humaine. D'après (6).

## II. Anatomie de l'oreille

L'oreille est l'organe de l'audition et de l'équilibre. Elle se décompose en 3 parties : l'oreille externe, l'oreille moyenne et l'oreille interne (Figure 4).

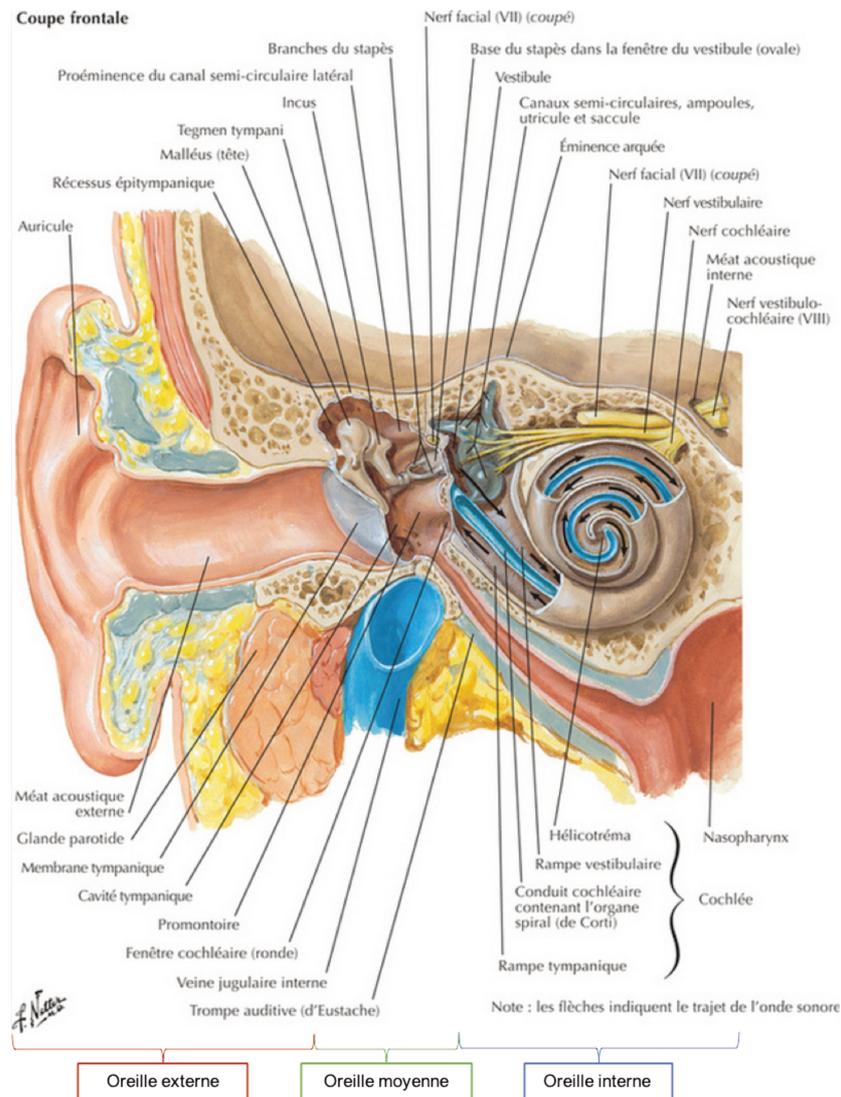


Figure 4 : Anatomie de l'oreille humaine en coupe frontale, d'après (8).

### A. L'oreille externe

Elle comprend le pavillon et le conduit auditif externe (CAE). Le pavillon est une structure essentiellement cartilagineuse qui comporte plusieurs reliefs, permettant la localisation et une légère amplification des sons (9). Le CAE est un canal ostéo-cartilagineux d'une longueur de 25 mm pour un diamètre de 8 mm environ, reliant la

conque du pavillon en-dehors à la membrane tympanique en-dedans. Il est composé d'un segment latéral cartilagineux et d'un segment médial osseux. Son trajet sigmoïde lui confère un rôle de protection mécanique de l'oreille moyenne et interne (9).

## B. L'oreille moyenne

Elle comprend la cavité tympanique, la membrane tympanique, la trompe auditive et les annexes mastoïdiennes (Figure 5).

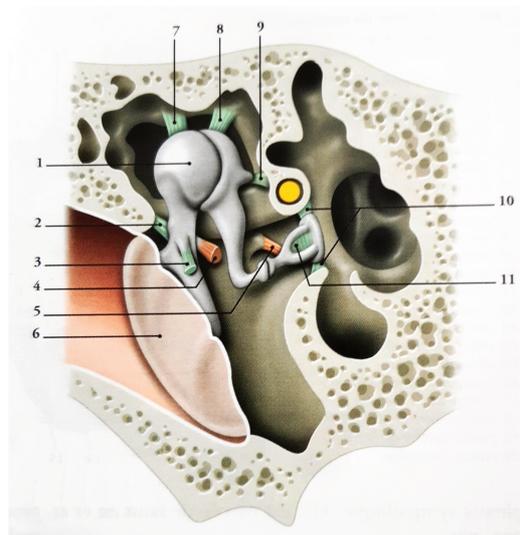


Figure 5 : Représentation anatomique de l'oreille moyenne en coupe frontale (1 : tête du malleus, 2 : ligament latéral du malleus, 3 : ligament antérieur du malleus, 4 : tendon du muscle tenseur du tympan, 5 : muscle du stapes, 6 : tympan, 7 : ligament supérieur du malleus, 8 : ligament suspenseur de l'incus, 9 : ligament postérieur de l'incus, 10 : ligament annulaire du stapes, 11 : membrane du stapes). D'après (9).

Le tympan est une membrane semi-transparente presque circulaire, légèrement oblique, qui obstrue le CAE à sa partie médiale et constitue la partie latérale de la caisse du tympan. La membrane tympanique est en contact direct avec le premier osselet, le *malleus* (ou marteau).

La cavité tympanique, ou caisse du tympan, est située au sein de l'os pétreux et contient la chaîne ossiculaire. Celle-ci permet la transmission et l'adaptation des vibrations du tympan à l'oreille interne et est composée de 3 osselets : le marteau (ou *malleus*), l'enclume (ou *incus*) et l'étrier (ou *stapes*) (Figure 6). Le manche du *malleus* est solidaire de la membrane tympanique et sa tête arrondie s'articule avec l'*incus*, qui

s'articule également avec le *stapes*. Le *stapes*, quant à lui, est en contact avec la fenêtre ovale du vestibule (9). Les osselets sont maintenus dans la cavité tympanique via un système ligamentaire. Le *malleus* et le *stapes* sont actionnés chacun par un muscle.

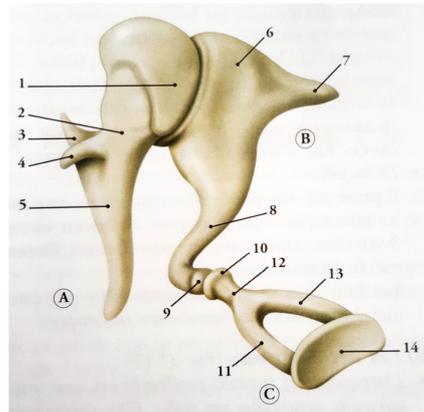


Figure 6 : Représentation anatomique de la chaîne ossiculaire en vue frontale (A : malleus et ses différentes parties : tête (1), col (2), processus latéral (3), processus antérieur (4), manche (5) ; B : Incus et ses différentes parties : corps (6), branche courte (7), branche longue (8), processus lenticulaire (9) ; C : stapes, et ses différentes parties : tête (10), branche antérieure (11), col (12), branche postérieure, platine (14)). D'après (9).

La cavité tympanique communique avec le nasopharynx via la trompe auditive, ou trompe d'Eustache. Il s'agit d'un canal ostéo-cartilagineux recouvert d'un épithélium muco-ciliaire, permettant l'aération de la caisse tympanique, le drainage des sécrétions et le maintien d'une pression égale de part et d'autre du tympan (9).

### C. L'oreille interne

L'oreille interne est constituée du labyrinthe osseux et du labyrinthe membraneux. Le labyrinthe membraneux est situé à l'intérieur du labyrinthe osseux et rempli de liquide : l'endolymphe. Les parois des labyrinthes osseux et membraneux sont séparées par un autre liquide : la périlymphe. D'un point de vue physiologique, l'oreille interne est séparée entre l'organe de l'équilibre (le labyrinthe vestibulaire) et l'organe de l'audition (le labyrinthe cochléaire) qui communiquent entre eux sur le plan anatomique.

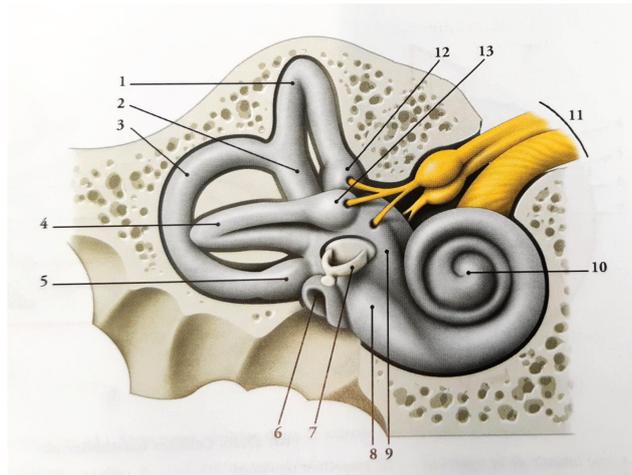


Figure 7 : Représentation anatomique de l'oreille interne en vue frontale (1 : canal-semi circulaire (CSC) antérieur, 2 : branche osseuse commune, 3 : CSC postérieur, 4 : CSC latéral, 5 : ampoule osseuse postérieure, 6 : fenêtre ronde, 7 : stapes appliqué sur la fenêtre ovale, 8 : base de la cochlée, 9 : vestibule, 10 : apex de la cochlée, 11 : nerf cochléo-vestibulaire (VIII), 12 : ampoule osseuse antérieure, 13 : ampoule osseuse latérale). D'après (9).

## 1. Le labyrinthe vestibulaire

Au niveau de l'organe de l'équilibre, le labyrinthe osseux forme 3 canaux semi-circulaires (antérieur, postérieur et latéral) qui s'abouchent dans le vestibule, une structure de forme ovoïde (Figure 7). Le vestibule communique avec l'espace méningé via un fin conduit : l'aqueduc du vestibule (Figure 8). Sur la face latérale du vestibule se trouve la fenêtre ovale, sur laquelle s'applique le *stapes* (Figure 7).

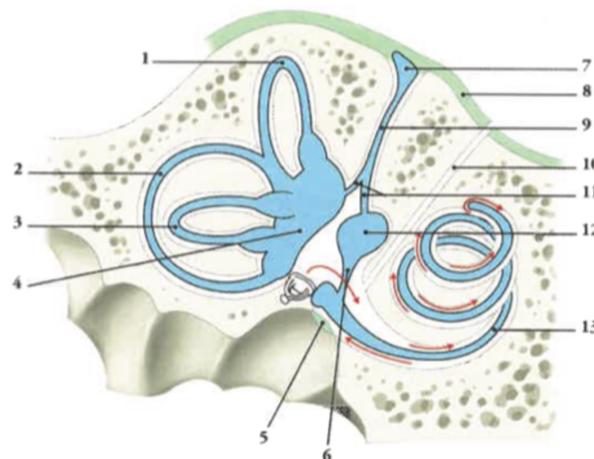


Figure 8 : Représentation schématique des labyrinthes osseux et membraneux de l'oreille interne (1-3 : conduits semi-circulaires antérieur, postérieur et latéral, 4 : utricule, 5 : fenêtre ronde, 6 : ductus reuniens, 7 : sac endolymphatique, 8 : dure-mère, 9 : conduit endolymphatique dans l'aqueduc du vestibule, 10 : aqueduc de la cochlée, 11 : conduit utriculo-sacculaire, 12 : saccule, 13 : conduit cochléaire, flèches rouges : sens de circulation de la périlymphe dans la cochlée). D'après (9).

A l'intérieur du vestibule osseux se trouvent deux structures membraneuses plus petites : l'utricule et le saccule. Dans l'utricule s'abouchent les extrémités des 3 CSC membraneux, qui suivent la forme des CSC osseux. Le saccule communique avec la partie cochléaire du labyrinthe membraneux via le *ductus reuniens*. L'utricule et le saccule se rejoignent au niveau du conduit endolymphatique, qui se prolonge dans l'aqueduc du vestibule et se termine par le sac endolymphatique, situé dans la dure-mère (Figure 8) (9).

## 2. Le labyrinthe cochléaire

La cochlée est l'organe de l'audition. Elle comporte également une partie osseuse et une partie membraneuse. Le labyrinthe osseux cochléaire se compose du canal spiral qui s'enroule autour d'un cône osseux, le *modiolus*, formant deux tours et demi de spire. Le canal spiral est cloisonné par la lame spirale osseuse. A la surface du *modiolus*, longeant la base de la lame spirale, se trouve le canal spiral du modiolus, qui loge le ganglion spiral. Le centre du modiolus est traversé par des canaux longitudinaux contenant les axones du ganglion spiral (Figure 9) (9).

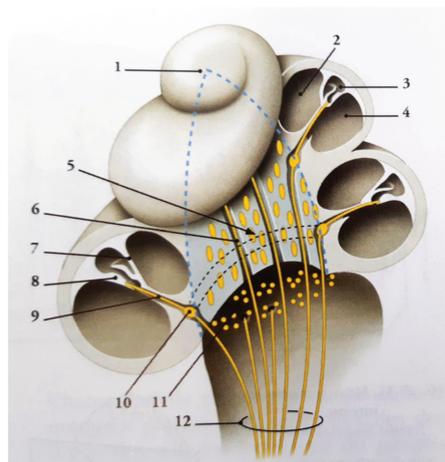


Figure 9 : Représentation anatomique de la cochlée (1 : apex, 2 : rampe vestibulaire, 3 : canal cochléaire, 4 : rampe tympanique, 5 : modiolus (en bleu), 6 : canal longitudinal du modiolus, 7 : membrane de Reissner, 8 : organe de Corti, 9 : lame spirale osseuse, 10 : canal spiral contenant le ganglion spiral, 11 : base du modiolus, 12 : fibres nerveuses afférentes constituant la partie cochléaire du nerf VIII). D'après (9).

Au-dessus de la lame spirale se trouve la rampe vestibulaire, qui communique avec le vestibule ; en-dessous se trouve la rampe tympanique, qui se termine par la fenêtre cochléaire. Les deux rampes communiquent au niveau de l'apex de la cochlée par l'*hélicotrème*. Le labyrinthe membraneux cochléaire est situé à l'intérieur du labyrinthe osseux. Sa structure principale est le canal cochléaire, qui suit la forme en spirale du labyrinthe osseux. Borgne à son apex, il communique à sa base avec le saccule via le *ductus reuniens* (Figure 8). Sa paroi externe est constituée du ligament spiral. Sa paroi supérieure, la membrane de Reissner, le sépare de la rampe vestibulaire. Sa paroi inférieure le sépare de la rampe tympanique. Cette paroi inférieure est constituée médialement de la lame spirale osseuse qui se prolonge sur son bord libre externe par la membrane basilaire. La paroi interne du conduit cochléaire est constituée du limbe de la lame spirale, qui se prolonge dans le canal cochléaire par la membrane tectoriale. Les rampes vestibulaire et tympanique sont remplies de périlymphe, tandis que le canal cochléaire est rempli d'endolymphe (Figure 10) (9).

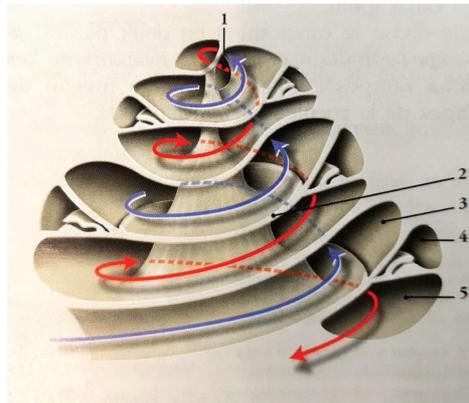


Figure 10 : Représentation schématique de la cochlée en coupe (1 : hélicotrème, 2 : lame spirale osseuse, 3 : rampe vestibulaire, 4 : canal cochléaire, 5 : rampe tympanique). L'onde de pression se déplace de manière ascendante dans la rampe vestibulaire (flèches bleues) et descendante dans la rampe tympanique (flèches rouges). D'après (9).

### 3. L'organe de Corti

L'organe de Corti est la structure centrale de l'audition qui permet la transduction d'un signal mécanique en un signal électrique. Il est composé de la membrane basilaire sur

laquelle repose un épithélium hautement différencié, composé de plusieurs types de cellules, organisées de manière spécifique (10) (Figure 11).

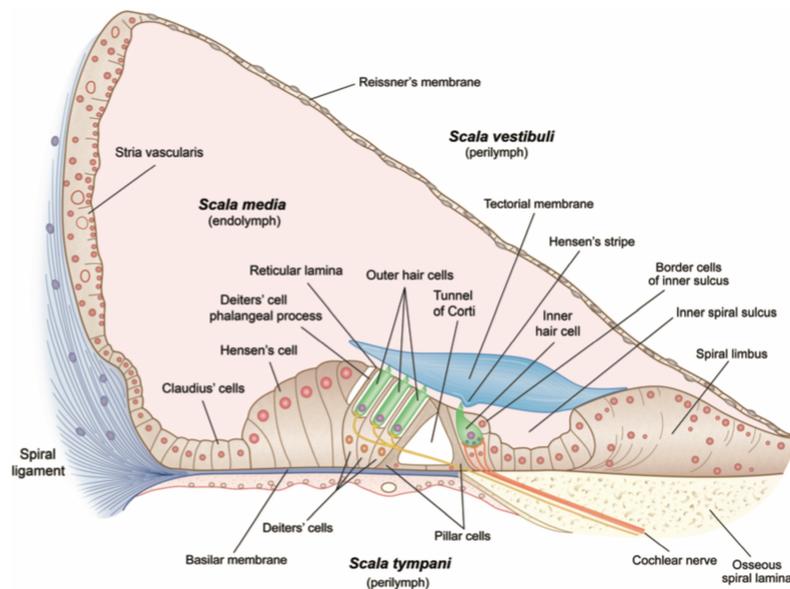


Figure 11 : Représentation schématique de l'organe de Corti, d'après (11).

Au cœur du fonctionnement de cette structure se trouvent les cellules sensorielles de l'organe de Corti : les cellules ciliées. Il en existe 2 types : les cellules ciliées externes (CCE) et les cellules ciliées internes (CCI). Les CCE sont disposées en 3 rangées tout au long de la membrane basilaire, les CCI forment quant à elles une seule rangée (Figure 12).

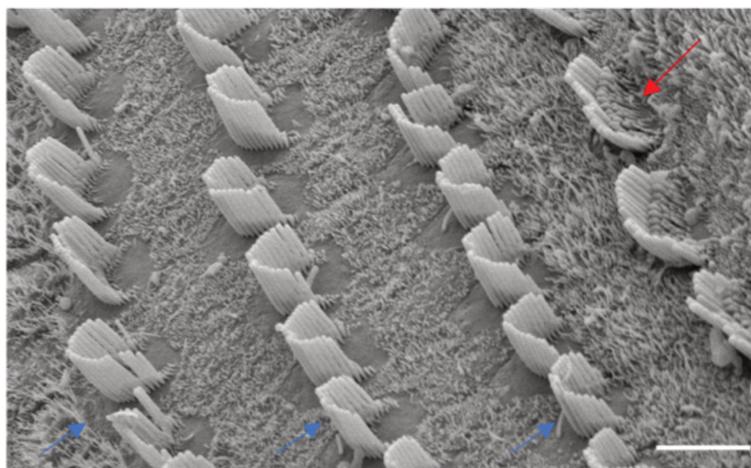


Figure 12 : Cellules ciliées internes et externes en microscopie électronique à balayage. Les flèches bleues indiquent les 3 rangées de CCE et la flèche rouge indique la rangée de CCI. D'après (12).

Au pôle apical des cellules ciliées se trouvent des stéréocils, disposés de manière bien précise et dont le rôle dans la mécanotransduction est central. Au-dessus des stéréocils, baignant dans l'endolymphe, se trouve une structure acellulaire, faite d'un tissu conjonctif particulier : la membrane tectoriale (Figure 11). L'organe de Corti est structuré par plusieurs types de cellules de soutien : les cellules de Deiters, les *pillar cells*, les cellules de Hensen... Ces cellules entourent et maintiennent les CCE et les CCI. Via un fin réseau de jonctions inter-cellulaires de type *tight junction*, elles constituent avec les CCE et les CCI, au niveau de leur pôle apical, une barrière garantissant l'isolement du secteur endolympatique : la lame réticulaire (10).

#### **D. Les voies nerveuses auditives**

A leur pôle baso-latéral, les cellules ciliées communiquent via des synapses avec les dendrites des fibres nerveuses auditives afférentes. Leurs corps cellulaires constituent le ganglion spiral, situé dans le modiulus. Ces fibres nerveuses convergent pour former le nerf cochléaire, qui est satellite du nerf vestibulaire le long du conduit auditif interne (CAI). Le nerf cochléaire et le nerf vestibulaire constituent le VIII<sup>ème</sup> nerf crânien, qui rejoint le SNC au niveau du bulbe du tronc cérébral, ou moelle allongée (Figure 13).

Il existe schématiquement deux types de circuits neuronaux dans les voies auditives centrales : les voies auditives primaires et les voies auditives non primaires. Nous ne détaillerons pas les voies auditives non primaires qui aboutissent à une projection au niveau du cortex polysensoriel pariétal.

Les voies auditives primaires sont constituées de grosses fibres myélinisées (6). Elles sont schématiquement constituées de 4 types de neurones successifs qui forment plusieurs relais synaptiques avant de se projeter au niveau du cortex auditif primaire. Les premiers neurones émergent des noyaux cochléaires, localisés au niveau du bulbe (Figure 14), et se projettent en majorité au niveau du complexe olivaire supérieur

contro-latéral (13). Les seconds neurones se projettent au niveau des *colliculi* inférieurs, situés à la face postérieure du mésencéphale. Les 3<sup>èmes</sup> neurones se projettent au niveau des corps genouillés du thalamus. Les neurones terminaux se projettent enfin au niveau du cortex auditif primaire, situé au niveau de la face temporale de la scissure latérale de Sylvius (Figure 14).

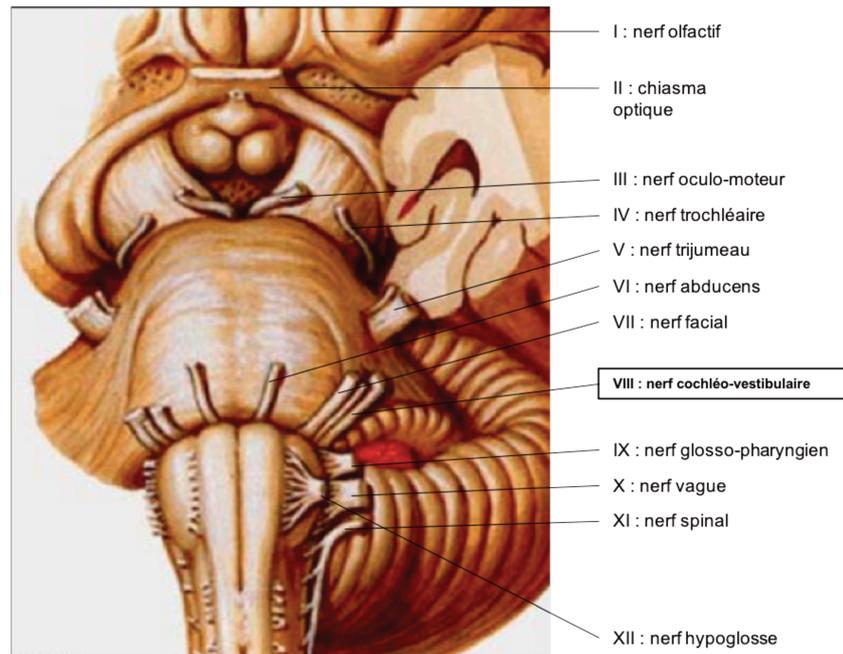


Figure 13 : Représentation anatomique du tronc cérébral et des 12 paires de nerfs crâniens en vue frontale. En encadré, le nerf cochléo-vestibulaire (VIII). D'après (8)

A chaque étape de relai le long des voies auditives centrales est effectué un important travail d'analyse du message auditif (fréquence, intensité, durée) grâce aux connexions synaptiques très riches entre les différents types de cellules composant chacune des structures nommées précédemment (13). Les complexes olivaires supérieurs et les *colliculi* inférieurs sont également impliqués dans la localisation du son (6,13). De par leurs connexions avec d'autres parties de l'encéphale, les corps genouillés médians du thalamus effectuent un travail d'intégration du message auditif et participeraient à l'initiation de la réponse volontaire aux stimuli auditifs.

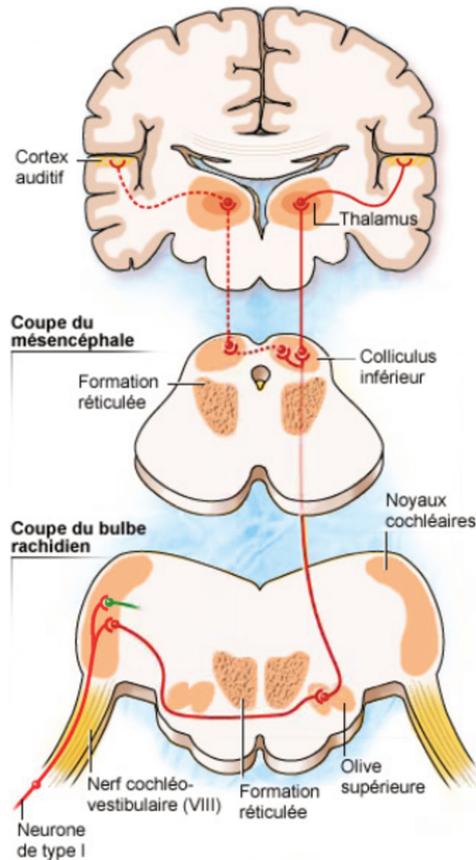


Figure 14 : Représentation schématique des voies nerveuses auditives centrales primaires. Les axones des neurones formant le nerf cochléaire se projettent dans le noyau cochléaire. La majorité des fibres émergentes du noyau cochléaire décussent et effectuent un relai au niveau du complexe olivaire supérieur puis font synapse avec des neurones se projetant au niveau des colliculi inférieurs du mésencéphale. Un dernier relai a lieu dans les corps genouillés du thalamus entre les fibres émergeant des colliculi inférieurs et celles se projetant sur le cortex auditif, au niveau du lobe temporal. D'après (6).

Le cortex auditif primaire est la zone de décodage temporel, fréquentiel et énergétique des stimuli sonores (13). Les aires secondaires (ou associatives) du cortex auditif permettent l'intégration des informations issues du décodage par le cortex auditif primaire. Elles permettraient l'analyse des sons complexes, notamment le langage. De ces aires auditives secondaires émergent des voies neuronales se projetant vers des centres cérébraux impliqués dans d'autres modalités sensorielles (la vision notamment), la planification, la réflexion, l'attention, la réponse motrice ou encore la mémoire. Ces différents centres sont également capables d'influer sur le cortex auditif (13).

### III. Embryologie de l'oreille

#### A. L'appareil pharyngé

L'appareil pharyngé est une structure embryonnaire transitoire présente à la face ventrale de l'embryon. Il est composé chez la plupart des mammifères de 7 arcs branchiaux (ou pharyngés), qui ont la forme de bourgeons bilatéraux et symétriques. Chaque arc branchial est composé d'un cœur mésodermique entouré de cellules dérivant des crêtes neurales, elles-mêmes bordées latéralement par une couche de cellules ectodermiques et médialement par une couche de cellules endodermiques (Figure 15) (14).

Les arcs branchiaux en formation sont colonisés par 3 cordons de cellules issues des crêtes neurales. Le premier d'entre eux, le cordon mandibulaire, migre depuis le mésencéphale postérieur et les rhombomères 1 et 2 vers le 1<sup>er</sup> arc branchial. Le second cordon de cellules des crêtes neurales, le cordon hyoïde, migre depuis le rhombomère 4 et colonise le 2<sup>ème</sup> arc branchial. Le 3<sup>ème</sup> cordon de cellules des crêtes neurales, le cordon branchial, migre depuis les rhombomères 6 et 7 et colonise les arcs branchiaux 3 et 4 (Figure 15) (14).

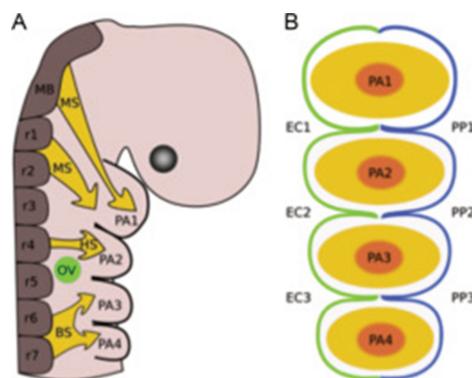


Figure 15 : Schéma de l'embryogénèse de l'appareil pharyngé. A : Colonisation des arcs pharyngés ou arcs branchiaux par les cordons de cellules des crêtes neurales migrant depuis le mésencéphale postérieur et les rhombomères. B : Structure schématisée des arcs branchiaux. En vert : ectoderme ; en bleu : endoderme ; en jaune : cellules des crêtes neurales ; en orange : mésoderme. MB : mésencéphale postérieur ; r1-7 : rhombomères numérotés ; PA1-4 : arcs pharyngés ou branchiaux ; OV : vésicule otique ; MS : cordon mandibulaire ; HS : cordon hyoïde ; BS : cordon branchiale ; EC1-3 : fentes ectodermiques ; PP1-3 : sacs branchiaux. D'après (14).

Entre les arcs branchiaux vont se former des invaginations entraînant la mise en contact directe d'endoderme et d'ectoderme. Ces invaginations forment les sacs branchiaux sur la face interne de l'appareil pharyngé et les fentes ectodermiques sur sa face externe (15).

### **B. Développement de l'oreille externe**

L'oreille externe se développe essentiellement à partir de l'ectoderme. En avant de la 1<sup>ère</sup> fente branchiale se forme une invagination endodermique, plongeant dans le mésenchyme dérivant des crêtes neurales pour donner à terme le CAE (Figure 16). Le tympan se constitue à partir de 3 feuillets : le plus externe dérive de l'extrémité de l'invagination ectodermique à l'origine du CAE, le plus interne dérive de l'extrémité du récessus tubo-tympanique (origine endodermique) qui formera la paroi interne épithéliale de la caisse tympanique (voir ci-dessous), le feuillet intermédiaire dérive d'un foyer de condensation de cellules des crêtes neurales au sein du mésenchyme (Figure 16), qui donnera également l'anneau tympanique, une structure membraneuse assurant l'ancrage du tympan à l'os temporal (14).

### **C. Développement de l'oreille moyenne**

Le développement de la cavité de l'oreille moyenne débute à partir de l'élongation du 1<sup>er</sup> sac branchial en récessus tubo-tympanique, qui formera ensuite la paroi interne de la caisse tympanique et la trompe d'Eustache (Figure 16). Les épithéliums tapissant la caisse tympanique et la trompe d'Eustache dérivent donc de l'endoderme. Parallèlement, au sein du mésenchyme issu des 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> arcs branchiaux, des points de condensation de cellules des crêtes neurales apparaissent et formeront le *malleus*, l'*incus* et le *stapes*. A noter que la *stapes* a la particularité de dériver à la fois des cellules des crêtes neurales et du mésoderme. La paroi osseuse de la caisse du tympan dérive aussi des cellules des crêtes neurales. Les muscles et les ligaments

assurant la fixation et la mobilité des osselets dérivent du mésoderme. Au cours de l'embryogénèse, la caisse tympanique est comblée par du tissu mésenchymateux. Le processus de cavitation permettra le remplacement progressif du tissu mésenchymateux par de l'air. (14).

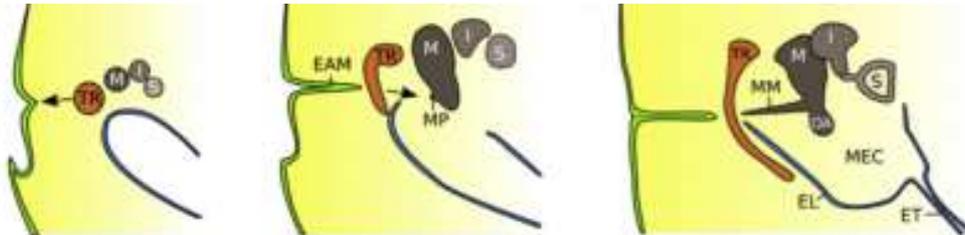


Figure 16 : Schémas résumant l'embryogénèse précoce des structures de l'oreille externe et de l'oreille moyenne. TR : anneau tympanique ; EAM : conduit auditif externe ; M : malleus ; I : incus ; S : stapes ; MEC : caisse tympanique ; ET : trompe d'Eustache. D'après (14).

#### D. Développement de l'oreille interne

Le développement de l'oreille interne débute par l'épaississement d'une région ectodermique appelée la placode otique. La placode otique s'invagine pour former la vésicule otique, qui va progressivement s'allonger pour constituer les différentes parties du labyrinthe membraneux. Les structures délimitant le canal cochléaire et formant l'organe de Corti sont donc d'origine ectodermique. En revanche la capsule otique, la structure osseuse entourant l'oreille interne (et donc le labyrinthe osseux), dérive des cellules des crêtes neurales (14).

#### E. Développement des stéréocils

Durant l'embryogénèse, des microvillosités se développent à la surface apicale des CCE et des CCI. Ces micro-villosités sont des excroissances de membrane cellulaire contenant un réseau de filaments d'actine. L'extension progressive des filaments d'actine permet la croissance proximo-distale des microvillosités en stéréocils. Initialement, les stéréocils en formation sont tous de taille comparable et se développent autour d'un unique kinocil central (Figure 17).

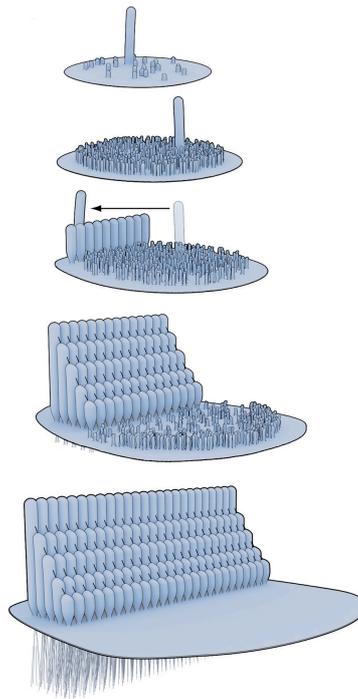


Figure 17 : Représentation schématique du développement des stéréocils. Des microvillosités se développent autour d'un kinocil central, qui va migrer vers un côté de la cellule, polarisant ainsi la croissance proximo-distale des stéréocils en rangs de taille décroissante. D'après (12).

La migration du kinocil vers un côté de la membrane apicale des cellules ciliées polarise la croissance des stéréocils : plus les stéréocils seront proches du kinocil, plus ils seront grands (Figure 17). Les stéréocils vont ensuite s'élargir grâce à l'épaississement de leur cytosquelette d'actine et se resserrer à leur base, ce qui leur confèrera leur mobilité (12). Le kinocil est une structure transitoire qui dégènera en post-natal.

#### IV. Physiologie de l'audition : mécanisme de transduction du son

Le rôle de l'oreille est de capter, adapter et traduire une onde sonore, signal de type mécanique, en un signal de type électrique, transmissible au système nerveux central via les voies nerveuses auditives. L'ensemble de ces phénomènes, qui ont lieu lors du cheminement de l'onde sonore le long des différentes structures de l'oreille constitue la transduction du son.

## **A. Transmission et adaptation du son du milieu extérieur à l'oreille interne**

Les ondes sonores sont, dans un premier temps, captées par l'oreille externe. Les circonvolutions du pavillon de l'oreille et le CAE permettent d'amplifier de 10 à 20 dB l'intensité des ondes sonores dont la fréquence est comprise entre 2 et 5 kHz (7).

Ces ondes sonores font vibrer la membrane tympanique. Les vibrations de celle-ci sont transmises le long de la chaîne ossiculaire jusqu'à l'oreille interne, grâce aux mouvements de la platine du *stapes* contre la fenêtre ovale. Le rôle de la chaîne ossiculaire est d'adapter les vibrations transmises par le tympan afin de maximiser le transfert d'énergie sonore entre le milieu aérien de l'oreille externe et les milieux liquidiens de l'oreille interne. En effet, les milieux liquidiens opposent une résistance à la propagation des ondes sonores (ou impédance acoustique) bien plus élevée que les milieux aériens. Sans une adaptation des vibrations sonores, la grande majorité de leur énergie serait perdue au niveau de l'interface air/liquide. La chaîne ossiculaire intervient donc comme un adaptateur d'impédance et permet une augmentation considérable de la pression acoustique appliquée à la fenêtre ovale par rapport à celle appliquée à la membrane tympanique. Ceci est principalement dû au fait que la surface de la fenêtre ovale est beaucoup plus faible que la surface de la membrane tympanique. S'ajoute à cela un effet de bras de levier de la chaîne ossiculaire. Au total, le gain d'intensité acoustique conféré par l'oreille moyenne est d'environ 29 dB (7).

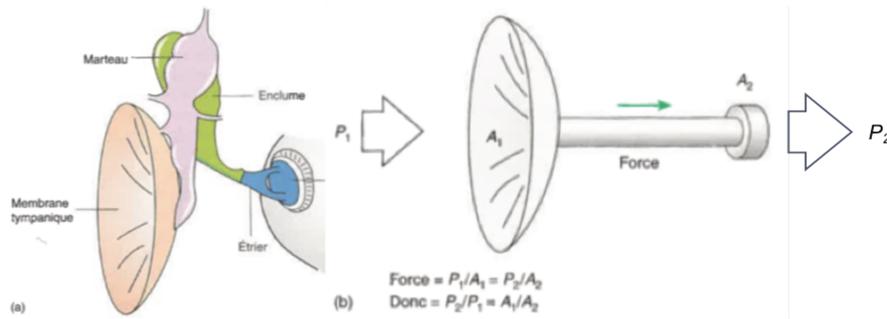


Figure 18 : Chaîne tympano-ossiculaire : représentations anatomique (a) et schématique sous forme de système de piston (b). La pression  $P_1$  exercée sur la surface  $A_1$  du tympan donne une force transmise sans perte le long de la chaîne ossiculaire (flèche verte) sur l'aire  $A_2$  de la fenêtré ovale, transmise sous forme de pression  $P_2$  dans le milieu liquidien de l'oreille interne. La force transmise étant constante, on a  $P_1/A_1 = P_2/A_2$ . Comme  $A_1 > A_2$ , on obtient  $P_2 > P_1$ . D'après (7).

La chaîne ossiculaire peut également intervenir comme un moyen de protection de l'oreille interne face aux sons trop intenses, grâce au réflexe stapédien : en réponse à un son d'intensité supérieure à 80 dB, les muscles tenseurs du tympan et du *stapes* se contractent et atténuent la transmission des ondes sonores le long de la chaîne ossiculaire.

## B. Fonctionnement de l'oreille interne

### 1. Vibrations des milieux liquidiens et de la membrane basilaire

Les vibrations transmises par le *stapes* à la fenêtré ovale créent une onde de pression au niveau de la périlymphe. Cette onde de pression se propage dans la cochlée, de manière ascendante le long de la rampe tympanique et de manière descendante le long de la rampe vestibulaire (Figure 10) (16). La propagation de cette onde met en mouvement la membrane basilaire et une onde de pression se propage le long de celle-ci (Figure 19).

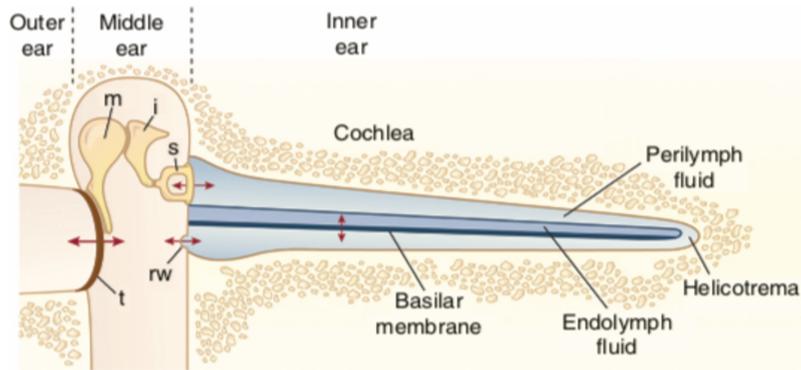


Figure 19 : Représentation schématique de la transmission des ondes de pression le long de l'oreille moyenne et interne. Les vibrations du tympan (t) sont transmises à la cochlée via les 3 osselets (malleus (m), incus (i) et stapes (s)). La platine du stapes fait vibrer la fenêtre ovale, créant des ondes de pression se propageant dans la périlymphe le long de la rampe vestibulaire puis tympanique, jusqu'à la fenêtre ronde (rw). Ces variations de pression liquidiennes se transmettent à la membrane basilaire. D'après (11).

La membrane basilaire est étroite et rigide à la base de la cochlée, mais elle s'élargit et s'assouplit au fil de sa progression vers l'apex. Ces propriétés mécaniques particulières ont pour conséquence le fait que tous les points de la membrane basilaire ne réagissent pas de la même manière aux ondes de pression. En effet, chaque onde se propageant le long de la membrane basilaire augmente en amplitude jusqu'à un point précis de la membrane puis est rapidement atténuée. Le point d'amplitude maximale est spécifique de la fréquence de l'onde sonore (Figure 20).

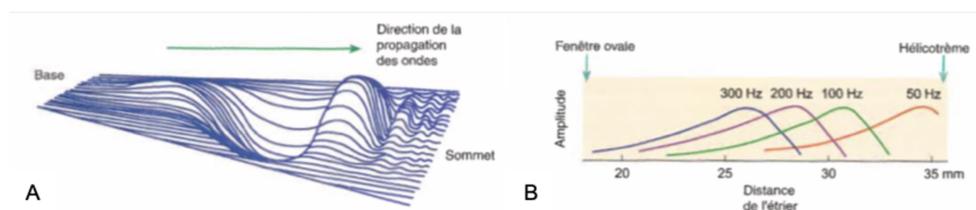


Figure 20 : A : Représentation schématique de la propagation d'une onde de pression le long de la membrane basilaire. L'amplitude de l'onde croît au fil de sa progression jusqu'à atteindre son point maximal puis décroît brusquement. B : En fonction des fréquences des ondes, l'amplitude maximale est atteinte à différents points de la cochlée. D'après (7).

Plus la fréquence de l'onde sonore est élevée, plus le point de vibration d'amplitude maximale sera proche de la base de la membrane basilaire et inversement (Figure 20). Les ondes sonores sont cartographiées sur la membrane basilaire. On parle de répartition tonotopique des fréquences (7).

## 2. Structure et fonction des stéréocils

Les mouvements de la membrane basilaire vont mettre en jeu les CCE et les CCI via l'action des stéréocils présents à leur membrane apicale. Chaque cellule ciliée possède entre 50 et 100 stéréocils (11), alignés en 3 rangs en fonction de leur taille, selon un modèle en marche d'escalier (*staircase*) : les plus grands stéréocils sont situés vers le bord externe de l'organe de Corti, les plus courts sont situés vers le bord interne (10) (Figure 21).

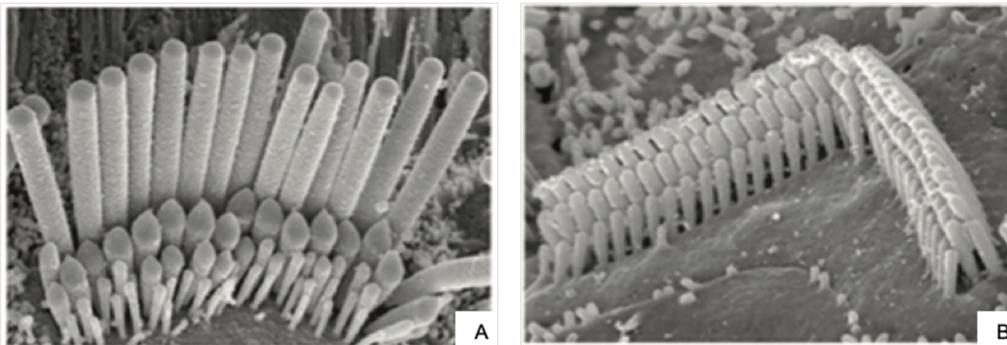


Figure 21 : Faisceau de stéréocils d'une CCI (A) et d'une CCE (B) en microscopie électronique à balayage montrant les rangs de stéréocils de tailles différentes. D'après (11).

Les stéréocils des CCI forment des rangs rectilignes, tandis que les stéréocils des CCE forment des rangs en forme de « V », voire de « W » (Figure 21) (10). Le nombre et la taille des stéréocils des cellules ciliées varient selon la position des cellules le long de la cochlée(11).

Les stéréocils renferment un assemblage complexe de protéines leur conférant une mobilité. Ces protéines, dont certaines seront détaillées ultérieurement, sont organisées autour d'un réseau dense de fibres longitudinales d'actine- $\beta$  et surtout d'actine- $\gamma$ . Ces fibres se prolongent à leur base par des radicules ou *rootlets* qui permettent d'ancrer le réseau d'actine à la plaque cuticulaire, une structure formée d'un agencement différent des fibres d'actine située à la base de chaque stéréocil

(Figure 22). La plaque cuticulaire est elle-même reliée au réseau principal du cytosquelette de la cellule (17).

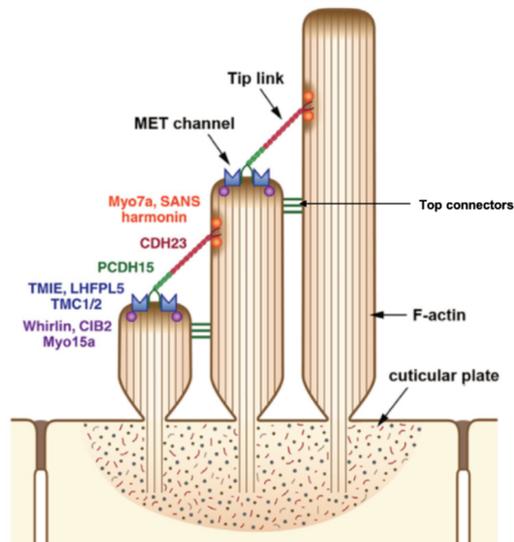


Figure 22 : Représentation schématique des stéréocils d'une cellule ciliée, formant des rangs de taille décroissante. Les stéréocils sont organisés autour d'un réseau de filaments d'actine, ancrés à leur base à la plaque cuticulaire. Ils sont reliés entre eux par des protéines formant les top connectors et les tip links. Les quelques protéines indiquées sur ce schéma interviennent dans la transduction du signal sonore. D'après (18).

Les stéréocils d'une même cellule sont reliés les uns aux autres au niveau de leur membrane latérale par des liaisons protéiques extra-cellulaires : les *top connectors* (Figure22). Ces *top connectors* assurent une cohésion entre les stéréocils d'une même cellule et leur permet de se mouvoir de manière coordonnée. Ils sont essentiellement constitués d'une protéine : la stéréocilline (19). L'extrémité apicale d'un stéréocil est reliée à la membrane latérale d'un stéréocil adjacent de taille supérieure par un autre type de liaison protéique : les liens terminaux ou *tip links*. Ces *tip links* sont formés d'un dimère de Cadhérine 23 et d'un dimère de Proto-cadhérine 15 liés entre eux, la liaison entre les deux dimères étant stabilisés par des ions  $Ca^{2+}$  (Figure 23) (20). A chacune e leurs extrémités, les *tip links* sont fixés à la membrane des stéréocils via des protéines d'ancrage, notamment la myosine 7A ou la myosine 15a (Figure 22). A leur extrémité inférieure, les *tip links* sont liés mécaniquement à des canaux ioniques :

les canaux MET (*Mechano Electrical Transducer*) composés principalement de la protéine TMC1 (21). Ces canaux sont perméables à la plupart des cations présents dans l'endolymphe (ions potassium ( $K^+$ ) et calcium ( $Ca^{2+}$ ) notamment). Lors de la bascule des stéréocils vers le bord latéral de la cellule, les *tip links* sont mis en tension et entraînent mécaniquement l'ouverture des canaux ioniques au sommet des stéréocils (10,11).

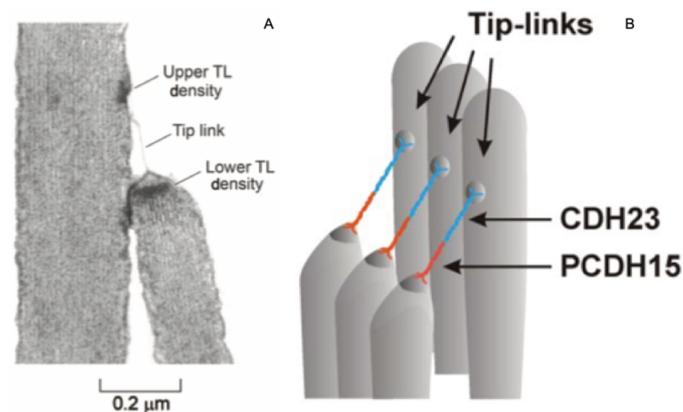


Figure 23 : A : Cliché de 2 stéréocils d'une CCE reliés entre eux par un lien terminal (*tip link*) en microscopie électronique à transmission. B : Schéma représentant les *tip links* reliant la surface apicale d'un stéréocil à la paroi latérale d'un stéréocil de taille supérieure. D'après (11,12).

### 3. Les flux ioniques au-travers des cellules ciliées

Le pôle apical des cellules ciliées baigne dans l'endolymphe, liquide qui remplit le canal cochléaire. Le pôle basolatéral des cellules ciliées est entouré de périlymphe. La périlymphe a une composition proche de la majorité des liquides extra-cellulaires de l'organisme (concentration importante en ions sodium ( $Na^+$ ) et faible concentration en  $K^+$ ). La composition de l'endolymphe est très particulière puisqu'elle est riche en  $K^+$  et très pauvre en  $Na^+$  et en  $Ca^{2+}$ . Sa composition riche en  $K^+$  lui confère une charge positive par rapport aux milieux adjacents (périlymphe et milieu intra-cellulaire). Ce potentiel endolympatique (PE) est de l'ordre de +100mV (22). Lorsque les canaux ioniques MET au sommet des stéréocils s'ouvrent, la différence de potentiel entre le

milieu endolymphatique et le milieu intra-cellulaire et la concentration élevée en  $K^+$  de l'endolymphe provoquent un afflux d'ions  $K^+$ , puis d'ions  $Ca^{2+}$ , à l'intérieur des cellules ciliées, permettant une dépolarisation de celle-ci. Le potassium est rapidement évacué des cellules ciliées via des canaux potassiques situés au pôle baso-latéral de celles-ci. Cette évacuation est rendue possible par un gradient de concentration existant entre la cellule ciliée dépolarisée et le liquide périlymphatique pauvre en potassium entourant le pôle basal des cellules ciliées (23).

#### 4. Le rôle des cellules ciliées externes

La modification de la membrane basilaire sous l'effet des variations de pression entraîne un déplacement de l'ensemble de l'organe de Corti par rapport à la membrane tectoriale qui le surplombe. La membrane tectoriale étant reliée au sommet des plus grands stéréocils des CCE, les mouvements relatifs de l'organe de Corti et de la membrane tectoriale entraînent un basculement des stéréocils des CCE et donc un afflux intra-cellulaire de cations dans les CCE. La dépolarisation qui en résulte active la prestine, une protéine abondante au niveau de la membrane latérale des CCE et qui possède la capacité d'en modifier la conformation. Sous l'effet de la prestine, les CCE se raccourcissent et se contractent (11). Ce changement de conformation transitoire et très rapide exerce une force de traction localisée sur la membrane basilaire (11). Cette force de traction accentue la déformation de la membrane basilaire à l'endroit même où les CCE ont été activées, qui est donc l'endroit d'amplitude maximale de l'onde. Les CCE agissent comme un filtre actif des fréquences, permettant d'améliorer la sélectivité des fréquences de la membrane basilaire, d'amplifier localement ses vibrations et d'augmenter la sensibilité des CCI d'environ 60 dB (7).

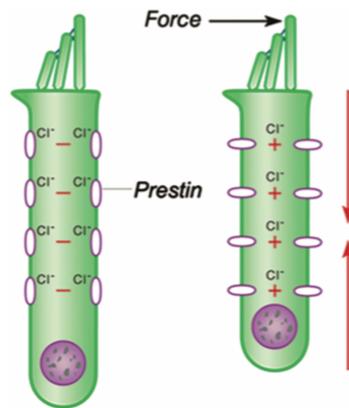


Figure 24 : Représentation schématique d'une cellule ciliée externe à l'état de repos (à gauche). A droite, sous l'effet d'une force mécanique appliquée sur les stéréocils, la CCE se déprime, ce qui provoque l'activation d'une protéine membranaire, la prestine, qui permet un raccourcissement de la cellule. D'après (11)

## 5. Fonction des cellules ciliées internes

Les mouvements relatifs de l'organe de Corti et de la membrane tectoriale provoquent des mouvements d'endolymphe dans l'espace situé entre la membrane tectoriale et la lame réticulée, au niveau des CCI (espace sub-tectorial) (11). Ces flux liquidiens mettent en mouvement les stéréocils des CCI, provoquant un afflux de K<sup>+</sup> dans le milieu intra-cellulaire. Il en résulte une dépolarisation progressive des CCI qui active des canaux calciques voltage dépendant. L'augmentation du Ca<sup>2+</sup> intra-cellulaire entraîne, au pôle baso-latéral des CCI, la libération d'un neurotransmetteur, le glutamate, dans la synapse entre les CCI et les fibres nerveuses afférentes du nerf cochléaire (24,25). La libération adaptée de glutamate dans la fente synaptique est rendue possible par la présence d'un nombre important de vésicules contenant du glutamate recouvrant un organelle présynaptique particulier des CCI appelé ruban synaptique (*presynaptic ribbon*) (26).

C'est donc au niveau des CCI qu'a lieu l'initiation d'un signal électrique à partir du signal mécanique.

## 6. Fibres nerveuses

Il existe 2 types principaux de fibres nerveuses connectées aux cellules ciliées : les fibres afférentes (transportant l'influx nerveux de la cochlée au SNC) et les fibres efférentes (transportant un influx nerveux du SNC à la cochlée).

Les fibres nerveuses afférentes constituent le nerf cochléaire qui transmet au tronc cérébral le message électrique généré par la cochlée au cours du processus de mécanotransduction du son. Elles se divisent également en 2 types : les fibres de type I et les fibres de type II. Les fibres de type 1 sont des fibres myélinisées, elles sont majoritaires (95% des fibres afférentes) et leurs dendrites établissent des synapses avec les CCI. Les fibres de type 2 sont non myélinisées, elles représentent 5% des fibres afférentes et établissent des synapses avec les CCE. Une CCI établit des synapses avec environ 10 fibres nerveuses afférentes de type I. Une fibre de type 2 établit des synapses avec plusieurs CCE. Les fibres afférentes possèdent une activité spontanée, elles génèrent donc des potentiels d'action (PA) même lorsqu'elles ne sont pas stimulées par les CCI. Le relargage de glutamate dans la synapse par les CCI modifie la fréquence des PA, traduisant sous forme de signal électrique le signal sonore. L'augmentation de la fréquence des PA diffère en fonction de l'intensité du stimulus sonore (7). Comme pour la membrane basilaire, les fibres nerveuses ne sont pas toutes activées par la même fréquence sonore et il existe une répartition tonotopique de l'activation des fibres afférentes.

Les fibres efférentes communiquent majoritairement avec les CCE. Elles ont un rôle de rétrocontrôle négatif sur les CCE, diminuant leur fonction d'amplification des vibrations de la membrane basilaire. Elles pourraient avoir un rôle dans la protection de l'oreille interne contre les sons trop intenses prolongés.

## 7. Le recyclage du potassium et la strie vasculaire

La composition de l'endolymphe est unique par rapport à l'ensemble des secteurs liquidiens de l'organisme humain. Sa haute concentration en  $K^+$  et son potentiel électrique élevé jouent un rôle crucial dans la mécanotransduction. L'homéostasie de l'endolymphe est donc particulièrement importante pour le bon fonctionnement de l'organe de Corti.

Le cœur de l'homéostasie de l'endolymphe est le recyclage du potassium au sein de l'oreille interne. Il fait intervenir un ensemble complexe de canaux ioniques au sein de la strie vasculaire et un double réseau de liaisons protéiques intercellulaires : les *Gap Junctions* (Figure 24) (27). Les *Gap Junctions* permettent de faire communiquer directement les milieux cytoplasmiques de deux cellules adjacentes.

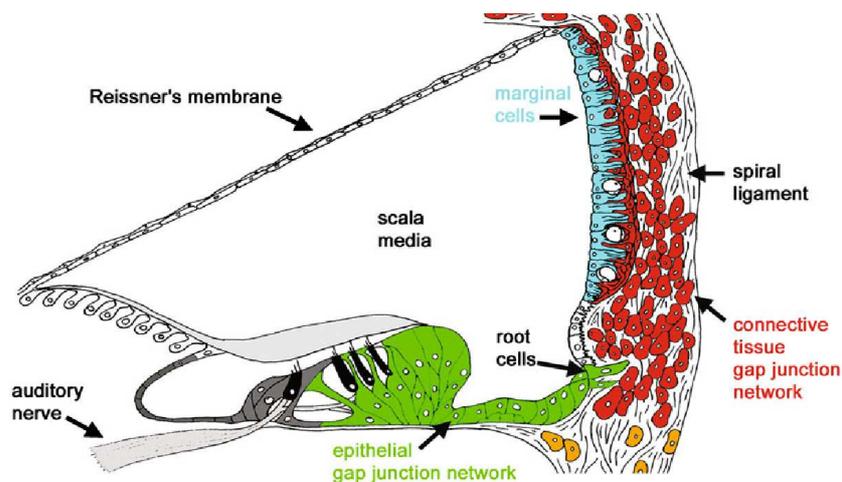


Figure 25 : Représentation schématique des 2 réseaux de *Gap Junctions* au sein de l'oreille interne : le premier unit les cellules de soutien de l'organe de Corti (en vert), le second unit les cellules du tissu conjonctif du ligament spiral (en rouge). D'après (28).

Un premier réseau de *Gap Junctions* unit les cellules de soutien de l'organe de Corti et des cellules bordant l'épithélium sensoriel de la cochlée (les *roots cells*) (28). Le potassium est capté directement depuis le milieu périlymphatique baignant le pôle basal des cellules ciliées et, grâce au réseau de *Gap Junctions*, est transporté jusqu'au

tissu conjonctif du ligament spiral, dans lequel les *root cells* se prolongent (28) et vers la strie vasculaire.

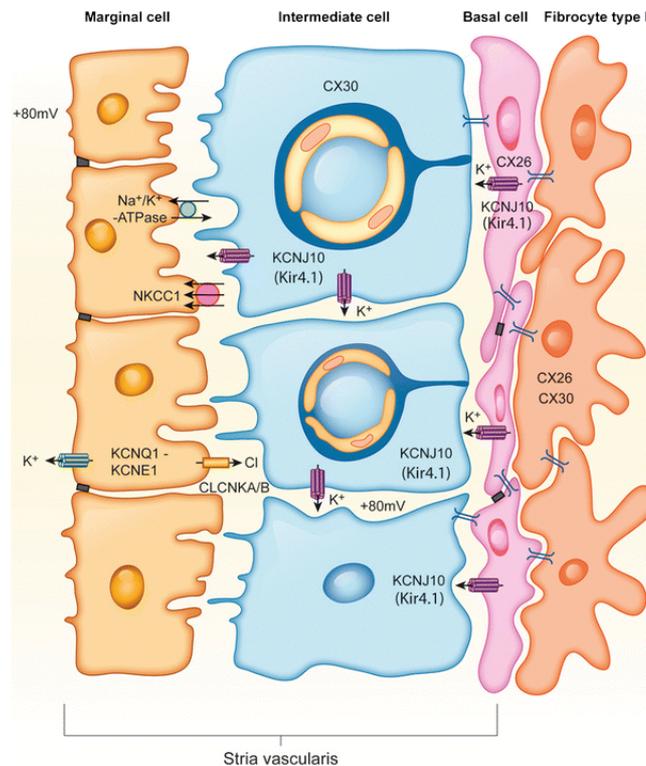


Figure 26 : Représentation schématique des différentes structures cellulaires et des mouvements ioniques au sein de la strie vasculaire, d'après (29).

La strie vasculaire est une structure épithéliale complexe qui tapisse la paroi externe du canal cochléaire (10) et qui est composée de plusieurs couches cellulaires : on trouve, du canal cochléaire vers le ligament spiral, les cellules marginales, les cellules intermédiaires, les cellules basales et les fibrocytes (Figure 24). Les ions K<sup>+</sup> amenés jusqu'au ligament spiral sont captés au pôle basal des fibrocytes par des co-transporteurs Na-K-2Cl. Un second réseau de *Gap Junctions* situé entre les cellules de la strie vasculaire, permet le passage des ions K<sup>+</sup> des fibrocytes aux cellules basales puis aux cellules intermédiaires (27). Le potassium est alors sécrété par des canaux potassiques (KCNJ10) dans un secteur extra-cellulaire intermédiaire pour former le liquide intrastral, puis est capté par des co-transport Na-K-2Cl au pôle basal des

cellules marginales. Ces cellules sécrètent enfin le potassium dans le canal cochléaire via d'autres types de canaux potassiques (KCNQ1, KCNE1) (11,23). L'équilibre ionique et la force électro-motrice nécessaire au fonctionnement des co-transports Na-K-2Cl sont assurés par des canaux chlore et des canaux Na-K-ATPase au pôle basal des fibrocytes et des cellules marginales. Ces mouvements ioniques permettent également l'établissement du potentiel endolymphatique élevé (11).

## V. La surdité en pathologie humaine et les surdités héréditaires

### A. Définitions et sémiologie des surdités

La surdité est un symptôme qui se définit par une baisse de l'audition. Ce terme ne prédit pas de l'intensité de la perte auditive, ni de son étiologie.

Le terme « hypoacousie » est parfois employé pour désigner les surdités d'intensité légère ou moyenne. Le terme « cophose » désigne une perte totale de l'audition, uni- ou bilatérale. Le terme « presbyacousie » renvoie quant à lui à la baisse progressive et physiologique de l'audition survenant avec l'âge.

Plusieurs paramètres sémiologiques permettent de caractériser une surdité et d'orienter le diagnostic étiologique. Les paramètres cliniques principaux sont :

- Le **type** de surdité, qui correspond à la région anatomique atteinte. On distingue ainsi :
  - Les surdités de **transmission** : elles correspondent à une atteinte de l'oreille externe et/ou de l'oreille moyenne.
  - Les surdités de **perception**, ou surdités **neurosensorielles** : elles correspondent à une atteinte de l'oreille interne, du nerf cochléaire ou rarement des voies centrales de l'audition. Le sous-groupe des surdités par atteinte du nerf cochléaires sont désignées par le terme de

neuropathie auditive. On utilise parfois le terme « rétrocochléaire » pour désigner les surdités neurosensorielles par atteinte du nerf cochléaire ou des voies centrales de l'audition.

- Les surdités **mixtes** désignent les surdités avec une composante transmissionnelle et une composante perceptionnelle ;
- La **sévérité** de la surdité correspond au niveau de perte auditive. Elle est exprimée par le seuil d'audition moyen (voir le paragraphe sur l'audiométrie tonale) et est exprimée en dB (30).

On distingue ainsi les degrés de sévérité suivants :

- Audition normale : seuil auditif entre 0 et 20 dB,
- **Surdité légère** : seuil auditif entre 21 et 40 dB,
- **Surdité moyenne** : seuil auditif entre 41 et 70 dB,
- **Surdité sévère** : seuil auditif entre 71 et 90 dB,
- **Surdité profonde** : seuil auditif entre 91 dB et 120 dB,
- **Surdité totale** : seuil auditif au-delà de 120 dB.
- La **latéralité** de la surdité : en fonction des étiologies, une surdité peut être uni- ou bilatérale ;
- La **symétrie** : dans le cas des surdités bilatérales, le seuil d'audition peut être le même pour les deux oreilles (surdité symétrique) ou plus altéré pour l'une des deux oreilles (surdité asymétrique) ;
- **L'âge d'apparition**, qui diffère en fonction de l'étiologie de la surdité. On distingue les surdités pré-linguales, qui regroupent les surdités congénitales et les surdités post-natales dont l'apparition est antérieure au développement du langage, et les surdités post-linguales, qui surviennent plus tardivement dans l'enfance ou à l'âge adulte.

- **Le mode évolutif** : on distingue les surdités stables, c'est-à-dire les surdités dont la sévérité est constante au cours du temps, des surdités évolutives, dont la sévérité s'aggrave de manière plus ou moins rapide. Certaines pathologies sont également responsables de surdités fluctuantes, évoluant par poussées plus ou moins résolutive ;
- **L'aspect de l'audiogramme** : la sévérité d'une surdité est un indicateur important qui ne reflète cependant pas le profil de la perte auditive, qui peut différer selon les fréquences testées. Les courbes d'audiogramme permettent ainsi de distinguer :
  - Les surdités prédominant sur les fréquences graves ;
  - Les surdités prédominant sur les fréquences aiguës ;
  - Les surdités prédominant sur les fréquences moyennes.

Certains profils permettent d'orienter vers des étiologies spécifiques.

## **B. Epidémiologie**

La surdité est le handicap sensoriel le plus fréquent dans les pays développés (1) et constitue un véritable enjeu de santé publique. En effet, l'incidence des surdités congénitales varie entre 1 et 3 nouveau-nés pour 1000 naissances (1,4,31–34) et l'incidence des surdités néonatales sévères à profondes est estimée entre 0,66 et 1,1/1000 nouveau-nés (35–37). Chez les enfants d'âge scolaire, la prévalence de la surdité est estimée à 2,83/1000 et elle atteint une valeur de 3,5/1000 chez les adolescents (32).

Les étiologies des surdités peuvent se séparer en deux grandes catégories : les surdités acquises et les surdités d'origine génétique. La proportion de chaque catégorie varie en fonction de l'âge.

### **C. Surdités acquises**

Les surdités acquises peuvent se rencontrer à tout âge, elles sont majoritaires dans l'enfance et à l'âge adulte.

Chez l'adulte, les principales causes de surdité sont :

- La presbyacousie, c'est-à-dire la perte progressive de l'audition liée au vieillissement physiologique de l'oreille (elle concerne 20-30% des personnes âgées de 70 ans et jusqu'à 50% des personnes de 80 ans en Europe) (1) ;
- Les expositions prolongées et répétées aux bruits de forte intensité, notamment en milieu professionnel ;
- Les traumatismes sonores ;
- L'otospongiose, les séquelles d'otites, de rares causes tumorales pour les surdités de transmission ;
- Les neurinomes de l'acoustique, les labyrinthites, les surdités unilatérales brusques (ou SUB) pour les surdités de perception.

Chez l'enfant, la survenue d'une surdité acquise à distance de la période néonatale peut être due :

- A des infections pédiatriques : méningite bactérienne (pneumocoque), rougeole, rubéole, varicelle, oreillons, ou encore les complications des otites moyennes ;
- Aux conséquences retardées d'infections néonatales ;
- A des traumatismes (fractures de l'os temporal ou traumatisme sonore) ;
- A l'exposition à des substances ototoxiques (aminosides, azithromycine, diurétiques de l'anse, cysplatine...) (36).

Chez le nouveau-né, des facteurs de risque de surdité ont clairement été identifiés (32,36) :

- La prématurité ;

- Un faible poids de naissance ;
- Certaines complications néonatales : anoxie périnatale, ventilation prolongée, ictère néonatal sévère (risque d'ictère nucléaire), septicémie ;
- Embryo-foetopathies infectieuses (le principal agent infectieux impliqué étant le CMV, mais également la rubéole congénitale, la toxoplasmose congénitale, l'herpès, la syphilis) ;
- L'exposition à des médicaments ototoxiques.

## **D. Surdités héréditaires**

### **1. Epidémiologie des surdités héréditaires**

Les surdités héréditaires se séparent en deux grands groupes : les surdités syndromiques, où la surdité s'inscrit au sein d'un tableau comportant un ou plusieurs signes associés, et les surdités isolées, ou non syndromiques, où la surdité constitue le seul signe clinique.

La majorité des surdités d'origine génétique sont des pathologies monogéniques. Tous les modes de transmission sont possibles : autosomique dominant (AD), autosomique récessif (AR), lié à l'X (LX), mitochondrial et exceptionnellement lié à l'Y.

Il existe une hétérogénéité génétique très importante au sein de ce groupe de pathologies. Plus d'une centaine de gènes sont connus pour être impliqués dans les surdités non syndromiques (5) et plus de 500 syndromes génétiques avec surdité ont été décrits (1). Ces gènes sont répartis sur l'ensemble du génome (Figure 27).

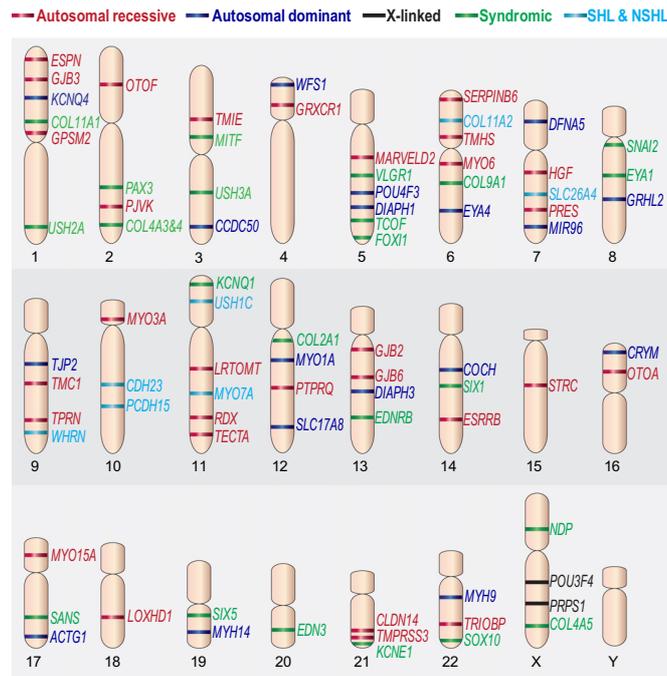


Figure 27 : Schéma de la localisation chromosomique de quelques gènes responsables de surdité isolée de transmission AR (en rouge), AD (en bleu), LX (en noir) et de surdité syndromique (en vert). Les gènes en bleu ciel indiquent les gènes responsables de surdité isolée et syndromique. D'après (38).

Chez l'adulte, la part des surdités génétiques est plus faible que la proportion de surdités acquises. Certains syndromes génétiques spécifiques sont responsables d'une surdité se manifestant à l'âge adulte (syndrome de Perrault, neurofibromatose de type 2, certaines formes de syndrome d'Alport...). Plusieurs gènes sont également responsables de surdité isolée d'apparition à l'âge adulte. Cependant, lorsqu'il ne s'agit pas de formes familiales, la proportion des étiologies génétiques parmi les surdités isolées de l'adulte est difficile à évaluer (1).

L' pid miologie des surdités héréditaires est mieux caractérisée en ce qui concerne les surdités congénitales. Parmi ce groupe de pathologies, les étiologies génétiques sont nettement majoritaires : on estime en effet que 60 à 80% des surdités congénitales sont d'origine génétique (Figure 28) (1,4). Parmi celles-ci, 80% sont des surdités isolées et 20% s'inscrivent dans un tableau de surdité syndromique (1,4). La majorité des surdités congénitales isolées se transmettent sur le mode AR (80-90%), 10 à 20% sur le mode AD, les surdités liées au chromosome X représentent environ

1% de l'ensemble des surdités congénitales isolées, les surdités d'hérédité mitochondriale sont encore plus rares (<1%) et les surdités liées aux chromosome Y sont exceptionnelles (Figure 28) (1,4,32).

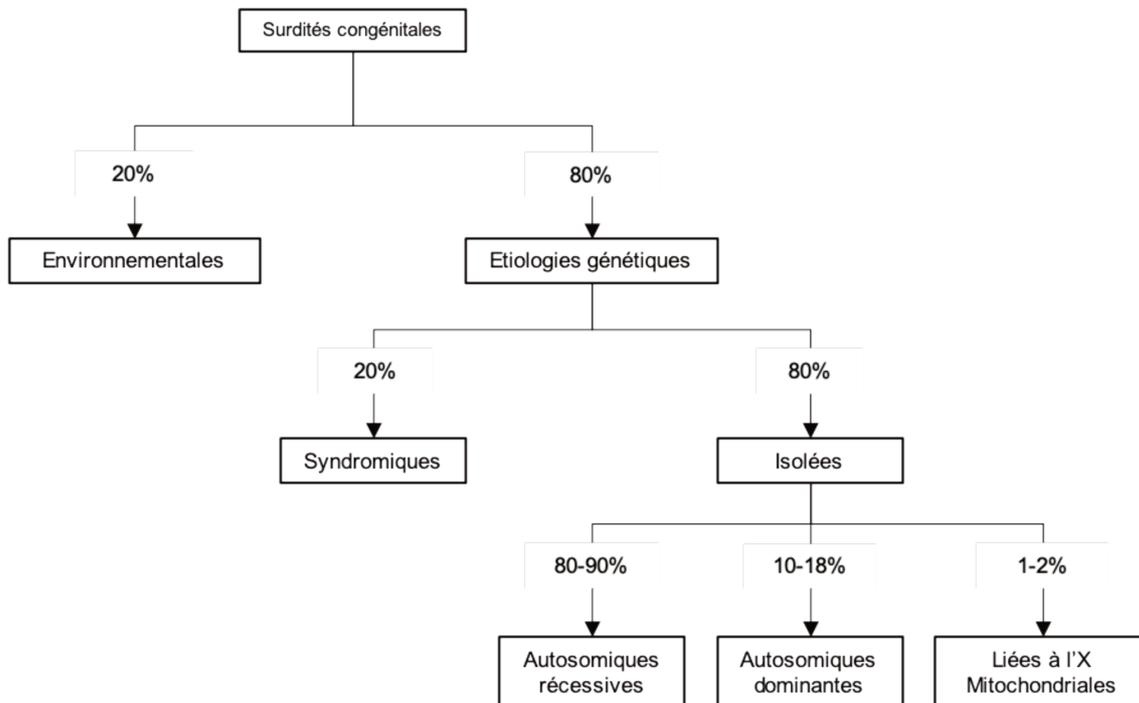


Figure 28 : Répartition des différents types d'étiologie des surdités congénitales, d'après (1).

## 2. Surdités isolées

Les surdités isolées sont référencées en fonction du mode d'hérédité du gène en cause. On distingue ainsi les surdités isolées :

- de transmission autosomique dominante, désignées par l'acronyme DFNA ;
- de transmission autosomique récessive (DFNB) ;
- de transmission liée au chromosome X (DFNX) ;
- de transmission liée au chromosome Y (DFNY) ;
- d'hérédité mitochondriale (DFNM).

Les gènes de surdité isolée sont répertoriés en fonction de leur mode de transmission et de l'ordre chronologique de leur identification. Un numéro est associé à l'acronyme

du mode d'hérédité en fonction de l'ancienneté de la découverte du gène. Le site *Hereditary Hearing Loss Homepage* (5) répertorie ainsi :

- 51 gènes de surdité isolée de transmission AD ;
- 77 gènes de surdité isolée de transmission AR ;
- 5 gènes de surdité isolée de transmission LX ;
- 2 loci de surdités isolées liées au chromosome Y.

Nous présenterons dans ce travail quelques gènes responsables de surdité isolée selon leur rôle dans le fonctionnement de l'oreille interne.

*a) Gènes impliqués dans la régulation de l'expression génique*

La mise en place des structures complexes de l'appareil auditif nécessite, au cours du développement embryonnaire, une fine régulation spatiale et temporelle de l'expression des gènes codant les protéines impliquées dans son fonctionnement.

Cette régulation de l'expression génique est permise grâce à des facteurs de transcription. Ainsi, il a été montré que le dysfonctionnement de certains facteurs de transcription était responsable de certaines formes de surdité non syndromique.

(1) *POU3F4* (MIM# 300039, Xq21.1) et *POU4F3*  
(MIM#602460, 5q32)

Les facteurs de transcriptions de la famille *POU-box* sont impliqués dans les processus de différenciation cellulaire (39). Ils sont caractérisés par la présence d'un domaine POU, lui-même constitué de 2 sous-domaines : un homéodomaine C-terminal et une région N-terminale POU-spécifique, qui permet la liaison de la protéine à une séquence spécifique d'ADN (40).

Le gène *POU3F4* est responsable de la surdité DFNX2 (MIM#304400) (41). Les hommes affectés présentent une surdité congénitale, sévère, d'allure progressive dans la première décennie de vie, qui affecte l'ensemble des fréquences (42). La

surdité est souvent mixte, mais peut ˆtre purement neurosensorielle (43,44). Des anomalies de l'oreille interne sont possibles : dilatation du CAI avec fistule périlymphatique entre le CAI et la base de la cochlée, anomalie de la fenˆtre ovale avec fixation du *stapes* (responsable de la composante transmissionnelle de la surdité) (45). L'hyperpression périlymphatique dans l'oreille interne est à l'origine du « signe du geyser » observé lors de l'ouverture chirurgicale de la fenˆtre ovale. Les variants pathogènes du gène *POU3F4* sont des variants ponctuels perte de fonction, des délétions du gène ou des micro-délétions Xq21.1 à distance du gène affectant probablement un élément régulateur du gène (42). Le gène *POU3F4* est exprimé à un stade embryonnaire précoce dans la capsule otique, le tube neural et certaines régions du futur cerveau (42). L'inactivation du gène *pou3f4* chez la souris est responsable d'une surdité profonde et de malformations de certaines structures de l'oreille interne, assez similaires à celles observées chez l'humain, épargnant néanmoins l'organe de Corti (46).

Le gène *POU4F3* est responsable de la surdité DFNA15 (MIM #602459) (47). Les patients atteints présentent une surdité neurosensorielle postnatale, progressive, avec une variabilité importante en termes de sévérité, de fréquences atteintes et d'évolutivité de la surdité (47–49). Les variants faux-sens hétérozygotes de *POU4F3* altèrent la localisation nucléaire de ce facteur de transcription ainsi que sa capacité de fixation à l'ADN (50,51). Chez la souris, le gène orthologue de *POU4F3* est exprimé au niveau des cellules ciliées (52) et son inactivation est responsable d'une surdité profonde due à l'absence de cellules ciliées et une perte des cellules du ganglion spiral (53).

(2) *EYA4* (MIM#603550, 6q23.2)

Le gène *EYA4* appartient à la famille des facteurs de transcription EYA, gènes orthologues du gène *eye absent (eya)*, impliqué dans le développement des organes sensoriels chez la drosophile. Via son domaine hautement conservé *HR-domain*, il interagit avec des facteurs de transcription de la famille SIX, permettant sa translocation dans le noyau et sa liaison avec l'ADN via son domaine variable *VR-domain* (54).

Les variants pathogènes de *EYA4* sont responsables de la surdité DFNA10 (MIM#601316). Les patients hétérozygotes présentent une surdité neurosensorielle post-linguale, apparaissant entre la 1<sup>ère</sup> et la 3<sup>ème</sup> décennie de vie, d'aggravation progressive jusqu'à une atteinte sévère aux alentours de la 6<sup>ème</sup> décennie de vie (55,56).

Les variants pathogènes hétérozygotes sont des variants perte de fonction. Les variants tronquants sont responsables d'une atteinte de l'ensemble des fréquences alors que les variants faux-sens semblent entraîner une atteinte prédominant sur les fréquences aiguës (57). Dans les modèles murins, le gène *Eya4* joue un rôle dans la maturation de l'organe de Corti, au cours du développement embryonnaire mais également en post-natal (58). Le rôle exact du gène dans la physiopathologie de la surdité DFNA10 est encore mal compris mais l'étude de plusieurs modèles animaux montre que *EYA4* est exprimé dans les cellules ciliées, les cellules de soutien de l'organe de Corti et les cellules du ganglion spiral (54).

b) *Gènes impliqués dans l'homéostasie de l'endolymphe*

(1) *KCNQ4* (MIM#603537, 1p34.2)

La composition ionique très particulière de l'endolymphe est un élément capital dans le fonctionnement de l'oreille interne. De nombreux canaux ioniques, particulièrement

des canaux potassiques, sont impliqués dans l'homéostasie de l'endolymphe (23,38). Le gène *KCNQ4* code une protéine transmembranaire formant des homo-tétramères qui constituent le canal potassique voltage dépendant  $K_v7.4$  (59).

Les variants pathogènes de ce gène sont responsables de la surdité DFNA2 (MIM#600101) (59). Les patients hétérozygotes présentent une surdité neurosensorielle post-linguale, progressive, prédominant les plus souvent sur les fréquences aiguës et de sévérité variable (59–63).

Une trentaine de variants différents responsables de DFNA2 ont été décrits : des variants tronquants responsables d'une haploinsuffisance (64), des variants faux-sens avec effet dominant négatif responsables d'une diminution du courant potassique transmembranaire (62), ou encore des variants faux-sens responsables d'un défaut d'expression de la protéine à la membrane cellulaire (61). Des modèles murins ont permis de montrer que ce canal potassique est exprimé au pôle baso-latéral des cellules ciliées (65) et que son inactivation était responsable de la dégénérescence progressive des CCE (66).

De nombreux autres gènes codant des protéines formant des canaux potassiques sont impliqués dans la survenue de surdités héréditaires syndromiques, tels que les gènes *KCNQ1*, *KCNE1* ou *KCNJ10*.

(2) *GJB2* (MIM#121011, 1p34.3) et *GJB6* (MIM#604418, 3q12.1)

Parmi les autres protéines intervenant dans le cycle du recyclage du potassium au sein de l'oreille interne, les connexines 26 et 30, codées respectivement par les gènes *GJB2* et *GJB6* jouent un rôle essentiel. Les connexines interviennent dans la formation de jonctions inter-cellulaires permettant la communication du milieu cytoplasmique de deux cellules adjacentes : les *Gap junctions* (67). Ces jonctions inter-cellulaires sont

formées de 2 connexons, chacun étant situé au niveau de la membrane d'une des deux cellules et constitué d'un hexamère de connexines (Figure 29) (67).

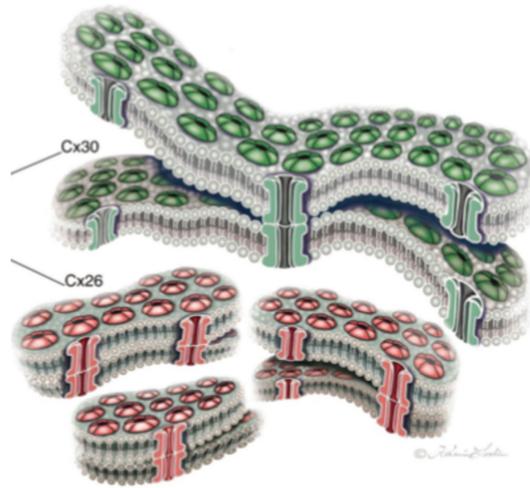


Figure 29 : Représentation schématique de jonction de type Gap junctions entre les membranes cellulaires de cellules adjacentes. Chaque jonction est formée de 2 connexons composé de 6 connexines. Les Gap junctions mettent en communication le milieu cytoplasmique des cellules qu'elles unissent. D'après (29).

*GJB2* et *GJB6* sont largement exprimés au niveau de plusieurs structures de l'oreille interne : au niveau des cellules de soutien de l'organe de Corti (68), des différentes couches cellulaires composant la strie vasculaire (29), du limbe du ligament spiral. En revanche, elles ne sont pas exprimées dans les cellules ciliées ni dans les cellules du ganglion spiral, ni dans les cellules marginales de la strie vasculaire (68,69).

Comme nous l'avons vu précédemment, les *Gap junctions* interviennent dans le recyclage du potassium au sein de l'oreille interne (27). Les connexines joueraient également un rôle dans la maturation des CCI (70).

La dysfonction du gène *GJB2* est la cause la plus fréquente de surdité (71). Le gène *GJB2* peut être responsable de surdité AR (DFNB1A (MIM#220290)), AD (DFNA3B (MIM#612643)) et d'une forme digénique de surdité avec le gène *GJB6* (DFNB1A (MIM#220290)). Le gène *GJB2* représente entre 20% et 40% des causes de surdités non syndromiques AR sévères à profondes dans la plupart des pays d'Europe et en Amérique du Nord (71). Plus de 100 variants pathogènes différents de *GJB2* ont été

rapportés (27). Tous les types de variants sont décrits (faux-sens, non-sens, *frameshift* ou encore variants affectant l'épissage), le plus fréquent dans de nombreuses régions du monde, dont l'Europe et l'Amérique du Nord, étant le variant c.35delG. Ce variant serait présent à l'état hétérozygote parmi 1,5% de la population générale (71).

Cliniquement, le gène *GJB2* est responsable d'une surdité congénitale, bilatérale et symétrique, sans malformation de l'oreille interne associée, de sévérité modérée à profonde, stable dans 80% des cas. Les courbes d'audiogrammes peuvent être plates ou montrer un atteinte prédominant sur les fréquences aiguës (72).

Le gène *GJB6* est responsable de surdité AR (DFNB1B (MIM#612645), AD (DFNA3B (MIM#612643)) ou digénique, impliquant aussi *GJB2*. Le phénotype des patients rejoint celui des patients atteints de DFNB1A. Les variants les plus fréquents impliquées dans les formes de DFNB1B sont des délétions emportant l'ensemble du gène *GJB6* (73).

Le maintien de la composition endolymphatique fait intervenir d'autres gènes, tels *SLC26A4* (MIM#605646). Ce gène est responsable de la surdité isolée DFNB4 (MIM#600791) mais également du syndrome de Pendred (MIM#474600), qui sera détaillé ultérieurement.

### c) *Gènes impliqués dans le fonctionnement des stéréocils*

Les stéréocils situés à l'extrémité apicale des CCI et CCE ont un rôle central dans la transduction du signal mécanique en signal électrique. Leur principale caractéristique est leur capacité à se déplacer de façon cohérente « en faisceau » en fonction des stimuli mécaniques qui s'exercent sur eux. Cette motilité fait intervenir un réseau central d'actine et un ensemble complexe de protéines qui lui sont liées. La cohésion

du faisceau de stéréocils nécessite des liens protéiques extra-cellulaires connectant les stéréocils entre eux.

(1) *ACTG1* (MIM#102560, 17q25.3)

Le réseau d'actine des stéréocils est composé d'actine- $\beta$  et d'actine- $\gamma$ . Cette dernière est codée par le gène *ACTG1*, dont les variants pathogènes sont responsables de la surdité DFNA20/26 (MIM#604717). Les patients atteints de DFNA20/26 présentent une surdité neuro-sensorielle bilatérale, post-linguale, progressive, affectant initialement les fréquences aiguës puis s'étendant progressivement à toutes les fréquences. La sévérité est variable et peut être profonde (17,74). Les variants pathogènes du gène *ACTG1* sont des variants faux-sens. Ils n'affecteraient pas le développement du réseau d'actine mais le maintien de celui-ci. Les modèles murins avec altération du réseau d'actine montrent une dégénérescence des stéréocils (17).

(2) *ESPN* (MIM#606351, 1p36.1)

Le gène *ESPN* code l'espine, une protéine possédant des domaines de liaisons aux filaments d'actine et ayant la capacité de favoriser l'assemblage des monomères d'actine en un réseau ordonné de filaments d'actine (actine-F) (75). Le gène *ESPN* est exprimé dans de nombreux types cellulaires possédant des microvillosités ou des stéréocils, dont les cellules ciliées de l'oreille interne. Au sein des CCE et des CCI, l'espine participe à la régulation de la taille des stéréocils au cours du développement et à la maintenance du réseau d'actine (75).

Les variants pathogènes du gène *ESPN* sont responsables de la surdité DFNB36 (MIM#609006). Les patients atteints présentent une surdité neuro-sensorielle pré-linguale, bilatérale et généralement profonde. Une atteinte vestibulaire est fréquemment associée (76). Les variants causaux sont responsable d'une perte de fonction du gène (76).

(3) *TRIOBP* (MIM#609761, 22q13.1)

Le gène *TRIOBP* code une protéine de liaison aux filaments d'actine : *TRIOBP*. Exprimée notamment dans les cellules ciliées de l'oreille interne, cette protéine s'enroule autour des filaments d'actine et contribue à la formation des *rootlets*, qui permettent l'ancrage du réseau d'actine dans la plaque cuticulaire et joue un rôle dans la résistance et la rigidité du stéréocil (77).

Les variants pathogènes du de *TRIOBP* sont responsables de la surdité DFNB28 (MIM#609823). La majorité des patients atteints présentent une surdité neuro-sensorielle pré-linguale, bilatérale, sévère à profonde, stable, atteignant toutes les fréquences. De rares cas de surdité congénitale modérée ont été rapportés. Les patients sont porteurs de variants bi-alléliques tronquants (non-sens ou *frameshift*) perte de fonction (77,78).

(4) *MYO7A* (MIM#276903, 11q13.5)

Le gène *MYO7A* code la myosine 7a. Les myosines constituent une famille de 39 protéines qui ont la capacité de se lier aux filaments d'actine et de générer, grâce à leur activité ATP-dépendante, une force motrice ou une tension dans le milieu intracellulaire (79).

Les variants pathogènes de *MYO7A* sont responsables de surdité isolée AR (DFNB2 (MIM#600060)), AD (DFNA11 (MIM#601317)) ou du syndrome d'Usher de type 1B (MIM#276900). Les patients atteints de DFNB2 présentent une surdité neuro-sensorielle bilatérale, prélinguale et profonde (80). Les patients atteints de DFNA11 présentent une surdité neuro-sensorielle progressive, de sévérité variable, pré- ou post-linguale, avec des courbes à l'audiogramme plate ou avec une légère prédominance sur les fréquences aiguës (81).

Près de 500 variants pathogènes de *MYO7A* ont été décrits. La surdité DFNA11 est due à des variants faux-sens. Tous les types de variants ont été rapportés dans la surdité DFNB2. Les variants sont répartis sur l'ensemble du gène. Il n'existe pas de corrélation-génotype claire entre DFNB2 et le syndrome d'Usher 1B (80).

La myosine 7a est exprimée dans les stéréocils des cellules ciliées, les photorécepteurs rétiniens et l'épithélium pigmentaire. Elle comporte notamment un site de liaison à l'actine, un site à activité ATP-ase et de nombreuses régions d'interaction avec d'autres protéines. Les fonctions de la myosine 7a sont multiples : régulation de la croissance des stéréocils, acheminement de protéines le long du stéréocil. Elle forme également un complexe protéique avec les protéine Harmonine et SANS qui permet l'ancrage des cadhérines des *tips-links* au réseau d'actine (12,80,81).

L'Harmonine, codée par le gène *USH1C* (MIM#605242, 11p15.1), est une protéine d'échafaudage interagissant avec la myosine 7a au sein du complexe d'ancrage des cadhérines dans les stéréocils. Une autre isoforme de l'harmonine aurait un rôle au niveau des synapses entre les cellules ciliées et les cellules du ganglion spiral (82). Les variants pathogènes de *USH1C* sont responsables de la surdité non syndromique AR DFNB18A (MIM# 602092) ou du syndrome d'Usher de type 1C (MIM#276904). Les patients atteints de DFNB18A présentent une surdité neuro-sensorielle prélinguale et profonde (83).

(5) *MYO15A* (MIM#602666, 17p11.2)

Le gène *MYO15A* code la myosine 15a. Les variants pathogènes de *MYO15A* sont responsables de la surdité DFNB3 (MIM#600316). Les patients atteints présentent une surdité neuro-sensorielle le plus souvent bilatérale et symétrique, congénitale, sévère à profonde, affectant l'ensemble des fréquences (1). Plus rarement, les patients

atteints présentent une surdité pré-linguale de sévérité variable et prédominant sur les fréquences aiguës, avec une audition résiduelle sur les fréquences graves (2).

Près de 200 variants pathogènes différents ont été rapportés, de tous types et répartis sur l'ensemble du gène, même si les variants affectant le domaine « moteur » à activité ATP-ase et le domaine exerçant un effet « bras de levier » sont les plus fréquents (2).

En fonction de ses isoformes, la myosine 15a participe à l'extension des stéréocils au cours de l'embryogénèse et intervient dans la stabilisation et la maintenance post-natale du réseau d'actine du stéréocil (84,85).

La myosine 15a nécessite l'intervention de plusieurs autres protéines interagissant également avec le réseau d'actine, parmi lesquelles la Whirline, codée par le gène *WHRN* (MIM#607928, 9q32), et EPS8, codée par le gène *EPS8* (MIM#615974). Ces deux gènes sont également impliqués dans des formes de surdités héréditaires : DFNB102 (MIM#615974) pour *EPS8*, DFNB31 (MIM#607084) et le syndrome d'Usher type 2D (MIM#611383) pour *WHRN*.

#### (6) *MYO6* (MIM#600970, 6q14.1)

Le gène *MYO6* code la myosine 6. Les variants pathogènes de *MYO6* sont responsables de surdité AD (DFNA22 (MIM#606346)) et AR (DFNB37 (MIM#607821)). Les patients atteints de DFNB37 présentent une surdité neuro-sensorielle congénitale, bilatérale, profonde, parfois accompagnée d'une dysfonction vestibulaire (86). Les patients atteints de DFNA22 présentent classiquement une surdité neuro-sensorielle post-linguale, tardive, légère à modérée le plus souvent. Néanmoins, l'âge d'installation de la surdité chez les patients décrits dans la littérature est variable et des cas de jeunes enfants ont été rapportés. La surdité DFNA22 est

progressive dans 75% des cas. Tous les types de variants ont été décrits dans les surdités DFNA22 et DFNB37 (86,87).

La myosine 6 est exprimée à la base des stéréocils des cellules ciliées de l'oreille interne. Elle interagit avec les filaments d'actine qui forment les *rootlets* des stéréocils et qui permettent l'ancrage dans la plaque cuticulaire. La myosine 6 joue un rôle dans le développement et la maintenance de cette structure particulière (12,86).

#### d) Gènes impliqués dans les jonctions inter-stéréocils

Le gène *STRC* (MIM#606440, 15q15.3), code la stéréocilline. Les variants pathogènes bi-alléliques de *STRC* sont responsables de la surdité DFNB16 (MIM#603720) (88). Les patients atteints présentent une surdité neurosensorielle bilatérale et symétrique, légère à modérée, stable ou modérément progressive, prédominant sur les fréquences aiguës le plus souvent. La surdité peut être congénitale ou apparaître au cours de l'enfance (89,90).

Sur le plan moléculaire, la surdité DFNB16 est caractérisée par la fréquence importante des délétions du gène *STRC*. Les variants pathogènes peuvent également être ponctuels (variants faux-sens ou non-sens) (90).

La stéréocilline est exprimée dans les CCE. Elles constituent les *top connectors*, des jonctions protéiques reliant les stéréocils des CCE entre eux, au niveau de leur membrane latérale (Figure 30) (19).

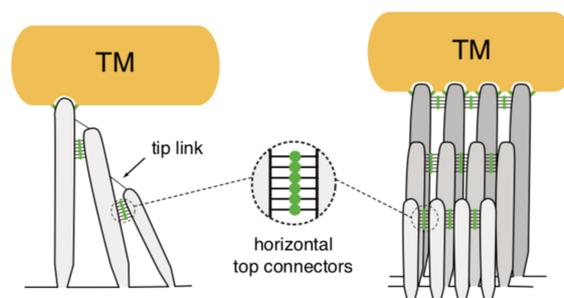


Figure 30 : Schéma représentant la fonction de la stéréocilline au sein des top-connectors. Les top-connectors unissent entre eux les stéréocils de 2 rangs adjacents (à gauche) et 2 stéréocils adjacents d'un même rang (à droite). (TM : membrane tectoriale). D'après (91).

La stéréocilline intervient également au niveau de l'ancrage de l'extrémité apicale des plus grands stéréocils des CCE dans la membrane tectoriale (Figure 31) (19).

Des modèles murins ont montré que l'inactivation du gène *STRC* entraînait une perte des *top connectors* et une dégénérescence progressive de la cohésion des mouvements des stéréocils des CCE, responsable d'une surdité progressive (19).

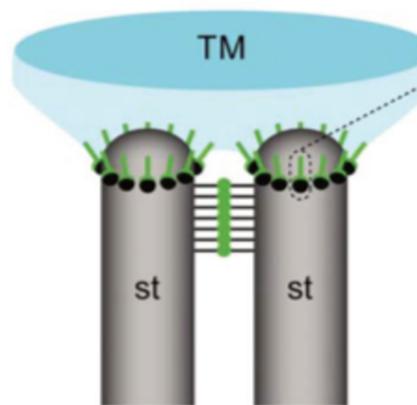


Figure 31 : Schéma représentant le rôle de la stéréocilline (en vert) au sein de la jonction entre les stéréocils (st) des CCE et la membrane tectoriale (TM). D'après (19)

*STRC* est également impliqué dans une forme syndromique de surdité. En effet les délétions bi-alléliques 15q15.3 emportant les gènes *STRC* et *CATSPER2* (MIM#607249) sont responsables du syndrome surdité et infertilité masculine (MIM#611102).

#### *e) Gènes impliqués dans le fonctionnement de la membrane tectoriale*

La membrane tectoriale est une structure acellulaire, composée de nombreuses protéines de type collagène et non collagène. Organisées en un réseau complexe, elles confèrent à la membrane tectoriale ses propriétés physiques lui permettant d'interagir avec les cellules ciliées au cours de la méchanotransduction des signaux sonores. Plusieurs protéines de la membrane tectoriale ont été impliquées dans des formes de surdités non syndromiques.

(1) *TECTA* (MIM#602574, 11q23.3)

Le gène *TECTA* code l' $\alpha$ -tectorine, une glycoprotéine fortement exprimée au sein de la membrane tectoriale. Cette protéine comporte 3 principaux domaines fonctionnel : le domaine ENT (entactine) à l'extrémité N-terminale, le domaine central ZA (*zonadhésine*) et le domaine ZP (*zona pellucida*) à l'extrémité C-terminale (92).

Les variant pathogènes du gène *TECTA* sont responsables de surdité AR (DFNB21 (MIM#603629)) et AD (DFNA8/12 (MIM#601543)) (93,94).

Les patients atteints de DFNB21 présentent une surdité neurosensorielle bilatérale et symétrique, de sévérité variable (modérée à sévère), pré-linguale ou précoce dans l'enfance, le plus souvent stable. A l'audiogramme, il existe souvent une atteinte prédominant sur les fréquences moyennes (« courbes en U ou en cupule ») (93,95,96). Les variants bi-alléliques en cause sont des variants tronquants (97).

Les patients atteints de DFNA8/12 présentent un phénotype variable en fonction de la localisation du variant (98) :

- Les variants du domaine ZP sont responsables d'une surdité pré- ou post-linguale, d'évolutivité variable, légère à modérée, prédominant sur les fréquences moyennes (99) ;
- Les variants du domaine ZA entraînent une surdité pré- ou post-linguale, légère à modérée, progressive, prédominant sur les fréquences aigües (100).

Les variants responsables de DFNA8/12 sont des variants faux-sens hétérozygotes à effet dominant négatif (101).

Les conséquences physiopathologiques d'une dysfonction de l' $\alpha$ -tectorine ne sont pas bien élucidées. Des modèles murins ont montré que l'inactivation de l' $\alpha$ -tectorine était responsable d'une désolidarisation de la membrane tectoriale par rapport à l'organe de Corti (102).

(2) *OTOG* (MIM#604487, 11p15.1)

Le gène *OTOG* code l'otogeline, une protéine de la matrice extra-cellulaire qui permet l'établissement de liaisons entre les fibres d' $\alpha$ -tectorine et de  $\beta$ -tectorine de la membrane tectoriale (103). Les variants pathogènes d'*OTOG* sont responsables de la surdité DFNB18B (MIM#614945). Les patients atteints présentent une surdité neuro-sensorielle bilatérale, pré-linguale, modérée, le plus souvent stable, avec des courbes d'audiogramme plate ou montrant une légère prédominance sur les fréquences aigües (104). Les patients sont porteurs de variants bi-alléliques tronquants (non-sens ou *frameshift*) responsables d'une perte de fonction (105). Le mécanisme physiopathologique supposé est une perturbation de la rigidité de la membrane tectoriale (105).

*f) Gènes impliqués dans la transduction du signal mécanique en courant ionique au niveau des stéréocils*

(1) *CDH23* (MIM#605516, 10q22.1)

Le gène *CDH23* code la cadhérine 23, une longue protéine de 3354 acides aminés comportant 27 motifs extra-cellulaires de type ectodomains, un domaine trans-membranaire et un court domaine cytoplasmique de 300 acides aminés (106). *CDH23* est exprimé dans les cellules ciliées cochléaires et vestibulaires ainsi que dans la rétine (106,107). Les cadhérines forment une grande famille de protéines impliquées dans l'établissement de jonctions protéiques inter-cellulaires. Comme nous l'avons vu précédemment, la protéine *CDH23* forme des homodimères qui se lient à des homodimères d'une autre protéine, la protocadhérine 15 (*PCDH15*), pour former les *tip links* (20), ces liens protéiques extra-cellulaires tendus entre l'extrémité apicale d'un stéréocil et la face latérale d'un stéréocil plus grand du rang adjacent, et qui provoquent, lors du basculement des stéréocils, l'ouverture des canaux ioniques MET

(Figure 32) (20). Le complexe CDH23-PCDH15 est également important pour les cellules ciliées en développement, dans lesquelles il établit des liens latéraux transitoires entre les stéréocils, ainsi qu'entre les stéréocils et le kinocil (106,108).

Sur le plan clinique, les dysfonctions du gène *CDH23* sont responsables de la surdité non syndromique AR DFNB12 (MIM#601386) et du syndrome d'Usher de type 1D (MIM#601067) (107). Les patients atteints de DFNB12 présentent une surdité neuro-sensorielle bilatérale, pré-linguale ou apparaissant précocement dans l'enfance, modérée à profonde, qui peut être progressive et prédominant sur les fréquences aiguës (107,109–113).

Les variants responsables de DFNB12 sont des variants bi-alléliques faux-sens. Les patients porteurs d'un variant faux-sens *en trans* avec un variant tronquant présentent un phénotype DFNB12 (109).

Des modèles murins sont en faveur de l'hypothèse selon laquelle les variants de *CDH23* responsables de syndrome d'Usher type 1D perturbent le développement des stéréocils au cours de l'embryogénèse alors que les variants responsables de DFNB12 entraînent une perte progressive postnatale des liaisons entre CDH23 et PCDH15, à l'origine d'une dégénérescence progressive des cellules ciliées et des cellules du ganglion spiral (108).

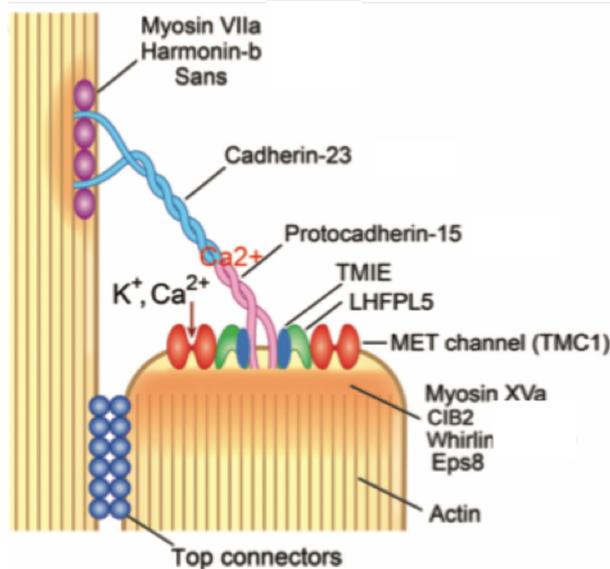


Figure 32 : Représentation schématique des tip links reliant la surface apicale d'un stéréocil à la paroi latérale d'un stéréocil de taille supérieure. La partie inférieure du tip link est reliée aux canaux ioniques (MET) permettant l'entrée de cations dans la cellule ciliée. De nombreuses protéines sont nécessaires au fonctionnement de ces structures. D'après (11).

## (2) *PCDH15* (MIM#605514, 10q22.1)

L'autre composant des *tip-links*, *PCDH15*, est une proto-cadhérine de 1955 acides aminés, constituée d'un domaine extracellulaire comportant 11 motifs ectodomaines (EC), un unique domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique (variable en fonction des isoformes) (114,115). Elle est codée par le gène *PCDH15*. *PCDH15* s'exprime dans l'épithélium rétinien et les cellules ciliées de la cochlée et du vestibule (114). Les variants pathogènes de *PCDH15* sont responsables du syndrome d'Usher de type 1F (MIM#602083) ou de la surdité non syndromique DFNB23 (MIM#609533) (114). Les patients atteints de DFNB23 présentent une surdité neuro-sensorielle bilatérale pré-linguale, sévère à profonde, affectant toutes les fréquences (114–116). Les variants responsables de DFNB23 entraînent la perte de la liaison *PCDH15*-*CDH23* et donc la perte des *tip-links* (117).

Il existe une corrélation génotype-phénotype constatée pour les gènes *CDH23* et *PCDH15* : les surdités DFNB12 et DFNB23 sont dues à des variants faux-sens

hypomorphes, permettant une activité résiduelle suffisante pour une fonction rétinienne et vestibulaire normale, tandis que les variants responsables des syndromes d'Usher de type 1D et 1F sont des variants bi-alléliques tronquants ou des variants faux-sens perte de fonction (107–109). D'autres auteurs émettent l'hypothèse que cette corrélation génotype-phénotype est due à l'existence de plusieurs isoformes des protéines et que les variants responsables de surdité non syndromique n'affectent pas les isoformes exprimées dans la rétine (114,115).

### (3) *TMC1* (MIM#606706, 9q21.13)

Le gène *TMC1* code la protéine transmembranaire TMC1. Cette protéine est exprimée notamment à la surface apicale des stéréocils des cellules ciliées et forme des homodimères constituant les canaux ioniques MET des stéréocils (21). Ces canaux ioniques s'ouvrent en réponse à la tension exercée par les *tip-links* lors du basculement des stéréocils et permettent l'influx de cations à l'intérieur des cellules ciliées (Figure 32).

Sur le plan clinique, les variants pathogènes de *TMC1* sont responsables de surdité AR (DFNB7/B11 (MIM#600974)) et AD (DFNA36 (MIM#606705)). Les patients atteints de DFNB11 présentent une surdité neuro-sensorielle bilatérale congénitale, classiquement sévère à profonde, prédominant souvent sur les fréquences aiguës (118–120). Des cas de DFNB7/B11 présentant des surdités modérées à sévères ont néanmoins été rapportés (121). Les patients atteints de DFNA36 présentent quant à eux une surdité neuro-sensorielle post-linguale survenant dans l'enfance et progressive, prédominant sur les fréquences aiguës. L'intensité de la surdité peut être profonde (122).

Les variants bi-alléliques responsables de DFNB7/B11 peuvent être de tous types et semblent être associés à une perte de fonction dans la plupart des cas (119), les

variants hétérozygotes responsables de DFNA36 sont le plus souvent des variants faux-sens avec effet gain de fonction ou dominant négatif (122).

Le mécanisme exact provoquant l'ouverture des canaux ioniques formés par TMC1 est encore mal connu. Plusieurs protéines pourraient intervenir dans ce mécanisme, notamment celles codées par les gènes *TMIE* (MIM#677237), responsable de la surdité DFNB6 (MIM#600971), ou *LHFPL5* (MIM#609427), responsable de la surdité DFNB67 (MIM#610265). Ces gènes codent des protéines exprimées à l'extrémité apicale des stéréocils et liées à TMC1, la protéine LHFPL5 étant également liée à la protocadhérine 15 (123). Néanmoins, leurs fonctions exactes demeurent imparfaitement comprises.

*g) Les gènes impliqués dans le fonctionnement de la synapse entre les cellules ciliées et les cellules nerveuses*

Le terme synaptopathie désigne les surdités dues à un dysfonctionnement de la synapse entre la CCI et les fibres nerveuses auditives. Les synaptopathies font partie du Spectre des Neuropathies Auditives (*Auditory Neuropathy Spectrum Disorder (ANSO)*), car elles présentent des caractéristiques physiopathologiques communes avec les neuropathies auditives : il existe en effet une altération des PEA mais une préservation des OEA. Néanmoins, elles sont distinguées des neuropathies auditives classiques car les fibres nerveuses proprement dites ne sont pas le siège de l'affection (124).

La principale cause de synaptopathie (atteinte pré-synaptique) est le gène *OTOF* (MIM#603681, 2p23.1), responsable de la surdité non syndromique AR DFNB9 (MIM#601071). *OTOF* code l'otoferline, une protéine transmembranaire exprimée presque exclusivement dans les CCI, principalement à leur pôle baso-latéral

(125,126). L'otoferline joue un rôle important dans l'exocytose des vésicules synaptiques stockées au niveau du ruban synaptique des CCI, permettant le relargage du glutamate dans la fente synaptique, et dans la régénération des ces vésicules. L'activité de l'otoferline est Calcium-dépendante (125,126).

Les patients atteints de DFNB9 présentent une surdité isolée neuro-sensorielle congénitale ou pré-linguale, sévère à profonde et stable dans la majorité des cas. Comme dans les autres synaptopathies, les OEA sont présentes à la naissance (source potentielle d'un retard au diagnostic) et les PEA sont altérés. Néanmoins, les CCE se dégradent progressivement et les OEA disparaissent après quelques années de vie (125). Comme dans d'autres ANDS, la déficience auditive est aggravée dans les atmosphères bruyantes et la discrimination vocale est particulièrement touchée (124).

Tous les types de variants ont été identifiés dans le gène *OTOF*. Les variants tronquants (non-sens, *frameshift*, altération d'épissage) sont associés à une surdité sévère à profonde alors que certains variants faux-sens, en fonction de leur position et la fonction résiduelle potentielle de l'otoferline, peuvent être associés à des phénotypes plus modérés (125,126). Des formes particulières de surdité fluctuante avec sensibilité à la fièvre ont été décrites (126).

D'autres gènes sont responsables de synaptopathies (atteinte pré-synaptique) :

- Le gène *CABP2* (MIM# 607314, 11q13.2) code une protéine interagissant avec les canaux calciques pour la régulation des flux calciques pré-synaptiques, il est responsable d'une surdité isolée pré-linguale modérée à sévère de transmission AR (DFNB93 (MIM#614899)) ;
- Le gène *SLC17A8* (MIM#607557, 12q23.1) code le transporteur du glutamate vésiculaire de type 3 et est responsable d'une forme isolée de surdité

progressive prédominant sur les fréquences aiguës, de transmission AD (DFNA25 (MIM#605583)) ;

- Le gène *CACNA1D* (MIM#114206 ; 3p21.1) code une sous-unité du canal calcique  $Ca_v1.3$ , qui est impliqué dans le relargage du calcium au niveau de la synapse entre les CCI et les fibres nerveuses afférentes de type 1, et est responsable d'une surdité sévère à profonde associée à des troubles de conduction cardiaque (Syndrome SANDD (*Sino-Atrial Node Dysfunction Deafness*, MIM#614896)).

Nous ne détaillerons pas dans ce travail les autres synaptopathies (atteinte post-synaptique) ni les neuropathies auditives.

#### *h) Autres fonctions*

Le gène *COCH* (MIM#603196, 14q12) code une protéine exprimée au niveau du ligament spiral, du limbe de la lame spirale de l'oreille interne mais également au niveau de l'oreille moyenne (articulations entre les osselets, membrane tympanique), au niveau oculaire, splénique et au niveau des ganglions lymphatiques : la cochline. Les fonctions de la cochline ne sont pas toutes bien élucidées, mais cette protéine jouerait un rôle dans la maintenance de la matrice extra-cellulaire de l'oreille interne ainsi que dans la réponse inflammatoire aux agressions de l'oreille interne (de nature infectieuse notamment) (127).

Les variants pathogène de *COCH* sont responsables de surdité AD (DFNB19 (MIM#601369)) et AR (DFB110 (MIM#618094)). Les patients atteints de DFNA9 présentent classiquement une surdité post-natale tardive (apparition le plus souvent au cours de la 4<sup>ème</sup> ou 5<sup>ème</sup> décennie de vie), progressive, d'intensité modérée, prédominant sur les fréquences aiguës et souvent accompagnée de signes vestibulaires. Les variants pathogènes sont dans la majorité des cas des variants faux-

sens à effet dominant négatif (127). La dysfonction de la cochline est responsable d'une dégénérescence du ligament spiral, de la lame spirale et des dendrites des cellules spirales ganglionnaires (127).

### 3. Surdités syndromiques

#### a) *Le syndrome d'Usher*

Le syndrome d'Usher associe une surdité neurosensorielle et une rétinite pigmentaire progressive. Il s'agit d'une pathologie hétérogène sur le plan clinique : on distingue en effet 3 types de syndrome d'Usher.

Le syndrome d'Usher de type 1 est le plus sévère sur le plan clinique, il représente 33% des cas (128). La surdité est congénitale, bilatérale, sévère à profonde. La rétinite pigmentaire apparaît avant l'adolescence et la perte de vision est précoce (4<sup>ème</sup> décennie). Il existe également une hyporéflexie vestibulaire précoce, pouvant retentir sur le développement moteur de l'enfant (acquisition retardée de la marche notamment) (129).

Le syndrome d'Usher de type 2 est moins sévère cliniquement. Il s'agit de la forme la plus fréquente (55% des cas) (128). La surdité est congénitale, bilatérale, modérée à sévère, prédominant sur les fréquences aiguës, parfois progressive. La rétinite pigmentaire apparaît souvent durant l'adolescence et la perte de vision est plus tardive que dans le type 1 (au cours de la 6<sup>ème</sup> décennie). Il n'existe classiquement pas d'atteinte vestibulaire (129).

Le syndrome d'Usher de type 3 est plus rare (2-4% des cas) (128). La surdité est post-linguale (apparaissant au cours de la première décennie), progressive, de sévérité variable, prédominant sur les fréquences aiguës ou moyennes. L'âge d'apparition de la rétinite pigmentaire est variable (adolescence ou adulte jeune). Il existe une atteinte

vestibulaire dans environ 50% des cas, mais elle n'entrave le plus souvent pas le développement moteur (128,129).

Il existe une hétérogénéité génétique dans le syndrome d'Usher : 6 gènes sont impliqués dans le type 1, 3 gènes pour le type 2 et 1 gène pour le type 3 (Tableau 1). Il existe également des loci pour lesquels le gène causal n'a pas encore été identifié. Toutes les formes de syndrome d'Usher se transmettent sur le mode autosomique récessif. Certains gènes responsables de syndrome d'Usher présentent une hétérogénéité allélique et sont impliqués dans des formes de surdité non syndromique : *MYO7A* (DFNA11, DFNB2), *CDH23* (DFNB12), *PCDH15* (DFNB23), *USH1C* (DFNB18), *WHRN* (DFNB31), *CIB2* (DFNB48, MIM#609439).

Type	MIM#	Gène	MIM#	Locus	Hérédité
Usher 1B	276900	<i>MYO7A</i>	276903	11q13.5	AR
Usher 1C	276904	<i>USH1C</i>	605242	11p15.1	AR
Usher 1D	601067	<i>CHD23</i>	605516	10q22.1	AR
Usher 1F	602083	<i>PCDH15</i>	605514	10q21.1	AR
Usher 1G	606943	<i>USH1G</i>	607696	17q25.1	AR
Usher 1J	614869	<i>CIB2</i>	605564	15q25.1	AR
Usher 2A	276901	<i>USH2A</i>	608400	1q41	AR
Usher 2C	605472	<i>ADGRV1</i>	605472	5q14.3	AR
Usher 2D	611383	<i>WHRN</i>	611383	9q32	AR
Usher 3A	276902	<i>CLRN1</i>	606397	3q25.1	AR

Tableau 1 : Gènes responsables des syndromes d'Usher de types 1, 2 et 3.

Toutes les protéines codées par ces gènes sont exprimées dans l'oreille interne et la rétine. Nous avons déjà évoqué la fonction de plusieurs d'entre elles dans la partie précédente de ce travail. Parmi les autres, l'usherine, codée par *USH2A*, et la clarine-1, codée par *CLRN1*, sont des protéines transmembranaires intervenant dans les processus d'adhésion intercellulaire, *ADGRV1* code un récepteur couplé aux protéines G, et *CIB2* est une protéine de liaison à l'intégrine et aux ions  $Ca^{2+}$  (129).

### b) Le syndrome BOR

Le syndrome branchio-oto-rénal (BOR) est caractérisé par l'association de signes branchiaux, d'anomalies des oreilles et de malformations rénales.

Les signes branchiaux peuvent être des anomalies du 2<sup>ème</sup> arc branchial (fistule branchiale, kyste branchial) ou du 1<sup>er</sup> arc branchial (fistules pré-hélicéennes). On retrouve fréquemment des enchondromes pré-tragiens (Figure 33). Les pavillons peuvent être dysplasiques. A l'imagerie, les malformations de l'oreille peuvent toucher l'oreille externe (sténose du CAE), l'oreille moyenne (malformations de la chaîne ossiculaire) et l'oreille interne (hypoplasie cochléaire, hypoplasie ou agénésie des CSC, dilatation des aqueducs du vestibule). La surdité est le plus souvent mixte (40%), mais peut être neuro-sensorielle (30%) ou purement transmissionnelle (20%). Elle est de sévérité variable (modérée à profonde), uni- ou bilatérale, le plus souvent stable mais parfois fluctuante. Les malformations rénales sont diverses : la plus fréquente est l'hypoplasie rénale, mais il existe également des cas d'agénésie rénale, de dysplasie rénale, d'hydronéphrose sur reflux vésico-urétéral. L'évolution vers une insuffisance rénale est possible (130,131).



Figure 33 : Signes évocateurs de syndrome BOR. A : fistules pré-hélicéennes et fistules branchiales chez une mère (photos du rang supérieur) et sa fille (photos du rang inférieur, d'après (132) ; B : patient atteint de syndrome BOR présentant une fistule pré-hélicéenne et plusieurs enchondromes pré-tragiens, d'après (133).

Il existe 2 formes de syndrome BOR, qui se transmettent toutes deux sur un mode AD : le syndrome BOR de type 1 (MIM#113650), dû au gène *EYA1* (MIM#601653, 8q13.3), et le syndrome BOR de type 2 (MIM#610896), dû au gène *SIX5* (MIM#600963, 19q13.3). On note une hétérogénéité allélique pour le gène *EYA1*, puisqu'il est également responsable du syndrome branchio-otique de type 1 (MIM#602588). Le syndrome branchio-otique comporte les mêmes anomalies branchiales et auriculaires que le syndrome BOR, mais il n'y a classiquement pas d'atteinte rénale. Il existe également un syndrome branchio-otique de type 2 (MIM#120502, locus 1q31) et un syndrome branchio-otique de type 3 (MIM#608389), dû au gène *SIX1* (MIM#601205, 14q23.1). Les 3 formes de syndromes branchio-otiques se transmettent sur le mode AD. Le syndrome branchio-otique et le syndrome BOR constituent le spectre des *Branchio-Oto-Renal Spectrum Disorders* (BORSD) (131).

La protéine *EYA1* agit comme coactivateur transcriptionnel de *SIX1* et *SIX5* notamment. Elle est impliquée dans la régulation de l'organogénèse de l'oreille, du rein, du squelette axial, de la région crânio-faciale. Elle possède également une activité histone phosphatase qui joue un rôle dans les processus de réparation de l'ADN. *SIX1* et *SIX5* sont des facteurs de transcription. *SIX1* est impliqué dans l'organogénèse de l'oreille interne, du rein et des muscles. *SIX5* intervient dans le développement de la rétine, mais son rôle dans l'embryologie de l'oreille interne est moins bien connu (131). Le pronostic des BORSD est lié à l'existence d'une atteinte rénale et sa sévérité éventuelle.

### c) *Le syndrome de Waardenburg*

Le syndrome de Waardenburg (WS) est caractérisé cliniquement par l'association d'une surdité neuro-sensorielle, d'anomalies de la pigmentation cutanée (zones de

dépigmentation cutanées ou leucodermie, touchant la face, le tronc et/ou les membres), d'anomalies de la pigmentation des cheveux (principalement présence d'une mèche de cheveux blanche, mais aussi blanchiment précoce des cheveux, hypopigmentation des sourcils ou des cils) et d'anomalies de pigmentation des iris (iris bleu saphir, hétérochromie irienne) (134).



Figure 34 : Exemples de patients présentant un syndrome de Waardenburg de type 1 par atteinte du gène PAX3. Noter les mèches de cheveux blancs et la dystopie des canthi présentes chez tous les patients. Le patient A présente une hétérochromie irienne complète, les patients B et C présentent des iris bleu saphir et le patient D présente une hétérochromie irienne partielle de l'œil droit. D'après (135).

Il existe 4 formes cliniques différentes de syndrome de Waardenburg, qui comportent toutes les signes cités ci-dessus mais qui diffèrent de la manière suivante :

- Le WS de type 1 (MIM#193500) est caractérisé par une dystopie des canthi ;
- Le WS de type 2 (MIM#193510) ne comporte classiquement aucun signe surajouté ;
- Le WS de type 3 (MIM#148820) comporte une dystopie des canthi et parfois des anomalies des membres supérieurs (hypoplasies musculaires, contractures, camptodactylie) ;

- le WS4 (MIM#277580) est associé par une maladie de Hirshprung, à laquelle peuvent s'ajouter des atteintes neurologiques (neuropathie périphérique, retard de développement psychomoteur, déficience intellectuelle, ataxie cérébelleuse, spasticité) (136).

La surdité est neurosensorielle, le plus souvent bilatérale, pré-linguale et stable. La sévérité est variable. Les anomalies de l'oreille interne sont inconstantes et variées (hypoplasie ou agénésie des CSC, dilatation des aqueducs vestibulaires, dysplasie du vestibule ou de la cochlée...) (134).

Il existe une hétérogénéité allélique et génétique, comme le résume le tableau 2. Certains gènes, comme *PAX3* ou *SOX10*, sont impliqués dans plusieurs formes de WS, et les types 2 et 4 peuvent être dues à plusieurs gènes différents (134).

Notons également qu'un même type de WS peut se transmettre sur le mode AD ou AR en fonction du gène impliqué (136). Il existe une variabilité d'expression, intra- et inter-familiale, dans chacune des formes de WS. La pénétrance des différents signes du WS est incomplète.

Types de WS	Gènes	MIM#	Locus	Hérédité
I	<i>PAX3</i>	606597	2q36.1	AD
II	<i>MITF</i>	156845	3p13	AD
	<i>SNAI2</i>	602150	8q11.21	AR
	<i>SOX10</i>	602229	22q13.1	AD
III	<i>PAX3</i>	606597	2q36.1	AD, AR
IV	<i>EDNRB</i>	131244	13q22.3	AD, AR
	<i>EDN3</i>	131242	20q13.32	AD, AR
	<i>SOX10</i>	602229	22q13.1	AD

Tableau 2 : Ensemble des gènes impliqués dans les différentes formes de syndrome de Waardenburg et modes de transmission.

Les différents gènes du WS sont tous impliqués dans le développement des cellules des crêtes neurales et de la mise en place des structures qui en dérivent. *PAX3* code un facteur de transcription intervenant dans le maintien de la pluripotence des cellules

souches des crêtes neurales, leur prolifération et leur migration. *MITF* code le facteur de transcription principal des mélanocytes, une lignée cellulaire dérivant des crêtes neurales : il régule en effet de nombreux aspects du développement des mélanocytes (différenciation, survie cellulaire, prolifération) ainsi que l'expression de gènes spécifiques des mélanocytes. *SOX10* code également un facteur de transcription impliqué notamment dans le développement précoce des crêtes neurales et intervenant en synergie avec *MITF* dans la spécialisation des mélanocytes. *EDN3* code l'endothéline 3, le ligand principal du récepteur ETB, codé par *EDNRB*. Ces 2 protéines sont impliquées dans une voie de signalisation régulant la survie, la prolifération et la survie des mélanoblastes notamment. Les mélanocytes sont des cellules présentes dans la peau, au niveau irien, rétinien et dans la strie vasculaire de l'oreille interne.

#### d) *Le syndrome de Pendred*

Le syndrome de Pendred (MIM#274600) associe une surdité neurosensorielle, un goitre et une malformation caractéristique de l'oreille interne : la dilatation des aqueducs vestibulaires (Figure 35).

La surdité est constante, neuro-sensorielle, pré-linguale voire congénitale dans la majorité des cas, généralement profonde et bilatérale (137). La dilatation des aqueducs vestibulaires peut être associée à une hypoplasie cochléaire, définissant la malformation de Mondini.

Le goitre est inconstant, sa prévalence est estimée entre 50 et 83% des cas. Il peut être absent dans l'enfance et apparaître de manière progressive à l'adolescence. Il peut s'agir d'un goitre euthyroïdien ou associé à une hypothyroïdie (50% des cas). L'hypothyroïdie est de sévérité variable (de la forme infra-clinique à l'hypothyroïdie

congénitale). Des cas de thyroïdite auto-immunes ont été rapportés dans le cadre du syndrome de Pendred (137).

Le gène en cause est *SLC26A4* (MIM#605646, 7q22.3). Le mode de transmission est autosomique récessif. Il existe une hétérogénéité allélique pour le gène *SLC26A4*, qui est responsable également de la surdité isolée DFNB4 (MIM#600791), associant une surdité neurosensorielle et une dilatation des aqueducs vestibulaires mais sans atteinte thyroïdienne.

*SLC26A4* code la pendrine, un canal transmembranaire impliqué dans des échanges anioniques ( $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{I}^-$  ...). La pendrine est exprimée dans de nombreux tissus : l'oreille interne, la thyroïde, le rein, les voies respiratoires... Au sein de la cochlée, la pendrine participe à l'homéostasie de l'endolymphe via la sécrétion d'ions  $\text{HCO}_3^-$  notamment. Une inactivation de *SLC26A4* est responsable d'une acidification de l'endolymphe et de la perte du potentiel endolymphatique (11,137). Le rôle de la pendrine au niveau thyroïdien est encore mal compris mais elle est exprimée au pôle apical des thyrocytes et serait impliquée dans les mouvements d'ions iodure vers la lumière des follicules thyroïdiens (137).

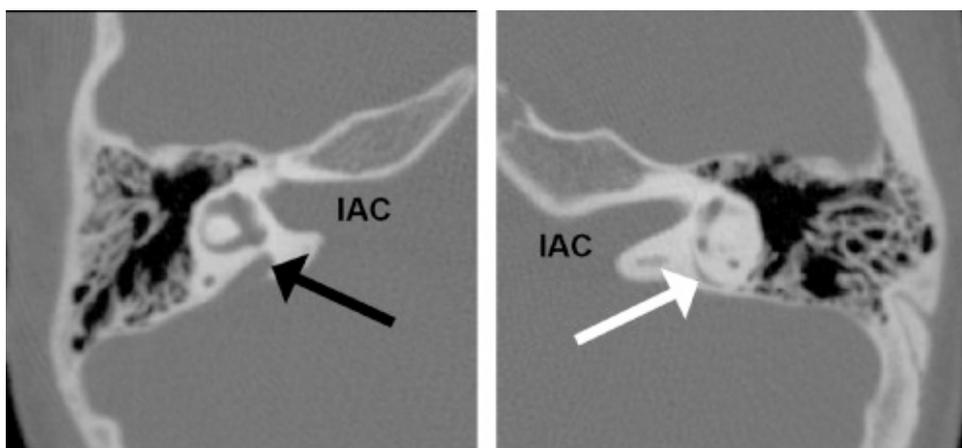


Figure 35 : A gauche : TDM des rochers montrant une dilatation de l'aqueduc vestibulaire (flèche noire). A droite : aqueduc vestibulaire normal (IAC : conduit auditif interne). D'après (137).

### e) Le syndrome d'Alport

Le syndrome d'Alport est une néphropathie glomérulaire héréditaire chronique progressive associée à une surdité neurosensorielle et des anomalies oculaires.

L'atteinte rénale principale, qui est la première à apparaître dans l'histoire de la maladie, est l'hématurie. Apparaît ensuite une protéinurie, et la néphropathie évolue jusqu'à l'insuffisance rénale chronique terminale (IRT), qui survient à un âge variable en fonction du mode de transmission (138).

La surdité du syndrome d'Alport est neuro-sensorielle, toujours post-linguale (survenant généralement à l'adolescence ou chez l'adulte jeune), débutant sur les fréquences aiguës, progressive, touchant secondairement les fréquences conversationnelles.

Les atteintes oculaires peuvent concerner la cornée (lenticône antérieur, dystrophie cornéenne polymorphe postérieure), le cristallin (cataracte postérieure sous-capsulaire) ou encore la rétine (tâches rétinienne) (138).

Le syndrome d'Alport est dû à une atteinte du collagène IV, qui est exprimé au niveau de la membrane basale glomérulaire, de l'œil et de la cochlée (138). Le collagène IV est une triple hélice composée de 3 chaînes de collagène IV différentes : le collagène IV- $\alpha$ 3 (codé par le gène *COL4A3*), le collagène IV- $\alpha$ 4 (codé par *COL4A4*) et le collagène IV- $\alpha$ 5 (codée par *COL4A5*). Il existe 3 formes de syndromes d'Alport, en fonction du mode de transmission (résumées dans le tableau 3).

Types	MIM#	Gènes	MIM#	Locus	Hérédité
Alport 1	301050	<i>COL4A5</i>	303630	Xq22.3	LX
Alport 2	203780	<i>COL4A3</i>	120070	2q36.3	AR
		<i>COL4A4</i>	120131	2q36.3	AR
Alport 3	104200	<i>COL4A3</i>	120070	2q36.3	AD
		<i>COL4A4</i>	120131	2q36.3	AD

Tableau 3 : Gènes et modes de transmission des 3 formes de syndrome d'Alport.

La forme la plus sévère est le syndrome d'Alport lié à l'X chez les hommes hémizygotés : l'hématurie et la protéinurie surviennent dans l'enfance et l'âge moyen de l'IRT est de 25 ans. Le syndrome d'Alport lié à l'X chez les femmes hétérozygotes est moins sévère : l'hématurie est quasi-constante, la protéinurie survient dans environ 75% des cas et l'âge moyen de l'IRT est de 65 ans. Dans le syndrome d'Alport AR, l'IRT est également précoce (avant 30 ans). La forme la moins sévère est la forme AD, avec une protéinurie survenant en moyenne à 17 ans et une IRT vers 70 ans (138,139).

Tous les types de variants sont possibles, dans chacune des formes. Il existe une corrélation génotype-phénotype dans la forme liée à l'X chez les hommes : les patients porteurs de variants tronquants présentent un phénotype plus sévère que les patients porteurs d'un variant faux-sens. En revanche, il n'y a pas de lien entre la position du variant sur le gène *COL4A5* et le phénotype. Il n'y a pas de corrélation génotype-phénotype établie pour les autres formes. Il est supposé que le phénotype modéré et l'absence de corrélation génotype-phénotype dans le syndrome d'Alport lié à l'X chez les femmes serait en partie lié au profil d'inactivation du chromosome X mais cela n'a pas été prouvé formellement (139).

#### *f) Le syndrome CHARGE*

Initialement, l'acronyme CHARGE désignait un tableau malformatif clinique associant :

- Un colobome (80%), pouvant concerner l'iris, la rétine, la choroïde et/ou la papille optique, mais également dans des cas plus sévères une micro-voire une anophtalmie ;
- Des cardiopathies (cardiopathies conotruncales, CAV, anomalies de l'arche aortique) (74%) ;

- Une atrésie des choanes uni- ou bilatérale, osseuse ou membraneuse (45%) ;
- Un retard de croissance, généralement post-natal ;
- Un retard de développement psycho-moteur (90%) et éventuellement une déficience intellectuelle (60%) ;
- Des anomalies génitales dans le cadre d'un hypogonadisme hypogonadotrope (50-70%) (micropénis, cryptorchidie, hypoplasie labiale, retard ou absence pubertaire)
- Des anomalies des oreilles :
  - o Une dysplasie des pavillons (Figure 36) ;
  - o Des anomalies ossiculaires responsables d'une surdité de transmission ;
  - o Des anomalies variables de l'oreille interne responsables d'une surdité de perception : hypo- ou aplasie des CSC (94%), malformation de Mondini (140,141).

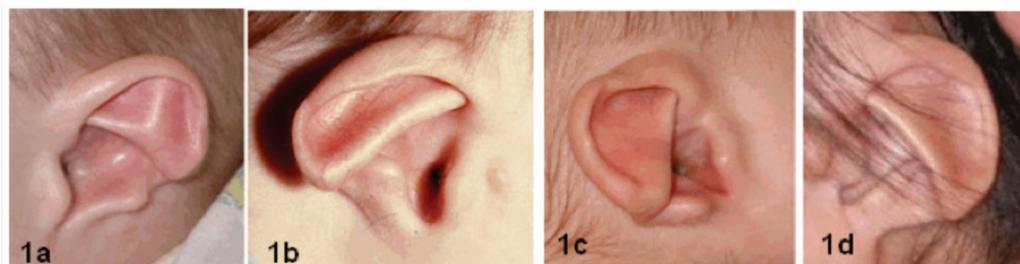


Figure 36 : Exemples de dysplasie des oreilles dans le syndrome CHARGE : dysplasie de l'hélix, anthélix proéminente perdant sa continuité avec l'antitragus, hypoplasie du lobe, d'après (142).

L'identification du gène *CHD7* (MIM#608892, 8q12.2) comme gène responsable de la majorité des formes de syndrome CHARGE a permis d'associer d'autres signes à ce syndrome : fente palatine et/ou labiale, anomalies de certains nerfs crâniens entraînant une anosmie (I), une paralysie faciale uni- ou bilatérale (VII), une neuropathie auditive et/ou des troubles de l'équilibre (VIII), des troubles de déglutition et d'alimentation (IX/X), fistule trachéo-œsophagienne. Des malformations

morphotypiques (visage carré, front haut, arête du nez large, columelle proéminente...) et des extrémités (mains courtes et larges, brachydactylie, polydactylie...) sont possibles (143,144).

Le syndrome CHARGE se transmet sur le mode AD. Le gène *CHD7* code la *chromodomain-helicase DNA-binding protein 7*, une protéine à activité ATP-dépendante impliquée dans le remodelage de la chromatine et le degré de compaction des nucléosomes. Les variants pathogènes de *CHD7* sont responsables d'une perte de fonction de la protéine (143,144).

#### g) *Le syndrome de Stickler*

Le syndrome de Stickler est une pathologie malformative associant des anomalies ophtalmologiques, des anomalies crâniofaciales, une surdité et des anomalies ostéo-articulaires.

Le syndrome de Stickler est hétérogène sur le plan génétique : il existe 5 formes différentes du syndrome en fonction du gène incriminé (Tableau 4). Le syndrome de Stickler de type 1 est de loin le plus fréquent (80-90% des cas). Les types 1 à 3 se transmettent sur le mode AD, alors que les types 4 et 5 suivent un mode d'hérédité AR.

Type	MIM#	Gène	MIM#	Locus	Hérédité
Stickler 1	108300	<i>COL2A1</i>	120140	12q13.11	AD
Stickler 2	604841	<i>COL11A1</i>	120280	1p21.1	AD
Stickler 3	184840	<i>COL11A2</i>	120280	6p21.32	AD
Stickler 4	614134	<i>COL9A1</i>	120210	6q13	AR
Stickler 5	614284	<i>COL9A2</i>	120260	1p34.2	AR

Tableau 4 : Gènes et modes de transmission des différentes formes de syndrome de Stickler.

L'atteinte ophtalmologique la plus fréquente est la myopie sévère, typiquement congénitale et qui peut être associée à un astigmatisme. Le second signe ophtalmologique évocateur de syndrome de Stickler est la dégénérescence vitrénne,

avec un aspect membraneux du vitré (particulièrement dans le type 1), qui expose à un risque important de décollement rétinien rhégmato-gène. Une cataracte congénitale et un glaucome sont également possibles dans le cadre du syndrome de Stickler. Le syndrome de Stickler de type 3 ne comprend pas d'atteinte ophtalmologique (145).

Les atteintes cranio-faciales sont caractérisées par une hypoplasie de l'étage moyen, un micro-rétrognathisme et parfois une fente palatine ou une luvette bifide. La fente palatine et le micro-rétrognathisme, lorsqu'ils sont associés à une glossoptose, définissent la séquence de Pierre-Robin. Les fentes palatines sont généralement absentes dans le syndrome de Stickler de type 4 et 5 (145).

La surdité est une manifestation fréquente du syndrome de Stickler. Elle est le plus souvent perceptionnelle, mais des cas de surdité mixte ou de transmission ont été rapportés. Le degré de sévérité est variable : souvent léger à modéré dans le syndrome de Stickler de type 1 et de type 5, et modéré à sévère dans les types 2 et 4. L'atteinte prédomine sur les fréquences aiguës dans le type 1. L'âge d'apparition est plus précoce dans les formes récessives que dans les formes dominantes (145).

Les manifestations squelettiques peuvent être des atteintes rachidiennes (scoliose, platyspondylie), une athrose précoce ou encore une hyperlaxité articulaire dans l'enfance et résolutive à l'âge adulte (145).

Les gènes impliqués dans le syndrome de Stickler codent des protéines impliquées dans la formation du collagène II, IX ou XI. Ces 3 formes de collagènes sont exprimées dans les tissus oculaires, de l'oreille interne, articulaire et squelettique et au sein des structures cranio-faciales. Seule la sous-unité  $\alpha 2$  du collagène 11 ne s'exprime pas au niveau de l'œil, expliquant l'absence d'atteinte oculaire dans le syndrome de Stickler de type 3 (appelé aussi dysplasie oto-spondylo-mégaéphysaire (OSMEDA) ou *Non-Ocular Stickler Syndrome*) (145).

#### *h) Autres syndromes avec surdité*

De nombreux autres syndromes génétiques comportent une surdité. Nous citerons brièvement les principaux.

Le syndrome de Perrault est caractérisé par une surdité neurosensorielle bilatérale touchant les 2 sexes, associée à une insuffisance ovarienne précoce chez les femmes. La surdité est variable (elle peut être modérée et post-linguale ou congénitale et profonde). Des cas de dysgénésie ovarienne sont également possibles (146). Les gènes impliqués sont *HSD17B4* (MIM#601860, 5q23.1), *HARS2* (MIM#600783, 5q31.3), *CLPP* (MIM#601119, 19p13.3), *LARS2* (MIM#604544, 3p21.31), *TWNK* (MIM#606075, 10q24.31) et *ERAL1* (MIM#607435, 17q11.2). Le mode de transmission est autosomique récessif dans tous les cas.

Le syndrome de Jervell-Lange-Nielsen associe une surdité neurosensorielle congénitale profonde et un allongement de l'intervalle QT, qui se manifeste cliniquement par des épisodes de syncopes déclenchées par le stress et l'émotion, et pouvant se compliquer de troubles du rythme ventriculaire (tachycardie ventriculaire, torsades de pointes, fibrillation ventriculaire) mettant en jeu le pronostic vital. Les gènes en cause sont *KCNQ1* (MIM#607542, 11p15.5) et *KCNE1* (MIM#176261, 21q22.12), qui codent les sous-unités d'un canal potassique exprimé dans le tissu cardiaque et la cochlée. Le mode de transmission est autosomique récessif.

Le syndrome de Treacher-Collins associe plusieurs anomalies cranio-faciales : hypoplasie malaire importante avec hypoplasie des arches zygomatiques, responsables d'une orientation en bas et en-dehors des fentes palpébrales, micro-rétrognathisme, colobome des paupières inférieures, dysplasie des pavillons d'oreille.

La surdité est transmissionnelle, due à des anomalies ossiculaires (hypoplasie, ankylose, agénésie) et/ou une hypoplasie de la caisse tympanique. Les structures de l'oreille interne sont le plus souvent normales (147). Il n'y a pas d'atteinte neuro-développementale dans ce syndrome. L'hérédité peut être autosomique dominante (gènes *TCOF1* (MIM#606847, 5q32), *POLR1C* (MIM#602000, 2q14.1) et *POLR1D* (MIM#613715, 13q12.2)) ou autosomique récessive (gènes *POLR1C* (MIM#610060) et *POLR1D*).

Le syndrome de Townes-Brocks (MIM#107480) est une pathologie malformative associant principalement une sténose ou une imperforation anale, des anomalies des pouces (pouces triphalangés, polydactylie préaxiale, hypoplasie des pouces) sans anomalie radiale et des pavillons d'oreille dysplasiques. La dysplasie des pavillons est associée à une surdité dans 65% des cas, il peut s'agir de surdité de transmission et/ou de perception de sévérité modérée à sévère. Les autres atteintes sont principalement des anomalies des membres inférieurs (pieds bots, syndactylie des orteils), des malformations rénales (42%), des anomalies génitales (hypospadias, scrotum bifide, cryptorchidie, agénésie vaginale, utérus bicorne) ou encore des cardiopathies congénitales (50%) (148). Le gène causal est *SALL1* (MIM#602218, 16q12.1) et l'hérédité est autosomique dominante.

La surdité peut également se voir au sein de syndromes dus à des anomalies chromosomiques. A titre d'exemple, des cas surdité de transmission ou de perception sont possibles dans le syndrome de Di George, dû à une micro-délétion 22q11.2, dont les principaux signes sont des cardiopathies congénitales (principalement conotruncales), une insuffisance vélo-pharyngée (et éventuellement une fente labiale et/ou palatine), des particularités morphotypiques évocatrices, un retard de développement psychomoteur et/ou des difficultés d'apprentissage, un déficit

immunitaire, une hypocalcémie secondaire à une hypoparathyroïdie (149). Les atteintes auditives sont également très fréquentes dans la trisomie 21. Il peut s'agir de surdité de transmission ou de perception. Les surdités de transmission peuvent être secondaires à une sténose du CAE (40-50% des patients) ou à des séquelles d'otites séreuses (60% des patients), qui sont la conséquence des anomalies anatomiques du massif facial des patients atteints de syndrome de Down (hypoplasie du nasopharynx, raccourcissement de la trompe d'Eustache, végétations ad no ides souvent obstructives). Les cas de surdité de perception sont secondaires à des malformations de l'oreille interne (hypoplasie cochléaire) ou à des sténoses du CAI (150).

#### 4. Les surdités mitochondriales

Certains gènes ou variants spécifiques de gènes du génome mitochondrial sont responsables de surdité neurosensorielle. Ces formes particulières de surdité peuvent être isolées ou s'inclure dans des formes syndromiques. Elles suivent le mode d'hérédité mitochondrial et la transmission à la descendance n'est possible que par les femmes. Nous citerons dans cette partie quelques étiologies de surdité mitochondriales.

Le gène *MT-RNR1* code un ARN ribosomal. La présence du variant m.1555A>G dans le gène *MT-RNR1* est responsable d'une surdité neurosensorielle isolée dont le profil varie d'une surdité post-linguale légère à modérée et progressive à une surdité congénitale profonde. En cas de sévérité légère à modérée, l'atteinte peut prédominer sur les fréquences aigües (151). Le variant m.1555A>G est également associée à une prédisposition à la surdité induite par les aminosides. Dans ce cas, la surdité est bilatérale, sévère à profonde, irréversible et non progressive. Elle survient quelques jours à quelques semaines après l'administration des aminoglycosides, qui provoque

une perte des cellules ciliées. Il n'y a pas de relation entre la dose et la survenue de la surdité.

Le gène *MT-TS1* code un ARN de transfert. Plusieurs variants pathogènes de ce gène sont responsables de surdité non syndromique neurosensorielle. Le variant 7445G>A est par exemple associé à une surdité survenant dans l'enfance, progressive, d'intensité modérée à sévère (151).

Le syndrome MELAS (*Mitochondrial Encephalopathy, Lactic Acidosis, Stroke-like episodes*) est une maladie multi-systémique incluant des épisodes d'acidose lactique, de nombreuses manifestations neurologiques (encéphalopathie épileptique, démence, épisodes de pseudo-AVC ischémiques, céphalées, perte de vision corticale, neuropathie périphérique, myopathie...) mais aussi endocriniennes, cardiaques, digestives, rénales, neuro-sensorielles (rétinite pigmentaire, atrophie optique, surdité neuro-sensorielle). La surdité est présente dans 75 à 90% des cas (152). Elle intervient souvent à un stade précoce de la maladie et est le plus souvent modérée mais progressive (152). Le variant le plus fréquemment en cause est m.3243A>G (152).

Le syndrome MERRF (*Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers*) est une pathologie multi-systémique à prédominance neurologique. Les premières manifestations sont des myoclonies, qui surviennent à un âge variable (enfance ou adulte). Le développement initial est normal. Surviennent ensuite une épilepsie généralisée, une ataxie, une faiblesse musculaire avec intolérance à l'effort, une démence. Les manifestations extra-neurologiques sont l'acidose lactique, la surdité neuro-sensorielle, une petite taille, une atrophie optique ou encore une cardiomyopathie. La surdité, de profil variable, est présente dans 90% des cas. (153). Plusieurs gènes

mitochondriaux peuvent être impliqués dans le syndrome MERRF mais il s'agit du gène *MT-TK* dans plus de 90% des cas (153).

## VI. Le diagnostic des surdités

### A. Méthodes d'exploration fonctionnelle des surdités :

#### 1. Examen clinique

L'examen clinique ORL permet d'orienter le diagnostic du type de surdité. Les épreuves de Weber et Rinne, effectuées grâce à un diapason, sont des tests subjectifs permettant de discriminer les surdités de transmission des surdités de perception.

L'épreuve de Weber consiste à faire vibrer le diapason au contact d'une structure médiane du crâne du patient (vertex, front...) (Figure 37) :

- Si le patient perçoit le son dans les deux oreilles le test de Weber est indifférent ;
- Si le patient perçoit le son dans une seule oreille, le test de Weber est dit latéralisé vers l'oreille où le son est perçu :
  - En cas de surdité de transmission, le test de Weber est latéralisé vers l'oreille pathologique ;
  - En cas de surdité de perception, le test de Weber est latéralisé vers l'oreille saine.

L'épreuve de Rinne teste chaque oreille séparément (contrairement à l'épreuve de Weber qui teste les 2 oreilles simultanément). Elle compare la conduction aérienne (CA) et la conduction osseuse (CO). Elle repose sur le fait que la CO ne dépend pas de la chaîne ossiculaire dans la transmission du son. La CA correspond au temps de perception de la vibration du diapason lorsque celui-ci est placé devant le pavillon de l'oreille. La CO correspond au temps de perception de la vibration du diapason lorsque celui-ci est placé sur la mastoïde. On commence par appliquer le diapason en vibration sur la mastoïde puis, lorsque le patient déclare ne plus percevoir le son (cet intervalle

détermine la CO), on place le diapason devant le pavillon et on calcule le Rinne acoumétrique (CA – CO) :

- Dans le cas normal, le patient doit percevoir le son en CA, le Rinne acoumétrique est dit positif ( $CA - CO > 0$ ) ;
- En cas de surdité de transmission, le patient ne perçoit plus le son car sa CA est altérée, on parle donc de Rinne acoumétrique négatif ( $CA - CO < 0$ ) ;
- En cas de surdité de perception, la CO est altérée, la CA sera également inférieure à la normale mais la chaîne ossiculaire apportera tout de même une amplification du son, le Rinne acoumétrique sera donc positif.

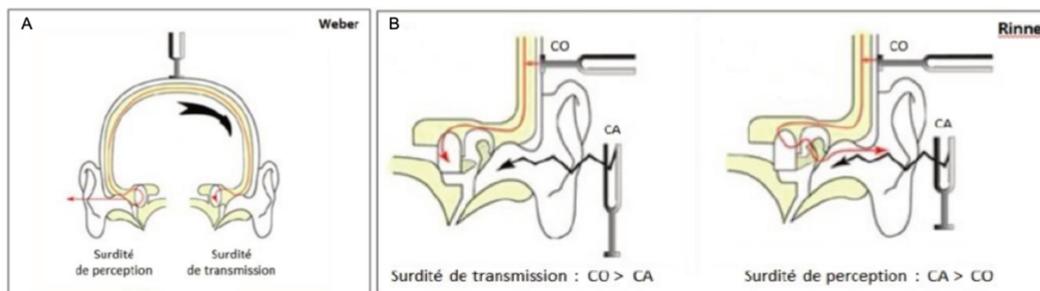


Figure 37 : Principes des épreuves acoumétriques de Weber (A) et de Rinne (B).

L'interprétation des épreuves de Rinne et Weber est résumée dans le Tableau 5.

	Audition normale	Surdité de transmission	Surdité de perception
Epreuve de Weber	Pas de latéralisation	Latéralisation du côté pathologique	Latéralisation du côté sain
Epreuve de Rinne	Rinne positif	Rinne nul ou négatif	Rinne positif

Tableau 5 : Sémiologie de l'acoumétrie au diapason.

Ces 2 épreuves présentent des limites : l'épreuve de Weber ne permet pas d'étudier les surdités bilatérales et l'épreuve de Rinne sera limitée pour le diagnostic des surdités de perception. Les tests d'audiométrie sont donc des examens complémentaires indispensables à la caractérisation de la surdité.

## 2. Audiométrie tonale

L'audiométrie tonale est un test subjectif permettant d'une part un diagnostic plus précis du type de surdité que l'examen clinique avec diapason et d'autre part une détermination de la sévérité de la surdité. Elle consiste en la stimulation successive de chaque oreille par des sons purs de fréquence et d'intensité variées afin de déterminer le seuil subjectif d'audition liminaire par voie aérienne (au casque) et par voie osseuse (vibreur mastoïdien) :

- En cas d'audition normale, les courbes de CA et de CO sont superposées (le Rinne audiométrique est dit positif) et les seuils se situent entre 0 et 20 dB ;
- En cas de surdité de transmission, la courbe de CA est abaissée par rapport à la courbe de CO (le Rinne audiométrique est dit négatif) ;
- En cas de surdité de perception, les courbes de CA et de CO sont superposées (Rinne audiométrique positif) mais les deux courbes sont abaissées en fonction de la sévérité de la surdité (Figure 38) ;
- En cas de surdité mixte, les deux courbes sont abaissées mais ne sont pas superposées, la courbe de CA sera plus basse que la courbe de CO, reflétant la composante transmissionnelle de la surdité s'ajoutant à la composante perceptionnelle (Figure 38).

Les différentes fréquences testées sont : 250 Hz, 500 Hz, 1000 Hz, 2000 Hz, 4000 Hz, 8000 Hz. L'audiométrie tonale permet également de mettre en évidence les surdités prédominant sur les fréquences graves (courbes ascendantes), les surdités prédominant sur les fréquences moyennes (courbes « en cupule » ou « en U ») et les surdités prédominant sur les fréquences aiguës (courbes descendantes).

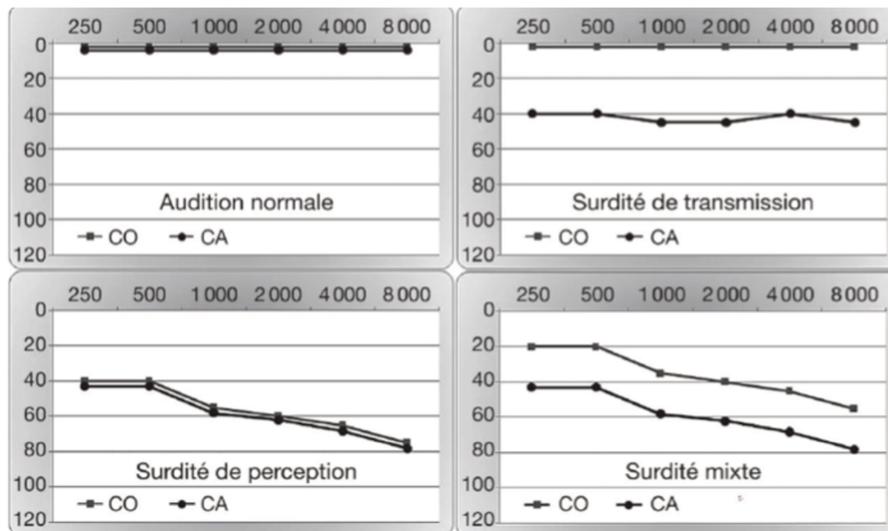


Figure 38 : Exemples d'audiogrammes. En haut à gauche : audiogramme normal ; en haut à droite : audiogramme d'une surdité de transmission ; en bas à gauche : surdité de perception prédominant sur les fréquences aiguës ; en bas à droite : surdité mixte prédominant sur les fréquences aiguës. D'après (154).

### 3. Audiométrie vocale

L'audiométrie vocale est un complément de l'audiométrie tonale qui consiste en la stimulation de l'oreille par des sons signifiants et non plus des sons purs. La réponse ne sera donc pas binaire mais un pourcentage de reconnaissance d'une liste de sons signifiants en fonction de l'intensité de la stimulation (Figure 39). On teste ainsi les capacités de compréhension du message sonore par le patient. Les deux oreilles peuvent être testées de manière séquentielle (au casque) ou de manière simultanée, en champ libre. Il est également possible d'ajouter des bruits perturbants. Les sons signifiants utilisés sont le plus souvent des listes spéciales de sons bi-syllabiques, mais parfois des sons mono-syllabiques, voire des phrases. Des sons non-signifiants (logatomes) peuvent être également utilisés.

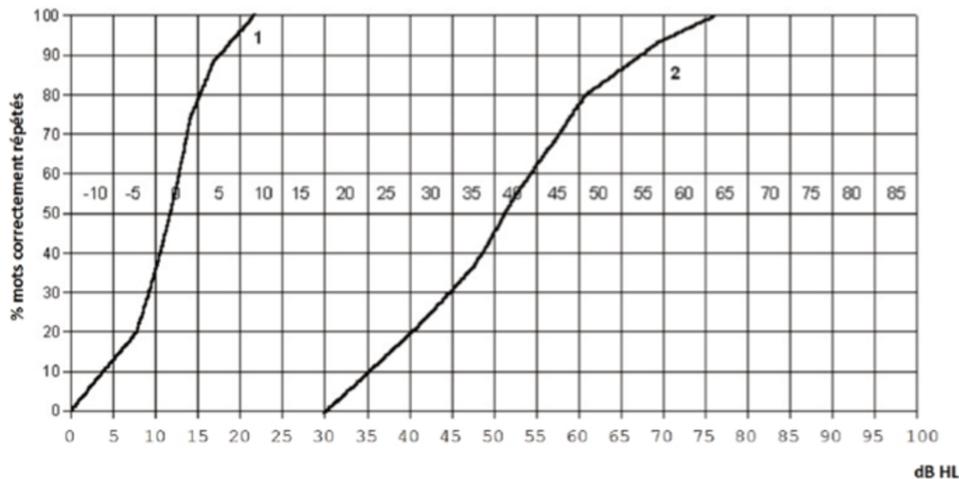


Figure 39 : Exemple de diagramme d'audiométrie vocale. Le pourcentage de sons correctement répétés est évalué à différentes intensités sonores. Le seuil d'audition correspond au niveau d'intensité pour lequel 50% des sons sont correctement répétés. La courbe 1 correspond à une audition normale. La courbe 2 correspond à une surdité moyenne (40 dB). D'après (154).

#### 4. Potentiels évoqués auditifs précoces du tronc cérébral

Le principe de cet examen est d'enregistrer les potentiels neurogènes naissant au niveau cochléaire et r trochl aire (nerf cochléaire, tronc cérébral) en réponse à une stimulation sonore.

Les stimulations sonores sont des « clics » brefs, d'une fréquence de 4000 Hz et dont l'intensité varie. Les signaux électriques générés par les voies nerveuses auditives sont captés par des électrodes cutanées. Chaque oreille est testée séparément. L'activité de l'oreille contro-latérale est masquée par un bruit blanc. Le signal détecté permet de mettre en évidence des ondes qui correspondent à l'activité des différentes structures des voies nerveuses auditives (Figure 40). Les PEA précoces (captés dans un délai de 10 ms après le stimulus) permettent de mettre en évidence les ondes suivantes :

- Onde I : activité cochléaire en amont du nerf cochléaire ;
- Onde II : activité des noyaux cochléaires ;
- Onde III : activité du complexe olivaire supérieur ;

- Onde IV : activité du lemnisque latéral ;
- Onde V : activité du *colliculus* inférieur.

L'étude des latences entre ces ondes permet de localiser la structure dysfonctionnelle.

Les avantages de cet examen sont :

- Son caractère non invasif : l'enregistrement utilise des électrodes cutanées ;
- Son objectivité : il permet de déterminer le seuil auditif du patient avec une précision de 10-15 dB sans nécessité de participation du patient ;
- La possibilité de localisation topographique de l'atteinte auditive, en fonction des délais des différents pics.

Les PEA présentent néanmoins certaines limites :

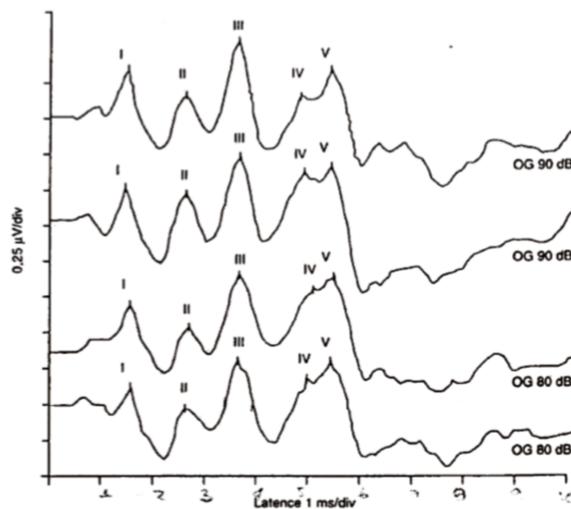


Figure 40 : Exemple de tracé de PEA précoces du tronc cérébral normaux, d'après (154).

- Ils ne permettent pas d'explorer le champ auditif fréquence par fréquence ;
- Ils ne permettent pas d'explorer les fréquences graves ;
- Une surdité très profonde peut gêner l'interprétation des latences des pics pour le diagnostic topographique.

Il existe une méthode de PEA automatisés (PEAA), de déroulement rapide, permettant le dépistage de la surdité chez le nouveau-né en maternité.

#### 5. Oto-émissions acoustiques

Les oto-émissions acoustiques (OEA) correspondent au son produit par les CCE, lorsqu'elles se contractent en réponse à un stimulus sonore, et dirigé vers le CAE. Elles peuvent être spontanées ou provoquées (OEAP).

Les OEAP consistent à émettre un son bref (« clic ») dans une oreille et à enregistrer les OEA produites par les CCE en réponse à ce son (Figure 41). Chaque oreille est testée séparément. Il s'agit d'un moyen rapide, fiable et non invasif permettant de tester l'intégrité du système auditif périphérique. En effet, une anomalie de la membrane tympanique ou de la chaîne ossiculaire empêchera l'enregistrement des OEAP. De même, les CCE étant les premières à être altérées en cas d'atteinte cochléaire, une abolition des OEAP permettra de dépister une éventuelle atteinte cochléaire, même peu sévère. Des OEAP présentes signent donc l'intégrité du système auditif périphérique (ou une perte <30 dB).

Ce test est très utilisé dans le dépistage de la surdité en période néonatale. Chez l'adulte, il permet le dépistage d'une atteinte cochléaire infra-clinique (traitement ototoxique, traumatisme sonore, suivi des expositions professionnelles aux bruits...).

Les OEAP présentent certaines limites :

- Des OEAP absentes ne permettent pas de localiser précisément le siège de l'atteinte, des examens complémentaires sont nécessaires ;
- Elles ne permettent pas de déterminer la sévérité de la surdité ;
- Elles ne permettent pas d'explorer le système auditif rétro-cochléaire ;
- Des OEAP normales à la naissance n'éliminent pas une éventuelle surdité ultérieure.

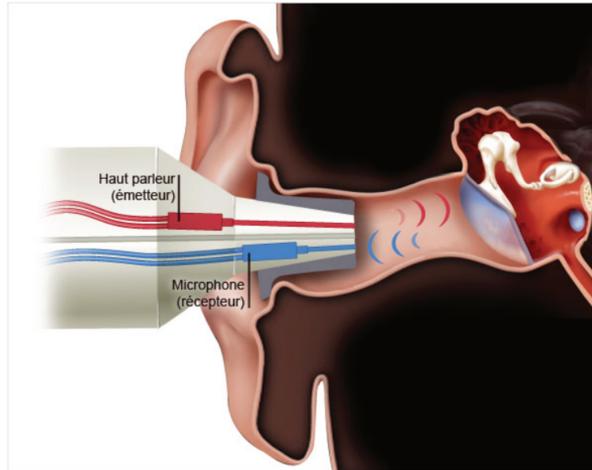


Figure 41 : Principe des oto-émissions acoustiques provoquées. Un haut-parleur émet un son dans le CAE qui est transmis jusqu'à la cochlée via la chaîne tympano-ossiculaire. La contraction des CCE stimulées par ce son engendre à son tour un signal sonore qui se propage de manière rétrograde et est capté par un microphone.

## B. Le dépistage de la surdité

Lorsqu'elles ne sont pas prises en charge de manière adaptée et suffisamment précocement, les surdités pré-linguales ont un retentissement sur le développement de l'enfant plus sévère que les surdités post-linguales. La surdité pré-linguale sans prise en charge adaptée a un impact sur le développement du langage de l'enfant. En outre, plusieurs études ont montré que la présence d'une surdité pré-linguale pouvait avoir un impact sur d'autres aspects du développement de l'enfant : l'articulation phonatoire, certaines capacités cognitives telles que la mémoire de travail et les fonctions exécutives (155–157), l'éducation à long terme, la survenue de certains troubles du comportement (158,159) ou encore la qualité de vie (160).

### 1. Le dépistage néonatal de la surdité

De nombreux pays développés ont instauré le dépistage systématique de la surdité en période néonatale. Aux Etats-Unis, un dépistage de surdité au cours des trois premiers mois de vie est recommandé par le *National Institute of Health* depuis 1993 (36). Il a été montré que ces programmes de dépistage systématique de la surdité en période

néonatale ont permis de diminuer significativement l'âge au diagnostic des surdités pré-linguales. Ce facteur, combiné à l'amélioration des techniques de prise en charge, des avancées des connaissances en génétique et de la meilleure compréhension des interactions entre l'audition et le développement cognitif de l'enfant ont permis une meilleure prise en charge des enfants atteints de surdité (36).

En France, jusqu'en 2012, le dépistage était recommandé uniquement pour les nouveau-nés présentant des facteurs de risque de surdité (35). Au début des années 2000, plusieurs programmes de dépistage généralisé de la surdité chez les nouveau-nés ont été mis en place au niveau départemental ou régional (161–163). En 2005, un programme de dépistage néonatal de la surdité a été mandaté par la Caisse Nationale d'Assurance Maladie dans 6 villes de France visant à évaluer la faisabilité d'un dépistage systématique généralisé à l'ensemble du territoire français et à déterminer la stratégie de dépistage à mettre en œuvre (35,164). En 2007, la HAS recommandait la mise en œuvre progressive d'un dépistage néonatal de la surdité au niveau national. En 2010, selon l'Enquête Nationale Périnatale, le dépistage néonatal de la surdité était pratiqué de manière systématique dans 51% des maternités françaises, de manière ciblée dans 12% des maternités et n'était pas du tout effectué dans 37% des maternités (165). Un arrêté ministériel était publié au Journal Officiel le 23 avril 2012, mis à jour le 3 novembre 2014, instituant en France le dépistage néonatal généralisé de la surdité (166).

En pratique, ce dépistage est effectué avant la sortie de la maternité, au plus tôt après la 24<sup>ème</sup> heure de vie de l'enfant, par OEAP ou PEAA, de manière bilatérale. Les nouveau-nés hospitalisés dans un service de néonatalogie sont dépistés par PEAA en raison du risque plus élevé de surdité rétro-cochléaire. En cas de dépistage non contributif, un 2<sup>ème</sup> test est effectué avant la sortie de la maternité par OEAP ou PEAA.

Si le 2<sup>ème</sup> test est non contributif, une consultation spécialisée d'ORL pédiatrique doit être réalisée afin de réaliser un test diagnostique objectif de l'audition par PEA avant l'âge de 3 mois (36).

## 2. Le dépistage de la surdité au cours de l'enfance

La HAS recommande aux médecins amenés à voir des enfants en consultation (médecins généralistes, pédiatres, médecins de PMI, médecins scolaires) une évaluation itérative de l'audition des enfants au cours de l'enfance : à l'âge de 4 mois, à 9 mois, à 2 ans et à 4 ans (167). En plus d'un interrogatoire systématique des parents portant sur la présence de facteurs de risque de surdité, les interactions et la communication avec l'enfant, les modalités de dépistage recommandées sont les suivantes :

- à 4 mois : recherche d'une modification du comportement de l'enfant en réaction à des sons émis hors du champ visuel de l'enfant (stimulation vocale, acoumétrie aux objets sonores) ;
- à 9 mois : recherche d'un réflexe d'orientation-investigation en réaction à des sons émis hors du champ visuel de l'enfant (stimulation vocale, acoumétrie aux jouets sonores de Moatti ou objets sonores) ;
- à 2 ans : évaluation du langage, évaluation de la réaction à la voix chuchotée, acoumétrie aux jouets sonores ou aux objets sonores ;
- à 4 ans : évaluation du langage, audiométrie vocale à la voix (normale et chuchotée), audiométrie tonale au casque.

### **C. Place de la génétique dans le diagnostic des surdités**

#### 1. Démarche diagnostique des surdités en génétique clinique

Une surdité d'origine génétique peut être évoquée dans plusieurs situations :

- Lorsqu'il existe des signes malformatifs associés orientant vers une cause syndromique ;
- Lorsqu'il existe des antécédents familiaux de surdité de cause non expliquée ;
- Lorsque les principales causes extrinsèques de surdité ont été éliminées.

En présence d'une de ces situations, une consultation avec un généticien clinicien peut être demandée afin d'orienter le diagnostic étiologique. L'interrogatoire permettra de préciser les antécédents familiaux de surdité ou d'autres atteintes compatibles avec une surdité syndromique (rénale, ophtalmologique, cardiaque, thyroïdienne...), de rechercher des signes évocateurs de certains syndromes (épisodes d'hématurie (syndrome d'Alport), troubles de la vision nocturne (syndrome d'Usher), retard à l'acquisition de la marche (syndrome d'Usher de type 1)). L'examen clinique permettra de rechercher : des signes branchiaux (syndrome BOR), des anomalies de la pigmentation irienne et des phanères (syndrome de Waardenburg), un goitre (syndrome de Pendred)... Des examens complémentaires sont généralement effectués en amont de l'analyse moléculaire, afin de ne pas méconnaître une surdité syndromique d'allure isolée. On effectue notamment : une BU (recherche d'hématurie et/ou protéinurie (syndrome d'Alport)), une échographie rénale (syndrome BOR), un bilan ophtalmologique avec examen du fond d'œil (syndrome d'Usher), un ECG (syndrome de Jervell-Lange-Nielsen). L'imagerie des oreilles (TDM des rochers et/ou IRM des oreilles) permet de rechercher des malformations de l'oreille moyenne et/ou interne, voire des anomalies des nerfs auditifs.

La consultation de génétique et les examens complémentaires qui en découlent permettent d'émettre des hypothèses étiologiques et d'orienter le biologiste dans son interprétation.

## 2. Démarche diagnostique en biologie moléculaire

En fonction de la présentation clinique du patient, le généticien clinicien (ou un autre spécialiste habilité à prescrire des analyses génétiques) peut prescrire différentes analyses génétiques. Au CHU de Lille, la démarche adoptée pour les dossiers que nous avons étudiés est résumée dans la figure 42.

L'interprétation du panel de gènes par le biologiste se fait toujours en fonction des données cliniques fournies par le clinicien. Les variants identifiés sont classés en fonction de critères de pathogénicité tels que :

- Le type de variant (faux-sens, non-sens, affectant un site d'épissage, délétion, insertion...) et ses conséquences au niveau protéique (substitution d'un acide aminé, apparition d'un codon stop, modification de l'épissage, décalage du cadre de lecture...);
- La fréquence du variant dans les bases de données de patients et en population générale ;
- La concordance avec le phénotype ;
- La ségrégation du variant avec la pathologie chez des apparentés atteints, le résultat des analyses parentales ;
- Les données de la littérature médicale (variant décrit comme responsable de la pathologie, études *in vivo* et/ou *in vitro*) ;
- Les données de logiciels d'interprétation *in silico*.

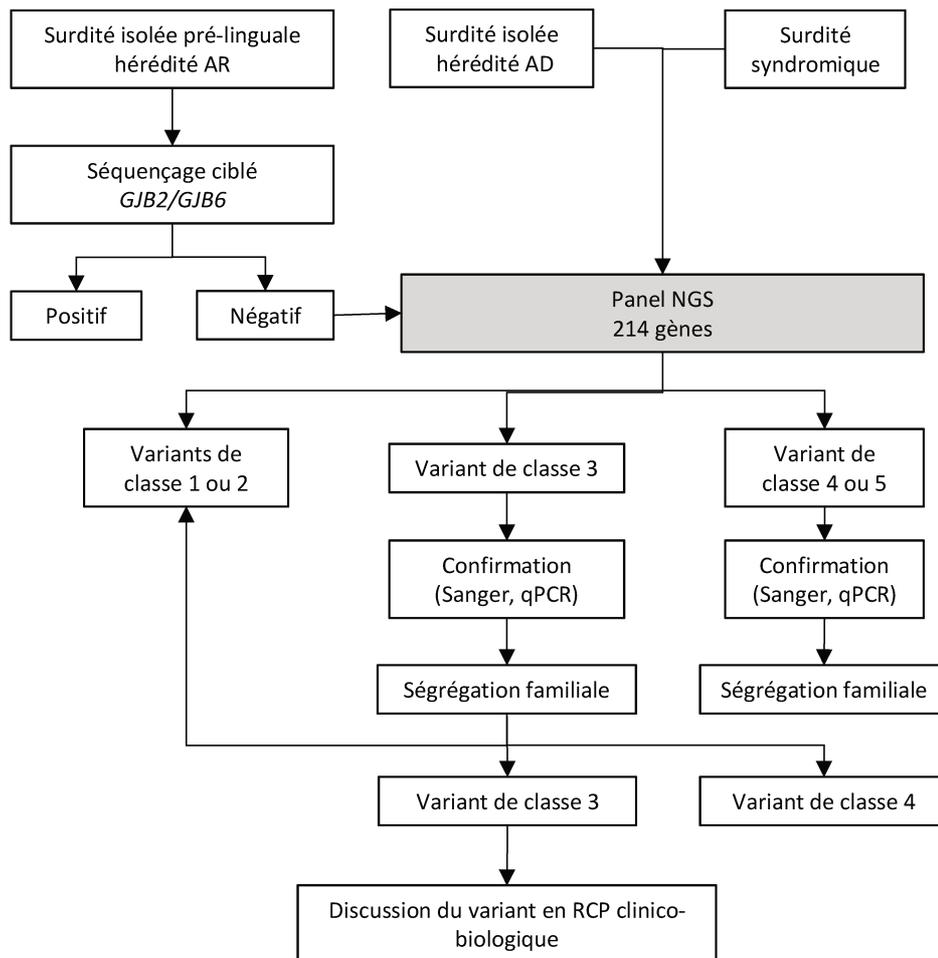


Figure 42 : Schéma représentant la démarche des analyses en biologie moléculaire pour le diagnostic des surdités d'origine génétique.

L'ensemble de ces arguments constitue la classification ACMG, qui émane des recommandations de l'*American College of Medical Genetics et Genomics*  tablies en 2015 pour l'interprétation des variants identifiés en biologie moléculaire (168).

La classification ACMG permet de classer les variants en 5 catégories :

- Classe 1 : variant bénin ;
- Classe 2 : variant probablement bénin ;
- Classe 3 : variant de signification inconnue ou indéterminée (VSI) ;
- Classe 4 : variant probablement pathogène ;
- Classe 5 : variant pathogène.

Les variants identifiés en séquençage à haut débit (NGS) sont confirmés par une autre méthode (séquençage Sanger, qPCR) et recherchés chez les apparentés concernés par la pathologie ou pour le conseil génétique (étude de la ségrégation familiale des variants). En ce qui concerne les variants de signification inconnue (VSI), l'étude de la ségrégation familiale peut aider à les reclasser en variant de classe 2 ou de classe 4, selon l'absence ou la présence d'une ségrégation. Ils peuvent être également discutés en réunion de concertation pluri-disciplinaire avec les cliniciens.

L'organisation des analyses moléculaires centrée autour du panel NGS de notre laboratoire sera susceptible de se modifier dans un avenir plus ou moins proche. En effet, l'accès de plus en plus facile au séquençage de l'exome (*Whole Exome Sequencing* ou WES) et du génome (*Whole Genome Sequencing* ou WGS) et le développement des plate-formes nationales et centralisées du plan France Médecine Génomique vont sans doute amener les laboratoires de biologie moléculaire à modifier, au cours des prochaines années, leur organisation et les cliniciens à modifier leurs pratiques de prescription.

### 3. Evolution de la biologie moléculaire dans le diagnostic des surdités héréditaires

Les méthodes diagnostiques en génétique ont connu d'énormes avancées depuis deux décennies. Le séquençage du génome humain au début du XXI<sup>ème</sup> siècle a donné une impulsion énorme au développement de la génétique moléculaire (169,170). L'apparition de l'analyse chromosomique par puce à ADN au milieu des années 2000 a révolutionné la cytogénétique et permis de mettre en évidence des microremaniements chromosomiques de quelques milliers de paires de bases, permettant d'augmenter le taux diagnostique des pathologies malformatives, des anomalies du développement et des cas de déficience intellectuelle. Le séquençage

à haut débit (*Next Generation Sequencing* ou NGS), qui s'est développé au début des années 2010 a permis le même essor dans le domaine de la biologie moléculaire. Contrairement à la méthode de séquençage classique Sanger, il est désormais possible de séquencer en même temps un nombre important de gènes différents ou de régions différentes du génome, et de réaliser ce séquençage chez plusieurs patients simultanément. Cette avancée a permis le développement du séquençage de panels de gènes. Avec l'augmentation des capacités des robots de séquençage, des logiciels de traitement des données bio-informatiques et des serveurs de stockage de ces données, le séquençage de l'exome (*Whole Exome Sequencing* ou WES) puis de l'ensemble du génome (*Whole Genome Sequencing* ou WGS) est devenu possible en pratique diagnostique en quelques années.

Le développement des capacités diagnostiques en génétique a permis la découverte de nombreux gènes et leur rattachement à des pathologies héréditaires. Ces avancées ont touché tous les domaines des maladies rares, y compris celui des surdités héréditaires.

Initialement, l'identification des gènes causaux des surdités héréditaires reposait sur des stratégies d'analyses de liaisons. En analysant les haplotypes des membres de grandes familles de patients, il était possible de cartographier de plus en plus finement les loci responsables de la pathologie (171). Des analyses par séquençage ciblé pouvaient éventuellement permettre l'identification d'un gène causal. Un certain nombre de gènes impliqués dans les surdités génétiques ont pu être identifiés suivant cette stratégie (5).

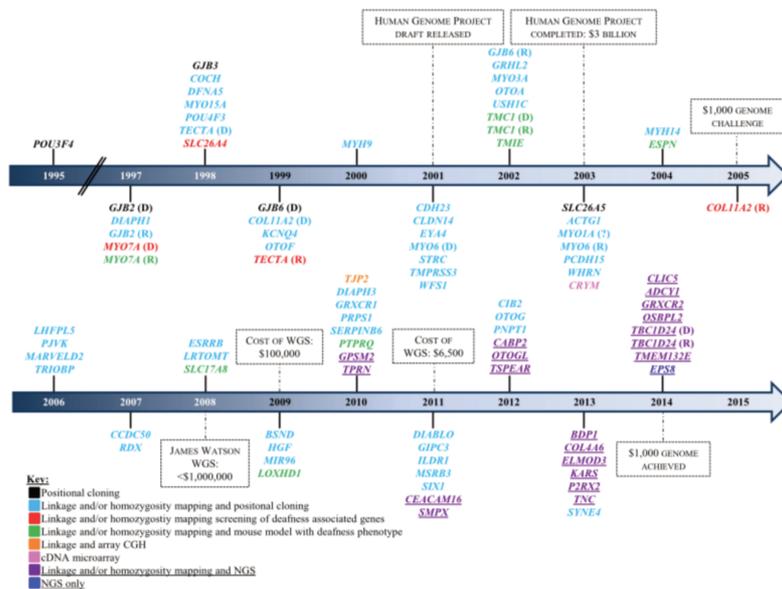


Figure 43 : Classification des principaux gènes impliqués dans les surdités génétiques non syndromiques en fonction de la date d'identification et de la méthode utilisée, d'après (171).

L'avènement du NGS a permis une accélération massive de ce processus. Ainsi, un nombre de plus en plus important de patients a pu avoir accès au séquençage d'un nombre élevé de gènes. Cela a permis d'une part de constituer des cohortes de grande taille et donc d'augmenter la puissance des études. D'autre part, un nombre important de gènes ont été séquencés chez ces patients, permettant l'identification de variants pathogènes dans des gènes qui n'auraient pas été révélés par les méthodes de séquençage ciblé. Enfin, le NGS permet l'étude et l'identification de variants pathogènes chez des cas sporadiques, alors que l'identification d'un locus puis d'un gène causal par analyse de liaison ne peut se faire que dans de larges familles avec plusieurs cas de surdité (171).

#### 4. Enjeux du diagnostic des surdités d'origine génétique

L'identification du diagnostic étiologique d'une surdité génétique a un impact à plusieurs niveaux pour les patients.

L'identification de la cause d'une pathologie est tout d'abord capitale pour de nombreux patients, indépendamment des impacts thérapeutiques. Il permet en effet

de mettre fin à une errance diagnostique qui peut durer des années et être particulièrement difficile à supporter psychologiquement. Le diagnostic génétique modifie de manière importante la perception et le vécu de la pathologie.

D'autre part, le diagnostic génétique permet de différencier les surdités isolées des surdités syndromiques et ainsi de mieux adapter le suivi des patients. En cas de cause syndromique, il est généralement possible de la prendre en charge voir de prévenir les atteintes associées. Il est également possible d'évaluer le pronostic de ces atteintes associées et de la surdité elle-même, et donc d'optimiser le suivi des patients.

Le diagnostic moléculaire permet d'effectuer un conseil génétique fiable pour les patients, en évaluant le risque de récurrence pour une grossesse à venir d'un couple ayant un enfant atteint, le risque de transmission à la descendance d'un patient atteint et en déterminant quels sont les éventuels apparentés à informer et dépister.

Enfin, les impacts thérapeutiques sont de plus en plus importants dans le domaine des surdités génétiques. Concernant les moyens actuels, il a été mis en évidence que certaines étiologies génétiques répondaient mieux à l'implantation cochléaire que d'autres par exemple (124). Le diagnostic moléculaire joue dans ce cas un rôle pronostique. Enfin, il existe des protocoles de recherche concernant des thérapies géniques sur des modèles animaux pour plusieurs étiologies de surdité génétique. Le diagnostic moléculaire pourra avoir un impact direct sur la prise en charge thérapeutique dans un avenir plus ou moins proche.

## VII.Contexte

Le CHU de Lille pratique depuis de nombreuses années le diagnostic moléculaire des surdités d'origine génétique. Les méthodes utilisées se sont adaptées aux technologies disponibles et aux connaissances de la littérature médicale.

Avant 2014, le diagnostic des surdités d'origine génétique reposait sur le séquençage ciblé des gènes suivants : *GJB2*, *GJB6*, *SLC26A4*, *OTOF* et *COCH*, qui représentaient les gènes connus les plus fréquemment impliqués dans les surdités héréditaires.

La technologie NGS a permis la mise en place de l'analyse d'un panel de gènes impliqués dans les surdités d'origine génétique en 2014. La première version du panel comprenait 123 gènes. Par la suite, ce panel s'est développé en fonction de l'évolution des connaissances. Ainsi, la seconde version du panel, mise en place en 2015, comprenait 146 gènes, la troisième, mise en place en 2017, comprenait 170 gènes et la quatrième, mise en place en 2020, en comprend 214.

Depuis la mise en place du panel en 2014, plus de 1800 patients ont bénéficié du séquençage de notre panel de gènes par méthode NGS. A ces patients s'ajoutent ceux pour lesquels seul un séquençage ciblé des gènes *GJB2* et *GJB6* a été effectué. Les résultats des plus grandes cohortes de la littérature médicale rapportent un taux diagnostique entre 33.5% et 50% (31,33,34,172). Les données de ces cohortes précisent les caractéristiques moléculaires et les diagnostics identifiés. Dans les articles décrivant des cohortes de taille modeste et centrées sur une étiologie de surdité en particulier, les phénotypes des patients sont souvent détaillés. En revanche, la description phénotypique des patients au sein de cohortes hétérogènes de grande taille est généralement limitée.

Notre objectif dans ce travail était donc d'effectuer un bilan rétrospectif de l'activité du laboratoire sur une période donnée, d'effectuer une description phénotypique détaillée des patients ayant bénéficié d'une analyse NGS de notre panel de gènes impliqués dans les surdités et de comparer les données phénotypiques obtenues aux résultats moléculaires.

# Matériel et Méthodes

## I.Objectifs de l'étude

L'objectif principal de ce travail était d'effectuer une étude descriptive rétrospective des patients ayant bénéficié de l'analyse NGS du panel de gènes impliqués dans les surdités au laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Lille, entre janvier 2018 et juin 2020.

Nous avons souhaité décrire :

- Le phénotype des patients bénéficiant de l'analyse moléculaire aussi précisément que possible ;
- Les résultats de notre panel de gènes de manière globale ;
- Les résultats du panel de gènes en fonction du type de tableau et des signes cliniques des patients.

L'objectif secondaire de ce travail était d'identifier des paramètres cliniques associés à une augmentation du taux diagnostique des analyses moléculaires, permettant ainsi de guider le généticien clinicien dans sa démarche étiologique.

## II.Patients

### A. Recrutement des patients

Les patients de notre cohorte ont été sélectionnés à partir des patients ayant bénéficié de l'analyse du panel de gènes impliqués dans les surdités d'origine génétique (que nous nommerons panel NGS-surdités dans la suite de travail) réalisée au Centre de Biologie-Pathologie-Génétique du CHU de Lille.

Les critères d'inclusion étaient :

- Une prescription d'analyse du panel NGS-surdités pour suspicion d'une pathologie liée à un gène du panel ;
- Un statut de cas index ;
- Une analyse moléculaire de la version 3 ou de la version 4 du panel NGS-surdités ;
- Une date d'analyse du dossier comprise entre le 01/01/2018 et le 30/06/2020.

Les critères d'exclusion étaient :

- Une demande d'analyse chez un patient pour une indication autre que la suspicion d'une pathologie liée à un gène du panel NGS-surdités (en pratique, recherche d'hétérozygotie chez un conjoint sain dans le cadre d'un conseil génétique pré-conceptionnel) ;
- Un statut d'apparenté (symptomatique ou non) ;
- Une analyse antérieure au 01/01/2018 ou postérieure au 30/06/2020 ;
- Une analyse par les versions 1 ou 2 du panel NGS-surdités ;
- Une absence totale d'informations cliniques après recueil ;
- Un diagnostic de surdité héréditaire liée aux gènes *GJB2* ou *GJB6* par séquençage ciblé (pas d'analyse NGS effectuée) ;
- Un séquençage ciblé des gènes *GJB2* et *GJB6* négatif mais sans analyse NGS ultérieure.

## **B. Recueil des données cliniques**

Nous avons procédé à un recueil rétrospectif détaillé des données cliniques, selon différentes modalités en fonction de la provenance des patients :

- Consultation du dossier médical papier et informatisé pour les patients issus de la région Nord-Pas-de-Calais et dont la prescription était faite par un généticien

(CHU de Lille, CH d'Arras, CH de Lens, Groupe Hospitalier de l'Institut Catholique de Lille) ;

- Consultation du dossier informatisé pour les patients du CHU de Lille dont la prescription était faite par un médecin non-généraliste (ORL, ophtalmologiste ou autres spécialités) ;
- Consultation sur place du dossier médical papier et informatisé pour les dossiers provenant du CHU de Toulouse et du CHU de Caen ;
- Demande d'informations cliniques à chaque prescripteur via une fiche de renseignements détaillée (Annexe 1) pour les dossiers provenant des autres centres extérieurs.

Nous avons systématiquement comparé les données que nous avons recueillies avec les données disponibles au laboratoire et qui avaient été fournies par le clinicien lors de la demande d'analyses (fiche de renseignements cliniques demandée par le laboratoire pour toute prescription d'analyse du panel NGS-surdités (Annexe 2), éventuellement associée à un compte-rendu du clinicien prescripteur).

Pour certains dossiers, nous n'avons pas eu de retour des prescripteurs ou bien les dossiers médicaux des patients n'étaient pas disponibles. Dans ce cas, nous avons utilisé les informations disponibles au laboratoire.

### **C. Recueil des données moléculaires**

Nous avons extrait les données suivantes des dossiers de patients du laboratoire :

- Date d'analyse ;
- Version du panel utilisé pour le séquençage NGS ;
- Résultat des analyses moléculaires et caractéristiques des variants identifiés le cas échéant (gène muté, coordonnées du variant, type de variant, zygote)
- Interprétation du variant par le biologiste selon les critères ACMG ;

- Résultat de l'analyse de la ségrégation familiale si réalisée ;
- Autres examens génétiques éventuellement réalisés chez le patient.

Les variants diagnostiqués et validés par le biologiste étaient systématiquement réévalués et classés selon leur pathogénicité en fonction des critères ACMG (168). En effet, le statut de pathogénicité de certains variants a pu varier depuis la date de validation du compte-rendu par le biologiste. Cette possible réinterprétation peut être dû à plusieurs facteurs tels que :

- La modification des recommandations d'interprétation des variants ;
- L'apparition de nouveaux outils d'interprétation ;
- La mise à jour des bases de données ;
- La publication de nouvelles données concernant le gène impliqué ;
- La réalisation d'analyses de ségrégation familiale entre la date de compte-rendu initial et la date de notre recueil.

#### **D. Traitement particulier de certaines données**

A partir des données cliniques et moléculaires recueillies, les patients ont été classés en sous-groupes selon :

- Le caractère syndromique ou non de la surdité ;
- La présence ou l'absence d'une hypothèse étiologique émise par le prescripteur dans le cas des patients atteints de surdité syndromique ;
- Le nombre de signes associés ;
- La concordance des résultats moléculaires avec le type de présentation clinique ;
- Le syndrome identifié en biologie moléculaire ;
- La confirmation ou non de l'hypothèse étiologique émise par le prescripteur.

Pour la constitution de certains sous-groupes, les signes cliniques associés ont été classés en différentes catégories résumées dans le tableau 6.

Signes associés par « atteinte spécifique d'organes »	Autres signes associés (signes neuro-développementaux et anomalies de croissance)	Signes considérés comme « non malformatifs » par leur fréquence en population générale
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Anomalies cranio-faciales               <ul style="list-style-type: none"> <li>o dysplasie du pavillon</li> <li>o signes branchiaux</li> <li>o fente labio-palatine</li> <li>o dysmorphie</li> </ul> </li> <li>- Atteinte ophtalmologique               <ul style="list-style-type: none"> <li>o myopie sévère</li> <li>o malformation oculaire</li> <li>o anomalie rétinienne</li> <li>o trouble de la pigmentation irienne</li> </ul> </li> <li>- Atteinte rénale               <ul style="list-style-type: none"> <li>o malformation</li> <li>o atteinte fonctionnelle</li> </ul> </li> <li>- Atteinte cardiaque               <ul style="list-style-type: none"> <li>o malformation</li> <li>o anomalies à l'ECG</li> </ul> </li> <li>- Troubles de la pigmentation cutanée et/ou des phanères</li> <li>- Malformations des membres</li> <li>- Atteinte endocrinienne               <ul style="list-style-type: none"> <li>o Diabète</li> <li>o dysthyroïdie, goitre</li> </ul> </li> <li>- Autres atteintes d'organe.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Retard moteur</li> <li>- Retard de langage non lié à la surdité</li> <li>- Troubles cognitifs, déficience intellectuelle</li> <li>- Troubles du comportement</li> <li>- Epilepsie</li> <li>- Anomalies à l'imagerie cérébrale</li> <li>- Anomalies de croissance :               <ul style="list-style-type: none"> <li>o RCIU</li> <li>o Retard de croissance</li> <li>o Avance staturale</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Myopie non sévère</li> <li>- Autres troubles de réfraction</li> <li>- Scoliose non sévère</li> <li>- Tâche « café au lait » unique</li> </ul>

Tableau 6 : Classification des signes cliniques associés à la surdité.

### III. Analyses statistiques

Les données du recueil ainsi que les données des résultats des analyses moléculaires ont été saisies et analysées dans un tableur Microsoft® Excel (Version 16.16.9).

La description des données de la cohorte (activité du laboratoire, taux diagnostique, description phénotypique des patients, présentation des résultats génétiques) nécessitait des calculs d'effectifs et de pourcentages.

La Spécificité (Sp), la Sensibilité (Se) et la Valeur Prédictive Positive (VPP) de certains signes ou combinaisons de signes ont été calculées pour les étiologies vers lesquelles ces signes sont censés orienter.

La comparaison des sous-groupes de patients avec un résultat moléculaire positif et avec un résultat moléculaire négatif (ou présence de VSI) selon la présence ou non

d'antécédents familiaux de surdité a été effectuée en utilisant un test du Chi-deux, avec un seuil de significativité statistique fixé de manière usuelle à 5% ( $p < 0,05$ ).

La comparaison des sous-groupes de patients avec un résultat moléculaire positif et avec un résultat moléculaire négatif (ou présence de VSI) selon la présence ou non d'une hypothèse étiologique émise par le prescripteur en amont de l'analyse moléculaire a été effectuée en utilisant un test du Chi-deux, avec un seuil de significativité statistique fixé de manière usuelle à 5% ( $p < 0,05$ ).

La comparaison des sous-groupes de patients atteints de surdité syndromique avec un résultat moléculaire positif et avec un résultat moléculaire négatif (ou présence de VSI) selon le nombre de signes associés a été effectuée en utilisant un test de Mann-Whitney, avec un seuil de significativité statistique fixé de manière usuelle à 5% ( $p < 0,05$ ).

#### IV. Analyses moléculaires

Tous les patients de notre cohorte ont bénéficié, dans un but diagnostique, du s quenc ge d'un panel de gènes impliqués dans les surdités utilisant la technique *Next Generation Sequencing* (NGS). Des techniques complémentaires (s quenc ge ciblé de certaines régions par méthode Sanger, détection de CNV par méthode qPCR ou MLPA, analyse du génome mitochondrial)  taient réalisées sur indication du prescripteur et/ou du biologiste.

Nous décrirons les différentes techniques utilisées actuellement au laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Lille pour le diagnostic moléculaire des surdités génétiques.

## **A. Extraction d'ADN**

Les différentes techniques utilisent de l'ADN leucocytaire. L'ADN est extrait à partir d'un prélèvement sanguin veineux périphérique (EDTA), de manière automatisée (robot Hamilton Chemagic STAR®) selon le protocole du fournisseur. L'ADN est dosé par spectrophotométrie en utilisant le kit *Quant-iT™ PicoGreen™* (ThermoFisher Scientific®).

## **B. Analyses NGS**

Le panel de gènes utilisé au CHU de Lille pour le diagnostic des surdités héréditaires a été mis en place en 2014 et est régulièrement mis à jour. La liste des gènes analysés n'est donc pas strictement la même pour tous les patients. Jusqu'à la fin de l'année 2019, le panel utilisé comprenait 170 gènes (Version 3 du panel). Depuis le début de l'année 2020, une version actualisée du panel comprenant 214 gènes est utilisée (Version 4 du panel). La liste des gènes de la version 4 du panel est disponible en annexe 3.

### **1. Préparation de la librairie**

La préparation de la librairie est effectuée par la technique de digestion-amplification *HaloPlex Target Enrichment System* (Agilent Technologies®, Santa Clara, USA), selon les recommandations du fournisseur.

Cette étape consiste à générer un ensemble de fragments d'ADN représentatifs des régions que l'on souhaite séquencer et d'une longueur compatible avec la technologie de séquençage : la librairie. Les différentes étapes de préparation d'une librairie en NGS sont résumées dans l'annexe 4.

## 2. Amplification clonale et séquençage

Les bibliothèques de 32 patients sont rassemblées dans un même mélange réactionnel et déposées sur une *flow-cell* standard. Une étape de dosage et d'équilibrage de l'ADN des patients est nécessaire, afin que la quantité d'ADN déposée sur la *flow-cell* soit la même pour chaque patient. L'amplification clonale utilise la technologie de PCR en pont ou *Bridge PCR*. Le séquençage utilise la technologie de séquençage par synthèse en *read paired-end* de 150pb (*Illumina Sequencing by Synthesis*), grâce à un séquenceur *NextSeq* (*Illumina*®).

Les principes de la *Bridge PCR* et du séquençage NGS par synthèse sont résumés respectivement dans les annexes 5 et 6.

## 3. Analyse des données de séquençage

Les données de séquençage sont alignées sur le génome humain de référence (version GRCh37/Hg19) et annotées par deux *pipelines* bio-informatiques : *BWA-BSO* (*Illumina*®) et *BROAD GATK* (pipeline développé par le CHU de Lille). Les données sont rassemblées et filtrées à l'aide des programmes *Variant studio V2.2* (*Illumina Data Analysis Software*), *DVD* (logiciel interne au CHU de Lille) et *Anatole* (logiciel interne au CHU de Lille).

Les variants sont interprétés par le biologiste selon l'état des connaissances au moment de la rédaction du compte-rendu. La nomenclature des variants suit les recommandations de l'HGVS (*Human Genome Variation Society*) (173). Les variants sont classés selon les critères de pathogénicité de la classification *ACMG* (*American College of Medical Genetics*) (168).

### **C. Séquençage Sanger**

La méthode de séquençage Sanger est utilisée pour l'analyse des régions d'intérêt non couvertes par le séquençage NGS, pour la validation des variants d'intérêt et pour l'analyse de la ségrégation familiale.

Le séquençage Sanger est effectué en utilisant le kit *BigDye Terminator Kit (Applied Biosystems SARL)*, selon les recommandations du fournisseur. Les séquences sont analysées avec le logiciel *SeqScape Software v2.5.6*. Le design des amorces de séquençage est effectué au laboratoire du CHU de Lille. Les amorces sont synthétisées par un fournisseur externe (*Eurofins*®).

### **D. Analyse des CNV**

La présence de variations du nombre de copies (*Copy Number Variation* ou CNV) affectant les gènes cibles est identifiée mathématiquement par le programme interne au CHU de Lille « BROAD qualité » et le calcul des ratios de couverture génique par exon et par patient rapportés à l'ensemble des exons et des patients de la librairie. Une valeur de ratio  $<0,6$  est retenue pour détecter une perte de copie et une valeur de ratio  $>1,4$  est retenue pour détecter un gain de copie. Seuls les événements affectant au minimum 3 exons contigus sont pris en compte pour l'analyse.

Les variants détectés en NGS sont confirmés par technique qPCR (PCR quantitative), avec des oligonucléotides spécifiques des gènes à valider synthétisés par le fournisseur (*Eurofins*®). La normalisation fait appel au gène de référence *RPPH1* (gène de ménage dit « *housekeeping gene* » dont l'expression cellulaire est stable).

Les réarrangements géniques affectant les gènes *STRC* et *SLC26A4* sont recherchés par technique MLPA selon le protocole du fournisseur (*MRC Holland*®).

### **E. Analyses mitochondriales**

Les analyses mitochondriales sont demandées au cas par cas par le prescripteur, en fonction de la présentation clinique et du mode de transmission de la surdité. Les

analyses moléculaires mitochondriales consistent en la recherche ciblée de certains variants du génome mitochondrial associés aux surdités (m.3243A>G (associée au syndrome *MELAS*), m.8344A>G (associée au syndrome *MERRF*), m.8993T>G (associée au syndrome *NARP*), m.1556A>G, m.1606G>A, m.3291T>C, m.7445A>C, m.7471dup), ainsi que la recherche de délétion du génome mitochondrial (à l'aide d'amorces permettant d'amplifier des régions chevauchantes : entre les nucléotides m.3214 et m.16146 et les nucléotides m.15698 et m.14861).

L'ADN mitochondrial provient des leucocytes, il est extrait à partir d'un prélèvement sanguin veineux périphérique (EDTA), de manière automatisée (robot Hamilton Chemagic STAR®) selon le protocole du fournisseur.

La recherche des variants ponctuels est effectuée par séquençage Sanger à l'aide du kit *BigDye Terminator Kit (Applied Biosystems SARL)*, selon les recommandations du fournisseur, sur un robot séquenceur *ABI 3730 (ThermoFisher Scientific™)*. La séquence de référence utilisée est : *Genbank NC\_012920*.

La recherche de délétion est effectuée par amplification des régions ciblées par méthode PCR longue et migration électrophorétique sur gel pour analyse de la longueur des séquences cibles.

# Résultats

## I. Activité du laboratoire

Entre le début du mois de janvier 2018 et la fin du mois de juin 2020, 692 demandes d'analyse du panel NGS-surdités génétiques dans un but diagnostique ont été analysées au laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Lille. Ces patients provenaient de 35 centres prescripteurs différents, répartis sur l'ensemble du territoire français (Figure 44).

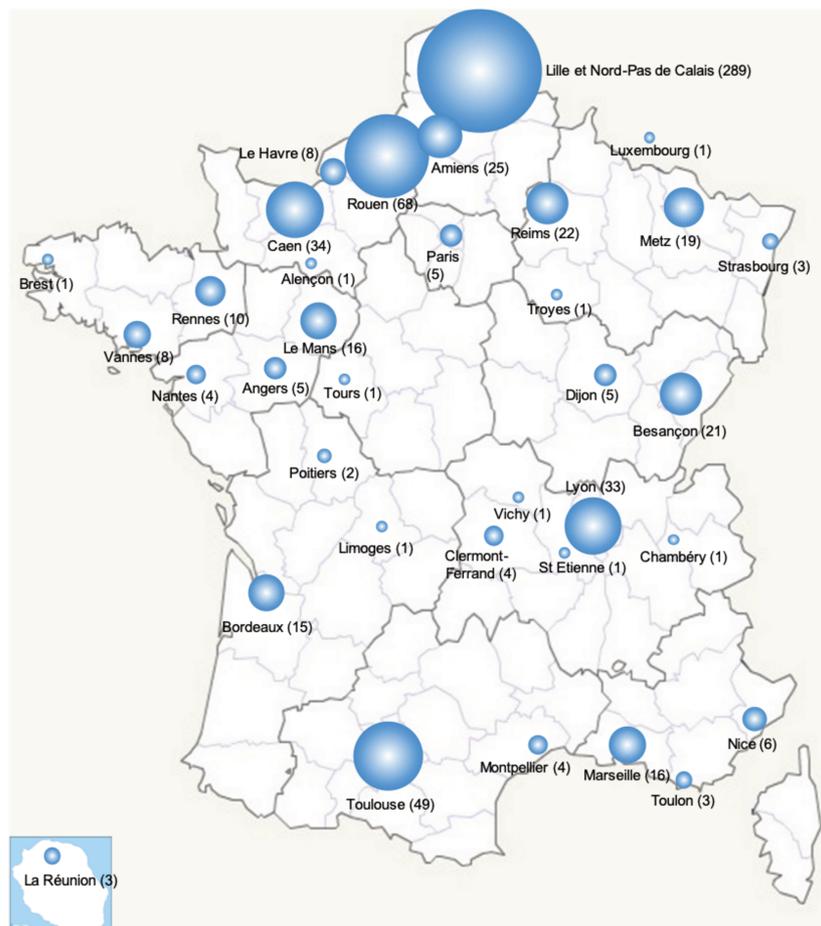


Figure 44 : Répartition des demandes d'analyses du panel NGS-surdités génétiques du CHU de Lille selon les différents centres prescripteurs, entre janvier 2018 et juin 2020. Le nombre de demandes par centre est précisé entre parenthèses.

La région Nord-Pas-de-Calais est à l'origine de la plus grosse part des prescriptions (289 dossiers (41.8%)). Le CHU de Lille représente le centre prescripteur principal.

Les autres centres prescripteurs de la région sont le CH d'Arras, le CH de Lens et le CH Saint-Vincent-de-Paul, à Lille.

La majorité de l'activité du laboratoire provient cependant des centres extérieurs : en effet, les effectifs cumulés de l'ensemble des centres prescripteurs extérieurs représentent un total de 403 dossiers, soit 58.2% de l'activité du laboratoire sur la période étudiée. Les principaux centres collaborant avec le CHU de Lille pour le diagnostic des surdités héréditaires sont le CHU de Rouen (68 demandes (9,8%)), le CHU de Toulouse (40 demandes (7,1%)), le CHU de Caen (34 demandes (4,9%)) et les Hospices Civils de Lyon (33 demandes (4,8%)) (Tableau 7). La région Nord-Pas-de-Calais et ces 4 autres centres représentent 68,4% de l'activité du laboratoire sur la période étudiée.

Centres	Nombre de dossiers	Proportions (%)	Centres	Nombre de dossiers	Proportions (%)
Lille et Nord-PdC	289	41.8	Dijon	5	0.7
Rouen	68	9.8	Clermont-Ferrand	4	0.6
Toulouse	49	7.1	Montpellier	4	0.6
Caen	34	4.9	Nantes	4	0.6
Lyon	33	4.8	La Réunion	3	0.4
Amiens	25	3.6	Strasbourg	3	0.4
Reims	22	3.2	Toulon	3	0.4
Besançon	21	3.1	Poitiers	2	0.3
Metz	19	2.8	Brest	1	0.1
Marseille	17	2.5	Chambéry	1	0.1
Le Mans	16	2.3	Limoges	1	0.1
Bordeaux	15	2.2	Saint-Etienne	1	0.1
Rennes	10	1.5	Tours	1	0.1
Le Havre	8	1.2	Vichy	1	0.1
Vannes	8	1.2	Alençon	1	0.1
Nice	6	0.9	Troyes	1	0.1
Angers	5	0.7	Luxembourg	1	0.1
Paris	5	0.7			

Tableau 7 : Nombre et proportion des dossiers adressés au CHU de Lille pour analyse du panel NGS-surdités en fonction des différents centres prescripteurs (PdC : Pas-de-Calais).

Depuis 2018, l'activité du diagnostic moléculaire des surdités héréditaires au laboratoire s'est accrue de manière constante : 184 dossiers ont été analysés en 2018,

328 en 2019 et 180 au cours du premier semestre 2020 (Figure 45). Notre période de recueil s'est arrêtée à la fin du mois de juin 2020, mais le laboratoire a pu nous confirmer que 319 dossiers ont été analysés entre juillet et décembre 2020, ce qui porte à 499 le nombre total de dossiers analysés en 2020. Ce résultat confirme la tendance d'augmentation de l'activité au fil du temps.

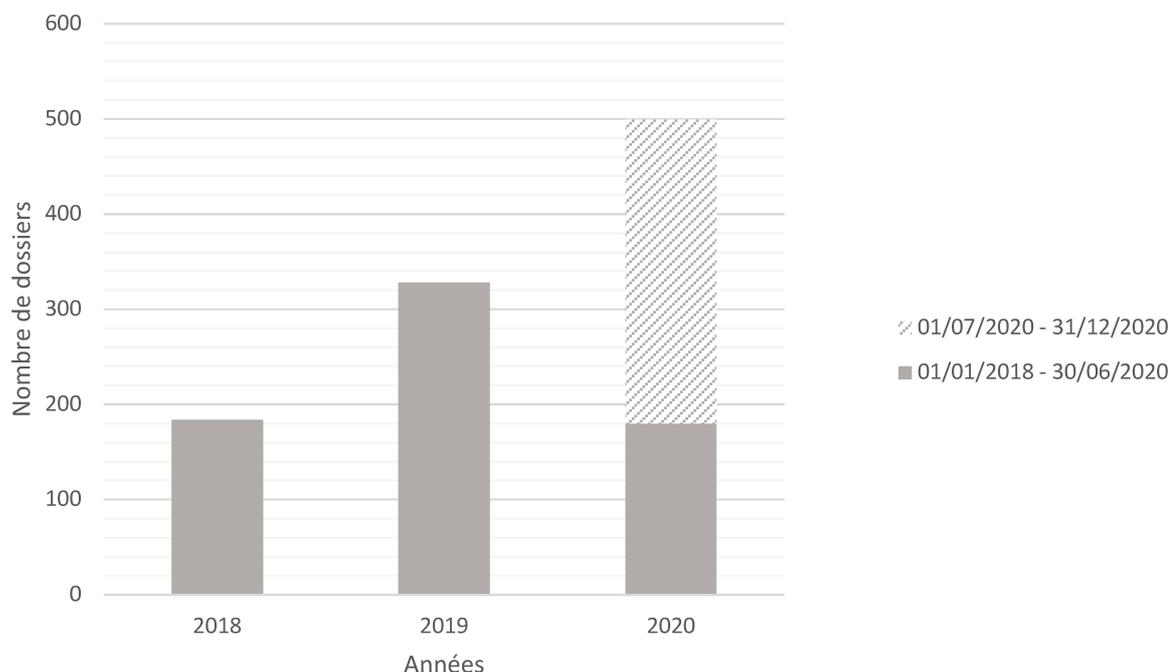


Figure 45 : Evolution du nombre de dossiers analysés au laboratoire en fonction des années, entre 2018 et 2020. Pour l'année 2020, la partie inférieure (grise) de la colonne indique le nombre de dossiers faisant partie de notre cohorte, la partie supérieure (hachures) correspond au nombre de dossiers analysés au cours du second semestre de l'année 2020, qui ne font pas partie de notre cohorte mais qui permettent de comparer les données des 3 années.

Afin d'identifier le ou les facteurs responsables de cette augmentation d'activité, nous nous sommes intéressés tout d'abord à l'évolution de la provenance des dossiers au fil des ans. En 2019, une augmentation du nombre de dossiers est constatée par rapport à 2018 pour les demandes provenant du Nord-Pas-de-Calais comme pour les demandes extérieures. Cette tendance semble se confirmer en 2020 (en se rapportant au nombre total de dossiers de 2020 et en émettant l'hypothèse que la répartition des dossiers entre le Nord-Pas-de-Calais et le reste de la France est restée identique au cours du 2<sup>ème</sup> semestre 2020 par rapport au 1<sup>er</sup> semestre, on peut estimer à 194 le

nombre de dossiers provenant de Lille et sa région et à 304 le nombre de dossiers provenant des centres extérieurs). Depuis 2018, le nombre de dossiers provenant des centres extérieurs est systématiquement supérieur au nombre de dossiers provenant de Lille et sa région (Figure 46).



Figure 46 : Nombre de dossiers en fonction des années et de la provenance des demandes (PdC : Pas-de-Calais). La provenance n'était pas connue pour 5 dossiers à partir des informations dont nous disposions.

On constate également que la proportion de dossiers provenant des centres extérieurs s'accroît au fil des ans (Figure 47).

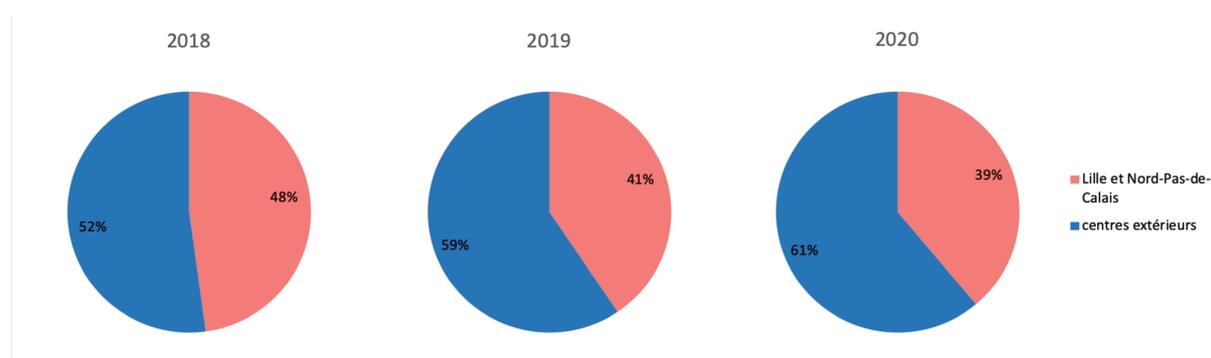


Figure 47 : Proportion des dossiers provenant de Lille et de la région Nord-Pas-de-Calais et des dossiers provenant des centres extérieurs selon les années.

On constate une augmentation du nombre de centres prescripteurs chaque année depuis 2018 : les demandes provenaient de 21 centres en 2018, 27 centres en 2019 et 28 centres pour le premier semestre 2020 (Figure 48 à 50).

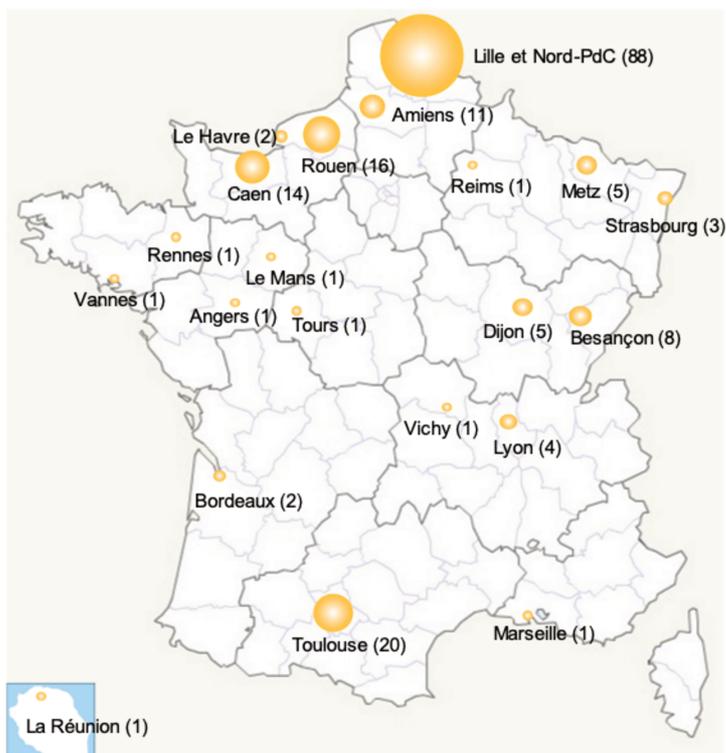


Figure 48 : Répartition de la provenance des dossiers analysés au cours de l'année 2018. Le nombre de dossiers pour chaque centre prescripteur est précisé entre parenthèses.

Depuis 2018, 16 centres extérieurs prescrivent systématiquement au moins une analyse du panel NGS-surdités chaque année (Tableau 8). Ces 16 centres représentent 353 dossiers, soit 51,4% de l'activité du laboratoire et 88,7% des demandes extérieures.

Six nouveaux centres ont effectué des demandes en 2019 et ont continué à le faire en 2020 (6,3% des demandes extérieures, 3,6% de l'activité totale). Cinq centres ont effectué leur première prescription au cours du premier semestre 2020 (1,3% des demandes extérieures et 0,7% de l'activité totale).

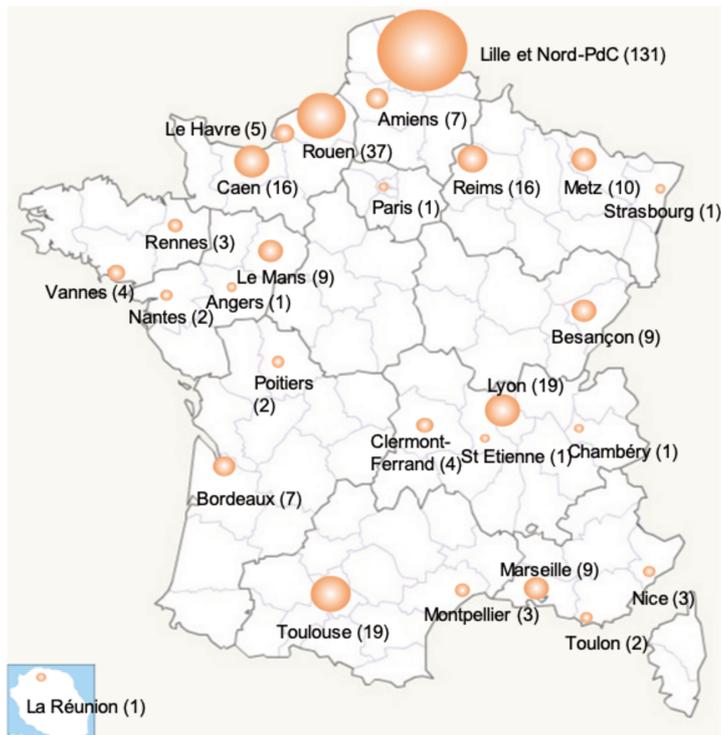


Figure 49 : Répartition de la provenance des dossiers analysés au cours de l'année 2019. Le nombre de dossiers pour chaque centre prescripteur est précisé entre parenthèses.

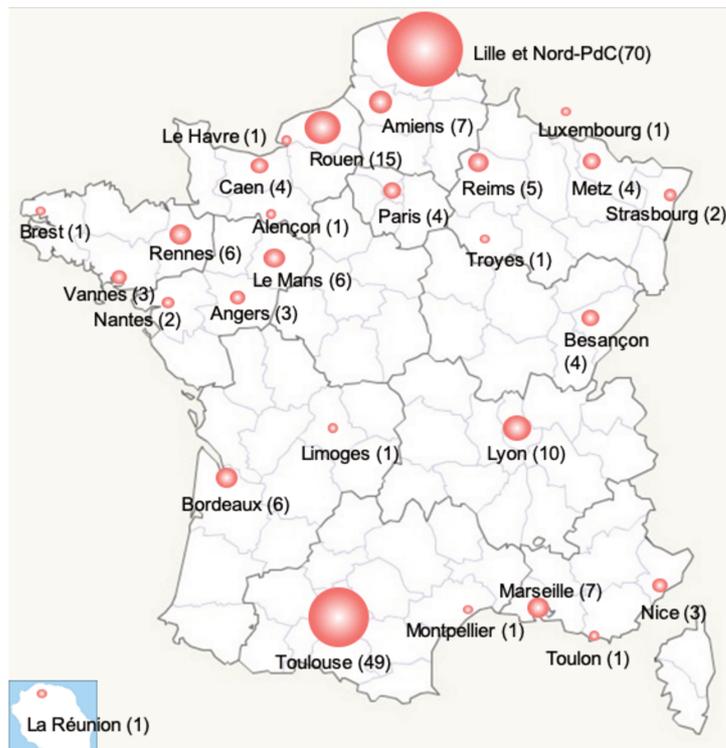


Figure 50 : Répartition de la provenance des dossiers analysés au cours du premier semestre de l'année 2020. Le nombre de dossiers pour chaque centre prescripteur est précisé entre parenthèses.

Enfin, 7 centres ont effectué une ou plusieurs prescriptions en 2018 ou en 2019 sans renouveler leur activité de prescription au cours du premier semestre 2020, ce qui représente 3,8% des demandes extérieures et 2,2% de l'activité totale. Tous les centres ayant effectué des demandes d'analyses en 2018 et 2019 ont renouvelé au moins une demande en 2020.

Profil des centres	Nombre de centres	Nombre de demandes	% par rapport à l'ensemble des demandes extérieures	% par rapport à l'ensemble des demandes
Prescriptions sur les 3 années (2018-2020)	16	353	88,7%	51,4%
Prescription en 2019 et 2020	6	25	6,3%	3,6%
Prescription en 2020 uniquement	5	5	1,3%	0,7%
Prescriptions en 2018 ou 2019	7	15	3,8%	2,2%

*Tableau 8 : Catégorisation des centres prescripteurs en fonction de leur profil de prescription sur la période 2018-2020 et proportion des demandes correspondantes.*

Les 16 centres prescripteurs ayant prescrit des analyses de panel NGS-surdités chaque année depuis 3 ans correspondent aux centres extérieurs ayant effectué le plus de demandes au total (Tableau 8). Il n'y a pas de centre extérieur ayant prescrit un grand nombre d'analyses sur une année sans renouveler de prescription l'année suivante.

La proportion de dossiers provenant des 16 centres ayant effectué des prescriptions tous les ans par rapport à l'ensemble de l'activité a augmenté entre 2018 et 2019 (48% contre 53,3%) et est à très légèrement diminué entre 2019 et le premier semestre 2020 (51,1%) (Figure 51). La proportion de dossiers provenant des centres extérieurs dont le nombre annuel de prescriptions est faible a en revanche augmenté (10% en 2020 contre 6,2% en 2019 et 4% en 2018).



Figure 51 : Evolution des proportions de dossiers provenant de Lille et sa région (en bleu), des 16 centres extérieurs ayant adressé des dossiers tous les ans depuis 2018 (en rouge) et des autres centres prescripteurs (en vert) en fonction des années.

Nous nous sommes également intéressés au profil des médecins prescrivant le panel NGS-surdités. Nous avons choisi de les séparer en 3 catégories : les généticiens, les médecins prescripteurs réguliers (ORL et ophtalmologistes) et les autres médecins. L'hypothèse était de se demander si l'augmentation de l'activité du laboratoire depuis 2018 pouvait être due à une augmentation des prescriptions par des médecins autres que des généticiens.

Sur la totalité de la durée de l'étude, 599 analyses (86,7%) ont été prescrites par des généticiens, 77 (11,1%) par des ORL ou des ophtalmologistes et 15 (2,2%) par des médecins d'autres spécialités (1 donnée manquante) (Figure 52). Parmi ces quelques autres spécialistes, on trouve des neurologues, des médecins internistes et des pédiatres spécialistes des maladies métaboliques.

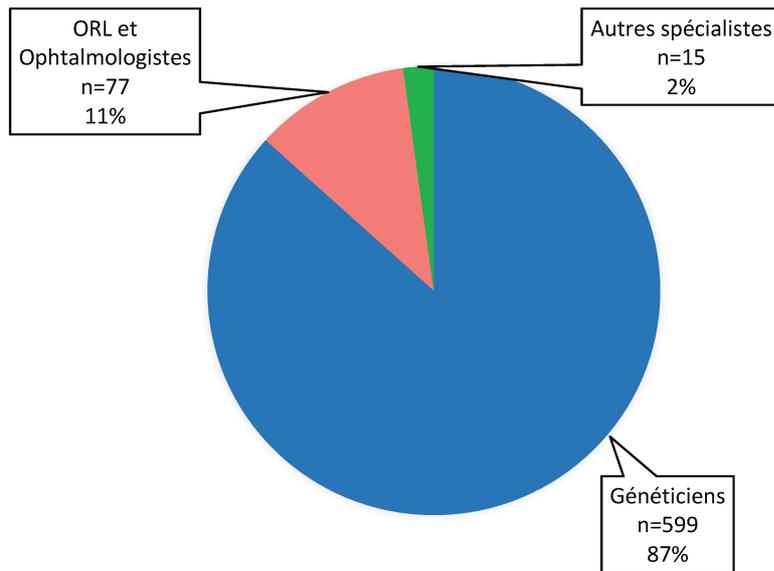


Figure 52 : Répartition des prescriptions en fonction du type de prescripteurs entre janvier 2018 et juin 2020.

La proportion que représente les prescriptions de chaque catégorie de prescripteurs par rapport à l'ensemble des prescriptions n'évolue que peu au fil du temps (Figure 53).

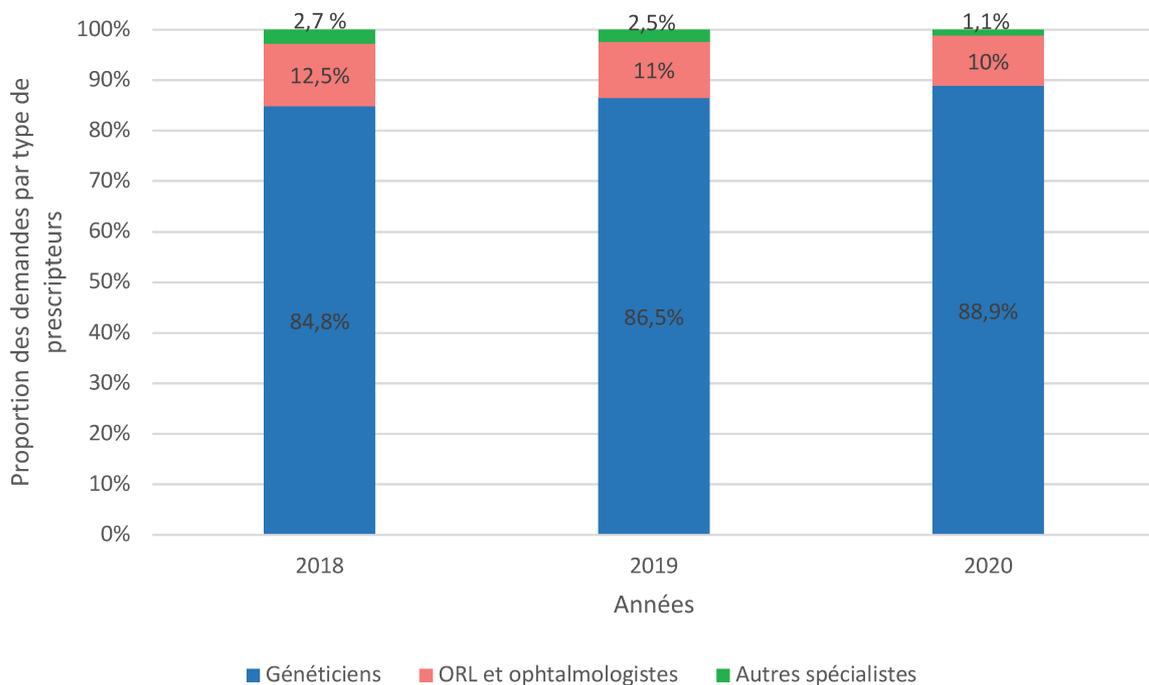


Figure 53 : Evolution de la proportion de prescriptions du panel NGS-surdités par chaque type de prescripteurs au fil des ans.

La part de prescriptions effectuées par les prescripteurs des « autres spécialités » a tendance à s'amenuiser : les ORL et les ophtalmologistes ont prescrit 12,5% des

analyses en 2018, contre 11% en 2019 et 10% au cours du premier semestre 2020 ; les autres spécialistes représentaient 2,7% des prescriptions en 2018 et 2,5% en 2019, mais seulement 1,1% pour la première moitié de l'année 2020 (Figure 53).

## II. Description de la cohorte

### A. Constitution de la cohorte

Entre janvier 2018 et fin juin 2020, 706 patients ont bénéficié du séquençage du panel NGS-surdités au laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Lille.

Quatorze patients ont été exclus de la cohorte (Figure 54), pour les raisons suivantes :

- 5 patients ont bénéficié de l'analyse du panel dans le cadre d'un conseil génétique pré-conceptionnel (les patients ne sont pas eux-mêmes atteints de surdité mais sont des conjoints de patients porteurs d'un syndrome génétique avec surdité) ;
- 1 patient a bénéficié du séquençage du panel mais l'analyse du dossier a montré que sa surdité était due à une infection congénitale à CMV ;
- Pour 8 patients, nous n'avons eu accès à aucune donnée clinique (ni au laboratoire, ni en recherchant le dossier médical auprès du prescripteur), l'essentiel de notre travail étant l'analyse clinique des patients, nous avons donc choisi de les exclure de l'étude.

Notre cohorte comportait donc au final 692 patients (Figure 54).

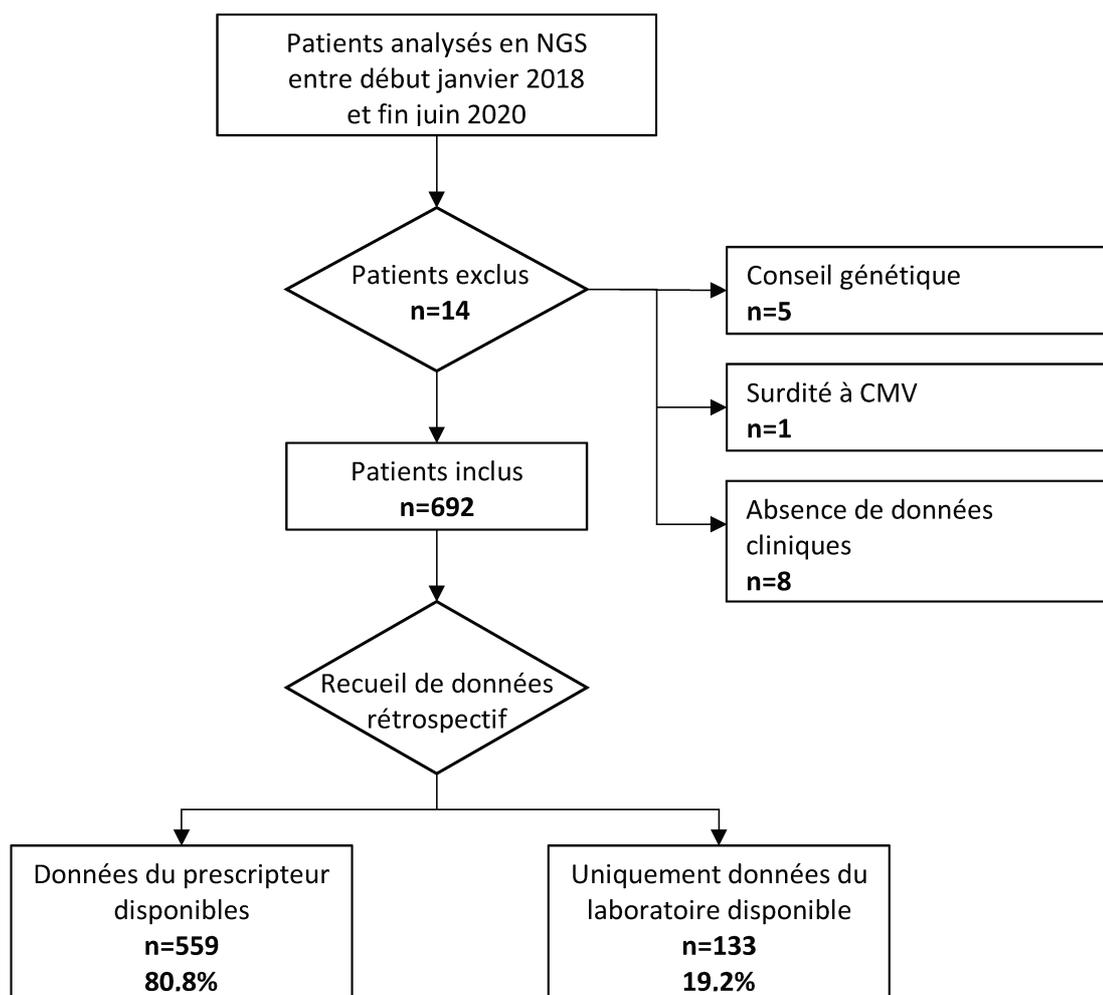


Figure 54 : Diagramme de flux des patients de notre cohorte.

Notre recueil de données rétrospectif nous a permis d'avoir accès aux données cliniques qui étaient disponibles pour 559 des 692 dossiers de patients (80,8%). Ces données ont été obtenues soit grâce aux fiches de renseignements cliniques complétées par les prescripteurs soit par consultation directe des dossiers informatisés et format papier des patients. Pour 133 patients (19,2%), le recueil n'a pas été concluant (absence de réponse du prescripteur ou dossier inaccessible). Nous disposons cependant de certaines données cliniques disponibles au laboratoire, qui contenaient au minimum la fiche de renseignements cliniques du laboratoire que chaque clinicien doit joindre à sa prescription (Annexe 2), éventuellement complétée par un compte-rendu de consultation du clinicien prescripteur.

## **B. Données démographiques**

Notre cohorte est composée de 370 femmes (53,9%) pour 316 hommes (46,1%) (données manquantes pour 6 patients).

Notre cohorte est par définition très hétérogène en termes d'âges puisque les surdités héréditaires peuvent se manifester à des âges très différents en fonction des causes. Il n'est donc pas très pertinent de calculer la moyenne d'âge des patients de notre cohorte. L'âge médian de l'ensemble des patients de notre cohorte est de 13,5 ans, avec un 1<sup>er</sup> quartile à 5 ans et un 3<sup>ème</sup> quartile à 34 ans. L'âge médian des patients atteints de surdité d'origine génétique (analyses moléculaires positives) est de 12 ans, avec un 1<sup>er</sup> quartile à 5 ans et un 3<sup>ème</sup> quartile à 32 ans. L'âge médian des patients pour lesquels les analyses moléculaires se sont révélées négatives est de 14 ans, avec un 1<sup>er</sup> quartile à 5 ans également et un 3<sup>ème</sup> quartile à 34 ans.

## **C. Caractéristiques de l'ensemble des patients**

Le tableau 9 rassemble l'ensemble des caractéristiques de surdité des patients de notre cohorte. Nous décrivons ici l'ensemble des patients, indépendamment du résultat des analyses moléculaires. Les caractéristiques de surdité des groupes de patients atteints de surdité isolée et de surdité syndromique en fonction des résultats moléculaires seront présentées dans les parties ultérieures de ce travail.

Notre cohorte comportait davantage de patients atteints de surdité syndromique que de patients atteints de surdité isolée (388 patients (56,1%) contre 304 patients (43,9%) respectivement).

Les modalités de recueil rétrospectif de notre étude impliquent un certain nombre de données manquantes, néanmoins nous pouvons dégager certains résultats concernant les profils de surdité de nos patients, c'est-à-dire les patients chez qui une étiologie génétique de surdité est suspectée.

Paramètres	Modalités	Effectif (n)	Pourcentage (%)
Présentation clinique	surdité isolée	304	43,9
	surdité syndromique	388	56,1
Type de surdité	pas de surdité	27	4,2
	transmission	30	4,6
	perception	542	83,8
	mixte	48	7,4
	ND	45	-
Lateralit�	unilatérale	79	13
	bilatérale	528	87
	ND	85	-
Symétrie	asymétrique	216	53,5
	symétrique	188	46,5
	ND	288	-
Degré de sévérité de la surdité	légère	75	13,9
	moyenne	206	38,1
	sévère	113	20,9
	profonde	147	27,2
	ND	151	-
Mode d'apparition de la surdité	pré-linguale	315	55,1
	post-linguale	257	44,9
	ND	120	-
Mode évolutif	stable	277	59,7
	progressive	171	36,9
	fluctuante	16	3,4
	ND	228	-
Résultat du dépistage néonatal	non fait	197	53
	normal	47	12,7
	anormal	127	34,3
	ND	321	-
Aspect des courbes à l'audiogramme	plates	255	52,6
	prédominant sur les fréquences graves	26	5,2
	p�dominant sur les fréquences moyennes	63	13
	prdominant sur les fréquences aigües	140	28,2
	ND	208	-
Signes vestibulaires	absents	485	90
	présents	54	10
	ND	153	-
Type de prise en charge	aucun	67	15,1
	appareils auditifs	300	67,4
	implants cochléaires	78	17,5
	ND	247	-
Siège des anomalies à l'imagerie des oreilles	aucune anomalie	306	65,7
	oreille externe	7	1,5
	oreille moyenne	13	2,8
	oreille interne	44	9,4
	rétrocochléaire	10	2,1
	dilatation de l'aqueduc du vestibule	52	11,2
	agénésie des canaux semi-circulaires	2	0,4
	atteinte combinée de l'oreille externe et moyenne	10	2,1
	malformation complexe de l'oreille	22	4,7
	Absence d'imagerie	226	-

Tableau 9 : Caractéristiques de surdité de l'ensemble des patients de notre cohorte (ND : données non disponibles, NA : non applicable).

Certaines caractéristiques de surdité sont nettement majoritaires : on retrouve une surdité de perception dans 78,3% des cas (542 patients) et l'atteinte est bilatérale dans 76,3% des cas (528 patients). De même, il existe relativement peu de cas de signes vestibulaires associés (54 patients soit 7,80%).

Parmi les patients ayant eu une IRM des oreilles et/ou un TDM des rochers, deux tiers des patients avaient une imagerie normale (65,7% des cas, soit 306 patients). Néanmoins nous n'avons pas la notion de réalisation de ces imageries pour 226 patients. Les anomalies de l'oreille internes sont les plus fréquentes : 120 patients (25,7%) présentent une anomalie de l'oreille interne au TDM des rochers et/ou à l'IRM des oreilles. Il convient de distinguer plusieurs types de malformations de l'oreille interne visibles à l'imagerie :

- Les atteintes isolées de l'oreille interne non évocatrices d'une cause particulière (44 patients, soit 9,4% des cas) ;
- Les dilatations des aqueducs vestibulaires, qui sont les malformations les plus fréquemment visibles à l'imagerie (11,2% des cas, soit 52 patients) et qui ont été classées à part car elles orientent vers une atteinte du gène *SLC26A4* (syndrome de Pendred ou DFNB4) ;
- Les agénésies des canaux semi-circulaires, également classées à part car elles orientent notamment vers un diagnostic de syndrome CHARGE, mais qui sont néanmoins très rares dans notre cohorte (2 patients, soit 0,4% des cas) ;
- Les malformations complexes de l'oreille, touchant l'oreille interne et au moins un autre segment de l'oreille, qui concernent 22 patients (4,7%).

Pour certains paramètres, il est plus difficile de dégager un profil majoritaire :

- Deux degrés de sévérité de surdité semblent plus fréquents que les autres : les surdités moyennes (38,1% des cas soit 206 patients) et les surdités profondes

(147 patients soit 27,2% des cas), les surdités sévères représentent 20,9% des cas (113 patients) et les surdités légères sont plus rares (13,9% des cas, soit 75 patients) ;

- Les cas de surdité pré-linguale sont légèrement majoritaires par rapport aux cas de surdité post-linguale (315 patients (55,1%) contre 257 patients (44,9%) respectivement).

Les anomalies des autres segments que l'oreille interne sont rares dans notre cohorte : les malformations isolées de l'oreille externe concernent 7 patients (1,5%), les malformations isolées de l'oreille moyenne touchent 13 patients (2,8%), les malformations de ces deux segments affectent 10 patients (2,1%), tout comme les anomalies rétrocochléaires (malformation du CAI, hypoplasie ou agénésie des nerfs auditifs).

Pour certaines autres caractéristiques de surdité, certains profils semblent se dégager mais une proportion non négligeable de données manquantes gêne l'interprétation :

- La surdité est stable dans 59,7% des cas (277 patients), contre 36,9% de cas de surdité progressive (171 patients) et seulement 3,4% de cas de surdité fluctuante (16 patients), les données étaient manquantes pour 228 patients ;
- Les courbes d'audiogrammes sont le plus souvent sans profil particulier (52,6% des cas, soit 255 patients), la perte d'audition touche néanmoins préférentiellement les fréquences aiguës dans 28,2% des cas (140 patients), les pertes d'audition prédominant sur les fréquences moyennes (dites « en cupule » ou « en U ») concernent 13% des patients de notre cohorte (63 patients), les pertes d'audition prédominant sur les fréquences graves sont rares (5,2% des cas, soit 26 patients), les données étaient manquantes pour 208 dossiers ;

- Les deux tiers de nos patients pour lesquels l'information était disponible bénéficiaient d'un appareillage (300 patients, soit 67,4% des cas), un implant cochléaire avait été mis en place chez 78 patients (ce qui représente 14,4% des patients atteints de surdité de perception), 15,1% des patients n'avait pas de dispositif auditif particulier, les données étaient manquantes pour 247 dossiers.

L'interprétation des données du dépistage néonatal est limitée car elles étaient indisponibles dans presque la moitié des cas (n=321). De plus, ce dépistage n'a pas été effectué chez 53% des patients pour lesquels ces données étaient renseignées, dans la très grande majorité des cas du fait de la date de naissance des patients, trop ancienne par rapport à la mise en place du dépistage néonatal de la surdité. Le dépistage était anormal ou à recontrôler chez 127 patients (34,3% des cas disponibles) et normal pour 47 nouveau-nés (12,7% des cas disponibles).

### III. Résultats du panel pour l'ensemble de la cohorte

#### A. Performances diagnostiques du panel de gènes

Tous nos patients ont bénéficié du séquençage du panel NGS-surdités. La majorité de nos patients (468 patients, 67,6% des cas) ont bénéficié de l'analyse du panel comprenant 170 gènes (version 3), les 224 patients restants ont bénéficié du séquençage du panel comprenant 214 gènes (version 4). Quelques patients (n=60) ont également bénéficié de la recherche ciblée de variants mitochondriaux responsables de surdité. La décision de prescription d'analyses mitochondriales était considérée au cas par cas par le clinicien. Les résultats des analyses moléculaires pour la totalité de la cohorte sont détaillés dans le tableau 10.

L'analyse du panel NGS-surdités a permis de poser un diagnostic positif (c'est-à-dire de mettre en évidence un variant de classe 4 (probablement pathogène) ou de classe 5 (pathogène)) chez 172 patients. Le taux de positivité du panel seul est donc de

24,8%. L'analyse du panel était négative dans 64,2% des cas (444 patients) et mettait en évidence un VSI dans 11% des cas (76 patients) (Tableau 10).

Analyses moléculaires	Résultats	Effectif (n)	Pourcentage (%)
NGS-surdités uniquement (n=692)	Positif	172	24,8
	Négatif	444	64,2
	VSI	76	11
Analyses mitochondriales (n=60)	Positif	8	13,3
	Négatif	52	82,7
Combinaison des deux analyses moléculaires (n=692)	Positif	180	26
	Négatif	438	63,3
	VSI	74	10,7

Tableau 10 : Résultats de l'analyse du panel NGS-surdités, de la recherche de mutations de l'ADN mitochondrial et résultats combinés des deux types d'analyse pour la totalité de la cohorte.

Nous avons pu avoir connaissance des résultats des analyses mitochondriales chez 60 patients. Ces analyses ont permis de poser un diagnostic moléculaire chez 8 d'entre eux (13,3% de taux de positivité) (Tableau 10). Six de ces patients avaient un résultat d'analyses NGS négatif et les 2 autres étaient porteurs d'un VSI.

La combinaison des résultats de ces deux types d'analyses permet de calculer un taux de positivité des analyses moléculaires de 26% pour notre cohorte (180 patients) (Tableau 10 et Figure 55).

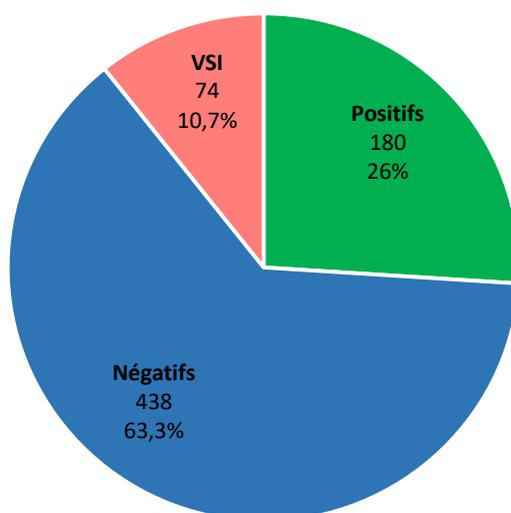


Figure 55 : Graphique représentant les résultats globaux des analyses moléculaires dans l'ensemble de notre cohorte.

Nous nous sommes intéressés au taux diagnostique de chacune des versions du panel (Figure 56). La version 3 du panel (170 gènes) a permis de poser un diagnostic moléculaire de surdité héréditaire pour 120 patients (taux diagnostique de 25,5%), 67 patients (14,3%) étaient porteurs d'un VSI (Figure 56 A). La version 4 du panel (214 gènes) a permis de poser un diagnostic moléculaire de surdité héréditaire pour 52 patients (taux diagnostique de 23,2%), seulement 9 patients étaient porteurs d'un VSI (Figure 56 B).

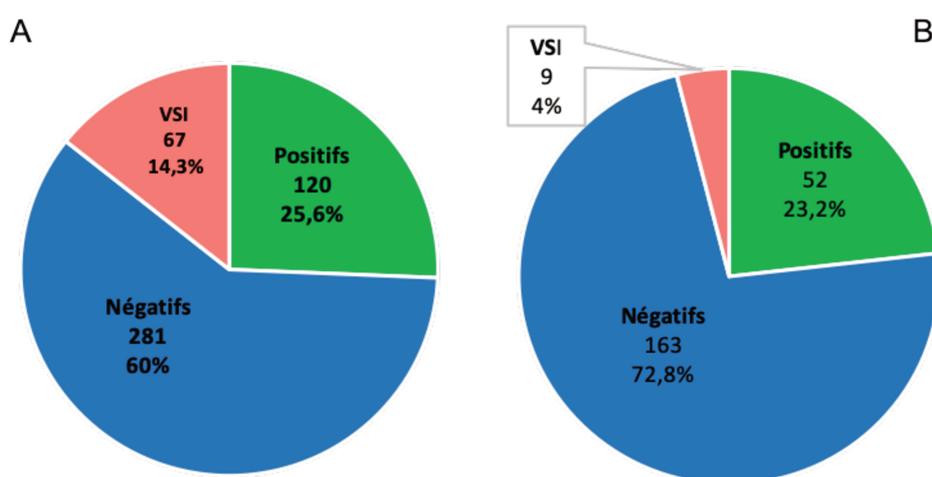


Figure 56 : A : Résultats du séquençage du panel NGS-surdités comprenant 170 gènes (version 3) chez les 468 patients ayant bénéficié de cette analyse. B : Résultats du séquençage du panel NGS-surdités comprenant 214 gènes (version 4) chez les 224 patients ayant bénéficié de cette analyse.

Nous avons comparé le taux diagnostique du panel NGS-surdités avec les résultats de 5 publications récentes étudiant des cohortes de patients atteints de surdité (Tableau 11) (31,33,34,172,174). Notre étude et ces 5 cohortes diffèrent fortement selon plusieurs paramètres (résumés dans le tableau 11) :

- Les effectifs sont très variables, de 50 patients pour la plus petite cohorte à 1119 patients pour la plus large ;
- Toutes les études n'incluent pas des patients présentant une surdité isolée et une surdité syndromique ;

- Les stratégies d'analyses moléculaires ne sont pas uniformes d'une étude à l'autre :
  - o certaines études (dont la nôtre) tiennent compte uniquement des résultats identifiés en NGS, d'autres études au contraire procèdent dans leur cohorte au séquençage ciblé d'un ou plusieurs gènes (dont *GJB2*) avant le séquençage NGS et incluent ces résultats dans le calcul du taux diagnostique global ;
  - o la taille et le contenu des panels NGS diffèrent selon les études.

Pour ces raisons, nous n'avons pas fait de test comparatif entre notre taux diagnostique et ceux des 5 études sélectionnées. Ces taux diagnostiques, résumés dans le tableau 11 à titre purement indicatif, diffèrent considérablement d'une étude à l'autre (entre 33,5% et 50%). Nous reviendrons plus en détails sur les différences entre notre travail et les 5 études de la littérature dans la discussion.

Etude	Recueil	Effectif (n)	Type de surdité	Séquençage ciblé préalable à l'inclusion	Stratégies d'analyses moléculaires	Positifs (n (%))
Notre étude	Janvier 2018 - Juin 2020	692	isolée syndromique	<i>GJB2</i> négatif <i>GJB6</i> négatif	1 - panel NGS (170 ou 214 gènes) (n=692) 2 - analyses mitochondriales (n=60)	180 (26%)
Sloan-Heggen <i>et al.</i> , 2016	Janvier 2012- Septembre 2014	1119	isolée syndromique	Aucun	1 - panel NGS (66 ou 89 gènes) (n=1119)	440 (39%)
Baux <i>et al.</i> , 2017	2 ans	207	isolée	Aucun	1 - séquençage ciblé de <i>GJB2</i> * 2 - panel NGS (74 gènes) si <i>GJB2</i> négatif	99 (48%)
Zazo Seco <i>et al.</i> , 2017	2011 - 2014	200	isolée syndromique	<i>GJB2</i> négatif (n=80) autre(s) gène(s) au cas par cas (n=57)	1 - panel NGS (120 gènes) (n=200)	67 (33,5%)
Cabanillas <i>et al.</i> , 2018	Septembre 2014 - Mars 2017	50	isolée syndromique	<i>GJB2</i> négatif <i>OTOF</i> négatif <i>MT-RNR1</i> négatif	1 - panel NGS (199 gènes) (n=50)	21 (42%)
Morgan <i>et al.</i> , 2020	2018 - 2020	125	isolée syndromique	Aucun	1 - séquençage ciblé <i>GJB2</i> , <i>GJB6</i> , <i>MT-RNR1</i> (n=118) 2 - MLPA <i>STRC</i> et <i>OTOA</i> si négatif (n=93) 3 - WES si autres analyses négatives (n=93)	64 (50%)

Tableau 11 : Comparaison de notre étude avec 5 publications de la littérature (31,33,34,172,174) en fonction de l'effectif des cohortes, du type de patients inclus (surdités isolées et/ou syndromiques), des analyses ciblées préalablement réalisées chez les patients inclus, de la stratégie d'analyses moléculaires et du taux diagnostique (\* : le nombre exact de patients ayant bénéficié d'une analyse ciblée de *GJB2* en 1<sup>ère</sup> intention n'est pas précisé dans l'étude).

## **B. Taux de concordance entre le type de présentation clinique et les résultats moléculaires**

L'examen clinique des patients en amont des analyses moléculaires permet d'orienter le biologiste, notamment en précisant si le patient présente un tableau de surdité syndromique ou de surdité isolée. L'analyse de notre panel comprenant des gènes impliqués dans des formes de surdité isolée et des formes de surdité syndromique, il est possible d'identifier une cause moléculaire qui semble non concordante avec la présentation clinique (présence d'un variant dans un gène de surdité isolée alors que le patient présente un tableau de surdité syndromique ou inversement).

Afin d'étudier la concordance des résultats moléculaires du panel par rapport à la présentation clinique, nous avons considéré uniquement les patients pour lesquels un variant de classe 4 ou 5 avait été mis en évidence en NGS (n=172). Parmi eux, le taux global de concordance clinico-biologique était de 83.1% (143 patients). La concordance clinico-biologique est plus élevée pour les patients atteints de surdité isolée que pour les patients atteints de surdité syndromique. En effet, parmi les 75 patients atteints de surdité isolée avec diagnostic moléculaire positif, le variant causal identifié concernait un gène de surdité isolée dans 92% des cas (69 patients). En revanche, parmi les 97 patients atteints de surdité syndromique avec diagnostic moléculaire positif, le variant causal concernait un gène de surdité syndromique dans 76,3% des cas (74 patients). Ainsi, chez ces patients atteints de surdité syndromique, un variant causal est mis en évidence dans un gène de surdité isolée dans quasiment un quart des cas (23,7%) (Figure 57).

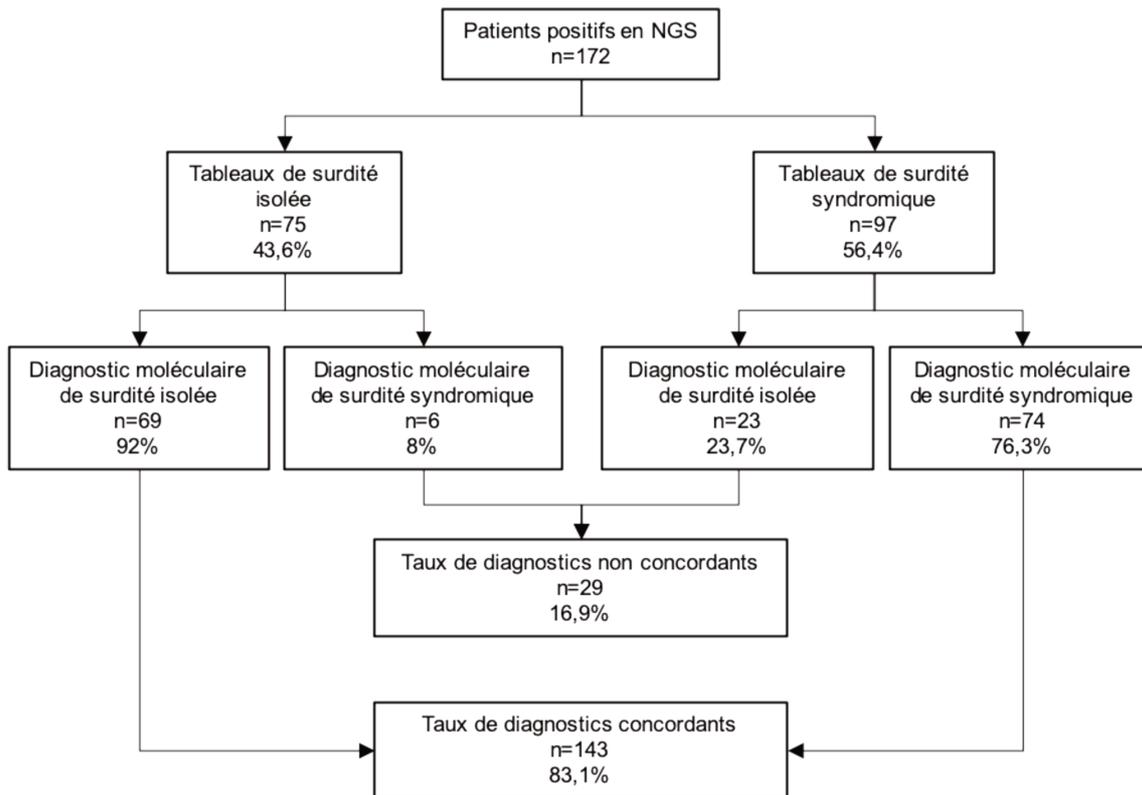


Figure 57 : Diagramme de flux concernant le taux de concordance clinico-biologique des analyses moléculaires en NGS.

## C. Evaluation des antécédents familiaux et de facteurs environnementaux sur les résultats moléculaires

### 1. Impact des antécédents familiaux

La présence de plusieurs cas d'une pathologie rare dans une même famille constitue souvent un argument en faveur d'une étiologie héréditaire. Dans certains cas, la répartition des personnes atteintes sur l'arbre généalogique peut faire suspecter un mode d'hérédité particulier.

Nous avons cherché à déterminer si la présence d'antécédents familiaux de surdité était statistiquement associée à une fréquence plus élevée de résultats moléculaires positifs en NGS, quel que soit le type de tableau clinique des patients. Nous avons donc considéré les 680 patients pour lesquels nous connaissions la présence ou non

d'antécédents familiaux de surdité. Parmi eux, 273 patients avaient au moins un apparenté atteint de surdité et les 407 autres patients étaient des cas sporadiques.

Parmi les patients avec une forme familiale de surdité, 84 étaient porteurs d'un variant de classe 4 ou 5 identifié en NGS (30,8%), 36 étaient porteurs d'un VSI (13,2%) et 153 avaient un résultat négatif (56%). Parmi les cas sporadiques, 84 étaient porteurs d'un variant de classe 4 ou 5 (20,6%), 39 étaient porteurs d'un VSI (9,6%) et 284 avaient un résultat négatif (69,8%).

Antécédents familiaux de surdité	Résultats NGS			Comparaison des taux positifs (p-value)
	nombre de cas négatifs (%)	nombre de cas VSI (%)	nombre de cas positifs (%)	
Présence	153 (56)	36 (13,2)	84 (30,8)	0,0012
Absence	284 (69,8)	39 (9,6%)	84 (20,6)	

Tableau 12 : Evaluation de l'impact de la présence d'antécédents familiaux de surdité sur les résultats des analyses moléculaires NGS. La comparaison statistique des résultats positifs a été effectuée grâce un test du Chi-2 (le seuil de significativité retenu était  $p < 0,05$ ).

Le taux de positivité du panel NGS était significativement plus élevé parmi les patients avec une forme familiale de surdité que parmi les cas sporadiques (30,8% contre 20,6% respectivement ( $p=0,0012$ )) (Tableau 12).

## 2. Impact des facteurs de risques anténataux et néonataux de surdité

Les surdités pré-linguales peuvent être la conséquence de facteurs environnementaux, tels que la prématurité, l'hypoxie néonatale, certaines infections materno-fœtales, l'exposition à des substances ototoxiques.

Nous avons considéré les patients de notre cohorte atteints de surdité pré-linguale et dont les analyses NGS étaient négatives et avons pu déterminer que 13,5% (26 patients) d'entre eux avaient été exposés à un ou plusieurs facteurs de risque de surdité en période néonatale (Tableau 13). Dans ce sous-groupe, 81 patients (42,2%) n'ont été exposés à aucun facteur de risque de surdité. Ces données sont purement indicatives, elles ne nous permettent bien évidemment pas de poser un diagnostic

étiologique. De plus, la proportion importante de données manquantes (44,3%) ne permet pas d'aller plus loin dans l'analyse.

Facteurs de risque de surdité néonatale	Effectif (n)	Pourcentage (%)
Présence	26	13,5
Absence	81	42,2
ND	85	44,3

Tableau 13 : Evaluation du nombre et du taux de patients exposés à des facteurs de risque néonataux de surdité parmi les patients présentant une surdité pré-linguale et avec résultats des analyses NGS négatifs.

## IV. Analyse du groupe des patients atteints de surdité isolée

### A. Performance diagnostique du panel pour les surdités isolées

Le groupe des patients atteints de surdité isolée sur le plan clinique représente 43,9% de notre cohorte (304 patients). Tous ces patients ont bénéficié du séquençage du panel NGS-surdités et 31 patients ont également bénéficié d'analyses mitochondriales.

Parmi les 304 patients, 75 étaient porteurs d'un variant de classe 4 ou 5 identifié par le séquençage du panel, soit un taux diagnostique de 24,7% (Tableau 14). Vingt-neuf patients étaient porteurs d'un VSI (9,5%) et le résultat de l'analyse du panel était normal pour 200 patients (65,8%).

Analyses moléculaires	Résultats	Effectif (n)	Pourcentage (%)
NGS-surdités uniquement (n=304)	positif	75	24,7
	négatif	200	65,8
	VSI	29	9,5
Analyses mitochondriales (n=31)	positif	4	12,9
	négatif	27	87,1
Combinaison des deux analyses moléculaires (n=304)	positif	79	26,0
	négatif	197	64,8
	VSI	28	9,2

Tableau 14 : Résultats des analyses moléculaires pour le groupe des patients atteints de surdité isolée (analyses NGS seules, analyses mitochondriales, combinaison des deux types d'analyses).

Les analyses mitochondriales ont permis d'identifier un variant pathogène chez 4 patients supplémentaires (taux diagnostiques de 12,9%). Trois de ces patients

avaient un résultat d'analyse NGS négatif et le quatrième était porteur d'un VSI (Tableau 14).

Le taux diagnostique global pour les patients atteints de surdité isolée était donc de 26%, ce qui permet un diagnostic moléculaire chez 79 patients (Tableau 14 et Figure 58).

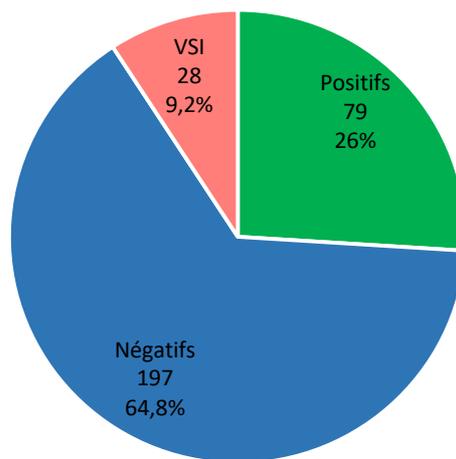


Figure 58 : Résultats des analyses moléculaires (panel NGS et analyses mitochondriales) chez les patients atteints de surdité isolée

### B. Caractéristiques cliniques des patients en fonction des résultats de séquençage

Le tableau 15 détaille les caractéristiques cliniques de tous les patients atteints de surdité isolée en fonction des résultats des analyses moléculaires NGS.

Ces données phénotypiques nous permettent de dégager certains profils cliniques majoritaires parmi les patients positifs (Tableau 15). En effet, les patients positifs présentent une surdité :

- **bilatérale** dans 100% des cas ;
- **perceptionnelle** dans 91,7% des cas (66 patients parmi 72) ;
- **moyenne** dans 53% des cas (35 patients parmi 66, les autres degrés de sévérité ayant des proportions quasiment identiques parmi les patients positifs) ;

- **sans anomalie à l'imagerie des oreilles** dans 88% des cas où les patients ont bénéficié d'une imagerie.

Paramètres	Total (n (%))	Résultats positifs (n (%))	Résultats négatifs (n (%))	VSI (n (%))
<b>Type de surdité</b>				
transmission	10 (3,4)	2 (20)	6 (60)	2 (20)
perception	264 (90,1)	66 (25)	173 (65,5)	25 (9,5)
mixte	19 (6,5)	4 (21,1)	15 (78,9)	0 (0)
ND	11			
<b>Latéralité</b>				
unilatérale	21 (7,2)	0 (0)	19 (90,5)	2 (9,5)
bilatérale	271 (92,8)	73 (27)	173 (63,8)	25 (9,2)
ND	12			
<b>Degré de sévérité de la surdité</b>				
légère	41 (15,8)	9 (22)	28 (68,3)	4 (9,7)
moyenne	115 (44,2)	35 (30,4)	73 (63,5)	7 (6,1)
sévère	47 (18,1)	10 (21,3)	30 (63,8)	7 (14,9)
profonde	57 (21,9)	12 (21,1)	39 (68,4)	6 (10,5)
ND	44			
<b>Mode d'apparition de la surdité</b>				
pré-linguale	128 (48,3)	39 (30,5)	78 (60,9)	11 (8,6)
post-linguale	137 (51,7)	26 (19)	96 (70)	15 (11)
ND	39			
<b>Mode d'évolution</b>				
stable	116 (51,4)	32 (27,6)	79 (68,1)	5 (4,3)
progressive	100 (44,2)	23 (23)	65 (65)	12 (12)
fluctuante	10 (4,4)	2 (20)	5(50)	3 (30)
ND	78			
<b>Aspect des courbes à l'audiogramme</b>				
plates	105 (45,3)	23 (21,9)	72(68,6)	10 (9,5)
prédominant sur les f. graves	14 (6)	1 (7,1)	9 (64,3)	4 (28,6)
prédominant sur les f. moyennes	33 (14,2)	7 (21,2)	24 (72,7)	2 (6,1)
prédominant sur les f. aiguës	80 (34,5)	26 (32,5)	48 (60)	6 (7,5)
ND	72			
<b>Siège des anomalies à l'imagerie</b>				
aucune anomalie	193 (82,8)	51 (26,4)	123 (63,7)	19 (9,9)
oreille moyenne	9 (3,9)	1 (11,1)	7 (77,8)	1 (11,1)
oreille interne	21 (9)	3 (14,2)	17 (80,9)	1 (4,8)
rétrocochléaire	3 (1,3)	0 (0)	3 (100)	0 (0)
dilatation de l'aqueduc du vestibule	5 (2,1)	1 (20)	4 (80)	0 (0)
malformation complexe de l'oreille	2 (0,9)	0 (0)	2 (100)	0 (0)
absence d'imagerie	71			

Tableau 15 : Principales caractéristiques cliniques de surdité des patients atteints de surdité isolée en fonction des résultats des analyses moléculaires NGS. Dans la 1<sup>ère</sup> colonne, les pourcentages sont calculés par rapport à l'ensemble des patients présentant une surdité isolée. Dans les colonnes suivantes, les pourcentages pour chaque caractéristique clinique sont calculés par rapport au nombre de patients partageant la même caractéristique clinique (f. : fréquences).

Les audiogrammes que nous avons recueillis permettent également de montrer que les profils avec **courbe plate** et avec atteinte prédominant sur les **fréquences aiguës**

sont majoritaires parmi les patients positifs (respectivement 40,3% (23 patients parmi 57) et 45,6% (26 patients parmi 57) des patients positifs). Les surdités d'évolutivité fluctuante sont très rares parmi les positifs (2 patients sur 57 (3,5%)) mais les profils stables et progressifs sont présents dans des proportions relativement proches : respectivement 32 patients (56,1%) et 23 patients (40,4%) parmi 57. Il existe une légère prédominance des cas de surdité pré-linguale parmi les positifs (60%) par rapport aux cas de surdité post-linguale (Tableau 15).

La présence de certains paramètres cliniques de surdité entraîne une augmentation du taux diagnostique par rapport à l'ensemble des patients présentant ce paramètre :

- une sévérité moyenne de la surdité (taux diagnostique : 30,4%) ;
- le mode apparition pré-linguale (taux diagnostique : 30,5%) ;
- une atteinte prédominant sur les fréquences aigüe à l'audiogramme (taux diagnostique : 32,5%) ;
- dans une moindre mesure, la stabilité de la surdité dans le temps (taux diagnostique : 27,6%).

La présence d'une surdité isolée unilatérale n'est associée à aucun diagnostic moléculaire positif.

Le taux diagnostique du sous-groupe des surdités de perception isolées est quasiment identique au taux diagnostique parmi l'ensemble des surdités isolées (25%). La présence des autres paramètres dans le cas d'une surdité isolée entraîne une diminution de la probabilité de diagnostic moléculaire positif.

### **C. Gènes identifiés et modes de transmission**

Parmi les patients atteints de surdité cliniquement isolée et pour lesquels un diagnostic moléculaire a pu être établi, tous les modes de transmission sont représentés : autosomique dominant, autosomique récessif, lié à l'X et mitochondrial (Tableau 14).

Les surdités isolées de transmission AR sont majoritaires (54,5% des cas). Les surdités isolées de transmission AD sont fortement représentées dans notre cohorte : elles constituent 39,2% des cas de surdité isolée. Les analyses mitochondriales ont permis de poser un diagnostic moléculaire chez 4 patients, soit 5% des diagnostics moléculaires de surdité isolée. Un seul cas de surdité isolée de transmission liée à l’X a été diagnostiqué par le panel NGS-surdité (1,3%) (Tableau 16).

Mode de transmission	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
Autosomique dominant	31	39,2
Autosomique récessif	43	54,4
Lié à l’X	1	1,3
Mitochondrial	4	5

Tableau 16 : Répartition des cas positifs en fonction du mode de transmission.

Les gènes impliqués dans les cas de surdité cliniquement isolée sont listés dans la figure 59. Le détail des variants identifiés est disponible en Annexe 7.

Vingt-cinq gènes de surdité isolée expliquent 69 des 75 cas de surdité cliniquement isolée pour lesquels un diagnostic moléculaire a été posé par NGS (Figure 59, barres bleues). Le diagnostic moléculaire des 6 autres cas de surdité cliniquement isolée a montré l’implication de gènes de surdité syndromique, nous les détaillerons dans la partie consacrée aux surdités syndromiques. A ces 69 cas s’ajoutent 23 cas de surdité syndromique sur le plan clinique mais dont le diagnostic moléculaire a révélé l’implication de gènes de surdité isolée (Figure 59, barres rouges).

Le gène le plus souvent impliqué est le gène *STRC*, dont les variants bi-alléliques perte de fonction sont responsables de la surdité non syndromique DFNB16 : nous rapportons 11 cas de surdité isolée et 3 cas de surdité syndromique dans notre cohorte. Le second gène le plus fréquemment identifié par le panel NGS-surdités dans notre cohorte est le gène *GJB2* (6 cas de surdité isolée avec variants bi-alléliques et

1 cas de digénisme avec présence d'un variant *en trans* du gène *GJB6*, auxquels s'ajoutent 4 cas de surdité cliniquement syndromique) (Figure 59).

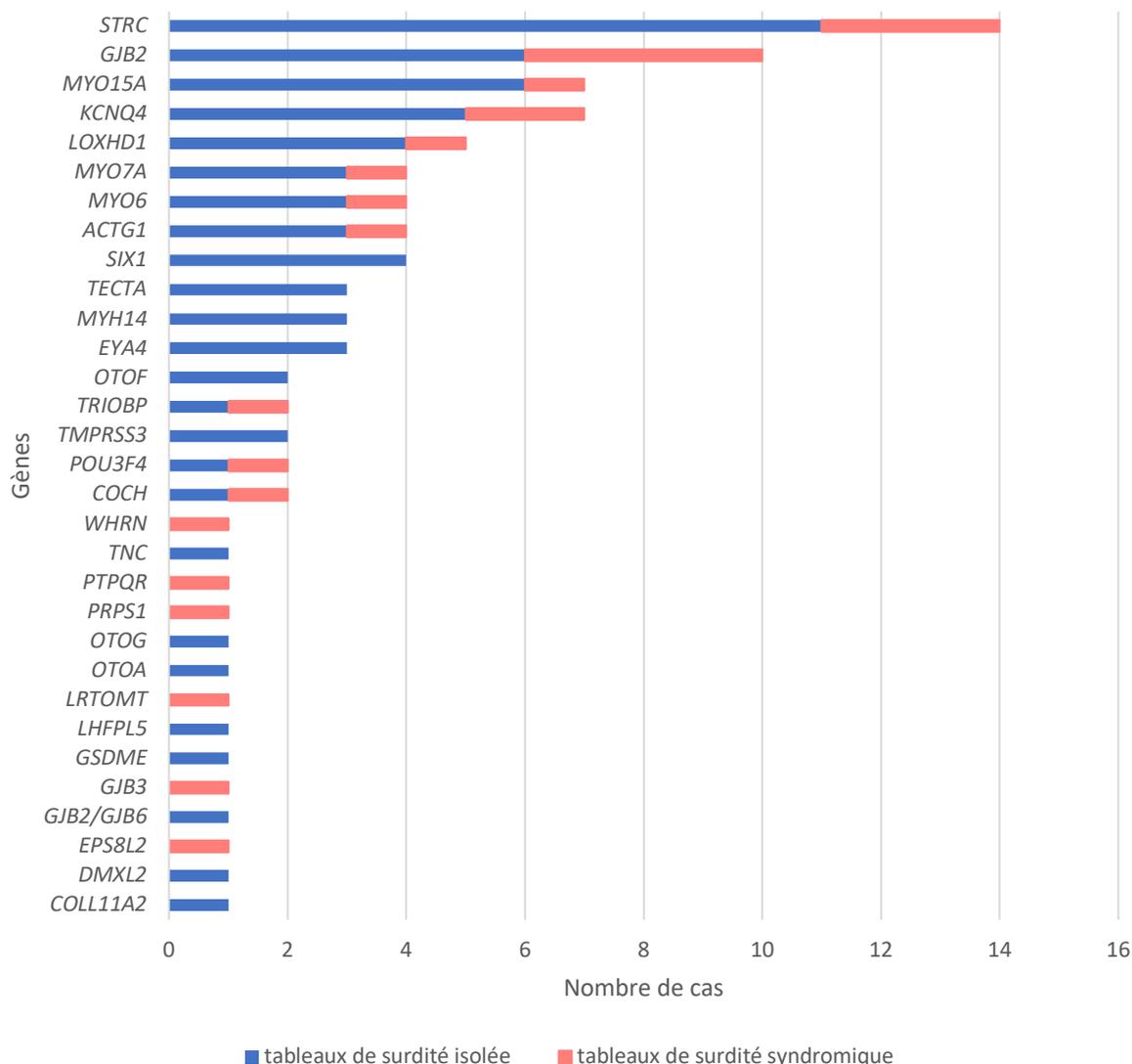


Figure 59 : Gènes de surdité isolée identifiés par séquençage NGS chez des patients présent un tableau clinique de surdité isolée (en bleu) ou un tableau de surdité syndromique (en rouge).

Les autres principaux gènes de surdité isolée de notre cohorte sont les gènes *KCNQ4* (7 patients, dont 2 avec une présentation syndromique) et *MYO15A* (7 patients, dont 1 avec une présentation syndromique). Le gène *LOXHD1* a été identifié à 5 reprises, les gènes *MYO6*, *MYO7A*, *SIX1* et *ACTG1* à 4 reprises, les gènes *TECTA*, *MYH14* et *EYA4* sont responsables de 3 diagnostics chacun. Les autres gènes ont été identifiés à 1 ou 2 reprises (Figure 59).

## V. Analyse du groupe des patients atteints de surdité syndromique

### A. Performance diagnostique du panel pour les surdités syndromiques

Le groupe des patients atteints de surdité syndromique sur le plan clinique représente 56,1% de notre cohorte (388 patients). Tous ces patients ont bénéficié du séquençage du panel NGS-surdités et 29 patients ont également bénéficié d'analyses mitochondriales.

Parmi les 388 patients, 97 étaient porteurs d'un variant de classe 4 ou 5 identifié en NGS, soit un taux diagnostique de 25% (Tableau 17). Quarante-neuf patients étaient porteurs d'un VSI (12,1%) et le résultat de l'analyse du panel était normal pour 244 patients (62,9%).

Les analyses mitochondriales ont permis d'identifier un variant pathogène chez 4 patients supplémentaires (taux diagnostiques de 13,8%). Trois de ces patients avaient un résultat d'analyse NGS négatif et le quatrième était porteur d'un VSI (Tableau 17).

Analyses moléculaires	Résultats	Effectif (n)	Pourcentage (%)
NGS-surdités uniquement (n=388)	positif	97	25,0
	négatif	244	62,9
	VSI	47	12,1
Analyses mitochondriales (n=29)	positif	4	13,8
	négatif	25	86,2
Combinaison des deux analyses moléculaires (n=388)	positif	101	26,0
	négatif	241	62,1
	VSI	46	11,9

Tableau 17 : Résultats des analyses moléculaires pour le groupe de patients atteints de surdité syndromique (analyses NGS seules, analyses mitochondriales, combinaison des deux types d'analyses).

Le taux diagnostique global pour les patients atteints de surdité syndromique était donc de 26%, permettant un diagnostic moléculaire chez 101 patients (Tableau 17 et Figure 60).

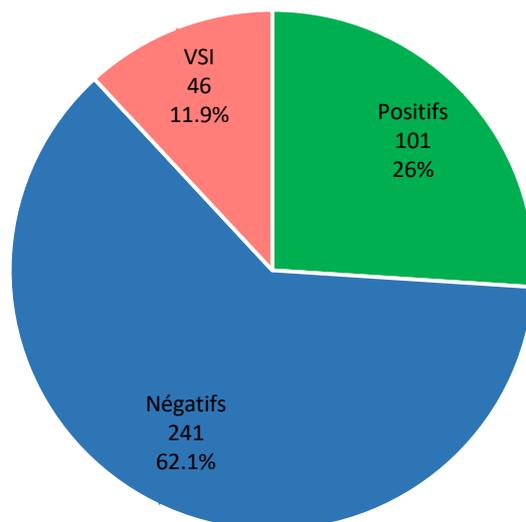


Figure 60 : Résultats des analyses moléculaires (panel NGS et analyses mitochondriales) chez les patients atteints de surdité syndromique

Les différents diagnostics moléculaires effectués grâce au séquençage du panel NGS-surdités sont résumés dans la figure 61. Le détail des variants identifiés est disponible en Annexe 8. Nous avons choisi en amont d'individualiser 7 sous-groupes correspondant aux syndromes d'Usher, BOR, de Pendred, de Waardenburg, de Stickler, d'Alport et CHARGE. Les autres syndromes, *a priori* moins fréquents, sont rassemblés dans un huitième sous-groupe.

Parmi les 97 diagnostics moléculaires effectués en NGS, 74 correspondent effectivement à des étiologies syndromiques.   ces 74 cas s'ajoutent 6 diagnostics moléculaires de surdité syndromique effectués chez des patients présentant des tableaux cliniques de surdité isolée, comme expliqué précédemment (Figure 61).

Le syndrome le plus fréquemment diagnostiqué est ainsi le syndrome d'Usher (20 formes syndromiques et 4 formes cliniquement isolées au moment du diagnostic moléculaire). Les gènes identifiés dans ces 24 cas sont : *USH2A* (17 cas), *MYO7A* (6 cas) et *PCDH15* (1 cas). Onze cas de syndrome de Stickler et de syndrome de Waardenburg ont été diagnostiqués, toujours dans une présentation clinique

syndromique. Viennent ensuite le syndrome BOR (9 cas), le syndrome de Pendred (7 cas), dans une présentation clinique syndromique également. Seulement 3 diagnostics de syndrome d'Alport et 2 diagnostics de syndrome CHARGE ont été portés grâce au panel NGS-surdités entre 2018 et 2020 (Figure 61)

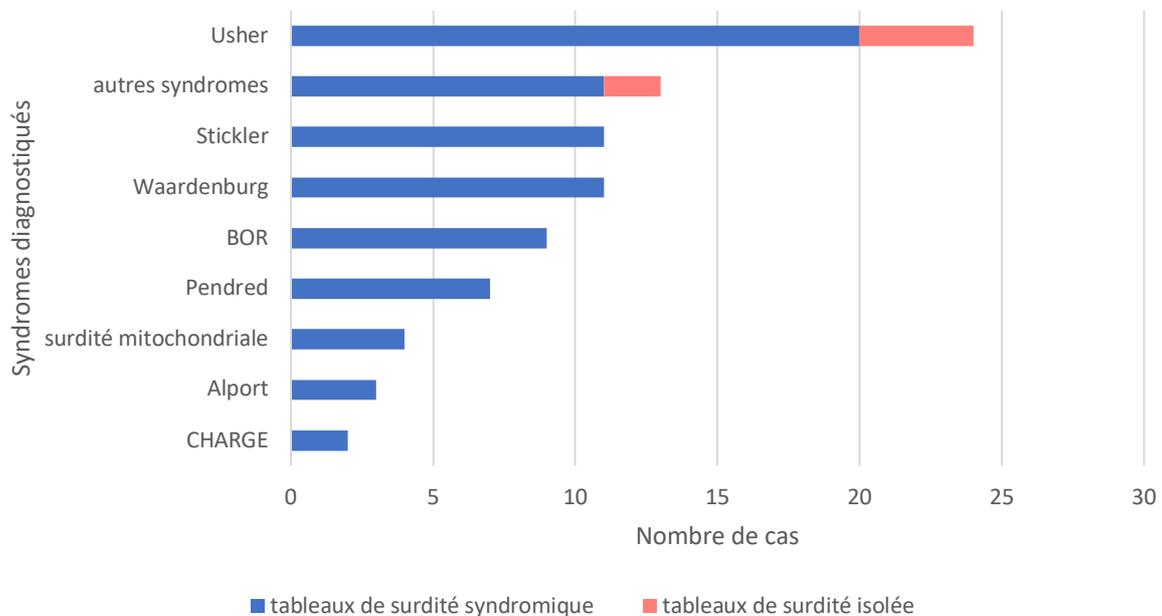


Figure 61 : Syndromes diagnostiqués en biologie moléculaire chez des patients présentant un tableau de surdité syndromique (en bleu) ou un tableau de surdité isolée (en rouge).

Dans la catégorie des « autres syndromes » (n=13), on retrouve :

- 2 cas de syndrome de Kallman (MIM#308700) (gène *KAL1* (MIM#300836)) ;
- 3 cas de syndrome d'hypogonadisme hypogonadotrope avec ou sans anosmie (1 type 4 (MIM#610628) par mutation du gène *PROK2* (MIM#607002) et 2 types 3 (MIM#244200) par mutation du gène *PROKR2* (MIM#607123)) ;
- 2 cas de syndrome de Wolfram (MIM#222300) (gène *WFS1* (MIM#606201)) ;
- 2 cas de syndrome de Perrault (MIM#233400), l'un par mutation du gène *LARS2* (MIM#604544) et l'autre par mutation du gène *HARS2* (MIM#600783) ;
- 1 cas d'hypothyroïdie congénitale type 8 (MIM#301033) par atteinte du gène *TBL1X* (MIM#300196) ;

- 1 cas de syndrome de Duane type2 (MIM#604356), par atteinte du gène *CHN1* (MIM#118423) ;
- 1 cas de syndrome surdité-microtie-microdontie-agénésie de l'OI (MIM#610706) par atteinte du gène *FGF3* (MIM#164950) ;
- 1 syndrome surdité-infertilité masculine par délétion homozygote 15q13.3 emportant les gènes *STRC* et *CATSPER2*.

Comme précisé précédemment, l'analyse NGS chez des patients présentant un tableau clinique de surdité syndromique a permis la mise en évidence de variants de classe 4 ou 5 dans des gènes de surdité isolée pour 23 patients. Parmi eux, 7 présentaient un tableau clinique qui avait orienté le prescripteur vers une hypothèse initiale syndromique (Tableau 18).

N° patient	Hypothèse initiale	Gène identifié en NGS
#24	Syndrome de Waardenburg	<i>GJB2</i>
#132	Syndrome auriculo-condyalaire	<i>GJB3</i>
#148	Syndrome BOR	<i>STRC</i>
#158	Syndrome BOR	<i>GJB2</i>
#308	Syndrome de Brown-Vialetto-Van Laere	<i>LRTOMT</i>
#381	Syndrome de Stickler	<i>PTPQR</i>
#388	Syndrome BOR	<i>COCH</i>

Tableau 18 : Patients présentant des tableaux de surdité syndromique pour lesquels une hypothèse étiologique avait été émise par le prescripteur et gènes de surdité isolée dans lesquels le variant causal a été finalement identifié en NGS.

## B. Caractéristiques de la surdité des patients syndromiques

Dans cette partie, nous essaierons de dégager les profils de surdité majoritaires pour les principales formes syndromiques de surdité. Ces données sont résumées dans le Tableau 19.

Tout d'abord, concernant le syndrome d'Usher, nous avons intégré à nos statistiques les caractéristiques de surdité des 4 patients présentant une forme non

syndromique. Les caractéristiques de surdité de ces 24 patients sont donc : une atteinte perceptionnelle et bilatérale pour tous les patients, de sévérité moyenne dans la majorité des cas (63,2%), parfois sévère (10,5%) ou profonde (26,3%) mais jamais légère. Il n'y a pas de profil nettement prédominant concernant les audiogrammes. La surdité peut être pré- ou post-linguale, stable ou progressive. L'imagerie est normale dans la grande majorité des cas (88,9%). Signalons un cas de dilatation des aqueducs vestibulaires. Deux patients présentaient une atteinte vestibulaire. Il s'agissait de 2 patients très jeunes atteints de syndrome d'Usher de type 1B (*MYO7A*).

Huit patients sur 9 atteints de syndrome BOR présentent une surdité. Parmi eux, les caractéristiques majoritaires de surdité sont : une atteinte perceptionnelle constante, bilatérale dans 71,4% des cas, sans atteinte vestibulaire associée. Nous ne rapportons pas de cas de surdité profonde ni légère dans le syndrome BOR, elle est de sévérité moyenne dans 57,1% des cas et sévère dans 42,9% des cas. On note une légère prédominance pour les cas de surdité pré-linguale (57,1% contre 42,9%) et les cas de surdité stable (60% contre 40%). Tous les profils d'audiogramme ont été rapportés au moins une fois. L'imagerie est normale dans la moitié des cas et révèle des anomalies complexes de l'oreille, touchant l'oreille interne et au moins un autre segment, dans l'autre moitié des cas.

	Unité	Syndromes diagnostiqués						
		Usher	BOR	Pendred	Waardenburg	Stickler	Alport	CHARGE
<b>Nombre de cas diagnostiqués</b>	n	24	9	7	11	11	3	2
avec surdité	n (%)	24 (100)	8 (88,9)	7 (100)	9 (81,8)	7 (63,6)	3 (100)	2 (100)
sans surdité	n (%)	0	1 (11,1)	0	2 (18,2)	4 (36,4)	0	0
<b>Paramètres de surdités</b>								
<b>Type de surdité</b>								
transmission	n (%)	0	0	0	0	1 (16,7)	0	0
perception	n (%)	22 (100)	7 (100)	6 (85,7)	8 (100)	4 (66,7)	0	1 (50)
mixte	n (%)	0	0	1 (14,3)	0	1 (16,7)	2 (66,7)	1 (50)
ND	n	2	1	0	1	1	1	0
<b>Latéralité</b>								
unilatérale	n (%)	0	2 (28,6)	0	3 (42,9)	0	1 (50)	0
bilatérale	n (%)	20 (100)	5 (71,4)	4 (100)	4 (54,1)	6 (100)	1 (50)	2 (100)
ND	n	4	1	3	2	1	1	0
<b>Degré de sévérité de la surdité</b>								
légère	n (%)	0	0	0	0	1 (16,7)	1 (50)	0
moyenne	n (%)	12 (63,2)	4 (57,1)	0	1 (14,3)	3 (50)	1 (50)	1 (50)
sévère	n (%)	2 (10,5)	3 (42,9)	2 (33,3)	0	1 (16,7)	0	0
profonde	n (%)	5 (26,3)	0	4 (66,7)	6 (85,7)	1 (16,7)	0	2 (50)
ND	n	5	1	1	2	1	1	0
<b>Mode d'apparition de la surdité</b>								
pré-linguale	n (%)	13 (59,1)	4 (57,1)	7 (100)	5 (71,4)	4 (66,7)	0	2 (100)
post-linguale	n (%)	9 (40,9)	3 (42,9)	0	2 (28,6)	2 (33,3)	2 (100)	0
ND	n	2	1	0	2	1	1	0
<b>Mode d'évolution</b>								
stable	n (%)	5 (55,6)	3 (60)	2 (40)	4 (80)	5 (100)	1 (50)	2 (100)
progressive	n (%)	4 (44,4)	2 (40)	3 (60)	1 (20)	0	1 (50)	0
fluctuante	n (%)	0	0	0	0	0	0	0
ND	n	15	3	2	4	2	1	0
<b>Signes vestibulaires</b>								
présence	n (%)	2 (12,5)	0	0	0	0	0	1 (50)
absence	n (%)	14 (87,5)	5 (100)	7 (100)	7 (100)	6 (100)	2 (100)	1 (50)
ND	n	8	3	0	2	1	1	0
<b>Aspect des courbes à l'audiogramme</b>								
plates	n (%)	5 (50)	2 (40)	2 (50)	4 (66,7)	2 (40)	1 (50)	1 (50)
prédominant sur les f. graves	n (%)	1 (10)	1 (20)	0	1 (16,7)	0	0	1 (50)
prédominant sur les f. moyennes	n (%)	0	1 (20)	0	0	2 (40)	0	0
prédominant sur les f. aiguës	n (%)	4 (40)	1 (20)	2 (50)	1 (16,7)	1 (20)	1 (50)	0
ND	n	14	3	3	3	2	1	0
<b>Siège des anomalies à l'imagerie des oreilles</b>								
aucune anomalie	n (%)	8 (88,9)	2 (50)	1 (14,3)	4 (80)	3 (75)	0	0
oreille moyenne	n (%)	0	0	0	0	0	1 (50)	0
oreille interne	n (%)	0	0	0	1 (20)	1 (25)	0	0
dilatation de l'aqueduc du vestibule	n (%)	1 (11,1)	0	6 (85,7)	0	0	0	1 (50)
agénésie des CSC	n (%)	0	0	0	0	0	0	0
malformation complexe de l'oreille	n (%)	0	2 (50)	0	0	0	1 (50)	1 (50)
absence d'imagerie	n	15	4	0	4	3	2	0

Tableau 19 : Caractéristiques de la surdité en fonction des principaux syndromes diagnostiqués parmi les patients présentant une surdité syndromique (f. : fréquences ; CSC : canaux semi-circulaires).

Les patients de notre cohorte atteints de syndrome de Pendred présentent une surdité constamment bilatérale, perceptionnelle dans 85,7% des cas (1 cas de surdité mixte), d'intensité sévère (33,3%) à profonde (66,7%), pré-linguale dans tous les cas, sans signe vestibulaire. Le profil évolutif est légèrement plus souvent progressif (60% contre 40%). Les courbes d'audiogrammes peuvent être plates ou montrer une prédominance sur les fréquences aiguës. L'imagerie montre dans la très grande majorité des cas une dilatation des aqueducs vestibulaires (85,7%), qui est un des signes majeurs du syndrome de Pendred.

Parmi les 11 patients atteints de syndrome de Waardenburg dans notre cohorte, 2 ne présentent pas de surdité. Parmi les 9 autres patients, il s'agit constamment d'une surdité de perception, profonde dans 85,7% des cas (1 cas de surdité moyenne, pas de surdité légère ni sévère), le plus souvent pré-linguale (71,4%) et stable (80%). La surdité peut être uni- ou bilatérale. Il n'y a pas de profil d'audiogramme prépondérant. L'imagerie, lorsqu'elle est réalisée, est souvent normale (80%) mais peut montrer des anomalies non spécifiques de l'oreille interne.

Parmi les 11 patients atteints de syndrome de Stickler dans notre cohorte, 4 ne présentent pas de surdité. Parmi les 7 autres patients, la surdité est constamment bilatérale, perceptionnelle dans la majorité des cas (66,7%, bien que tous les types de surdités soient rapportés au moins une fois), de sévérité moyenne dans la moitié des cas mais tous les degrés de sévérité sont rapportés, d'apparition pré-linguale dans la majorité des cas (66,7%), constamment stable. Il n'y a pas de profil d'audiogramme prépondérant. L'imagerie, lorsqu'elle est réalisée, est souvent normale (75%) mais peut montrer des anomalies non spécifiques de l'oreille interne.

Les cas de syndromes d'Alport (n=3) et CHARGE (n=2) sont trop peu nombreux dans notre cohorte pour que les pourcentages aient réellement un sens. Néanmoins, signalons tout de même que nos cas de syndrome d'Alport présentent des surdités mixtes, post-linguales, de sévérité légère ou modérée. Concernant les 2 cas de syndrome CHARGE, la surdité a toujours une composante perceptionnelle (1 cas de surdité de perception et 1 cas de surdité mixte), elle est bilatérale, pré-linguale et stable. La sévérité est variable. De manière intéressante, il n'y a pas de cas d'agénésie des canaux semi-circulaires à l'imagerie, on rapporte un cas de malformation complexe de l'oreille mais non spécifique et un cas de dilatation des aqueducs vestibulaires.

### **C. Signes associés**

Nous allons détailler dans cette partie les tableaux cliniques que présentent les patients syndromiques positifs. Nous nous intéresserons tout d'abord aux atteintes spécifiques d'organes, puis aux atteintes neuro-développementales et aux anomalies de croissance. Nous traiterons les mêmes sous-groupes que dans la partie précédente. Les données sont résumées dans le tableau 20.

#### **1. Atteintes spécifiques d'organes**

Concernant le syndrome d'Usher, rappelons que 4 diagnostics de ce syndrome ont été portés chez des patients sans signes associés (sur 24 cas au total). Les statistiques suivantes concernent uniquement les 20 formes syndromiques de syndrome d'Usher de notre cohorte. Le seul signe réellement prédominant est la présence d'anomalies du fond d'œil à type de rétinite pigmentaire (13 patients sur 15 avec données disponibles (86.7%)). Certains signes inhabituels pour le syndrome d'Usher sont rencontrés chez nos patients : un cas avec myopie sévère et reflux vésico-urétéral, un cas présentant une lchette bifide et un ptosis bilatéral congénital, un cas avec une

hypothyroïdie, un cas avec dysthyroïdie sur goitre hétéronodulaire, un cas de rétrécissement urétéral et anomalies des membres, un cas de cataracte précoce bilatérale associée à la rétinite pigmentaire, un autre cas de malformation rénale non précisée et un cas d'hypoplasie des phalanges distales des 5<sup>èmes</sup> doigts.

Chez les patients atteints de syndrome BOR, les anomalies branchiales sont les signes associés les plus fréquents (87,5% des cas documentés). Les pavillons sont dysplasiques dans 3 cas (37,5% des cas documentés). Trois cas sur 7 documentés présentent des malformations rénales (42,9%) (dilatation pyélo-calicielle, hypoplasie et malrotation rénale unilatérale et un cas sans précision sur la malformation). Signalons un cas de cardiomyopathie dilatée et un cas de cataracte congénitale.

Les 7 patients atteints de syndrome de Pendred dans notre cohorte présentent une dilatation des aqueducs vestibulaires dans 6 cas sur 7 documentés (85,7%). En revanche, l'atteinte thyroïdienne est moins fréquente (3 cas sur 5 documentés (60%)). Il s'agissait d'un goitre dans 2 des cas, dont 1 avec hypothyroïdie, quant au dernier cas, le type de dysthyroïdie n'était pas précisé. On notera, comme signe atypique, un cas présentant une hématurie.

Les cas de syndrome de Waardenburg de notre cohorte ont des présentations cliniques assez homogènes : les anomalies de pigmentation sont présentes chez 9 cas (81,8%), tout comme les particularités morphotypiques évocatrices, et des troubles de la pigmentation cutanée et des phanères sont présents chez 8 patients (72,7%). Tous les patients présentent au moins un de ces 3 signes, et la triade clinique est présente chez 5 d'entre eux (45,5%). Parmi les signes atypiques, on rapporte 1 cas de pavillons dysplasiques, 1 cas d'hématurie et 1 cas d'ectasie pyélique unilatérale.

Signes associés	Modalités	Unité	Syndromes identifiés						
			Usher n=20	BOR n=9	Pendred n=7	Waardenburg n=11	Stickler n=11	Alport n=3	CHARGE n=2
Dilatation des aqueducs vestibulaires	présence	n (%)	1 (16,7)	0	6 (85,7)	0	0	0	1 (50)
	absence	n (%)	5 (85,3)	4 (100)	1 (14,3)	5 (100)	4 (100)	2 (100)	1 (50)
	ND	n	14	5	0	6	7	1	0
Anomalies des pavillons	présence	n (%)	3 (17,6)	3 (37,5)	0 (0,0)	1 (9,1)	0	0	1 (50)
	absence	n (%)	14 (82,5)	5 (67,5)	7 (100)	10 (90,9)	11 (100)	3 (100)	1 (50)
	ND	n	3	1	0	0	0	0	0
Signes branchiaux	présence	n (%)	0	7 (87,5)	0	0	0	2 (66,7)	1 (50)
	absence	n (%)	16 (100)	1 (12,5)	7 (100)	11 (100)	11 (100)	1 (33,3)	1 (50)
	ND	n	4	1	0	0	0	0	0
Fente labio-palatine	présence	n (%)	1 (6,7)	0	0	0	4 (36,4)	0	1 (50)
	absence	n (%)	15 (93,3)	8 (100)	7 (100)	10 (100)	7 (63,6)	3 (100)	1 (50)
	ND	n	4	1	0	0	0	0	0
Éléments dysmorphiques	présence	n (%)	3 (27,3)	1 (12,5)	0	9 (81,8)	5 (45,5)	1 (33,3)	0
	absence	n (%)	8 (72,7)	7 (87,5)	6 (100)	2 (18,2)	6 (54,5)	2 (66,7)	2 (100)
	ND	n	9	1	1	0	0	0	0
Myopie sévère	présence	n (%)	1 (7,7)	0	0	0	5 (50)	0	0
	absence	n (%)	12 (92,3)	5 (100)	2 (100)	6 (100)	5 (50)	2 (100)	2 (100)
	ND	n	7	4	5	5	1	1	0
Malformations ophtalmologiques	présence	n (%)	2 (14,3)	1 (20)	0	0	3 (30)	0	0
	absence	n (%)	12 (85,7)	4 (80)	2 (100)	6 (100)	7 (70)	2 (100)	2 (100)
	ND	n	6	4	5	5	1	1	0
Anomalies au FO	présence	n (%)	13 (86,7)	0	0	0	2 (20)	0	0
	absence	n (%)	2 (13,3)	5 (100)	3 (100)	5 (100)	8 (80)	2 (100)	2 (100)
	ND	n	5	4	4	6	1	1	0
Malformations uro-néphrologiques	présence	n (%)	3 (60)	3 (42,9)	0	1 (20)	0	1 (100)	2 (100)
	absence	n (%)	2 (40)	4 (57,1)	3 (100)	4 (80)	7 (100)	0	0
	ND	n	15	2	4	6	4	2	0
Protéinurie / hématurie	présence	n (%)	0	0	1 (25)	1 (33,3)	0	2 (100)	0
	absence	n (%)	3 (100)	3 (100)	3 (75)	2 (66,7)	7 (100)	0	1 (100)
	ND	n	17	6	3	8	4	1	1
Cardiopathie	présence	n (%)	0	1 (25)	0	0	1 (12,5)	0	2 (100)
	absence	n (%)	3 (100)	3 (75)	4 (100)	5 (100)	7 (87,5)	1 (100)	0
	ND	n	17	5	3	6	3	2	0
Anomalies à l'ECG	présence	n (%)	0	0	0	0	0	0	0
	absence	n (%)	3 (100)	2 (100)	4 (100)	4 (100)	8 (100)	1 (100)	1 (100)
	ND	n	17	7	3	7	3	2	1
Troubles de la pigmentation cutanée et des phanères	présence	n (%)	0	0	0	8 (72,7)	0	0	0
	absence	n (%)	10 (100)	9 (100)	7 (100)	3 (27,3)	10 (100)	3 (100)	2 (100)
	ND	n	10	0	0	0	1	0	0
Troubles de la pigmentation irienne	présence	n (%)	0	0	0	9 (81,8)	0	0	0
	absence	n (%)	19 (100)	8 (100)	7 (100)	2 (18,2)	11 (100)	3 (100)	2 (100)
	ND	n	1	1	0	0	0	0	0
Anomalies des membres	présence	n (%)	1 (9,1)	0	0	0	0	0	0
	absence	n (%)	10 (90,9)	8 (100)	7 (100)	11 (100)	10 (100)	3 (100)	2 (100)
	ND	n	11	1	0	1	1	0	0
Diabète	présence	n (%)	0	0	0	0	0	0	0
	absence	n (%)	2 (100)	0	0	0	0	0	0
	ND	n	18	9	7	11	11	3	2
Atteinte thyroïdienne	présence	n (%)	2 (66,7)	0	3 (60)	0	0	0	0
	absence	n (%)	1 (33,3)	0	2 (40)	0	0	0	0
	ND	n	17	9	2	11	13	3	2

Tableau 20 : Signes associés à type d'atteinte spécifique d'organe en fonction des principaux syndromes diagnostiqués parmi les patients présentant une surdité syndromique.

Concernant les cas de syndromes de Stickler, le signe le plus fréquent est la myopie sévère, qui n'était présente toutefois que dans 50% des cas documentés (5 patients). Cette myopie peut être compliquée de décollements de rétine (3 cas), d'anomalies du fond d'œil à type de palissades (1 cas) et/ou de signes de dégénérescence vitrénne (2 cas). La fente palatine est présente dans 4 cas (46,4%) au sein d'une séquence de Pierre-Robin, qui est incomplète dans 2 cas (fente palatine et rétrognathisme mais sans notion de glossoptose) ou présente dans une forme minime dans 1 cas (luette bifide et rétrognathisme). A signaler un cas de cardiopathie complexe chez un des patients, avec une myopie mais sans séquence de Pierre-Robin.

Parmi les 3 cas de syndrome d'Alport de notre cohorte, 2 présentaient des signes branchiaux. Un seul patient présentait une malformation rénale (syndrome de jonction pyélo-urétérale bilatéral), mais il était le seul à avoir bénéficié d'une échographie rénale à notre connaissance. Les deux patients ayant bénéficié d'une BU présentaient une protéinurie et une hématurie macroscopique pour l'un et une hématurie sans protéinurie pour l'autre.

Le premier cas de syndrome CHARGE présentait l'association d'une malformation des osselets, une malformation vestibulaire, un syndrome de jonction pyélo-urétéral et une bicuspidie aortique. Cette patiente était également porteuse d'un syndrome de Turner homogène. Le second patient atteint de syndrome CHARGE présentait une malformation complexe de l'oreille interne (mais sans agénésie des canaux semi-circulaires et avec une dilatation des aqueducs vestibulaires), des oreilles dysplasiques évocatrices de syndrome CHARGE, une fistule pré-hélicéenne, une agénésie rénale unilatérale, une CIA, un canal artériel persistant. Les cardiopathies sont donc présentes chez les deux patients. En revanche, nous ne rapportons pas de colobome, pas d'agénésie des canaux semi-circulaires ni d'atrésie des choanes.

## 2. Atteintes neuro-développementales et anomalies de croissance

Un certain nombre de patients de notre cohorte étaient atteints de troubles neuro-développementaux de sévérité variable, d'épilepsie ou encore d'anomalie de croissance (prénatale et/ou postnatale). Ces atteintes peuvent se rencontrer dans de nombreuses pathologies génétiques, il était donc impossible de ne pas les comptabiliser comme signes associés au moment de notre recueil de données. Néanmoins, ces signes sont rarement évocateurs en eux-mêmes d'un syndrome avec surdité et nous avons choisi de les classer dans une catégorie particulière de signes associés. Le tableau 21 résume les atteintes neuro-développementales et les anomalies de croissance chez les patients atteints d'un des 7 syndromes décrits dans les parties précédentes.

Un retard de développement psycho-moteur était noté chez le seul patient atteint de syndrome CHARGE pour lequel ces informations ont pu être documentées, ce patient présentait également une d ficiance intellectuelle et une hypoplasie du corps calleux.

Un retard de développement psychomoteur était également noté chez 2 cas de syndrome d'Usher (sur 4 documentés), mais on ne retrouve pas pour ces patients d'évolution vers la d ficiance intellectuelle.

Aucun des patients atteints de syndrome BOR n'a présenté de difficulté développementale ni neurologique.

Trois cas de syndrome de Waardenburg présentaient des difficultés cognitives (dont un cas de d ficiance intellectuelle) et des troubles du comportement. L'un d'entre eux présentait également une épilepsie. Le syndrome de Waardenburg était secondaire à un variant dans le gène *SOX10* pour 2 patients et dans le gène *PAX3* pour un patient.

<	Modalités	Unité	Syndromes identifiés						
			Usher N=20	BOR N=9	Pendred N=7	Waardenburg N=11	Stickler N=11	Alport N=3	CHARGE N=2
Développement psycho-moteur	anormal	n (%)	2 (50)	0	1 (25)	0	2 (25)	0	1 (100)
	normal	n (%)	2 (50)	4 (100)	3 (75)	5 (100)	6 (75)	0	0
	ND	n	16	5	3	6	3	3	1
Difficultés cognitives	présence	n (%)	0	0	0	3 (60)	1 (20)	1 (33,3)	1 (100)
	absence	n (%)	4 (100)	2 (100)	0	2 (40)	4 (80)	2 (66,7)	0
	ND	n	14	6	6	5	4	0	0
	NA	n	2	1	1	1	2	0	1
Troubles du comportement	présence	n (%)	0	0	0	3 (27,3)	1 (10)	0	0
	absence	n (%)	13 (100)	7 (100)	7 (100)	8 (72,7)	9 (90)	3 (100)	2 (100)
	ND	n	7	2	0	0	1	0	0
Epilepsie	présence	n (%)	0	0	0	1 (9,1)	0	0	0
	absence	n (%)	13 (100)	7 (100)	7 (100)	10 (90,9)	10 (100)	3 (100)	2 (100)
	ND	n	7	2	0	0	1	0	0
Autres signes neurologiques	présence	n (%)	2 (14,3)	1 (12,5)	0	1 (9,1)	2 (20)	0	0
	absence	n (%)	12 (85,7)	7 (87,5)	7 (100)	10 (90,9)	8 (80)	3 (100)	2 (100)
	ND	n (%)	6	1	0	0	2	0	0
IRM cérébrale	anormale	n(%)	0	0	0	1 (50)	0	0	1 (100)
	normale	n(%)	3 (100)	0	2 (100)	1 (50)	0	0	0
	ND	n	17	9	5	9	11	3	1
RCIU	oui	n (%)	1 (20)	1 (33,3)	0	0	0	0	1 (50)
	non	n (%)	4 (80)	2 (66,7)	4 (100)	4 (100)	6 (100)	2 (100)	1 (50)
	ND	n	15	6	3	7	5	1	0
Croissance post-natale	retard	n (%)	0	1 (33,3)	0	1 (20)	1 (14,3)	0	0
	avance	n (%)	0	0	0	0	1 (14,3)	0	0
	normale	n (%)	4 (100)	2 (6,7)	2 (100)	4 (80)	5 (71,4)	2 (100)	2 (100)
	ND	n	16	6	5	6	4	1	0

Tableau 21 : Signes associés à type d'anomalies neuro-développementales et de croissance en fonction des principaux syndromes diagnostiqués parmi les patients présentant une surdité syndromique.

Deux patients atteints de syndrome de Stickler ont présenté un retard de développement psychomoteur, dont un avec difficultés cognitives et troubles du comportement. Pour ces patients, les gènes en cause étaient *COL9A1* et *COL11A1*.

Un cas de syndrome d'Alport, dû au gène *COL4A4*, a présenté des difficultés cognitives, sans autre anomalie associée.

Un cas de syndrome BOR présente un retard de croissance pré- et post-natal. On note également un RCIU chez un cas de syndrome de Waardenburg et un cas de syndrome de Stickler. Un cas de syndrome de Waardenburg et un cas de syndrome

de Stickler présentent un retard de croissance post-natal, tandis qu'une avance staturale est notée chez un cas de syndrome de Stickler. Un cas de syndrome CHARGE est né avec un RCIU.

#### **D. Corrélation entre la présentation clinique et les résultats moléculaires**

Notre groupe de patients atteints de formes syndromiques de surdité est hétérogène sur le plan clinique (15 syndromes différents diagnostiqués) et sur le plan moléculaire (27 gènes différents identifiés pour les formes de surdités syndromiques). Le nombre de patients pour chaque gène identifié en NGS est donc trop faible pour effectuer une analyse de corrélation génotype-phénotype.

L'objectif secondaire de ce travail était néanmoins de comparer les données moléculaires aux données cliniques des patients afin d'en tirer des indications pour le clinicien prescripteur d'analyses moléculaires dans le cadre diagnostique des surdités héréditaires.

Nous avons donc tenté d'évaluer les points suivants :

- L'impact de la présence d'une hypothèse étiologique émise par le clinicien sur l'issue des analyses moléculaires ;
- La valeur prédictive positive (VPP) et la spécificité de certains signes ou associations de signes évocateurs d'un diagnostic précis ;
- L'impact du nombre de signes associés à la surdité sur le résultat moléculaire.

##### **1. Importance de l'hypothèse étiologique**

La première question à laquelle nous avons tenté de répondre en confrontant les données de notre recueil avec les données moléculaires est la suivante : les analyses moléculaires sont-elles significativement plus souvent positives lorsque le clinicien

émet une hypothèse étiologique en amont de l'analyse, c'est-à-dire lorsque le tableau clinique du patient est évocateur d'une étiologique génétique précise ?

Nous avons donc collecté pour chaque dossier la présence ou non d'une hypothèse étiologique émise par le prescripteur en amont des analyses moléculaires. Sur les 388 patients classés dans le groupe des surdités syndromiques, une hypothèse avait été émise par le clinicien pour 205 d'entre eux (52,8%), il y avait donc 183 patients pour lesquels le tableau clinique n'était pas évocateur d'un syndrome génétique particulier (47,2%). Dans le sous-groupe des patients avec hypothèse étiologique, le taux diagnostique du panel NGS est de 30,7% (63 analyses positives), ce qui est significativement supérieur au taux diagnostique du sous-groupe de patients sans hypothèse étiologique (18,6%, soit 34 analyses positives) (Tableau 22).

Hypothèse étiologique	Total (n)	Résultats moléculaires		p-value
		Positif (n (%))	Négatif ou VSI (n (%))	
présence	205	63 (30,7)	142 (69,3)	0,006
absence	183	34 (18,6)	125 (68,3)	

Tableau 22 : Impact de la présence d'une hypothèse étiologique sur le taux diagnostique du panel NGS-surdités parmi l'ensemble des patients présentant une surdité syndromique (test du Chi-deux, seuil de significativité  $p < 0,05$ ).

Nous avons ensuite cherché à déterminer si cette tendance globale se confirmait pour chacun des 7 grands syndromes auxquels nous nous sommes intéressés précédemment. Nous avons donc constitué des sous-groupes en fonction de l'hypothèse étiologique émise par le prescripteur et calculé le taux de confirmation diagnostique pour chaque sous-groupe (Tableau 23).

Dans les syndromes d'Usher, de Waardenburg et de Stickler, l'hypothèse du prescripteur est confirmée respectivement dans 50%, 47,6% et 40% des cas.

Hypothèse étiologique	Patients (n)	Diagnostics concordants (n (%))	Négatifs (n (%))	VSI (n (%))	Autres diagnostics (n (%))	Diagnostics identiques sans hypothèse initiale (n)
Usher	24	12 (50)	7 (29,2)	4 (16,7)	1 (7,1)	8
BOR	35	6 (17,1)	20 (57,2)	4 (11,4)	5 (14,3)	2
Pendred	34	7 (20,6)	25 (73,5)	2 (5,9)	0	0
Waardenburg	21	10 (47,6)	9 (42,8)	0	2 (9,6)	1
Stickler	20	8 (40)	7 (35)	4 (20)	1 (5)	3
Alport	13	2 (15,4)	8 (61,5)	3 (23,1)	0	1
CHARGE	10	1 (10)	7 (70)	2 (20)	0	1

Tableau 23 : Taux de concordance entre l'hypothèse étiologique émise par le clinicien et le diagnostic moléculaire pour les principaux syndromes diagnostiqués.

En revanche, les hypothèses étiologiques des prescripteurs des syndromes BOR, de Pendred, d'Alport et CHARGE ne sont confirmées par la biologie moléculaire que dans 14,3%, 20,6% 15,4% et 10% respectivement.

## 2. Valeur prédictive positive et spécificité des présentations syndromiques

En pratique clinique, la présence de certains signes cliniques associés ou d'associations de signes permet au clinicien d'orienter son diagnostic étiologique.

A partir des données moléculaires de notre cohorte, nous avons calculé la valeur prédictive positive (VPP) et la spécificité (Sp) de certains signes cliniques et associations de signes pour les syndromes auxquels ils sont classiquement associés. Nous avons ainsi souhaité déterminer si la présence de certains signes à l'examen clinique permettait d'espérer une augmentation de la probabilité de résultats moléculaires positifs.

Nous nous sommes intéressés aux signes suivants :

- La rétine pigmentaire pour le syndrome d'Usher
- Les signes branchiaux et les malformations rénales pour le syndrome BOR ;
- La dilatation des aqueducs vestibulaires et les atteintes thyroïdiennes pour le syndrome de Pendred ;
- Les anomalies de pigmentation irienne et de pigmentation cutanée dans le syndrome de Waardenburg ;

- La myopie sévère et la fente labio-palatine dans le syndrome de Stickler.

Nous n'avons pas considéré les syndromes d'Alport et CHARGE dans cette analyse étant donné le faible nombre de patients atteints de ces syndromes. Les données sont résumées dans le tableau 24.

Certains signes associés ont une VPP, pour le syndrome auquel ils sont associés, plus élevée que le taux diagnostique de l'ensemble du groupe des surdités syndromiques et apportent donc une plus-value dans la démarche diagnostique. On peut ainsi noter que :

- Le syndrome d'Usher est diagnostiqué chez 27,08% des patients présentant une rétinite pigmentaire ;
- L'association d'une atteinte thyroïdienne et d'une dilatation des aqueducs vestibulaires est dans 50% des cas associée à un diagnostic moléculaire de syndrome de Pendred ;
- L'association d'une myopie sévère et d'une fente labio-palatine est dans 50% des cas associée à un diagnostic moléculaire de syndrome de Stickler.

Les signes évocateurs du syndrome de Waardenburg ont la VPP la plus élevée : le diagnostic moléculaire est posé chez 38,1% des patients présentant des troubles de la pigmentation cutanée et des phanères, chez 56,25% des patients présentant des troubles de la pigmentation irienne. Lorsque ces 2 types de signes sont présents, le diagnostic est confirmé dans 77,78% des cas. Enfin, l'association de troubles de la pigmentation irienne, cutanée, des phanères et de particularités morphologiques évocatrices (dystopie des canthi) permet un diagnostic moléculaire de syndrome de Waardenburg dans 100% des cas.

En revanche, certains signes n'apportent pas d'augmentation du taux diagnostique pour le syndrome qu'ils sont censés évoquer. C'est notamment le cas :

- Des signes branchiaux (VPP=17,7%), des malformations uro-néphrologiques au sens large (VPP=7,0%) ou même de l'association de ces 2 types de signes (VPP=20%) pour le diagnostic de syndrome BOR ;
- De la dilatation isolée des aqueducs vestibulaires pour le diagnostic de syndrome de Pendred (VPP=11,54%) ;
- De la fente labio-palatine (dans le cadre d'une séquence de Pierre-Robin ou non) sans myopie sévère associée pour le diagnostic de syndrome de Stickler (VPP=33,3%).

- Signes associés	Patients porteurs des signes (n)	Patients porteurs des signes et atteints du syndrome suivant (n)	VPP (%)	Sp (%)	Se (%)
Usher					
Anomalie du FO	48	13	27,08	83,3	86,7
BOR					
Signes branchiaux	45	6	17,7	89,5	100
Malformations uro-néphrologiques	43	3	7,0	77,7	42,8
Atteinte branchiale et rénale	10	2	20,00	95,3	33,3
Pendred					
Dilatation des aqueducs vestibulaires	52	6	11,54	81,8	85,7
Atteinte thyroïdienne	12	3	25,00	81,2	60
Atteinte thyroïdienne et es aqueducs	4	2	50,00	95	40
Waardenburg					
Anomalies de la pigmentation irienne	16	9	56,25	98,1	81,8
Anomalies de la pigmentation cutanée	21	8	38,10	96,3	72,7
Anomalies iriennes et cutanées	9	7	77,78	99,4	63,3
Anomalies iriennes, cutanées et dysmorphie évocatrice	5	5	100,00	100	45,5
Stickler					
Myopie sévère	15	5	33,33	95,4	45,4
Fente labio-palatine	20	4	20,00	95,5	36,7
Myopie sévère et fente labio-palatine	4	2	50,00	99	18,2

Tableau 24 : Probabilité de diagnostic moléculaire positif en fonction de la présence de signes classiquement associés aux syndromes de Usher, BOR, Pendred, Waardenburg et Stickler dans notre cohorte.

Certains signes associés ont une spécificité pour le syndrome qu'ils sont censés évoquer assez modérée : c'est le cas de la rétinite pigmentaire pour le syndrome d'Usher (83,3%), des malformations uro-néphrologiques pour le syndrome BOR (77,7%), de la dilatation des aqueducs vestibulaires (81,8%) ou des atteintes

thyroïdiennes (81,2%) pour le syndrome de Pendred. En revanche l'association des signes branchiaux et des malformations uro-néphrologiques permet d'atteindre une spécificité de 95,9% pour le syndrome BOR et l'association d'une dilatation des aqueducs vestibulaires et d'une atteinte thyroïdienne permet d'atteindre une spécificité de 95% pour le syndrome de Pendred.

D'autres signes ont une spécificité supérieure à 95% pour un syndrome donné : c'est le cas de la myopie sévère (95,4%) et de la fente labio-palatine (95,5%) pour le syndrome de Stickler, ou des anomalies de pigmentation irienne (98,1%), des anomalies de pigmentation cutanée et des phanères (96,3%) pour le syndrome de Waardenburg. L'association de ces 2 signes est spécifique du syndrome de Waardenburg à 99,4% et l'on atteint une spécificité de 100% lorsqu'une dystopie des canthi est associée. L'association fente labio-palatine et myopie sévère est aussi très spécifique du syndrome de Stickler (99%).

En-dehors des signes branchiaux qui ont une sensibilité de 100% pour le diagnostic du syndrome BOR, tous les signes ou associations de signes étudiés dans cette partie présentent une sensibilité assez faible voire très faible (Tableau 24).

### 3. Influence du nombre de signes associés sur les résultats moléculaires

Les résultats de la partie précédente pourraient laisser penser que plus il existe de signes associés à la surdité chez un patient, plus la probabilité d'obtenir un diagnostic moléculaire est élevée. Nous avons donc comparé le sous-groupe des surdités syndromiques avec résultat moléculaire positif et le sous-groupe des surdités syndromiques sans cause moléculaire identifiée en termes de nombre de signes associés (Tableau 25).

Types de signes associés	Nombre de signes associés	Résultats NGS		p-value
		positif (n)	négatif (n)	
Tous types de signes associés	1	39	125	0,78
	2	26	72	
	3	16	41	
	≥ 4	16	53	
Atteintes spécifiques d'organes uniquement	0	6	40	0,09
	1	40	123	
	2	26	66	
	3	17	32	
	≥ 4	8	30	

*Tableau 25 : Comparaison de la distribution du nombre de signes associés entre le sous-groupe des patients avec surdité syndromique et analyses moléculaires positives et le sous-groupe des patients avec surdité syndromique et analyses moléculaires négatives. Nous avons pris en compte premièrement tous les signes associés recueillis puis nous avons exclus les atteintes neuro-développementales et les anomalies de croissance (test de Mann-Whitney, seuil de significativité  $p < 0,05$ ).*

Les résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre les 2 groupes en ce qui concerne le nombre total de signes associés. Nous avons procédé au même test mais en ne tenant compte que des atteintes spécifiques d'organes. Les résultats ne permettent pas, là-encore, de mettre en évidence une différence significative entre les 2 sous-groupes.

#### **E. Cas des patients ne présentant pas d'atteinte spécifique d'organe**

Comme nous l'avons détaillé plus haut, nous avons considéré de manière différente les signes associés aux surdités qui consistent en une atteinte spécifique d'organe, malformative ou fonctionnelle, des autres signes moins spécifiques dans le cadre des surdités héréditaires, à savoir les atteintes neuro-développementales et les anomalies de croissance. Dans certains cas, ces signes non spécifiques constituaient les seuls signes associés à la surdité. Afin de déterminer si le recueil de ces signes avait une pertinence dans le cadre des surdités syndromiques, nous avons calculé le taux diagnostique du panel NGS-surdités dans le sous-groupe de patients ne présentant comme signes associés que des atteintes neuro-développementales et/ou des anomalies de croissance.

Dans le cas où les signes associés à la surdité sont uniquement des anomalies du neuro-développement, le taux diagnostique du panel NGS est de 10,8% (4 patients parmi 37). Pour les 5 patients présentant une surdité associée à un retard de croissance et une atteinte neuro-développementale, le panel NGS-surdité n'a pas permis d'établir un diagnostic (Tableau 26). Enfin, il n'y a pas, dans notre cohorte, de patient présentant comme seul signe associé à la surdité une anomalie de croissance.

Types de signes associés	Total (n)	Résultats NGS		
		Positifs (n (%))	Négatifs (n (%))	VSI (n (%))
Anomalies neuro-développementales uniquement	37	4 (10,8)	25 (67,6)	8 (21,6)
Anomalies neuro-développementales et retard de croissance	5	0	4 (80)	1 (20)

*Tableau 26 : Taux diagnostique des analyses NGS pour les patients présentant une surdité associée à un trouble neuro-développemental éventuellement associé à un retard de croissance.*

# Discussion

## I. Analyse globale des résultats du panel NSG-surdités

Nous rapportons dans ce travail les données de 692 patients atteints de surdité syndromique ou isolée, à partir de l'activité du laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Lille dans le domaine des surdités d'origine génétique. Nous avons d'une part analysé les résultats moléculaires des patients positifs et nous avons d'autre part procédé à un phénotypage rétrospectif détaillé de chaque patient.

### A. Présentations cliniques des patients

Notre cohorte est composée de 388 patients atteints de surdité syndromique (56,1%) et de 304 patients présentant une surdité isolée (43,9%). Cette répartition ne correspond pas à l'épidémiologie classiquement décrite des surdités héréditaires (80% des surdités congénitales d'origine génétique seraient non syndromiques (1)).

La prédominance des surdités syndromiques dans notre cohorte provient potentiellement des critères cliniques que nous avons retenus en amont de notre recueil pour définir un tableau clinique de surdité comme syndromique. Nous avons décidé de ne pas considérer certains signes comme faisant partie d'un tableau syndromique du fait de leur fréquence élevée dans la population générale (surtout en pédiatrie) et de leur caractère qui peut être considéré comme non réellement pathologique (myopie non sévère, autres troubles de la réfraction, scoliose non sévère, tâches café-au-lait ne répondant pas aux critères de la neurofibromatose de type 1...). En revanche, nous avons décidé de considérer les signes cliniques suivants comme pouvant s'intégrer dans un tableau de surdité syndromique : retard de développement psychomoteur, retard de langage non imputable à la surdité, difficultés cognitives,

déficience intellectuelle, troubles du comportement, épilepsie, anomalies à l'imagerie cérébrale, autres signes neurologiques, RCIU, retard de croissance staturo-pondérale post-natal, avance staturale). Ces signes cliniques sont à titre individuel peu évocateurs d'un syndrome avec surdité et peuvent se rencontrer dans de multiples pathologies, d'origine génétique ou non génétique. Néanmoins, il nous paraissait difficile de ne pas les considérer comme des signes associés à la surdité. Afin de ne pas intégrer une part de subjectivité dans le classement de nos patients, nous avons systématiquement considéré un patient porteur d'un ou plusieurs de ces signes comme atteint de surdité syndromique. Il y a donc possiblement un biais de classement avec un impact sur les taux diagnostiques des groupes de patients avec surdité isolée et avec surdité syndromique.

## **B. Taux diagnostique**

### **1. Taux diagnostique global**

L'analyse du panel NGS-surdité a permis d'identifier des variants de classe 4 ou 5 chez 172 patients, soit un taux diagnostique de 24,8%. Ce taux diagnostique atteint 26% en tenant compte des 8 patients porteurs d'un variant pathogène dans le génome mitochondrial.

Nous ne possédions les résultats des analyses mitochondriales que pour 60 patients. Nous avons eu accès aux résultats des analyses mitochondriales de 52 de ces patients car elles avaient été effectuées au CHU de Lille. Pour 6 autres patients, les analyses mitochondriales n'avaient pas été effectuées à Lille mais nous en avons eu connaissance en consultant nous-mêmes les dossiers des patients (provenant de centres extérieurs) au cours du recueil. Pour les 2 autres dossiers, le prescripteur nous avait informés du résultat des analyses mitochondriales. Etant donné que la fiche de renseignements cliniques envoyée aux prescripteurs extérieurs était exclusivement

centrée sur les signes cliniques des patients, il est possible que certains patients provenant de centres extérieurs soient porteurs d'un variant mitochondrial pathogène et que nous n'en ayons pas eu connaissance. Ce biais de recueil est possiblement responsable d'une sous-estimation du taux diagnostique dans notre cohorte.

D'après nos données disponibles, le taux diagnostiques des analyses mitochondriales est de 13,3% dans notre cohorte (8 patients positifs parmi 60). La proportion de patients atteints de surdité mitochondriale est donc de 4.4% (8 patients parmi 180 diagnostics positifs), ce qui est supérieur au taux de 1% rapporté classiquement dans la littérature (4). Nos données concernant les résultats des analyses mitochondriales pour l'ensemble des patients étant sans doute non exhaustives, il est possible que cette proportion soit supérieure au résultat que nous présentons. La recherche de variants du génome mitochondrial associés aux surdités apporte donc une plus-value diagnostique non négligeable. Il serait peut-être judicieux d'envisager la prescription de ces analyses de manière concomitante avec le panel NGS, lorsque le mode de transmission dans la famille paraît compatible, même lorsque la présentation clinique n'est pas particulièrement évocatrice d'une pathologie mitochondriale.

Un élément important doit être pris en compte dans l'interprétation de notre taux diagnostique : au laboratoire, les patients atteints d'une surdité isolée sporadique ou compatible avec une transmission AR bénéficient en première intention du séquençage ciblé des gènes *GJB2* et *GJB6*. Chez ces patients, le séquençage du panel NGS n'est réalisé que si les analyses ciblées sont négatives. Cette stratégie s'explique par la fréquence importante des surdités non syndromiques dues à des variants de *GJB2* ou des délétions de *GJB6*. Comme nous avons recruté nos patients uniquement parmi ceux ayant bénéficié du séquençage du panel NGS-surdité, les patients porteurs de variants pathogènes de *GJB2* ou *GJB6* identifiés par séquençage

ciblé ne sont pas inclus dans notre cohorte. Notre taux diagnostique de 26% est donc sous-estimé. Le laboratoire a pu nous confirmer que des variants pathogènes bi-alléliques de *GJB2* et/ou *GJB6* ont été identifiés par analyses ciblées chez 210 patients durant la période de notre recueil. Cela porte donc à 390 le nombre de patients avec analyses moléculaires positives entre janvier 2018 et juin 2020. En considérant que tous les patients dont les analyses ciblées de *GJB2* et *GJB6* étaient négatives ont bénéficié d'un séquençage du panel NGS-surdités, cela porterait le taux diagnostique du laboratoire à 43%, ce qui est tout à fait comparable aux données de la littérature. Néanmoins, ce résultat serait surestimé, car pour certains patients, les analyses moléculaires ne sont pas poursuivies au-delà du séquençage ciblé de *GJB2* et *GJB6*. Malheureusement, le laboratoire n'a pas pu nous fournir le nombre exact de patients se trouvant dans cette situation.

Nous avons remarqué que le taux diagnostique avait tendance à diminuer légèrement au fil du temps : en effet, concernant le groupe de patients ayant bénéficié de l'analyse de la version 3 du panel (années 2018 et 2019), le taux diagnostique était de 25,6%, en revanche ce taux diagnostique était de 23,2% pour les patients ayant bénéficié de l'analyse de la version 4 du panel. Ces données peuvent paraître contre-intuitives : dans la mesure où la version 4 contient davantage de gènes que la version 3 (214 gènes contre 170), l'on pourrait supposer *a priori* que le taux diagnostique augmenterait avec la version 4. Ce résultat peut s'expliquer notamment par le fait que le nombre d'analyses augmente au fil du temps et qu'il est donc possible que les indications d'une analyse moléculaire dans le cadre d'une surdité s'élargissent.

## 2. Taux diagnostique en fonction de la présentation clinique

Nous avons calculé le taux diagnostique des analyses moléculaires (panel NGS et analyses mitochondriales) pour le groupe de patients présentant une surdité syndromique et pour le groupe de patients présentant une surdité non syndromique. Le taux diagnostique des analyses moléculaires est le même pour chacun des 2 groupes, à savoir 26% (79 positifs parmi 304 patients atteints de surdité isolée, et 101 positifs parmi 388 patients atteints de surdité syndromique). Il y aurait donc la même probabilité de poser un diagnostic biologique avec nos analyses moléculaires chez les patients atteints de surdité, qu'il s'agisse d'une forme syndromique ou non. Cependant, ces résultats sont à interpréter en fonction de notre méthode de classement des surdités syndromiques et non syndromiques qui, nous l'avons dit plus haut, peut être discutée pour un certain nombre de patients.

## 3. Nombre de VSI

Nous avons classé les résultats des analyses NGS en 3 catégories : les résultats positifs (présence de variants de classe 5 ou 4), les résultats négatifs (aucun variant de classe 3, 4 ou 5) et la présence d'un VSI. Nous avons été surpris par le taux modéré de VSI dans notre cohorte qui était de 10,7% (74 patients). Cette valeur peut s'expliquer en partie par le fait que nous avons réinterprété les critères ACMG de tous les variants rapportés par le biologiste dans le compte-rendu initial des patients, y compris les VSI. Ainsi, certains VSI ont pu être reclassés, soit en variants de classe 4 soit en variants de classe 2.

Ces re-classifications peuvent être dues à deux facteurs. D'une part, les connaissances évoluent rapidement en biologie moléculaires (bases de données, nouvelles publications, outils d'interprétation plus précis...), un variant classé comme

VSI initialement peut être réinterprété différemment 1 ou 2 ans plus tard. D'autre part, nous disposons pour un certain nombre de patients porteurs de VSI des données de ségrégation familiale, ce qui n'était pas le cas lors de la rédaction du compte-rendu initial. Ces données ont permis de trancher sur la probable pathogénicité ou non de certains variants.

Ainsi, 116 patients étaient initialement porteurs de VSI (16,8%). Nous avons confirmé la classification de VSI pour 74 d'entre eux, nous avons reclassé 26 variants en classe 4, nous avons déclassé 11 variants en classe 2 et 5 patients étaient porteurs d'un variant hétérozygote dans un gène à transmission AR, sans 2<sup>ème</sup> événement identifié (nous les avons considérés comme négatifs lors du recueil). Les VSI constituent une problématique importante de la biologie moléculaire, et nos données soulignent l'importance de la réinterprétation des VSI à distance des analyses initiales.

## II. Comparaison de notre cohorte avec les données de la littérature

L'avènement du NGS dans les années 2010 a permis l'étude moléculaire de larges cohortes de patients atteints de surdités hétérogènes sur les plans clinique et génétique. Auparavant, les publications étaient centrées sur l'étude d'un gène de surdité en particulier ou d'un syndrome donné.

Nous souhaitons comparer nos résultats avec les données de la littérature. Nous avons donc sélectionné 5 publications récentes étudiant des cohortes de patients atteints de surdité. Cependant, ces études sont très divergentes sur de nombreux points que nous allons discuter dans cette partie, ce qui les rendait incomparables statistiquement avec notre travail.

## **A. Effectifs**

Nous avons analysé dans ce travail les données cliniques et moléculaires de 692 patients. A notre connaissance, une seule cohorte publiée dans la littérature rapportant un nombre de patients supérieur au nôtre (n=1119) (31). Les autres études publiées décrivent un nombre de patients atteints de surdités souvent bien inférieur au nôtre. Les 4 autres cohortes que nous avons sélectionnées comportaient respectivement 50 patients (34), 118 patients (34), 200 patients (174) et 207 patients (172) (tableau 11). De telles différences d'effectif peuvent avoir un impact sur les résultats moléculaires et le taux diagnostique dans chaque cohorte.

## **B. Profils des patients**

Notre cohorte est caractérisée par le fait qu'elle est hétérogène sur le plan clinique : nous n'avons fait aucune sélection sur le profil clinique des patients et elle contient aussi bien des patients atteints de surdité isolée que des patients atteints de surdité syndromique.

Parmi les 5 cohortes que nous avons sélectionnées, 4 sont également hétérogènes cliniquement (31,33,34,174). Cependant, les cas de surdités syndromiques sont majoritaires dans notre étude (388 patients (56%)), alors qu'ils sont minoritaires dans les études de Morgan *et al.* (7 patients parmi 125 (5,6%)) (33), Cabanillas *et al.* (5 patients parmi 50 (10%)) (34) et Sloan-Heggen *et al.* (233 patients parmi 1119 (20,8%)) (31). Le nombre exact de patients présentant une surdité syndromique n'est pas précisé dans l'étude de Zazo-Seco *et al.* (174). Quant à la dernière étude, seuls des patients présentant une surdité isolée étaient inclus (172) (tableau 11).

Ces compositions variables peuvent également avoir un impact sur le taux diagnostique de chaque cohorte.

### C. Stratégie d'analyses moléculaires

Les principales divergences entre notre travail et les 5 études que nous avons sélectionnées résident dans les stratégies mises en place pour la caractérisation moléculaire des cohortes, qui diffèrent considérablement d'une étude à l'autre.

Nous avons détaillé précédemment la stratégie d'analyses moléculaires de notre laboratoire (séquençage de *GJB2* et *GJB6* en première intention puis analyse NGS si négatif).

D'autres études ont procédé de manière similaire à la nôtre. Les 50 patients inclus dans la cohorte de l'étude de Cabanillas *et al.* étaient tous négatifs pour les analyses ciblées de *GJB2*, *OTOF* et *MT-RNR1* (34). Parmi les 200 patients de la cohorte de l'étude de Zazo-Seco *et al.*, 137 patients ont bénéficié en amont de l'étude de l'analyse ciblée d'au moins un gène. Cependant, les gènes analysés étaient variables selon les patients : *GJB2* a été séquençé chez 80 patients, *TECTA* chez 36 patients, *KCNQ4* chez 18 patients, pour ne citer que les analyses les plus récurrentes. Au total, 43 gènes différents ont été analysés de manière ciblée chez au moins 1 patient de la cohorte. Toutes ces analyses ciblées préalables à l'inclusion dans la cohorte étaient bien sûr négatives (174) (tableau 11).

Concernant les 3 autres publications (31,33,172), pour 2 d'entre elles, des analyses ciblées étaient bien réalisées avant le recours au NGS, mais les résultats positifs étaient comptabilisés dans le calcul du taux diagnostique final. Ainsi, les patients de l'étude de Baux *et al.* bénéficiaient en première intention du séquençage ciblé de *GJB2* (sauf les patients avec une histoire familiale évocatrice d'une transmission AD), puis d'une analyse NGS pour les négatifs (172). Les patients de l'étude de Morgan *et al.* atteints de surdité isolée bénéficiaient dans un premier temps de l'analyse ciblée des gènes *GJB2*, *GJB6* et *MT-RNRN1*, puis d'une recherche de délétion de *STRC* et

OTOA par MLPA, puis d'une analyse NGS en cas de négativité (les 7 patients présentant une surdité syndromique étaient directement analysés en NGS) (33). Les patients de l'étude de Sloan-Heggen *et al.* étaient tous analysés en NGS en première intention (31) (tableau 9).

Le fait que les patients bénéficiant d'analyses ciblées positives ne soient pas inclus dans certaines études (dont la nôtre) alors que ces analyses ciblées font partie des protocoles d'autres études constitue un biais important dans la comparaison des taux diagnostiques des différentes études.

Les analyses NGS se sont pas exactement les mêmes dans toutes les études sélectionnées. Dans notre travail, le panel de gènes analysé comprenait 170 gènes pour 468 patients (67,8%) et 214 gènes pour 224 patients (32,4%). Rappelons également que la recherche ciblée de variants mitochondriaux était effectuée chez 60 patients. Dans l'étude de Sloan-Heggen *et al.*, le panel de gènes comprenait 66 gènes pour 408 patients (36,5%) et 89 gènes pour 711 patients (63,5%) (31). Le panel de gènes utilisé dans l'étude de Baux *et al.* comportait 74 gènes, il en comprenait 120 dans l'étude de Zazo-Seco *et al.* et 199 dans l'étude de Cabanillas *et al.* (34,172,174). Enfin, les 93 patients de l'étude de Morgan *et al.* négatifs pour les analyses ciblées de première intention bénéficiaient de l'analyse de l'exome (WES) (33) (tableau 11).

Le fait d'utiliser des panels de gènes, de taille et donc de composition différente a également un impact sur les résultats moléculaires de chaque étude.

#### **D. Taux diagnostiques**

Les taux diagnostiques de notre étude et des 5 publications que nous avons sélectionnées paraissent très différents à première vue (tableau 11). Néanmoins, ces résultats bruts sont à nuancer.

Les taux diagnostiques des études de Sloan-Heggen *et al.* (39%), Baux *et al.* (48%) et Morgan *et al.* (50%) bénéficient du fait qu'aucune analyse ciblée n'a été effectuée en amont de l'étude (31,33,172). En effet, dans notre travail et les études de Zazo-Seco *et al.* et Cabanillas *et al.*, les taux diagnostiques sont respectivement de 26%, 33,5% et 42%, mais les patients positifs pour des analyses ciblées réalisées au préalable n'ont pas été inclus, ce qui représente une perte de cas positifs (34,174). Pour aller dans ce sens, signalons que le gène le plus fréquemment identifié comme responsable de surdité dans les études de Sloan-Heggen *et al.*, Baux *et al.* et Morgan *et al.* est (comme attendu) le gène *GJB2*. Ce gène fait précisément l'objet d'analyses ciblées préalables à notre étude, à celle de Zazo-Seco *et al.* et à celle de Cabanillas *et al.* (34,174). Les 2 études ayant le taux diagnostique le plus élevé sont celles dont le protocole incluait des analyses ciblées dans le protocole en première intention avant la réalisation d'analyse NGS (48% pour Baux *et al.*, 50% pour Morgan *et al.*) (33,172). En retranchant les résultats positifs liés à *GJB2* dans ces études, on obtient des taux diagnostiques de 31,6% et 39% respectivement.

Notre taux diagnostique de 26% est sous-estimé du fait de l'absence des patients positifs pour l'analyse ciblée de *GJB2* dans notre cohorte. Comme nous l'avons vu précédemment, en comptabilisant les 210 résultats positifs pour l'analyse de *GJB2* entre 2018 et 2020, notre taux diagnostique pourrait atteindre 43%. Ce taux diagnostique paraît bien plus proche de celui des publications dans lesquelles aucune analyse ciblée n'a été effectuée en amont de l'étude (39%, 48%, 50% respectivement) (31,33,172).

Compte tenu de toutes les divergences que nous avons mises en évidences entre ces études, que ce soit en termes d'effectif, de présentation clinique des patients ou de stratégies d'analyses moléculaires, il nous a paru peu pertinent d'effectuer des tests

statistiques entre le taux diagnostique de notre panel et les taux diagnostiques des 5 études que nous avons sélectionnées. La juxtaposition de ces résultats est donc purement indicative. Elle illustre bien l'hétérogénéité des causes de surdités héréditaires et la complexité de leur diagnostic moléculaire.

### III. Les diagnostics identifiés en NGS

#### **A. Ratio de diagnostics de surdité isolée par rapport aux diagnostics de surdité syndromique**

Les analyses NGS ont permis d'effectuer un diagnostic moléculaire chez 172 patients. Chez 92 patients, le ou les variants causaux étaient identifiés dans un gène de surdité isolée (53,5%). Chez 80 patients, le ou les variants causaux étaient identifiés dans un gène de surdité syndromique (46,5%). Il y a donc une majorité de diagnostics de surdités non syndromiques, néanmoins le ratio en faveur des surdités non syndromiques est moins élevé que ce qui est classiquement décrit dans la littérature (80% de surdité non syndromique) (1,4). Cette différence s'explique, au moins en partie, par le fait que les cas de surdité isolée liée aux gènes *GJB2* et *GJB6* sont, à quelques exceptions près, détectés en amont de l'analyse NGS. Il est possible également que les patients atteints de surdité isolée (y compris sans étiologie environnementale ou acquise retrouvée) soient moins orientés vers un généticien (et ce d'autant plus s'il s'agit d'un cas sporadique) ou bénéficient moins d'une proposition d'analyses génétiques que les patients dont la surdité s'inscrit dans un cadre syndromique. Ceci pourrait conduire à un sous-diagnostic des surdités génétiques isolées dans notre pratique, expliquant au moins en partie la différence entre notre ratio et ce qui est décrit dans la littérature.

## **B. Les gènes de surdités isolée identifiés**

Les analyses NGS ont permis de poser un diagnostic moléculaire de surdité isolée chez 92 patients. Les variants causaux sont répartis dans 31 gènes différents. Le gène le plus fréquemment identifié par l'analyse du panel est *STRC* (14 diagnostics) et il s'agit dans la majorité des cas d'une délétion homozygote du gène. Le gène *STRC* est une cause fréquente de surdité isolée (89,90), mais *GJB2* est de loin la cause la plus fréquente de surdité génétique isolée dans de nombreuses régions du monde (71). Dans plusieurs cohortes publiées récemment, les variants de *GJB2* sont les variants les plus fréquents (entre 21,6% et 50% des diagnostics) (31,33,171). Nos résultats ne sont cependant pas discordants avec la littérature, car comme nous l'avons expliqué plus haut, les gènes *GJB2* et *GJB6* sont séquencés de manière ciblée en amont de l'analyse NGS chez les patients présentant un tableau compatible. Les 10 diagnostics de surdité liée à *GJB2* identifiés par analyse NGS et le cas de surdité impliquant les gènes *GJB2* et *GJB6* (digénisme) ont été effectués chez des patients ayant bénéficié directement de l'analyse NGS et chez un patient pour lequel une surdité syndromique était initialement suspectée. En ajoutant ces 11 diagnostics aux 210 diagnostics de surdité isolée impliquant *GJB2* effectués sur la période de notre recueil par séquençage ciblé, le gène *GJB2* est bien le gène de surdité isolée le plus fréquemment identifié au laboratoire.

## **C. Les gènes de surdité syndromique identifiés**

Les analyses NGS ont permis de poser un diagnostic moléculaire de surdité syndromique chez 80 patients, ce qui correspond à 15 syndromes et 28 gènes différents impliqués. La majorité des syndromes identifiés font partie des 7 principaux syndromes que nous avons choisi d'étudier spécifiquement en amont du recueil (64 diagnostics sur 80, soit 80%). Les syndromes les plus fréquemment identifiés sont le

syndrome d'Usher (17 cas de type 2 (par atteinte du gène *USH2A*) et 7 cas de type 1 (6 par atteinte du gène *MYO7A* et 1 par atteinte du gène *PCDH15*)), le syndrome de Waardenburg (6 cas dus à *PAX3*, 3 cas à *SOX10*, 1 cas à *MITF* et 1 cas à *EDNRB*) et le syndrome de Stickler (7 cas dus à *COL2A1*, 3 cas à *COL11A1* et 1 cas à *COL9A1*).

Le fait que les syndromes d'Usher et de Waardenburg soient parmi les syndromes les plus représentés dans notre cohorte était attendu, du fait du tableau clinique souvent évocateur : rétinite pigmentaire et surdité pour le syndrome d'Usher (plus ou moins atteinte vestibulaire en fonction du type de syndrome d'Usher) ; surdité, troubles de la pigmentation rétinienne et des phanères pour le syndrome de Waardenburg (plus ou moins dystopie des canthi en fonction du type de syndrome de Waardenburg).

La surdité est un signe commun mais inconstant dans le syndrome de Stickler, dont les manifestations les plus évocatrices sont la myopie sévère et les anomalies crânio-faciales (hypolasie malaire, micro-rétrognathisme, fente palatine, séquence de Pierre-Robin). Le nombre relativement important de syndromes de Stickler diagnostiqués grâce au panel NGS-surdités n'était donc pas attendu. Néanmoins, 4 patients atteints de syndrome de Stickler sur 11 ne présentaient pas de surdité. L'indication du panel NGS-surdités reposait dans 8 cas parmi les 11 diagnostiqués sur la présence d'anomalies crânio-faciales et/ou ophtalmologiques évocatrices (avec surdité dans 4 cas parmi ces 8 cas). Concernant les 3 derniers cas, il s'agissait de tableaux de surdité syndromique sans hypothèse étiologique émise par le clinicien.

Le diagnostic de *BORS*D (*BOR Spectrum Disorder*) a été posé chez 9 patients. Cinq de ces diagnostics sont secondaires à un variant du gène *EYA1*, 1 est dû à un variant du gène *SIX5* et 3 à un variant du gène *SIX1*. Le syndrome de Pendred a quant à lui été identifié chez 7 patients, porteurs de variants bi-alléliques du gène *SLC26A4*.

Nous avons été surpris du faible nombre de syndrome d'Alport (3 cas par atteinte des gènes *COL4A3*, *COL4A4* ou *COL4A5*) et de syndrome CHARGE (2 cas dus au gène *CHD7*) dans notre cohorte. Cela provient possiblement du fait que la porte d'entrée clinique n'est pas le plus souvent la surdité dans ces syndromes : cela peut être l'atteinte rénale pour le syndrome d'Alport et un syndrome plus poly-malformatif pour le syndrome CHARGE. Ainsi, les cliniciens ont peut-être recours à d'autres types de panels pour le diagnostic de ces syndromes.

#### **D. Concordance clinico-biologique**

Nous nous sommes intéressés à la concordance entre la présentation clinique des patients et leurs résultats moléculaires. Pour chacun des groupes de surdité isolée et de surdité syndromique, nous avons calculé un taux de concordance clinico-biologique. Ce taux est plus élevé pour le groupe des surdités isolées que pour le groupe des surdités syndromiques : 92% (69 patients parmi 75) et 76,3% (74 patients parmi 97) respectivement (Figure 57). Le taux global de concordance clinico-biologique est de 83,1%. Il est donc peu probable d'identifier une cause de surdité syndromique chez un patient présentant une surdité isolée, en revanche ce taux est relativement important pour les patients présentant un tableau syndromique.

De nombreux gènes de surdité sont connus pour avoir une hétérogénéité allélique, c'est-à-dire qu'ils peuvent être responsables d'un tableau de surdité non syndromique et de surdité syndromique. Dans le sous-groupe de 23 patients présentant un tableau syndromique et porteurs d'un variant dans un gène de surdité isolée, les seuls gènes avec hétérogénéité allélique connue sont les gènes *MYO7A* et *WHRN*, impliqués respectivement dans le syndrome d'Usher de type 1B et 2D. Les deux patients, adolescents au moment du diagnostic, ne présentaient aucun signe clinique évocateur

de syndrome d'Usher (retard de langage et troubles du comportement pour le patient porteur de variants du gène *WHRN*, particularités morphotypiques et syndactylie des orteils pour la patiente porteuse de variants du gène *MYO7A*). La conclusion du résultat génétique doit être très nuancée dans ce genre de situations, il paraît souhaitable de mettre en place un suivi ophtalmologique rapproché chez ces patients, même si leur tableau actuel n'oriente pas vers un syndrome d'Usher. Au moment du recueil de données, compte tenu des données cliniques, biologiques et de leur âge, ces patients ont donc été classés comme atteints de surdité non syndromique mais nous sommes conscients que cela peut être discuté. Les autres gènes (*ACTG1*, *EPS8L2*, *GJB2*, *MYO15A*, *GJB3*, *STRC*, *POU3F4*, *KCNQ4*, *LRTOMT*, *PTPQR*, *LOSHD1*, *COCH*, *TRIOBP*, *PRPS1*, *MYO6*, *PTPQR*) sont impliqués uniquement dans des formes de surdité isolée. Il est possible que certains de ces gènes soient également impliqués dans des formes syndromiques de surdité non décrites à ce jour. Il n'y a cependant pas suffisamment de patients mutés pour chacun d'entre eux dans notre cohorte pour pouvoir conclure à une éventuelle nouvelle forme de surdité syndromique associée à ces gènes. La recherche future de variants dans ces gènes à partir de patients présentant une surdité syndromique serait intéressante afin de pouvoir répondre à cette interrogation.

Six patients présentant une surdité isolée cliniquement sont porteurs de variants dans des gènes de surdité syndromique. Les gènes concernés sont : *MYO7A* (syndrome d'Usher type 1B), *PCDH15* (syndrome d'Usher type 1D), *USH2A* (syndrome d'Usher type 2A, chez 2 patients), *PROK2* (hypogonadisme hypogonadotrope de type 4 avec ou sans anosmie) et une délétion 15q15.3 impliquant *STRC* et *CATSPER2* (syndrome surdité-infertilité masculine). Les patients porteurs d'un variant dans *PROK2* et de la délétion 15q15.3 sont adultes mais nous n'avons pas trouvé de notion de trouble

endocrinien ou de fertilité chez l'un d'eux lors du recueil. Le gène *MYO7A* est responsable du syndrome d'Usher de type 1B et des surdités isolées DFNB2 et DFNA11, le gène *PCDH15* est impliqué dans le syndrome d'Usher de type 1D et la surdité isolée DFNB23. Les deux patients porteurs de variants dans ces gènes étaient très jeunes au moment du diagnostic (moins de 2 ans), il était impossible d'écarter l'hypothèse d'un syndrome d'Usher malgré l'absence d'atteinte rétinienne et un suivi ophtalmologique doit être poursuivi chez ces patients. Quant au gène *USH2A*, il n'est pas connu pour être impliqué dans des formes de surdité isolée. Le diagnostic de syndrome d'Usher de type 2A a donc été retenu, d'autant plus que la survenue de rétinite pigmentaire peut être plus tardive dans cette forme (les patients avaient moins de 10 ans au moment du diagnostic).

Ces cas constituent de bons exemples de l'importance de la biologie moléculaire dans la prise en charge des patients atteints de surdité : un suivi ophtalmologique rapproché peut être ainsi mis en place afin de dépister très précocement la rétinite pigmentaire (précoce dans le syndrome d'Usher de type 1 mais pouvant survenir à l'adolescence ou chez l'adulte jeune pour le syndrome d'Usher de type 2) et de prévenir au mieux ses complications, un dépistage des troubles de l'équilibre peut également être mis en place chez le très jeune patient atteint de syndrome d'Usher de type 1D, permettant d'éviter une acquisition retardée de la marche et des troubles moteurs du fait de l'atteinte vestibulaire précoce dans ce syndrome.

#### IV. Analyse du phénotype des patients

##### A. Recueil rétrospectif des données cliniques

Nous nous sommes efforcés, au cours ce travail, d'effectuer un recueil des données cliniques de nos patients aussi précis que possible. Nous avons contacté chaque clinicien prescripteur des centres extérieurs afin d'obtenir les renseignements cliniques

que nous souhaitions et nous avons procédé nous-mêmes au recueil des données d'un grand nombre de dossiers. Nous avons pu avoir accès au dossier clinique de 80,8% des patients, soit 559 dossiers. Pour les autres dossiers, nous disposions tout de même de certaines données cliniques au laboratoire. Pour ces dossiers, mais également pour certains dossiers pour lesquels nous avons obtenu des réponses des cliniciens, les données manquantes constituent une limite importante à l'analyse de notre cohorte. La gestion des données manquantes est inhérente aux analyses rétrospectives et fait émerger la question de la constitution future d'une cohorte prospective afin de pouvoir répondre à certaines questions pour lesquelles nous étions limités dans ce travail. Néanmoins, les phénotypes de nos patients sont davantage détaillés dans notre cohorte que dans les principales cohortes publiées récemment (31,33,34,172,174).

## **B. Patients présentant une surdité isolée**

L'analyse des patients atteints de surdité isolée consistait à évaluer la répartition des données des caractéristiques de surdité en fonction des résultats moléculaires. Cette analyse permet de dégager certains traits phénotypiques intéressants qui peuvent guider le clinicien en amont de l'analyse.

Comme nous l'avons vu dans les résultats, le taux diagnostique du panel est supérieur à 26% en présence d'un des paramètres suivants :

- Une intensité moyenne de surdité ;
- Un mode d'apparition pré-lingual ;
- Une prédominance sur les fréquences aiguës ;
- Une stabilité de la surdité au fil du temps ;
- Une atteinte bilatérale.

Le meilleur indicateur parmi ces paramètres semble être la bilatéralité de la surdité : aucun diagnostic moléculaire n'a été posé dans des cas de surdité isolée unilatérale.

Les autres paramètres doivent être nuancés :

- Tous les degrés de sévérité de surdité sont représentés dans notre cohorte et ne doivent pas remettre en cause l'hypothèse d'une surdité génétique ;
- le mode d'installation post-lingual est bien représenté dans notre cohorte et ne doit pas remettre en cause non plus une étiologie génétique ;
- Le mode évolutif fluctuant est très peu représenté parmi les patients positifs et peut constituer un bon signe en défaveur d'une étiologie génétique de surdité, le mode évolutif progressif est en revanche bien représenté dans notre cohorte et ne peut pas éliminer une éventuelle étiologie génétique ;
- La présence de courbes d'audiogrammes plates et prédominant sur les fréquences moyenne ne permettent pas non plus d'éliminer une éventuelle étiologie génétique.

Les surdités de perception sont nettement majoritaires parmi les cas positifs mais également parmi l'ensemble des cas de surdité isolée de la cohorte. Le caractère perceptionnel pur de la surdité n'entraîne donc pas d'augmentation du taux diagnostique.

Dégager des critères cliniques permettant d'espérer une augmentation du taux diagnostique du panel NGS dans le cadre des surdités isolées apparaît donc compliqué, d'autant plus que notre analyse est purement descriptive car, devant le nombre des variables, il n'a pas été possible d'effectuer de test statistique afin d'évaluer l'influence de ces signes sur l'issue des analyses moléculaires.

### C. Patients présentant une surdité syndromique

La description de nos patients atteints de surdité syndromique était plus complexe car cela nécessitait de séparer les patients positifs en fonction de l'étiologie retrouvée. En effet, les syndromes identifiés sont très hétérogènes cliniquement, et cela n'aurait pas de sens d'envisager les patients atteints de surdité syndromique génétique comme un seul groupe. Nous avons dû donc nous concentrer sur certains diagnostics que nous avons sélectionnés au préalable comme les syndromes que nous pensions les plus fréquents : les syndromes d'Usher, BOR, de Pendred, de Waardenburg, de Stickler, d'Alport et CHARGE. Ainsi, les autres syndromes, plus rares, n'ont pas fait l'objet de cette analyse.

Cette grande hétérogénéité clinique induit donc de nombreux sous-groupes, dont les effectifs sont assez faibles. Ces petits effectifs, ajoutés au grand nombre de signes cliniques que nous avons évalués ont eu pour conséquence que nous n'avons pas pu, là-encore, effectuer de test statistique comparatif entre les cas positifs et les cas négatifs pour chacun de ces signes. L'analyse descriptive de ces patients atteints de surdité syndromique génétique reste intéressante, car elle est rarement effectuée dans la littérature.

#### 1. Analyse des cas positifs selon les syndromes identifiés

Concernant le syndrome d'Usher, les caractéristiques discriminantes que nous avons mises en évidence sont : une surdité de perception bilatérale constante, sans anomalie à l'imagerie des oreilles et une rétinite pigmentaire dans 85,3% des cas documentés. Ce type de présentation est très classique pour ce syndrome. Le fait que tous les patients atteints de syndrome d'Usher présentent une surdité de perception est concordant avec le rôle des gènes impliqués dans notre cohorte (*MYO7A*, *PCDH15* et *USH2A*) dans la physiologie de l'audition. Les autres paramètres de surdité ne sont

que peu discriminants. De manière surprenante, nous ne retrouvons pas de corrélation génotype-phénotype entre l'âge d'installation de la surdité et les gènes en cause : 2 cas de syndrome d'Usher de type 1 parmi 7 présentent une surdité post-linguale, et 8 cas de syndrome d'Usher de type 2 parmi 17 présentent une surdité post-linguale. En revanche, l'atteinte vestibulaire respecte la corrélation génotype-phénotype puisqu'elle a été identifiée de manière précoce uniquement chez des patients atteints de syndrome d'Usher de type 1. Quelques signes associés non classiques ont été rapportés de manière rare chez nos patients : 1 cas de dilatation des aqueducs vestibulaires, 2 cas de dysthyroïdie, 1 cas de luvette bifide. Ces signes ne sont pas assez récurrents pour constituer d'éventuels nouveaux signes de syndrome d'Usher. En revanche, 3 patients parmi les 5 ayant eu une échographie rénale présentent des anomalies uro-néphrologiques (2 cas de syndrome d'Usher type 2A et 1 cas de syndrome d'Usher type 1B). Les atteintes uro-néphrologiques ne sont pas décrites comme associées au syndrome d'Usher mais il pourrait être intéressant d'évaluer ces données chez un plus grand nombre de patients atteints de syndrome d'Usher.

Le profil type de nos patients atteints de syndrome BOR comportait : une surdité de perception constante, moyenne ou sévère, souvent pré-linguale, sans atteinte vestibulaire et la présence de signes branchiaux (87,5%). Le fait que la totalité de nos patients atteints de syndrome BOR avec surdité présentent une surdité de perception est surprenant. En effet, tous les types de surdité sont rapportés dans le syndrome BOR. Le type de surdité le plus fréquent est même la surdité mixte (40%), suivie de la surdité de perception (30%) puis de la surdité de transmission. Des malformations de tous les segments de l'oreille sont décrits dans ce syndrome. Dans notre cohorte, 2 cas sur 9 présentent des anomalies de l'oreille moyenne et de l'oreille interne (mais une surdité purement perceptionnelle). La majorité des patients avait une échographie

rénale normale. Cependant, certaines publications rapportent un taux de malformations rénales similaire (131). Il n'y pas d'atteinte neuro-développementale parmi nos patients atteints de syndrome BOR. Les différences entre les caractéristiques de surdité de nos patients atteints de syndrome BOR et les données de la littérature s'expliquent peut-être par un échantillon de taille modérée dans notre cohorte, qui ne serait donc pas très représentatif de ce qui est observé chez ces patients. Une étude centrée sur le syndrome BOR d'un groupe de patients d'effectif plus important serait intéressante afin de confirmer si ces divergences sont bien dues à un biais d'échantillon ou si les données concernant la surdité des syndromes BOR pourraient être actualisées.

Concernant les cas de syndrome de Pendred, les caractéristiques cliniques prédominantes que nous avons mises en évidence sont : une surdité de perception (mixte dans 1 cas sur 7), constamment bilatérale, d'intensité sévère ou profonde, constamment pré-linguale, sans signe vestibulaire, avec une dilatation des aqueducs vestibulaires dans 85,7% des cas. L'atteinte thyroïdienne n'est retrouvée que chez 60% des patients, mais les patients avec bilan thyroïdien normal étaient très jeunes au moment du diagnostic, et cette atteinte peut se révéler secondairement. Il s'agit là encore d'une bonne illustration de l'importance de la biologie moléculaire pour la mise en place d'une prise en charge adaptée des patients. Signalons que les atteintes du gène *SLC26A4* sont également responsables de la surdité non syndromique DFNB4. Classiquement, le syndrome de Pendred se distingue de la surdité DFNB4 par l'atteinte thyroïdienne. Le tableau de DFNB4 comporte également la dilatation des aqueducs des vestibules. L'inconstance de l'atteinte thyroïdienne chez nos patients peut interroger sur la pertinence de la distinction entre le phénotype DFNB4 et le syndrome de Pendred.

Concernant les patients atteints de syndrome de Waardenburg, il n'y pas de profil de surdité typique, en-dehors d'une atteinte neurosensorielle constante et de l'absence d'atteinte vestibulaire. En revanche, en ce qui concerne les signes associés, les profils sont souvent très proches de la sémiologie décrite classiquement dans la littérature : zones de dépigmentation cutanée et/ou des phanères, troubles de la pigmentation irienne, dystopie des canthi. Il y a très peu d'autres signes associés, les cas de syndromes de Waardenburg de notre cohorte sont donc très évocateurs cliniquement. En ce qui concerne les atteintes neuro-développementales, 3 patients ont présenté des troubles du comportement, associés dans 2 cas à des difficultés scolaires et dans 1 cas à une déficience intellectuelle. Les gènes en causes sont *SOX10* dans 2 cas et *PAX3* chez le 3<sup> me</sup> cas. Les atteintes neuro-développementales dans les cas de syndrome de Waardenburg de type 2 dus à des variants de *SOX10* sont connus (retard de développement psychomoteur, hypotonie axiale, déficience intellectuelle), en revanche cela n'est pas connu pour le syndrome de Waardenburg de type 1 secondaire à une atteinte du gène *PAX3*. Il serait également intéressant d'étudier le versant neurologique et développemental d'un plus grand groupe de patients atteints de syndrome de Waardenburg de type 1 dus au gène *PAX3*, car il n'est pas possible de tirer des conclusions à partir d'un seul cas, d'autant plus que les 5 autres cas de syndrome de Waardenburg par atteinte du gène *PAX3* de notre cohorte n'ont pas d'atteinte neuro-développementale.

La première constatation concernant les cas de syndrome de Stickler de notre cohorte est que la surdité n'est pas la porte d'entrée clinique pour un nombre non négligeable d'entre eux (4 patients sur 11 (36,4%). Pour les 7 patients présentant une surdité, les profils sont très variables concernant le type, la sévérité, l'âge d'apparition et l'imagerie. Les seuls paramètres constants sont la bilatéralité et la stabilité de la

surdité. Il n'y a donc pas de profil de surdité très évocateur. En ce qui concerne les anomalies associées, le profil est également variable puisque seulement 4 patients sur 11 présentaient une séquence de Pierre-Robin et seulement 50% des patients présentaient une myopie sévère. Deux patients présentaient des difficultés cognitives, dont 1 avec troubles du comportement.

Les cas de syndrome d'Alport et CHARGE sont malheureusement trop peu nombreux pour que l'on puisse dégager des conclusions concernant le profil des surdités. Signalons simplement que les 3 cas de syndromes d'Alport présentent une surdité post-linguale, comme cela est classiquement décrit pour ce syndrome, et que l'absence de signes ophtalmologiques chez ces 3 cas peut s'expliquer par leur jeune âge au moment du diagnostic.

## 2. Signes évocateurs des étiologies identifiées parmi les patients positifs

Cette description des tableaux des patients positifs nous a permis de dégager les signes les plus souvent associés aux syndromes que nous avons identifiés et de nuancer certaines descriptions de la littérature.

Certaines de nos observations confirment ce qui est classiquement décrit :

- La dépigmentation cutanée et les troubles de la pigmentation irienne ne sont associés qu'au syndrome de Waardenburg ;
- La rétinite pigmentaire ne se rencontre que dans le syndrome d'Usher ;
- La dilatation des aqueducs vestibulaires est présente majoritairement dans les syndromes de Pendred et les surdités on syndromiques DFNB4, elle peut se voir dans le syndrome CHARGE (ce qui était déjà connu) mais, de manière plus surprenante, nous l'avons décrite chez un cas de syndrome d'Usher ;

- Les signes branchiaux orientent majoritairement vers un syndrome BOR mais n'éliminent pas les syndromes d'Alport et CHARGE, il peut y avoir des malformations rénales dans ces 3 syndromes, en revanche il n'y a pas de protéinurie ni hématurie dans le syndrome BOR ;
- Les malformations uro-néphrologiques ne sont pas très discriminantes, elles sont présentes dans de nombreux syndromes différents et n'orientent pas vers une étiologie particulière ;
- Les fentes labio-palatines et la myopie sévère semblent moins fréquentes que ce qui est décrit classiquement dans le syndrome de Stickler ;
- Les atteintes thyroïdiennes ne sont pas constantes dans le syndrome de Pendred.

### 3. Evaluation des signes cliniques associés à la surdité dans l'ensemble du groupe de surdité syndromique et intérêt pour la démarche étiologique

L'étape suivante de notre travail était d'évaluer la spécificité, la sensibilité et la VPP de ces signes dans l'ensemble du groupe de surdité syndromique. L'objectif était de déterminer quel intérêt ont ces signes pour le prescripteur lors de l'examen clinique et si la présence d'un de ces signes permet d'espérer une augmentation de la probabilité de diagnostic moléculaire positif.

Quelques signes cliniques associés ont une VPP très intéressante dans le cadre de la démarche étiologique, notamment ceux associés au syndrome de Waardenburg. En effet, dans le cas d'une dépigmentation cutanée et/ou des phanères et de troubles de la pigmentation irienne, on peut espérer un diagnostic moléculaire dans 77,78% des cas. Mieux encore, la triade clinique associant des troubles de la pigmentation irienne, des zones de dépigmentation cutanée et/ou des phanères et une dystopie des canthi est associée à un diagnostic moléculaire positif dans 100% des cas.

Pour les autres signes ou associations, les valeurs de VPP peuvent paraître modérées ou faibles mais il faut les interpréter en fonction du taux diagnostique global du panel (26%). Par exemple, l'association d'une dilatation bilatérale des aqueducs vestibulaires et d'une atteinte thyroïdienne a une VPP de 50% pour le syndrome de Pendred. L'on peut conclure de ce résultat que seulement la moitié des patients présentant cette association de signes ont effectivement le syndrome suspecté mais également que la présence de ces deux signes à l'examen clinique permet au clinicien de quasiment doubler la probabilité de diagnostic positif par rapport au taux diagnostique global du panel. Il en est de même pour la VPP de l'association d'une myopie sévère et d'une fente labio-palatine pour le syndrome de Stickler. D'autres signes sont associés à une VPP supérieure au taux diagnostique de 26% du panel. C'est le cas des anomalies de la pigmentation irienne et des anomalies de pigmentation cutanée considérés isolément pour le syndrome de Waardeburg (56% et 38,1% respectivement), de la présence d'une myopie sévère seule dans le syndrome de Stickler (33,3%). La présence d'une rétinite pigmentaire associée à la surdité n'augmente que très peu la probabilité d'un diagnostic moléculaire positif par rapport au taux diagnostique global. En revanche, la présence de certains signes n'apporte aucune plus-value sur la probabilité d'un diagnostic moléculaire positif du syndrome qu'ils sont censés évoquer par rapport au taux diagnostique global du panel. C'est le cas de la fente labio-palatine seule pour le syndrome de Stickler (VPP=20%), des signes branchiaux seuls pour le syndrome BOR (VPP=17,7%), de la dilatation des aqueducs vestibulaires seuls pour le syndrome de Pendred (VPP=11,5%). Contrairement à ce que l'on pourrait penser, on ne peut pas espérer une augmentation de la probabilité de diagnostic moléculaire en présence de l'un de ces signes seuls.

Considérés isolément, ils ont donc un poids très relatif dans la démarche étiologique du clinicien.

Les cas de la dilatation des aqueducs vestibulaires et des signes branchiaux sont intéressants. Ils sont en effet associés à un nombre restreint d'étiologies et bien souvent, une dilatation des aqueducs vestibulaires chez un patient sourd oriente le clinicien vers un syndrome de Pendred, tout comme la présence de signes branchiaux chez un patient atteint de surdité évoque le diagnostic de syndrome BOR. Finalement, dans notre cohorte, la majorité des patients atteints de surdité syndromique avec dilatation des aqueducs vestibulaires (on ne tient pas compte ici des patients DFNB4) n'ont pas de syndrome de Pendred, et la majorité des patients sourds avec signes branchiaux n'ont pas de syndrome BOR. Il est intéressant de constater que l'association d'une dilatation des aqueducs vestibulaires et d'une atteinte thyroïdienne chez un patient sourd augmente de manière très importante la probabilité d'identifier moléculairement un syndrome de Pendred. Même si l'effet est plus modéré et ne permet pas de dépasser le seuil diagnostique global de 26%, l'association de signes branchiaux et d'une malformation rénale permet également d'augmenter la probabilité d'identifier moléculairement un syndrome BOR (VPP=20%).

Ces données ne remettent pas en cause les descriptions classiques des syndromes auxquels nous nous sommes intéressés. Au contraire, elles incitent à relativiser le poids des signes cliniques considérés isolément (c'est-à-dire des tableaux cliniques « incomplets ») quant à la probabilité d'un diagnostic moléculaire positif et elles confirment que les patients présentant un tableau clinique dit « complet » de syndrome de Waardenburg, de Pendred, BOR, d'Usher ou de Stickler ont une bien plus grande probabilité d'être positifs sur le plan biologique. Notre analyse souligne donc le poids

des associations de signes cliniques dans la probabilité d'obtenir un diagnostic moléculaire positif.

#### 4. Evaluation de l'intérêt d'autres paramètres cliniques dans la démarche étiologique

##### *a) Le nombre de signes associés*

Malgré nos remarques précédentes, ce n'est pas parce qu'un patient présente un nombre important de signes cliniques associés à la surdité que la probabilité d'identifier un variant causal sera plus élevée. En effet, nous avons montré qu'il n'y a pas de corrélation statistique entre le nombre de signes cliniques et le taux diagnostique (Tableau 25). Comme nous l'avons dit plus haut, les signes neuro-développementaux et les anomalies de croissance sont considérés comme des signes associés dans notre cohorte mais sont peu spécifiques d'étiologies particulières dans les cas des syndromes avec surdité. Par conséquent, il était possible que le fait de prendre en compte les signes neuro-développementaux et les anomalies de croissance pour ce test puisse constituer un facteur confondant. Même en ne considérant que les atteintes spécifiques d'organes, il n'y a pas de corrélation statistiquement significative entre le nombre de signes cliniques associés et le taux de diagnostics moléculaires.

##### *b) Les antécédents familiaux*

La démarche diagnostique en génétique inclut la description précise des antécédents familiaux des patients. En effet, la présence de plusieurs cas d'une même pathologie dans une famille constitue souvent le point de départ de la recherche d'une étiologie génétique.

Dans le cas des surdités d'origine génétique, nous avons pu montrer que la présence d'antécédents familiaux de surdité était significativement associée à un taux de

diagnostique plus élevé que lorsqu'il s'agit de cas sporadiques. Le taux diagnostique est ainsi de 30,8% pour le groupe de patients avec antécédents familiaux, alors qu'il n'est que de 20,6% pour le groupe des cas sporadiques.

Ce résultat a été obtenu à partir de l'ensemble de la cohorte, en considérant les surdités syndromiques et non syndromiques de manière globale. Soulignons également que nous n'avons pas distingué les différents types d'antécédents familiaux de surdité (frères/sœurs, parents...). Le critère « présence d'antécédents familiaux de surdité » était retenu en présence d'un ou plusieurs cas de surdité inexplicée retrouvée au 1<sup>er</sup> et/ou au 2<sup>ème</sup> degré par rapport au cas index. L'analyse pourrait donc être affinée en constituant des sous-groupes en fonction du degré de parenté entre le cas index et l'apparenté également atteint, en fonction du nombre d'apparentés atteints... Cela constitue une piste pour des analyses ultérieures, mais ces données concernant la présence ou l'absence d'antécédents familiaux constituent déjà un indice intéressant pour le clinicien.

### *c) La présence d'hypothèse étiologique*

L'un des principaux enjeux de la consultation de génétique clinique est l'évocation d'une hypothèse étiologique par le généticien clinicien et la prescription d'analyses moléculaires adaptées. A l'heure actuelle, pour des questions de rendement diagnostique mais aussi de coût, les analyses moléculaires ont tendance à devenir de plus en plus globales : l'analyse de panels de gènes est devenue la règle depuis plusieurs années, leur contenu en gènes a tendance à augmenter, les séquençages de l'exome (WES), voire du génome (WGS), deviennent de plus en plus accessibles et leurs indications sont de plus en plus larges.

Cependant, le rôle du généticien clinicien et notamment sa capacité à émettre une hypothèse étiologique en réponse au tableau clinique du patient gardent une place importante. D'une part, cela oriente l'interprétation du biologiste et il est bien souvent impossible d'effectuer un diagnostic moléculaire sans les données cliniques. D'autre part, nous avons pu montrer que le taux diagnostique du panel NGS-surdité est significativement plus élevé lorsqu'une hypothèse étiologique est effectuée par le clinicien en amont de l'analyse (30,7%) que lorsque le tableau n'est pas évocateur d'une étiologie en particulier (18,6%). Cette donnée souligne l'importance du généticien clinicien dans la démarche diagnostique.

Les syndromes pour lesquels l'hypothèse étiologique est la plus souvent confirmée sont les syndromes d'Usher (50%) et Waardenburg (47%). En revanche, les hypothèses de syndromes BOR et d'Alport sont rarement confirmées (<15%). De même, l'hypothèse de syndrome de Pendred est assez rarement confirmée (20%). Ces données vont dans le sens des constatations que nous avons faites précédemment concernant la VPP des signes évocateurs de ces différents syndromes.

#### 5. Cas des patients ne présentant que des atteintes neuro-développementales et/ou des anomalies de croissance

Comme nous l'avons détaillé plus haut, nous nous sommes questionnés quant à la pertinence de considérer les atteintes neuro-développementales et les anomalies de croissance comme des signes associés chez les patients atteints de surdité. Afin de tenter d'apporter une réponse à cette question, nous avons considéré le sous-groupe des patients présentant une surdité syndromique et dont les seuls signes associés sont des signes neuro-développementaux et/ou des anomalies de croissance. Le taux diagnostique du panel NGS-surdité est très altéré pour ces patients : il n'est que de

10,8% pour les patients avec atteinte neuro-développementale uniquement et aucun variant causal n'a été mis en évidence dans des gènes de surdité chez les patients présentant une surdité, une atteinte neuro-développementale et un retard de croissance. Dans 3 des 4 cas de surdité associée uniquement à des atteintes neuro-développementales, le gène en cause était un gène de surdité non syndromique. Les signes neuro-développementaux n'ont donc pas vraiment d'impact dans la démarche diagnostique des surdités génétiques et l'intérêt de les considérer réellement comme des signes associés à la surdité est discutable.

#### 6. Conclusions de l'analyse des signes cliniques associés

L'analyse de notre cohorte nous permet de tirer certaines conclusions quant à la démarche diagnostique du clinicien dans le cadre des surdités d'origine génétique.

Les données suivantes sont associées à une augmentation statistiquement significative de la probabilité d'identifier une étiologie génétique :

- La présence d'antécédents familiaux ;
- Un tableau évocateur d'hypothèse étiologique précise pour le clinicien en amont des analyses biologiques dans le cas des surdités syndromiques.

Le bilan paraclinique qui nous semble indispensable dans la démarche étiologique est : l'imagerie des oreilles (TDM et/ou IRM), l'examen ophtalmologique, la BU, l'échographie rénale, l'ECG (même si nous n'avons pas de cas de syndrome de Jervell-Lange-Nielsen dans notre cohorte, il nous semble important de ne pas passer à côté d'éventuels troubles du rythme ou de conduction cardiaque).

Concernant les surdités isolées, nous retenons 3 paramètres de surdité qui sont fortement en défaveur d'une étiologie génétique :

- Le caractère unilatéral de la surdité ;

- Le caractère fluctuant de la surdité ;
- Une surdité de transmission.

Concernant les surdités syndromiques, l'étude des paramètres de surdité seule n'apporte pas grand-chose, tous les profils étant possibles en fonction des syndromes identifiés.

En fonction des signes associés à la surdité, on pourra retenir les données suivantes :

- La présence d'anomalies de pigmentation cutanée et/ou des phanères et/ou de troubles de la pigmentation irienne et/ou de dystopie des canthi est associée à un fort taux diagnostique et ne concerne que le syndrome de Waardenburg, la présence de ces 3 types de signes permet d'espérer un diagnostic moléculaire positif dans 100% des cas ;
- La présence d'une rétinite pigmentaire oriente vers le syndrome d'Usher ;
- Devant une dilatation des aqueducs vestibulaires seule, la probabilité d'un syndrome de Pendred est assez faible, en revanche s'il existe une dysthyroïdie associée, la probabilité de diagnostic moléculaire de syndrome de Pendred est de 50%, la prescription d'un bilan thyroïdien devant une dilatation des aqueducs vestibulaires à l'imagerie est importante ;
- la présence de signes branchiaux oriente principalement vers un syndrome BOR, mais n'élimine pas les syndromes d'Alport et CHARGE :
  - l'échographie rénale n'est pas discriminante entre ces 3 étiologies ;
  - en cas de normalité de l'échographie rénale, la probabilité d'un diagnostic de syndrome BOR est assez faible (13,3%) ;
  - l'association d'une protéinurie et/ou hématurie et de signes branchiaux est présente uniquement dans le syndrome d'Alport parmi nos patients ;

- l'absence de signes branchiaux élimine en revanche la possibilité d'un syndrome BOR ;
- la présence d'une fente labio-palatine doit faire rechercher une myopie sévère, l'association des 2 signes permet d'espérer un diagnostic de syndrome de Stickler dans 50% des cas.

La recherche de troubles neuro-développementaux et d'anomalies de croissance ne semblent pas apporter d'augmentation de rendement diagnostique dans le cadre des surdités héréditaires.

## V. Le conseil génétique dans le domaine des surdités héréditaires

Nous l'avons vu, les surdités héréditaires représentent un groupe de pathologies très hétérogènes sur le plan clinique mais également sur le plan génétique. L'apport du diagnostic moléculaire est donc très important pour le conseil génétique.

Cela est particulièrement vrai dans le cas des surdités isolées. En effet, les surdités isolées sont non seulement très hétérogènes génétiquement mais il n'est souvent pas possible de différencier uniquement sur la clinique les formes autosomiques dominantes, récessives, liées à l'X ou encore mitochondriales. Dans ce contexte, seul le diagnostic moléculaire permet d'établir un conseil génétique fiable, qui impacte fortement de nombreux aspects de la vie des patients : le risque de récurrence de la pathologie lors d'une grossesse future pour les parents d'un enfant atteint, le risque de transmission à la descendance d'un patient atteint, la recherche d'hétérozygotie chez le conjoint d'un patient atteint d'une forme autosomique récessive, le dépistage des apparentés éventuellement concernés par la pathologie (hétérozygotes dans les formes récessives par exemple)... A titre d'exemple, il nous a été rapporté une expérience personnelle d'un clinicien concernant deux membres d'un couple atteints

de surdité isolée, sans antécédents familiaux, pour qui un conseil génétique rassurant avait été initialement établi. Les patients étant tous deux atteints de la même forme, autosomique récessive de surdité, le risque pour chaque grossesse était en réalité de 100%. Dans le cadre des surdités isolées, seul un diagnostic moléculaire de certitude permet un conseil génétique fiable.

Dans le cadre des surdités syndromiques, la clinique peut permettre d'établir un diagnostic étiologique et d'établir le conseil génétique. Nous avons cependant montré dans ce travail que, si la clinique est essentielle pour le diagnostic étiologique, un nombre important de diagnostics n'auraient pas pu être établis sans la biologie moléculaire. Les analyses moléculaires permettent parfois l'identification d'un diagnostic syndromique qui n'était pas suspecté. Dans ce cas, le diagnostic moléculaire précoce permet, en plus du conseil génétique, d'optimiser la prise en charge du patient : dépistage et surveillance d'atteintes d'autres organes, traitement préventif...

Les analyses NGS permettent donc non seulement d'augmenter les capacités diagnostiques en génétique mais également d'affiner la prise en charge du patient par le généticien clinicien.

## VI.L'activité de diagnostic des surdités génétiques au CHU de Lille

La description de notre cohorte sur 2 ans et demi nous a permis de décrire l'évolution de l'activité de diagnostic des surdités d'origine génétiques par méthode NGS au CHU de Lille.

Cette activité a été mise en place au CHU de Lille en 2014. Elle s'est régulièrement développée depuis cette date, que ce soit au niveau du panel lui-même, qui comportait 123 gènes en 2014 contre 214 gènes depuis 2020, ou de l'activité en termes de dossiers analysés au laboratoire. En effet, depuis 2018, date de début de notre recueil,

nous constatons une augmentation globale de l'activité de séquençage du panel NGS-surdité : 184 analyses en 2018, 328 analyses en 2019 et 499 analyses en 2020.

Les 692 patients de notre cohorte proviennent de 35 centres différents. Comme nous nous y attendions, les prescripteurs de la région Nord-Pas-de-Calais forment le plus gros centre prescripteur (289 demandes, 41,8% de l'activité totale) et le CHU de Lille représente à lui seul 227 demandes (32,8% de l'activité totale). Le choix de considérer la région Nord-Pas-de-Calais comme un seul centre se justifie par le fait que les prescriptrices des CH de Lens et Arras sont également praticiens hospitaliers au CHU de Lille. Nous aurions pu considérer le CH Saint-Vincent-de-Paul de Lille comme une entité séparée mais nous avons considéré que tous les dossiers provenant d'une même ville appartenaient à un même centre (nous avons par exemple considéré les différents hôpitaux parisiens comme un seul et même centre).

La majeure partie de l'activité du laboratoire dépend des prescriptions des centres extérieurs (403 demandes, 53,8% de l'activité globale), et ce chaque année depuis 2018. La proportion des demandes provenant de l'extérieur a augmenté au fil des ans. De plus, le nombre de centres extérieurs augmente également chaque année depuis 2018. Nous avons donc supposé que l'augmentation de l'activité pourrait être expliquée par l'augmentation du nombre de centres prescripteurs extérieurs au fil des ans. Cette hypothèse n'est que partiellement exacte. En effet, les centres prescripteurs qui adressent des demandes au laboratoire tous les ans de manière systématique depuis 2018 représentent la majorité des prescriptions des centres extérieurs (16 centres, soit 88,7% des demandes des centres extérieurs et 51,4% des demandes totales). Ces 16 centres ont une activité de prescription qui a globalement augmenté au fil des ans (48% de l'activité du laboratoire en 2018, 53,3% en 2019 et 51,1% en 2020). Les autres centres, qui n'ont pas adressé de demandes à notre laboratoire

chaque année, ont certes augmenté leur activité depuis 2018 (4% de l'activité en 2018, 10% en 2020) mais cette augmentation est trop faible pour constituer le facteur expliquant l'augmentation d'activité du laboratoire. Il s'agit donc d'une augmentation globale provenant des centres extérieurs : les centres partenaires de notre laboratoire depuis plusieurs années sont les plus gros prescripteurs et renforcent ce partenariat au fil du temps et il existe une composante provenant des « nouveaux » centres prescripteurs, qui ont une faible activité de prescription individuellement, mais sont de plus en plus nombreux et participent donc à l'augmentation de l'activité globale.

Les examens de biologie moléculaire sont de plus en plus accessibles et la prescription s'ouvre progressivement à des praticiens autres que des généticiens. Il nous apparaissait donc possible que l'augmentation de l'activité du laboratoire entre 2018 et 2020 soit due à une augmentation des prescriptions par des médecins non généticiens. Cette hypothèse ne s'est pas vérifiée. En effet, depuis 2018, la part des prescriptions d'analyses du panel NGS-surdité par des généticiens cliniciens a augmenté (84,8% des demandes en 2018, 88,9% en 2020), la part de prescriptions faites par les ORL et ophtalmologistes a légèrement diminué (12,5% en 2018, 10% en 2020). Contrairement à notre hypothèse, la prescription d'analyses moléculaires ne semble pas s'être répandue parmi les autres spécialités médicales, en tous cas en ce qui concerne le diagnostic des surdités héréditaires : la part de prescriptions par les autres spécialistes est passée de 2,7% en 2018 à 1,1% en 2020. Le choix de séparer les ORL des autres spécialistes semble logique lorsque l'on considère le diagnostic des surdités génétiques. Le choix de regrouper les ORL et les ophtalmologistes vient du fait que ceux-ci sont amenés à prescrire assez régulièrement l'analyse du panel NGS-surdités dans leur pratique clinique, du fait notamment de la présence des gènes des syndromes d'Usher et de Stickler dans le panel.

L'augmentation des prescriptions par les généticiens est possiblement corrélée à l'augmentation du nombre des prescriptions provenant des centres extérieurs. En effet, dans les centres extérieurs, les correspondants cliniciens du laboratoire sont quasiment toujours des généticiens.

## VII. Points forts et limites de l'étude

### A. Points forts

Nous rapportons dans ce travail une cohorte de patients atteints de surdité d'effectif important (n=692). A notre connaissance, une seule étude rapporte une cohorte plus large (31). Les principales publications récentes étudiant les surdités héréditaires sur le plan moléculaire décrivent souvent des groupes de patients de taille bien inférieure au nôtre (33,34,171,173,174).

Notre cohorte décrit des patients atteints de surdité syndromique et de surdité isolée dans des proportions assez proches. Dans la littérature, les cohortes publiées comprennent soit uniquement des patients atteints de surdité isolée (172), soit des patients atteints de surdité isolée et syndromique mais avec une forte prédominance de patients présentant une surdité isolée (31,33,172,174). Les publications rapportant un nombre de patients atteints de surdités syndromiques aussi important que le nôtre (n=388) et hétérogènes cliniquement et génétiquement sont donc très rares.

La description précise des phénotypes des patients de notre cohorte peut constituer un point fort de notre travail. La description clinique des patients est souvent précise dans les études se concentrant sur un seul syndrome ou un seul type de surdité. En revanche, parmi les études de larges cohortes de patients atteints de surdité, la description clinique des patients manque de précision. Ces études sont principalement centrées sur les résultats des analyses moléculaires.

De par son effectif et son hétérogénéité clinique et moléculaire, notre cohorte reflète bien la diversité de l'activité du diagnostic clinique et moléculaire des surdités génétiques. Même en l'absence de tests statistiques de significativité, le fait de décrire des cohortes de grande taille permet de mieux caractériser les profils des patients atteints et l'étendue des diagnostics moléculaires possibles.

## **B. Limites de l'étude**

La principale limite de ce travail est qu'il s'agit d'une étude rétrospective, ce qui implique un certain nombre de données manquantes, malgré un recueil aussi approfondi que possible et la collaboration importante des correspondants extérieurs au CHU de Lille. Cette notion de données manquantes concerne bien sûr les patients pour lesquels nous n'avons pas eu de retour des prescripteurs, mais des données étaient également manquantes chez certains patients pour lesquels nous avons pu effectuer un recueil. La proportion de données manquantes a parfois considérablement gêné l'interprétation des profils cliniques de nos patients au sein des différents sous-groupes. La mise en place d'un recueil prospectif dont les objectifs seraient clairement définis à l'avance permettrait de pallier cette limite.

Le second point faible de ce travail est le fait que nous n'avons pas pu effectuer de test statistique permettant de déterminer quels signes cliniques sont significativement plus fréquents parmi les patients positifs sur le plan moléculaire par rapport aux patients négatifs. Notre travail à ce niveau est essentiellement descriptif. L'impossibilité d'effectuer ce genre de tests comparatifs provient des données manquantes mais aussi de l'hétérogénéité importante de nos patients sur le plan clinique et étiologique. Cette grande hétérogénéité nous a obligés d'une part à étudier de manière séparée les patients atteints de surdité isolée et les patients de surdité syndromique, et d'autre part à diviser le groupe des patients atteints de surdité

syndromique en plusieurs sous-groupe en fonction de la cause identifiée. Il n'était en effet pas possible de considérer ces patients comme un groupe homogène, étant donnée la diversité des présentations cliniques en fonction des syndromes suspectés. Le nombre important de sous-groupes est responsable de faibles effectifs dans chaque sous-groupe de surdité syndromique, rendant les tests statistiques impossibles.

La diversité des syndromes identifiés et le nombre important des gènes impliqués dans les diagnostics positifs ont également rendu difficile l'analyse de corrélation génotype-phénotype pour chaque gène. Cependant, certains sous-groupes de notre cohorte sont de taille intéressante (24 patients atteints de syndrome d'Usher, 14 patients positifs pour le gène *STRC* par exemple) et ces questions pourraient justifier la constitution de groupes de patients plus précis et homogènes et faire l'objet de futures études.

La taille et l'hétérogénéité de notre cohorte constituent donc à la fois des points forts et des limites de notre étude.

Les résultats décrits dans notre cohorte ont subi l'effet de certains facteurs confondants qui sont le reflet du fonctionnement du laboratoire ou du recrutement des patients. Ainsi, nous rapportons un nombre anormalement faible de cas de surdité isolée dues à une atteinte de *GJB2*, du fait de la pratique de l'analyse ciblée de ce gène en première intention chez de très nombreux patients. De même, nous rapportons seulement 3 patients atteints de syndrome d'Alport et 2 cas de syndrome CHARGE, alors que nous avons au préalable envisagé ces syndromes comme faisant partie des principales étiologies de surdité syndromique. Ce faible nombre de cas vient probablement du fait que les patients concernés sont orientés vers d'autres types

d'analyses génétiques (panel de gènes impliqués dans les néphropathies héréditaires pour le syndrome d'Alport par exemple). Ces exemples sont possiblement responsables d'une diminution du taux diagnostique global du panel NGS-surdités.

## VIII.Perspectives

Les analyses NGS de panels de gènes permettent une augmentation certaine du rendement diagnostique par rapport aux analyses ciblées, mais tous les diagnostics de surdité génétique ne peuvent être établis par l'étude du panel NGS-surdités.

Dans ces situations, le recours à des analyses NGS plus larges, c'est-à-dire le séquençage de l'exome (WES) voire du génome (WGS), pourrait représenter une solution. Ces analyses sont réalisables techniquement mais encore d'accès limité en routine diagnostique.

Depuis quelques mois, dans le cadre du Plan France Médecine Génomique 2025, des plates-formes centralisées de séquençage à haut débit permettent le séquençage du génome de patients pour lesquels aucune étiologie n'a été mise en évidence grâce aux techniques de routine. Ces analyses ne peuvent se faire que dans le cadre de certaines indications précises. Les surdités non syndromiques (sans atteinte anatomique de l'oreille), même dans une forme familiale, ne font pas partie de ces pré-indications et aucune analyse complémentaire ne peut être proposée aux patients atteints de surdité isolée et dont l'analyse du panel NGS-surdités est négative.

Ces patients sont néanmoins nombreux et représentent 63 cas index dans notre cohorte. Le développement de l'analyse de l'exome localement pour ces familles pourrait être une alternative et permettrait pour un certain nombre d'entre eux d'établir un diagnostic, de préciser le conseil génétique et d'optimiser la prise en charge.

Nous avons vu dans ce travail que les causes mitochondriales représentent une part non négligeable des surdités héréditaires : 8 diagnostics parmi 60 analyses à notre disposition, soit 4,4% des cas positifs. Au cours de notre recueil, nous avons pu constater que la recherche de surdité mitochondriale est souvent demandée en seconde intention, après l'analyse du panel NGS-surdités (elle-même parfois précédée de l'analyse ciblée des gènes *GJB2* et *GJB6*). Il serait intéressant à l'avenir d'élargir les indications des analyses mitochondriales dans le cadre du diagnostic moléculaire des surdités génétiques. La question d'intégrer l'étude des gènes du panel et la recherche de variants mitochondriaux dans une même analyse pourrait également se poser, même si cela génèrerait des défis sur le plan technique.

Enfin, comme nous l'avons déjà évoqué, la constitution de cette cohorte descriptive peut servir de base pour des travaux ultérieurs. En effet, la description des différents groupes de patients a permis de soulever certaines questions concernant les caractéristiques cliniques de certaines étiologies ou encore la corrélation génotype-phénotype de certains syndromes. Il sera tout à fait possible de réutiliser les données collectées dans le cadre de ce travail afin de constituer des groupes de patients plus ciblés et de tenter de répondre à des questions précises d'ordre clinique et moléculaires.

# Conclusion

Nous rapportons les données cliniques et moléculaires d'un nombre important de patients présentant une surdité. Notre cohorte, très hétérogène sur le plan clinique et sur le plan génétique, reflète la diversité des gènes impliqués et des situations cliniques possibles dans le domaine des surdités héréditaires.

Un diagnostic moléculaire est possible dans 26% des cas grâce à notre panel de gènes. Néanmoins, la prise en compte de nombreux cas de surdité DFNB1 dus au gène *GJB2* et identifiés par analyses ciblées, permet de réévaluer ce taux diagnostique à environ 43%.

La description fine du phénotype de nos patients nous permet de souligner l'importance de certains éléments cliniques dans la démarche diagnostique. Dans certains cas, les paramètres de surdité isolée permettent quasiment d'éliminer la possibilité d'une étiologie génétique. Nous confirmons la spécificité et la valeur prédictive positive de certaines présentations cliniques pour des étiologies précises et nuancions au contraire le caractère prédictif de certains signes cliniques pour le syndrome auquel ils sont classiquement associés. Notre travail souligne l'importance de la caractérisation du profil clinique du patient en amont des analyses moléculaires.

L'hétérogénéité clinique et le caractère rétrospectif de notre travail n'ont pas permis d'effectuer de test statistique sur les liens possibles entre les signes cliniques des patients et la positivité des analyses moléculaires. Néanmoins, les données de ce travail descriptif peuvent servir de base pour définir de prochaines études, centrées autour d'objectifs plus précis et qui permettront de résoudre des questions auxquelles la taille et l'hétérogénéité de notre cohorte nous ont empêchés de réellement répondre.

Ce travail reflète assez bien les avantages et les limites de l'activité de séquençage NGS d'un panel de gènes en biologie moléculaire. Le recours à un panel de gènes bien défini limite l'identification de VSI, grande problématique en biologie moléculaire, et permet au laboratoire qui le pratique l'acquisition d'une expertise dans le domaine concerné. Il est probable que l'évolution des techniques en génétique entraîne un recours de plus en plus fréquent aux analyses plus larges (WES, WGS). La mise en place de grandes plates-formes de séquençage, comme c'est le cas dans le cadre du plan France Médecine Génomique 2025, pourrait modifier profondément l'organisation de la pratique du diagnostic moléculaire en France. Dans ce contexte, la description de cohortes de grande taille permet d'affiner les connaissances de certains domaines de la génétique, d'appréhender l'étendue des diagnostics moléculaires possibles et de mieux caractériser les profils des patients atteints.

Le recours au Plan France Médecine Génomique 2025 étant à l'heure actuelle impossible pour tous les patients atteints de surdité isolée sans diagnostic identifiée grâce au panel de g nes, la mise en place localement d'analyses moléculaires plus larges pour ce groupe non négligeable de patients serait particulièrement intéressante.

# Bibliographie

1. Tanaka-Ouyang L, Marlin S, Nevoux J. [Genetic hearing loss]. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. 2017 Nov;46(11):1089–96.
2. Zhang J, Guan J, Wang H, Yin L, Wang D, Zhao L, et al. Genotype-phenotype correlation analysis of MYO15A variants in autosomal recessive non-syndromic hearing loss. *BMC Med Genet*. 2019 Apr 5;20(1):60.
3. Deafness and hearing loss [Internet]. [cited 2021 May 2]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/deafness-and-hearing-loss>
4. Shearer AE, Hildebrand MS, Smith RJ. Hereditary Hearing Loss and Deafness Overview. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2021 Apr 5]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1434/>
5. Hereditary hearing loss - hereditary hearing loss homepage [Internet]. Available from: <https://hereditaryhearingloss.org>
6. Audition - Oreille - Cochlée [Internet]. [cited 2021 Apr 27]. Available from: <http://www.cochlea.eu>
7. Pocock G, Richards CD, Richards DA, Richalet J-P, Vandewalle H. *Physiologie humaine et physiopathologie: les fondements de la médecine*. 2019.
8. NETTER F. *ATLAS D'ANATOMIE HUMAINE*. Place of publication not identified: EDUCA Books; 2019.
9. Kamina P. *Précis d'anatomie clinique*. Tome II, Tome II,. 2002.
10. Raphael Y, Altschuler RA. Structure and innervation of the cochlea. *Brain Res Bull*. 2003 Jun 15;60(5–6):397–422.
11. Fettiplace R. Hair Cell Transduction, Tuning, and Synaptic Transmission in the Mammalian Cochlea. *Compr Physiol*. 2017 Sep 12;7(4):1197–227.
12. Schwander M, Kachar B, Müller U. The cell biology of hearing. *J Cell Biol*. 2010 Jul 12;190(1):9–20.
13. Lorenzi A. Audition et démasquage binaural chez l'homme. :110.
14. Fuchs JC, Tucker AS. Development and Integration of the Ear. *Curr Top Dev Biol*. 2015;115:213–32.
15. Grevellec A, Tucker AS. The pharyngeal pouches and clefts: Development, evolution, structure and derivatives. *Semin Cell Dev Biol*. 2010 May 1;21(3):325–32.
16. Lawrence M, Wolsk D, Litton WB. Circulation of the inner ear fluids. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1961 Sep;70:753–76.
17. Drummond MC, Belyantseva IA, Friderici KH, Friedman TB. Actin in hair cells and hearing loss. *Hear Res*. 2012 Jun;288(1–2):89–99.
18. Fettiplace R. Is TMC1 the Hair Cell Mechanotransducer Channel? *Biophys J*. 2016 Jul 12;111(1):3–9.
19. Verpy E, Leibovici M, Michalski N, Goodyear RJ, Houdon C, Weil D, et al. Stereocilin connects outer hair cell stereocilia to one another and to the tectorial membrane. *J Comp Neurol*. 2011 Feb 1;519(2):194–210.
20. Kazmierczak P, Sakaguchi H, Tokita J, Wilson-Kubalek EM, Milligan RA, Müller U, et al. Cadherin 23 and protocadherin 15 interact to form tip-link filaments in sensory hair cells.

Nature. 2007 Sep 6;449(7158):87–91.

21. Pan B, Akyuz N, Liu X-P, Asai Y, Nist-Lund C, Kurima K, et al. TMC1 Forms the Pore of Mechanosensory Transduction Channels in Vertebrate Inner Ear Hair Cells. *Neuron*. 2018 Aug 22;99(4):736-753.e6.
22. Wangemann P. [Potassium ion secretion and generation of the endocochlear potential in the stria vascularis]. *HNO*. 1997 Apr;45(4):205–9.
23. Zdebik AA, Wangemann P, Jentsch TJ. Potassium ion movement in the inner ear: insights from genetic disease and mouse models. *Physiol Bethesda Md*. 2009 Oct;24:307–16.
24. Fuchs PA, Glowatzki E, Moser T. The afferent synapse of cochlear hair cells. *Curr Opin Neurobiol*. 2003 Aug;13(4):452–8.
25. Glowatzki E, Grant L, Fuchs P. Hair cell afferent synapses. *Curr Opin Neurobiol*. 2008 Aug;18(4):389–95.
26. Glowatzki E, Fuchs PA. Transmitter release at the hair cell ribbon synapse. *Nat Neurosci*. 2002 Feb;5(2):147–54.
27. Jagger DJ, Forge A. Connexins and gap junctions in the inner ear--it's not just about K<sup>+</sup> recycling. *Cell Tissue Res*. 2015 Jun;360(3):633–44.
28. Jagger DJ, Nevill G, Forge A. The Membrane Properties of Cochlear Root Cells are Consistent with Roles in Potassium Recirculation and Spatial Buffering. *J Assoc Res Otolaryngol JARO*. 2010 Sep;11(3):435–48.
29. Liu W, Edin F, Blom H, Magnusson P, Schrott-Fischer A, Glueckert R, et al. Super-resolution structured illumination fluorescence microscopy of the lateral wall of the cochlea: the Connexin26/30 proteins are separately expressed in man. *Cell Tissue Res*. 2016 Jul;365(1):13–27.
30. Rec\_02-01\_fr Classification audiométrique des déficiences auditives.pdf.
31. Sloan-Heggen CM, Bierer AO, Shearer AE, Kolbe DL, Nishimura CJ, Frees KL, et al. Comprehensive genetic testing in the clinical evaluation of 1119 patients with hearing loss. *Hum Genet*. 2016 Apr;135(4):441–50.
32. Korver AMH, Smith RJH, Van Camp G, Schleiss MR, Bitner-Glindzicz MAK, Lustig LR, et al. Congenital hearing loss. *Nat Rev Dis Primer*. 2017 Jan 12;3:16094.
33. Morgan A, Lenarduzzi S, Spedicati B, Cattaruzzi E, Murru FM, Pelliccione G, et al. Lights and Shadows in the Genetics of Syndromic and Non-Syndromic Hearing Loss in the Italian Population. *Genes*. 2020 Oct 22;11(11):1237.
34. Cabanillas R, Diñeiro M, Cifuentes GA, Castillo D, Pruneda PC, Álvarez R, et al. Comprehensive genomic diagnosis of non-syndromic and syndromic hereditary hearing loss in Spanish patients. *BMC Med Genomics*. 2018 Dec;11(1):58.
35. Antoni M, Rouillon I, Denoyelle F, Garabédian E-N, Loundon N. Newborn hearing screening: Prevalence and medical and paramedical treatment of bilateral hearing loss in a neonatal series in the Île-de-France region of France. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*. 2016 Apr;133(2):95–9.
36. Lieu JEC, Kenna M, Anne S, Davidson L. Hearing Loss in Children: A Review. *JAMA*. 2020 Dec 1;324(21):2195–205.
37. Butcher E, Dezateux C, Cortina-Borja M, Knowles RL. Prevalence of permanent childhood hearing loss detected at the universal newborn hearing screen: Systematic review and meta-analysis. Mathes T, editor. *PLOS ONE*. 2019 Jul 11;14(7):e0219600.
38. Dror AA, Avraham KB. Hearing impairment: a panoply of genes and functions. *Neuron*. 2010 Oct 21;68(2):293–308.

39. Douville PJ, Atanasoski S, Tobler A, Fontana A, Schwab ME. The brain-specific POU-box gene *Brn4* is a sex-linked transcription factor located on the human and mouse X chromosomes. *Mamm Genome Off J Int Mamm Genome Soc.* 1994 Mar;5(3):180–2.
40. Sturm RA, Herr W. The POU domain is a bipartite DNA-binding structure. *Nature.* 1988 Dec 8;336(6199):601–4.
41. de Kok YJ, van der Maarel SM, Bitner-Glindzicz M, Huber I, Monaco AP, Malcolm S, et al. Association between X-linked mixed deafness and mutations in the POU domain gene *POU3F4*. *Science.* 1995 Feb 3;267(5198):685–8.
42. Petersen MB, Wang Q, Willems PJ. Sex-linked deafness. *Clin Genet.* 2008 Jan;73(1):14–23.
43. Bitner-Glindzicz M, Turnpenny P, Höglund P, Kääriäinen H, Sankila EM, van der Maarel SM, et al. Further mutations in *Brain 4 (POU3F4)* clarify the phenotype in the X-linked deafness, *DFN3*. *Hum Mol Genet.* 1995 Aug;4(8):1467–9.
44. Wang Q-J, Li Q-Z, Rao S-Q, Zhao Y-L, Yuan H, Yang W-Y, et al. A novel mutation of *POU3F4* causes congenital profound sensorineural hearing loss in a large Chinese family. *The Laryngoscope.* 2006 Jun;116(6):944–50.
45. Phelps PD, Reardon W, Pembrey M, Bellman S, Luxon L. X-linked deafness, stapes gushers and a distinctive defect of the inner ear. *Neuroradiology.* 1991;33(4):326–30.
46. Phippard D, Lu L, Lee D, Saunders JC, Crenshaw EB. Targeted mutagenesis of the POU-domain gene *Brn4/Pou3f4* causes developmental defects in the inner ear. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 1999 Jul 15;19(14):5980–9.
47. Vahava O, Morell R, Lynch ED, Weiss S, Kagan ME, Ahituv N, et al. Mutation in Transcription Factor *POU4F3* Associated with Inherited Progressive Hearing Loss in Humans. *Science.* 1998 Mar 20;279(5358):1950–4.
48. Collin RWJ, Kalay E, Tariq M, Peters T, van der Zwaag B, Venselaar H, et al. Mutations of *ESRRB* encoding estrogen-related receptor beta cause autosomal-recessive nonsyndromic hearing impairment *DFNB35*. *Am J Hum Genet.* 2008 Jan;82(1):125–38.
49. Kim H-J, Won H-H, Park K-J, Hong SH, Ki C-S, Cho SS, et al. SNP linkage analysis and whole exome sequencing identify a novel *POU4F3* mutation in autosomal dominant late-onset nonsyndromic hearing loss (*DFNA15*). *PLoS One.* 2013;8(11):e79063.
50. Collin RWJ, Chellappa R, Pauw R-J, Vriend G, Oostrik J, van Drunen W, et al. Missense Mutations in *POU4F3* Cause Autosomal Dominant Hearing Impairment *DFNA15* and Affect Subcellular Localization and DNA Binding. *Hum Mutat.* 2008 Apr;29(4):545–54.
51. Lee HK, Park H-J, Lee K-Y, Park R, Kim U-K. A novel frameshift mutation of *POU4F3* gene associated with autosomal dominant non-syndromic hearing loss. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010 Jun 4;396(3):626–30.
52. Xiang M, Gao WQ, Hasson T, Shin JJ. Requirement for *Brn-3c* in maturation and survival, but not in fate determination of inner ear hair cells. *Dev Camb Engl.* 1998 Oct;125(20):3935–46.
53. Erkman L, McEvilly RJ, Luo L, Ryan AK, Hooshmand F, O'Connell SM, et al. Role of transcription factors *Brn-3.1* and *Brn-3.2* in auditory and visual system development. *Nature.* 1996 Jun 13;381(6583):603–6.
54. Matsuzaki S, Hosoya M, Okano H, Fujioka M, Ogawa K. Expression pattern of *EYA4* in the common marmoset (*Callithrix jacchus*) cochlea. *Neurosci Lett.* 2018 Jan 1;662:185–8.
55. O'Neill ME, Marietta J, Nishimura D, Wayne S, Van Camp G, Van Laer L, et al. A gene for autosomal dominant late-onset progressive non-syndromic hearing loss, *DFNA10*, maps to chromosome 6. *Hum Mol Genet.* 1996 Jun;5(6):853–6.

56. Verhoeven K, Fagerheim T, Prasad S, Wayne S, De Clau F, Balemans W, et al. Refined localization and two additional linked families for the DFNA10 locus for nonsyndromic hearing impairment. *Hum Genet.* 2000 Jul;107(1):7–11.
57. Shinagawa J, Moteki H, Nishio S-Y, Ohyama K, Otsuki K, Iwasaki S, et al. Prevalence and clinical features of hearing loss caused by EYA4 variants. *Sci Rep.* 2020 Feb 27;10(1):3662.
58. Wayne S, Robertson NG, DeClau F, Chen N, Verhoeven K, Prasad S, et al. Mutations in the transcriptional activator EYA4 cause late-onset deafness at the DFNA10 locus. *Hum Mol Genet.* 2001 Feb 1;10(3):195–200.
59. Kubisch C, Schroeder BC, Friedrich T, Lütjohann B, El-Amraoui A, Marlin S, et al. KCNQ4, a novel potassium channel expressed in sensory outer hair cells, is mutated in dominant deafness. *Cell.* 1999 Feb 5;96(3):437–46.
60. Coucke PJ, Van Hauwe P, Kelley PM, Kunst H, Schatteman I, Van Velzen D, et al. Mutations in the KCNQ4 gene are responsible for autosomal dominant deafness in four DFNA2 families. *Hum Mol Genet.* 1999 Jul;8(7):1321–8.
61. Mencía Á, González-Nieto D, Modamio-Høybjør S, Etxeberría A, Aránguez G, Salvador N, et al. A novel KCNQ4 pore-region mutation (p.G296S) causes deafness by impairing cell-surface channel expression. *Hum Genet.* 2008 Feb;123(1):41–53.
62. Shin DH, Jung J, Koh YI, Rim JH, Lee JS, Choi HJ, et al. A recurrent mutation in KCNQ4 in Korean families with nonsyndromic hearing loss and rescue of the channel activity by KCNQ activators. *Hum Mutat.* 2019 Mar;40(3):335–46.
63. Huang B, Liu Y, Gao X, Xu J, Dai P, Zhu Q, et al. A novel pore-region mutation, c.887G > A (p.G296D) in KCNQ4, causing hearing loss in a Chinese family with autosomal dominant non-syndromic deafness 2. *BMC Med Genet.* 2017 Dec;18(1):36.
64. Kamada F, Kure S, Kudo T, Suzuki Y, Oshima T, Ichinohe A, et al. A novel KCNQ4 one-base deletion in a large pedigree with hearing loss: implication for the genotype–phenotype correlation. *J Hum Genet.* 2006 May;51(5):455–60.
65. Kharkovets T, Hardelin JP, Safieddine S, Schweizer M, El-Amraoui A, Petit C, et al. KCNQ4, a K<sup>+</sup> channel mutated in a form of dominant deafness, is expressed in the inner ear and the central auditory pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 Apr 11;97(8):4333–8.
66. Kharkovets T, Dedek K, Maier H, Schweizer M, Khimich D, Nouvian R, et al. Mice with altered KCNQ4 K<sup>+</sup> channels implicate sensory outer hair cells in human progressive deafness. *EMBO J.* 2006 Feb 8;25(3):642–52.
67. Verselis VK. Connexin hemichannels and cochlear function. *Neurosci Lett.* 2019 Mar;695:40–5.
68. Zhao H-B, Yu N. Distinct and gradient distributions of connexin26 and connexin30 in the cochlear sensory epithelium of guinea pigs. *J Comp Neurol.* 2006 Nov 20;499(3):506–18.
69. Lautermann J, ten Cate WJ, Altenhoff P, Grümmer R, Traub O, Frank H, et al. Expression of the gap-junction connexins 26 and 30 in the rat cochlea. *Cell Tissue Res.* 1998 Dec;294(3):415–20.
70. Johnson SL, Ceriani F, Houston O, Polishchuk R, Polishchuk E, Crispino G, et al. Connexin-Mediated Signaling in Nonsensory Cells Is Crucial for the Development of Sensory Inner Hair Cells in the Mouse Cochlea. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 2017 Jan 11;37(2):258–68.
71. Chan DK, Chang KW. GJB2-associated hearing loss: systematic review of worldwide prevalence, genotype, and auditory phenotype. *The Laryngoscope.* 2014 Feb;124(2):E34–53.
72. Denoyelle F, Marlin S, Weil D, Moatti L, Chauvin P, Garabédian É-N, et al. Clinical

features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counselling. *The Lancet*. 1999 Apr;353(9161):1298–303.

73. Feldmann D, Denoyelle F, Chauvin P, Garabédian E-N, Couderc R, Odent S, et al. Large deletion of the GJB6 gene in deaf patients heterozygous for the GJB2 gene mutation: genotypic and phenotypic analysis. *Am J Med Genet A*. 2004 Jun 15;127A(3):263–7.

74. Yuan Y, Gao X, Huang B, Lu J, Wang G, Lin X, et al. Phenotypic Heterogeneity in a DFNA20/26 family segregating a novel ACTG1 mutation. *BMC Genet*. 2016 Feb 1;17:33.

75. Sekerková G, Zheng L, Loomis PA, Mugnaini E, Bartles JR. Espins and the actin cytoskeleton of hair cell stereocilia and sensory cell microvilli. *Cell Mol Life Sci CMLS*. 2006 Oct;63(19–20):2329–41.

76. Naz S, Griffith AJ, Riazuddin S, Hampton LL, Battey JF, Khan SN, et al. Mutations of ESPN cause autosomal recessive deafness and vestibular dysfunction. *J Med Genet*. 2004 Aug;41(8):591–5.

77. Wesdorp M, van de Kamp JM, Hensen EF, Schraders M, Oostrik J, Yntema HG, et al. Broadening the phenotype of DFNB28: Mutations in TRIOBP are associated with moderate, stable hereditary hearing impairment. *Hear Res*. 2017 Apr;347:56–62.

78. Riazuddin S, Khan SN, Ahmed ZM, Ghosh M, Caution K, Nazli S, et al. Mutations in TRIOBP, which encodes a putative cytoskeletal-organizing protein, are associated with nonsyndromic recessive deafness. *Am J Hum Genet*. 2006 Jan;78(1):137–43.

79. Rehman AU, Bird JE, Faridi R, Shahzad M, Shah S, Lee K, et al. Mutational Spectrum of MYO15A and the Molecular Mechanisms of DFNB3 Human Deafness. *Hum Mutat*. 2016 Oct;37(10):991–1003.

80. Kabahuma RI, Schubert W-D, Labuschagne C, Yan D, Blanton SH, Pepper MS, et al. Spectrum of MYO7A Mutations in an Indigenous South African Population Further Elucidates the Nonsyndromic Autosomal Recessive Phenotype of DFNB2 to Include Both Homozygous and Compound Heterozygous Mutations. *Genes*. 2021 Feb 15;12(2).

81. Yamamoto N, Mutai H, Namba K, Goto F, Ogawa K, Matsunaga T. Clinical Profiles of DFNA11 at Diverse Stages of Development and Aging in a Large Family Identified by Linkage Analysis. *Otol Neurotol Off Publ Am Otol Soc Am Neurotol Soc Eur Acad Otol Neurotol*. 2020 Jul;41(6):e663–73.

82. Pan B, Askew C, Galvin A, Heman-Ackah S, Asai Y, Indzhykulian AA, et al. Gene therapy restores auditory and vestibular function in a mouse model of Usher syndrome type 1c. *Nat Biotechnol*. 2017 Mar;35(3):264–72.

83. Jain PK, Lalwani AK, Li XC, Singleton TL, Smith TN, Chen A, et al. A gene for recessive nonsyndromic sensorineural deafness (DFNB18) maps to the chromosomal region 11p14-p15.1 containing the Usher syndrome type 1C gene. *Genomics*. 1998 Jun 1;50(2):290–2.

84. Stepanyan R, Belyantseva IA, Griffith AJ, Friedman TB, Frolenkov GI. Auditory mechanotransduction in the absence of functional myosin-XVa. *J Physiol*. 2006 Nov 1;576(Pt 3):801–8.

85. Fang Q, Indzhykulian AA, Mustapha M, Riordan GP, Dolan DF, Friedman TB, et al. The 133-kDa N-terminal domain enables myosin 15 to maintain mechanotransducing stereocilia and is essential for hearing. *eLife*. 2015 Aug 24;4.

86. Ahmed ZM, Morell RJ, Riazuddin S, Gropman A, Shaukat S, Ahmad MM, et al. Mutations of MYO6 are associated with recessive deafness, DFNB37. *Am J Hum Genet*. 2003 May;72(5):1315–22.

87. Oka S-I, Day TF, Nishio S-Y, Moteki H, Miyagawa M, Morita S, et al. Clinical Characteristics and In Vitro Analysis of MYO6 Variants Causing Late-Onset Progressive Hearing Loss. *Genes*. 2020 Mar 4;11(3).

88. Verpy E, Masmoudi S, Zwaenepoel I, Leibovici M, Hutchin TP, Del Castillo I, et al. Mutations in a new gene encoding a protein of the hair bundle cause non-syndromic deafness at the DFNB16 locus. *Nat Genet.* 2001 Nov;29(3):345–9.
89. Vona B, Hofrichter M a. H, Neuner C, Schröder J, Gehrig A, Hennermann JB, et al. DFNB16 is a frequent cause of congenital hearing impairment: implementation of STRC mutation analysis in routine diagnostics. *Clin Genet.* 2015;87(1):49–55.
90. Yokota Y, Moteki H, Nishio S, Yamaguchi T, Wakui K, Kobayashi Y, et al. Frequency and clinical features of hearing loss caused by STRC deletions. *Sci Rep.* 2019 Mar 13;9(1):4408.
91. Verpy E, Weil D, Leibovici M, Goodyear RJ, Hamard G, Houdon C, et al. Stereocilin-deficient mice reveal the origin of cochlear waveform distortions. *Nature.* 2008 Nov 13;456(7219):255–8.
92. 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 Mar 28;272(13):8791–801.
93. Mustapha M, Weil D, Chardenoux S, Elias S, El-Zir E, Beckmann JS, et al. An alpha-tectorin gene defect causes a newly identified autosomal recessive form of sensorineural pre-lingual non-syndromic deafness, DFNB21. *Hum Mol Genet.* 1999 Mar;8(3):409–12.
94. Verhoeven K, Van Laer L, Kirschhofer K, Legan PK, Hughes DC, Schatteman I, et al. Mutations in the human alpha-tectorin gene cause autosomal dominant non-syndromic hearing impairment. *Nat Genet.* 1998 May;19(1):60–2.
95. Naz S, Alasti F, Mowjoodi A, Riazuddin S, Sanati MH, Friedman TB, et al. Distinctive audiometric profile associated with DFNB21 alleles of TECTA. *J Med Genet.* 2003 May 1;40(5):360–3.
96. Meyer NC, Alasti F, Nishimura CJ, Imanirad P, Kahrizi K, Riazalhosseini Y, et al. Identification of three novel TECTA mutations in Iranian families with autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment at the DFNB21 locus. *Am J Med Genet A.* 2007;143A(14):1623–9.
97. Alasti F, Sanati MH, Behrouzifard AH, Sadeghi A, de Brouwer APM, Kremer H, et al. A novel TECTA mutation confirms the recognizable phenotype among autosomal recessive hearing impairment families. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2008 Feb;72(2):249–55.
98. Balciuniene J, Dahl N, Jalonen P, Verhoeven K, Van Camp G, Borg E, et al. Alpha-tectorin involvement in hearing disabilities: one gene--two phenotypes. *Hum Genet.* 1999 Sep;105(3):211–6.
99. Moreno-Pelayo MA, del Castillo I, Villamar M, Romero L, Hernández-Calvín FJ, Herraiz C, et al. A cysteine substitution in the zona pellucida domain of alpha-tectorin results in autosomal dominant, postlingual, progressive, mid frequency hearing loss in a Spanish family. *J Med Genet.* 2001 May;38(5):E13.
100. Alloisio N, Morlé L, Bozon M, Godet J, Verhoeven K, Van Camp G, et al. Mutation in the zonadhesin-like domain of alpha-tectorin associated with autosomal dominant non-syndromic hearing loss. *Eur J Hum Genet EJHG.* 1999 Mar;7(2):255–8.
101. Choi BY, Kim J, Chung J, Kim AR, Mun SJ, Kang SI, et al. Whole-exome sequencing identifies a novel genotype-phenotype correlation in the entactin domain of the known deafness gene TECTA. *PLoS One.* 2014;9(5):e97040.
102. Legan PK, Lukashkina VA, Goodyear RJ, Lukashkin AN, Verhoeven K, Van Camp G, et al. A deafness mutation isolates a second role for the tectorial membrane in hearing. *Nat Neurosci.* 2005 Aug;8(8):1035–42.
103. El Hakam Kamareddin C, Magnol L, Blanquet V. A new Otogelin ENU mouse model

for autosomal-recessive nonsyndromic moderate hearing impairment. *SpringerPlus*. 2015;4:730.

104. Oonk AMM, Leijendeckers JM, Huygen PLM, Schraders M, del Campo M, del Castillo I, et al. Similar phenotypes caused by mutations in OTOG and OTOGL. *Ear Hear*. 2014 Jun;35(3):e84-91.

105. Yu S, Choi HJ, Lee JS, Lee HJ, Rim JH, Choi JY, et al. A novel early truncation mutation in OTOG causes prelingual mild hearing loss without vestibular dysfunction. *Eur J Med Genet*. 2019 Jan;62(1):81-4.

106. Lagziel A, Ahmed ZM, Schultz JM, Morell RJ, Belyantseva IA, Friedman TB. Spatiotemporal pattern and isoforms of cadherin 23 in wild type and waltzer mice during inner ear hair cell development. *Dev Biol*. 2005 Apr 15;280(2):295-306.

107. 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.

108. Schwander M, Xiong W, Tokita J, Lelli A, Elledge HM, Kazmierczak P, et al. A mouse model for nonsyndromic deafness (DFNB12) links hearing loss to defects in tip links of mechanosensory hair cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Mar 31;106(13):5252-7.

109. Schultz JM, Bhatti R, Madeo AC, Turrieff A, Muskett JA, Zalewski CK, et al. Allelic hierarchy of CDH23 mutations causing non-syndromic deafness DFNB12 or Usher syndrome USH1D in compound heterozygotes. *J Med Genet*. 2011 Nov;48(11):767-75.

110. Wagatsuma M, Kitoh R, Suzuki H, Fukuoka H, Takumi Y, Usami S. Distribution and frequencies of CDH23 mutations in Japanese patients with non-syndromic hearing loss. *Clin Genet*. 2007 Oct;72(4):339-44.

111. Astuto LM, Bork JM, Weston MD, Askew JW, Fields RR, Orten DJ, et al. CDH23 mutation and phenotype heterogeneity: a profile of 107 diverse families with Usher syndrome and nonsyndromic deafness. *Am J Hum Genet*. 2002 Aug;71(2):262-75.

112. Miyagawa M, Nishio S, Usami S. Prevalence and clinical features of hearing loss patients with CDH23 mutations: a large cohort study. *PloS One*. 2012;7(8):e40366.

113. Mizutari K, Mutai H, Namba K, Miyanaga Y, Nakano A, Arimoto Y, et al. High prevalence of CDH23 mutations in patients with congenital high-frequency sporadic or recessively inherited hearing loss. *Orphanet J Rare Dis*. 2015 May 13;10:60.

114. Ahmed ZM, Riazuddin S, Ahmad J, Bernstein SL, Guo Y, Sabar MF, et al. PCDH15 is expressed in the neurosensory epithelium of the eye and ear and mutant alleles are responsible for both USH1F and DFNB23. *Hum Mol Genet*. 2003 Dec 15;12(24):3215-23.

115. Zhan Y, Liu M, Chen D, Chen K, Jiang H. Novel mutation located in EC7 domain of protocadherin-15 uncovered by targeted massively parallel sequencing in a family segregating non-syndromic deafness DFNB23. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2015 Jul;79(7):983-6.

116. Doucette L, Merner ND, Cooke S, Ives E, Galutira D, Walsh V, et al. Profound, prelingual nonsyndromic deafness maps to chromosome 10q21 and is caused by a novel missense mutation in the Usher syndrome type IF gene PCDH15. *Eur J Hum Genet EJHG*. 2009 May;17(5):554-64.

117. Pepermans E, Michel V, Goodyear R, Bonnet C, Abdi S, Dupont T, et al. The CD2 isoform of protocadherin-15 is an essential component of the tip-link complex in mature auditory hair cells. *EMBO Mol Med*. 2014 Jul;6(7):984-92.

118. Jiang Y, Gao S, Wu L, Jin X, Deng T, Wang L, et al. Mutation spectra and founder effect of TMC1 in patients with non-syndromic deafness in Xiamen area, China. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet Off Publ Int Soc Psychiatr Genet*. 2018 Apr;177(3):301-7.

119. Ramzan K, Al-Owain M, Al-Numair NS, Afzal S, Al-Ageel S, Al-Amer S, et al. Identification of TMC1 as a relatively common cause for nonsyndromic hearing loss in the Saudi population. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet Off Publ Int Soc Psychiatr Genet*. 2020 Apr;183(3):172–80.
120. Kitajiri S-I, McNamara R, Makishima T, Husnain T, Zafar AU, Kittles RA, et al. Identities, frequencies and origins of TMC1 mutations causing DFNB7/B11 deafness in Pakistan. *Clin Genet*. 2007 Dec;72(6):546–50.
121. Imtiaz A, Maqsood A, Rehman AU, Morell RJ, Holt JR, Friedman TB, et al. Recessive mutations of TMC1 associated with moderate to severe hearing loss. *Neurogenetics*. 2016 Apr;17(2):115–23.
122. Makishima T, Kurima K, Brewer CC, Griffith AJ. Early onset and rapid progression of dominant nonsyndromic DFNA36 hearing loss. *Otol Neurotol Off Publ Am Otol Soc Am Neurotol Soc Eur Acad Otol Neurotol*. 2004 Sep;25(5):714–9.
123. Yue X, Sheng Y, Kang L, Xiao R. Distinct functions of TMC channels: a comparative overview. *Cell Mol Life Sci CMLS*. 2019 Nov;76(21):4221–32.
124. De Siati RD, Rosenzweig F, Gersdorff G, Gregoire A, Rombaux P, Deggouj N. Auditory Neuropathy Spectrum Disorders: From Diagnosis to Treatment: Literature Review and Case Reports. *J Clin Med*. 2020 Apr 10;9(4).
125. Iwasa Y-I, Nishio S-Y, Sugaya A, Kataoka Y, Kanda Y, Taniguchi M, et al. OTOF mutation analysis with massively parallel DNA sequencing in 2,265 Japanese sensorineural hearing loss patients. *PLoS One*. 2019;14(5):e0215932.
126. Vona B, Rad A, Reisinger E. The Many Faces of DFNB9: Relating OTOF Variants to Hearing Impairment. *Genes*. 2020 Nov 26;11(12).
127. Verdoodt D, Van Camp G, Ponsaerts P, Van Rompaey V. On the pathophysiology of DFNA9: Effect of pathogenic variants in the COCH gene on inner ear functioning in human and transgenic mice. *Hear Res*. 2021 Mar 1;401:108162.
128. Jouret G, Poirsier C, Spodenkiewicz M, Jaquin C, Gouy E, Arndt C, et al. Genetics of Usher Syndrome: New Insights From a Meta-analysis. *Otol Neurotol Off Publ Am Otol Soc Am Neurotol Soc Eur Acad Otol Neurotol*. 2019 Jan;40(1):121–9.
129. Toms M, Pagarkar W, Moosajee M. Usher syndrome: clinical features, molecular genetics and advancing therapeutics. *Ther Adv Ophthalmol*. 2020 Dec;12:2515841420952194.
130. Lindau TA, Cardoso ACV, Rossi NF, Giacheti CM. Anatomical Changes and Audiological Profile in Branchio-oto-renal Syndrome: A Literature Review. *Int Arch Otorhinolaryngol*. 2014 Jan;18(1):68–76.
131. Morisada N, Nozu K, Iijima K. Branchio-oto-renal syndrome: comprehensive review based on nationwide surveillance in Japan. *Pediatr Int Off J Jpn Pediatr Soc*. 2014 Jun;56(3):309–14.
132. Chen P, Liu H, Lin Y, Xu J, Zhu W, Wu H, et al. EYA1 mutations leads to Branchio-Oto syndrome in two Chinese Han deaf families. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2019 Aug;123:141–5.
133. Li H-X, Zhou P, Tong M, Zheng Y. Branchial cleft fistula to branchio-oto-renal syndrome: A case report and literature review. *J Int Med Res*. 2020 Jul;48(7):300060520926363.
134. Song J, Feng Y, Acke FR, Coucke P, Vleminckx K, Dhooge IJ. Hearing loss in Waardenburg syndrome: a systematic review. *Clin Genet*. 2016;89(4):416–25.
135. Trabelsi M, Nouria M, Maazoul F, Kraoua L, Meddeb R, Ouertani I, et al. Novel PAX3

- mutations causing Waardenburg syndrome type 1 in Tunisian patients. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2017 Dec;103:14–9.
136. Pingault V, Ente D, Dastot-Le Moal F, Goossens M, Marlin S, Bondurand N. Review and update of mutations causing Waardenburg syndrome. *Hum Mutat*. 2010 Apr;31(4):391–406.
137. Wémeau J-L, Kopp P. Pendred syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2017 Mar 1;31(2):213–24.
138. Nozu K, Nakanishi K, Abe Y, Udagawa T, Okada S, Okamoto T, et al. A review of clinical characteristics and genetic backgrounds in Alport syndrome. *Clin Exp Nephrol*. 2019 Feb;23(2):158–68.
139. Nozu K, Takaoka Y, Kai H, Takasato M, Yabuuchi K, Yamamura T, et al. Genetic background, recent advances in molecular biology, and development of novel therapy in Alport syndrome. *Kidney Res Clin Pract*. 2020 Dec 31;39(4):402–13.
140. Pagon RA, Zonana J, Graham JM. CHARGE association. *Pediatrics*. 1982 Nov;70(5):827–8.
141. Verloes A. Updated diagnostic criteria for CHARGE syndrome: a proposal. *Am J Med Genet A*. 2005 Mar 15;133A(3):306–8.
142. Usman N, Sur M. CHARGE Syndrome. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2021 May 25]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559199/>
143. Vissers LELM, van Ravenswaaij CMA, Admiraal R, Hurst JA, de Vries BBA, Janssen IM, et al. Mutations in a new member of the chromodomain gene family cause CHARGE syndrome. *Nat Genet*. 2004 Sep;36(9):955–7.
144. van Ravenswaaij-Arts CM, Hefner M, Blake K, Martin DM. CHD7 Disorder. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2021 May 25]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1117/>
145. Boothe M, Morris R, Robin N. Stickler Syndrome: A Review of Clinical Manifestations and the Genetics Evaluation. *J Pers Med*. 2020 Aug 27;10(3).
146. Newman WG, Friedman TB, Conway GS, Demain LA. Perrault Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2021 May 25]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK242617/>
147. Katsanis SH, Jabs EW. Treacher Collins Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2021 May 25]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1532/>
148. Kohlhase J. Townes-Brocks Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2021 May 25]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1445/>
149. McDonald-McGinn DM, Hain HS, Emanuel BS, Zackai EH. 22q11.2 Deletion Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2021 May 25]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1523/>
150. Ramia M, Musharrafieh U, Khaddage W, Sabri A. Revisiting Down syndrome from the ENT perspective: review of literature and recommendations. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol Off J Eur Fed Oto-Rhino-Laryngol Soc EUFOS Affil Ger Soc Oto-Rhino-Laryngol - Head Neck*

Surg. 2014 May;271(5):863–9.

151. Usami S, Nishio S. Nonsyndromic Hearing Loss and Deafness, Mitochondrial. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2021 May 27]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1422/>

152. El-Hattab AW, Almannai M, Scaglia F. MELAS. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2021 May 27]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1233/>

153. Velez-Bartolomei F, Lee C, Enns G. MERRF. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2021 May 27]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1520/>

154. Righini C, Debry C, Mondain M, Collège français d'ORL et de chirurgie cervico-faciale. ORL. 2017.

155. Beer J, Kronenberger WG, Pisoni DB. Executive function in everyday life: implications for young cochlear implant users. *Cochlear Implants Int*. 2011 May;12(sup1):S89–91.

156. Kronenberger WG, Pisoni DB, Harris MS, Hoen HM, Xu H, Miyamoto RT. Profiles of Verbal Working Memory Growth Predict Speech and Language Development in Children With Cochlear Implants. *J Speech Lang Hear Res*. 2013 Jun;56(3):805–25.

157. AuBuchon AM, Pisoni DB, Kronenberger WG. Short-Term and Working Memory Impairments in Early-Implanted, Long-Term Cochlear Implant Users Are Independent of Audibility and Speech Production. *Ear Hear*. 2015 Nov;36(6):733–7.

158. Bigler D, Burke K, Laureano N, Alfonso K, Jacobs J, Bush ML. Assessment and Treatment of Behavioral Disorders in Children with Hearing Loss: A Systematic Review. *Otolaryngol--Head Neck Surg Off J Am Acad Otolaryngol-Head Neck Surg*. 2019 Jan;160(1):36–48.

159. Hall JG. Thrombocytopenia and absent radius (TAR) syndrome. *J Med Genet*. 1987 Feb;24(2):79–83.

160. Haukedal CL, Lyxell B, Wie OB. Health-Related Quality of Life With Cochlear Implants: The Children's Perspective. *Ear Hear*. 2020 Apr;41(2):330–43.

161. De Barros Boishardy A, Moreau Lenoir F, Brami Ph, Kapella M, Obstoy M-Fr, Amstutz-Montadert I, et al. Expérience du dépistage auditif néo-natal systématique dans le département de l'Eure. *Ann Otolaryngol Chir Cervico-Faciale*. 2005 Nov;122(5):223–30.

162. Langagne T, Lévêque M, Schmidt P, Chays A. Universal newborn hearing screening in the Champagne-Ardenne region: A 4-year follow-up after early diagnosis of hearing impairment. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2010 Oct;74(10):1164–70.

163. Kolski C, Le Driant B, Lorenzo P, Vandromme L, Strunski V. Early hearing screening: What is the best strategy? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2007 Jul;71(7):1055–60.

164. Dauman R, Roussey M, Belot V, Denoyelle F, Roman S, Gavilan-Cellié I, et al. Screening to detect permanent childhood hearing impairment in neonates transferred from the newborn nursery. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2009 Mar;73(3):457–65.

165. Les rapports des ENP [Internet]. Enquête Nationale Périnatale. [cited 2021 May 25]. Available from: <https://enp.inserm.fr/docutheque/les-rapports-des-enp/>

166. joe\_20120504\_0105\_0048.pdf.

167. Propositions portant sur le dépistage individuel chez l'enfant de 28 jours à 6 ans, destinées aux médecins généralistes, pédiatres, médecins de PMI et médecins scolaires

[Internet]. Haute Autorité de Santé. [cited 2021 May 25]. Available from: [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_451143/fr/propositions-portant-sur-le-depistage-individuel-chez-l-enfant-de-28-jours-a-6-ans-destinees-aux-medecins-generalistes-pediatres-medecins-de-pmi-et-medecins-scolaires](https://www.has-sante.fr/jcms/c_451143/fr/propositions-portant-sur-le-depistage-individuel-chez-l-enfant-de-28-jours-a-6-ans-destinees-aux-medecins-generalistes-pediatres-medecins-de-pmi-et-medecins-scolaires)

168. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2015 May;17(5):405–24.

169. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science*. 2001 Feb 16;291(5507):1304–51.

170. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001 Feb 15;409(6822):860–921.

171. Vona B, Nanda I, Hofrichter MAH, Shehata-Dieler W, Haaf T. Non-syndromic hearing loss gene identification: A brief history and glimpse into the future. *Mol Cell Probes*. 2015 Oct;29(5):260–70.

172. Baux D, Vaché C, Blanchet C, Willems M, Baudoin C, Moclyn M, et al. Combined genetic approaches yield a 48% diagnostic rate in a large cohort of French hearing-impaired patients. *Sci Rep*. 2017 Dec;7(1):16783.

173. Dunnen JT den, Dalgleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-Jordan J, et al. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat*. 2016;37(6):564–9.

174. Zazo Seco C, Wesdorp M, Feenstra I, Pfundt R, Hehir-Kwa JY, Lelieveld SH, et al. The diagnostic yield of whole-exome sequencing targeting a gene panel for hearing impairment in The Netherlands. *Eur J Hum Genet EJHG*. 2017 Feb;25(3):308–14.

175. Bademci G, Foster J, Mahdieh N, Bonyadi M, Duman D, Cengiz FB, et al. Comprehensive analysis via exome sequencing uncovers genetic etiology in autosomal recessive nonsyndromic deafness in a large multiethnic cohort. *Genet Med*. 2016 Apr;18(4):364–71.

176. G9900-90001\_HaloPlex\_Target\_Enrichment\_Manual.pdf [Internet]. [cited 2021 May 2]. Available from: [https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Public/G9900-90001\\_HaloPlex\\_Target\\_Enrichment%20\\_Manual.pdf](https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Public/G9900-90001_HaloPlex_Target_Enrichment%20_Manual.pdf)

177. Sequencing Technology | Sequencing by synthesis [Internet]. [cited 2021 Apr 27]. Available from: <https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/sequencing-technology.html>

178. Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet*. 2010 Jan;11(1):31–46.

# Annexes

## Annexe 1 : Fiche de renseignements cliniques envoyée aux prescripteurs

### DIAGNOSTIC DE SURDITÉS D'ORIGINE GÉNÉTIQUE DEMANDE DE RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

NOM de NAISSANCE : ..... PRÉNOM : .....  
 NOM USUEL (si différent) : .....  
 Date de Naissance : ...../...../..... SEXE :  F  M

Médecin prescripteur : .....  
 Service demandeur : .....  
 Centre demandeur : .....

#### SURDITÉ

ISOLÉE  SYNDROMIQUE

Hypothèse étiologique : .....

TYPE :  Transmission  Perception  Mixte  
 LATÉRALITÉ :  Droite  Gauche  Bilatérale  
 Symétrique  Asymétrique  
 SÉVÉRITÉ :  Légère  Modérée  Sévère  Profonde  
 Age d'apparition :  Pré-linguale  Post-linguale  
 Données du dépistage en maternité :  Normal  Anormal : .....  
 Aspect des courbes à l'audiogramme : .....  
 Signes vestibulaires :  Non  Oui  
 TDM des rochers :  Non  Oui  
 Si oui, résultats : .....  
 IRM des oreilles :  Non  Oui  
 Si oui, résultats : .....  
 Prise en charge :  Audioprothèses  Implants cochléaires

#### SIGNES ASSOCIÉS

**PARTICULARITES MORPHOTYPIQUES :**

- Anomalies de l'oreille externe :  Non  Oui  
 Si oui, détailler : .....
- Signes branchiaux :  Non  Oui  
 Si oui, détailler : .....
- Fente palatine :  Non  Oui
- Autres signes : .....

**ANOMALIES OPHTALMOLOGIQUES :**  Non  Oui

- Anomalies anatomiques : .....
- Fond d'œil : .....
- Autres : .....

**ANOMALIES RENALES :**  Non  Oui

- Hématurie et/ou protéinurie : .....
- Malformations rénales : .....

**ANOMALIES CARDIAQUES :**  Non  Oui

- Cardiopathies : .....
- Troubles ECG : .....

**ANOMALIES DERMATOLOGIQUES :**  Non  Oui

- Troubles de la pigmentation cutanée : .....
- Autres : .....

**AUTRES MALFORMATIONS :** .....

## DIAGNOSTIC DE SURDITÉS D'ORIGINE GÉNÉTIQUE DEMANDE DE RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

### ATTEINTE NEUROLOGIQUE

#### DEVELOPPEMENT MOTEUR :

- Age d'acquisition de la tenue assise : .....
- Age d'acquisition de la marche : .....

#### LANGAGE : Pas de retard de langage

- Retard de langage uniquement imputable à la surdité
- Retard de langage s'intégrant dans le cadre d'un retard de développement psychomoteur

#### SCOLARITE : .....

- Age d'acquisition de la lecture : .....
- Age d'acquisition de l'écriture : .....

#### EPILEPSIE : Non Oui

Si oui, type de crises : .....

#### AUTRES ATTEINTES NEUROLOGIQUES : Non Oui

Si oui, détails : .....

#### IMAGERIE CERVEBRALE : Non Oui

TDM : .....

IRM : .....

### AUTRES ANTÉCÉDENTS PERSONNELS

#### GROSSESSE : Déroulement normal

Événements pathologiques : .....

#### NAISSANCE :

Accouchement par voie basse  Césarienne → indication : .....

Terme : ..... APGAR : ..... / ..... / .....

Poids : ..... g Taille : ..... cm PC : ..... cm

#### CROISSANCE :

RCIU :  Non  Oui → Sévérité : .....

Retard de croissance post-natal :  Non  Oui

Avance staturale :  Non  Oui

Mensurations actuelles : taille ..... cm / poids ..... kg / PC ..... cm

AUTRES ANTÉCÉDENTS PERSONNELS : .....

.....

.....

**DIAGNOSTIC DE SURDITÉS D'ORIGINE GÉNÉTIQUE  
DEMANDE DE RENSEIGNEMENTS CLINIQUES**

**ANTÉCÉDENTS FAMILIAUX**

**ARBRE GÉNÉALOGIQUE**

## Annexe 2 : Fiche de renseignements cliniques demandée par le laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Lille pour analyse moléculaire dans le cadre d'une surdité

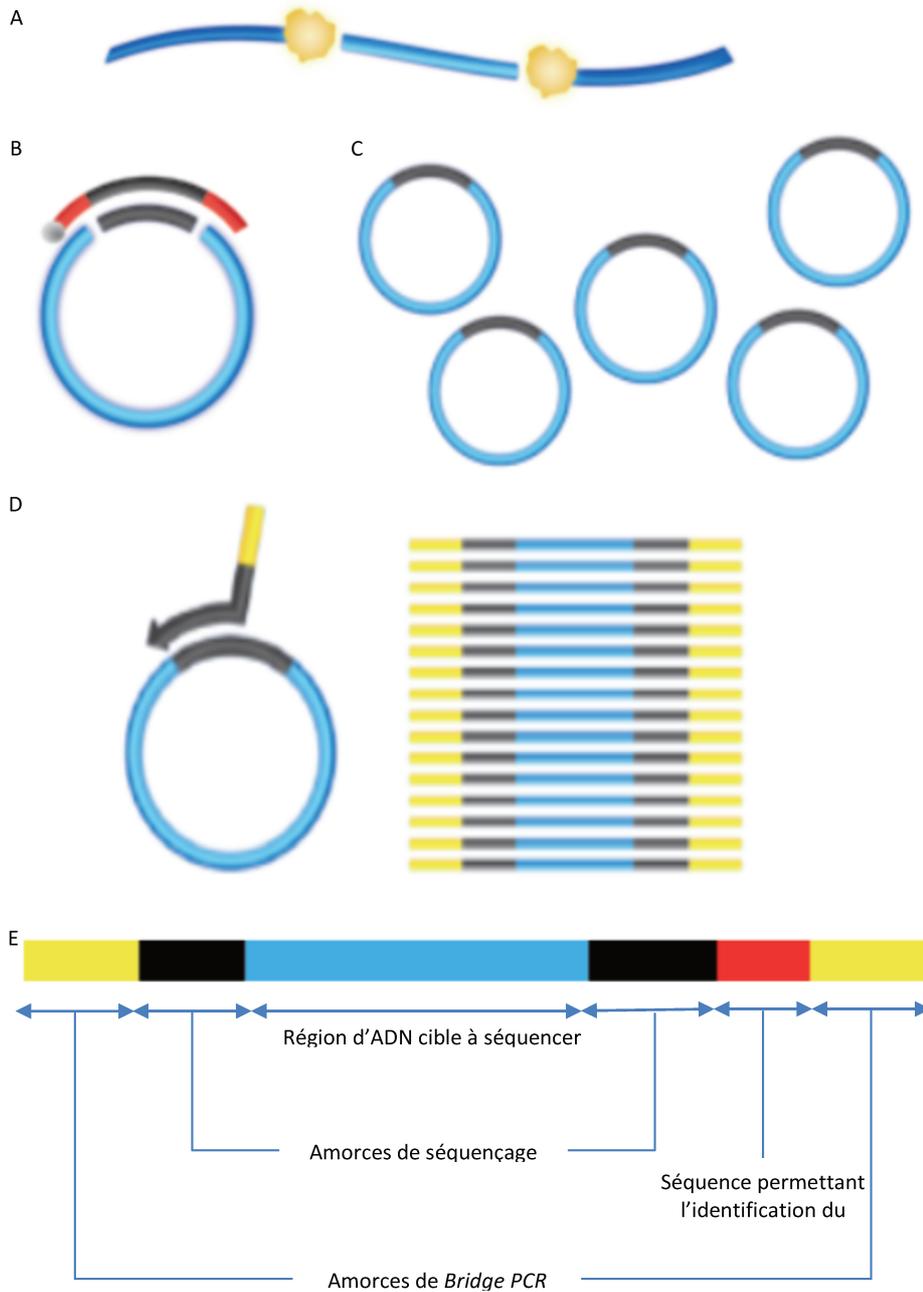
 <b>Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille</b>	 <b>CENTRE DE BIOLOGIE PATHOLOGIE PIERRE-MARIE DEGAND</b>
<b>POLE DE BIOLOGIE PATHOLOGIE GENETIQUE</b>	
L'expertise du CHU au service de la région.	
<b>INSTITUT DE BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE</b>	
- SECTEUR TOXICOLOGIE ET GENOPATHIES -	
☎ 03.20.44.49.60	
<b>FICHE CLINIQUE POUR L EXPLORATION DE LA SURDITE</b>	
mars-16	
<b>COORDONNEES DE L'ORGANISME DEMANDEUR</b>	
Demandeur	_____
Adresse	_____
CP	_____ Ville _____
Téléphone	_____ Télécopie _____
E mail	_____
<b>PATIENT</b>	
Nom	_____
Nom d'épouse	_____
Prénom	_____
Né(e) le	_____
Sexe	<input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M
<b>SERVICE CLINIQUE</b>	
Nom du ou des	_____
Médecins prescripteurs	_____
Date de l'examen	_____
Votre référence	_____
Service/Unité	_____
<b>RENSEIGNEMENTS CLINIQUES</b>	
<b>DIAGNOSTIC MOLECULAIRE CHEZ UN SUJET ATTEINT DE SURDITE</b>	
<input type="checkbox"/> Cas index isolé	
<input type="checkbox"/> Etude familiale :	
<input type="checkbox"/> Père	<input type="checkbox"/> Mère (d'un sujet atteint)
<b>CARACTERISTIQUE DE LA SURDITE DE LA PERSONNE ATTEINTE</b>	
<b>Surdité de :</b> <input type="checkbox"/> Perception	<input type="checkbox"/> Transmission
<b>Importance du déficit auditif :</b> <input type="checkbox"/> Léger	<input type="checkbox"/> Moyen <input type="checkbox"/> Sévère <input type="checkbox"/> Profond
<b>Atteinte :</b> <input type="checkbox"/> Symétrique	<input type="checkbox"/> Asymétrique
<b>Evolutivité :</b> <input type="checkbox"/> Stable	<input type="checkbox"/> Evolutive
<b>Surdité :</b> <input type="checkbox"/> Isolée	<input type="checkbox"/> Associée à d'autres signes cliniques
Nombre de personnes déficientes auditives dans la famille : .....	
<b>ARBRE GENEALOGIQUE</b>	
<b>EXAMENS COMPLEMENTAIRES</b>	
<b>Fond d'oeil :</b> <input type="checkbox"/> Non réalisé	<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Anormal : (résultat) .....
<b>Scanner du rocher :</b> <input type="checkbox"/> Non réalisé	<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Anormal : (résultat) .....
<b>Epreuves vestibulaires :</b> <input type="checkbox"/> Non réalisées	<input type="checkbox"/> Normales <input type="checkbox"/> Anormales : (résultat) .....
<b>Hématurie, protéinurie :</b> <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Oui : (résultat) .....
Pôle de Biologie Pathologie Génétique du CHU de Lille Bd du Professeur J. Leclercq 59037 LILLE Cedex	

## Annexe 3 : Liste des gènes inclus dans la version 4 du panel NGS de gènes impliqués dans les surdités

<b>Surdités non syndromiques</b>	ACTG1, CD164, CCDC50, CEACAM16, COCH, COL11A2*, CRYM, DIABLO (SMAC), DIAPH1, DMXL2, DSPP*, EYA4, GJB2*, GJB3, GJB6*, GRHL2, GSDME (DFNA5), HOMER2, <u>IFNLR1</u> , KCNQ4, KIAA1199 (CEMIP), KITLG, <u>LMX1A</u> , MCM2, MYH14, MYH9, MYO6*, MYO7A, * <u>NLRP3</u> , OSBPL2, P2RX2, <u>PDE1C</u> , <u>PLS1</u> , <u>POU4F3</u> , <u>REST</u> , SIX1*, <u>SLC9A3R1</u> , SLC17A8*, TBC1D24*, TECTA, TJP2, TMC1*, TNC, <u>TRRAP</u> , WFS1*
Dominante (DFNA)  (45 gènes)	
Récessive (DFNB)  ( 77 gènes)	ADCY1, ATP2B2, BDP1, BSND, CABP2*, CDC14A, CDH23*, <u>CLDN9</u> , CIB2, CLIC5, CLDN14, COL11A2*, ELMOD3, EPS8, EPS8L2, <u>ESRP1</u> , DCDC2, ESPN, ESRRB, <u>GAB1</u> , GIPC3, GJA1, GJB2*, GJB6*, GSPM2, <u>GRAP</u> , GRXCR1, GRXCR2, HGF, ILDR1, KARS, LHFPL5, LOXHD1*, LRTOMT, MARVELD2, MET, <u>METTL13</u> , <u>MPZL2</u> , MSRB3, MTAP, MYO15A, MYO3A, MYO6*, MYO7A*, NARS2, OTOA, OTOF*, OTOG, OTOGL, PCDH15*, PDZD7*, PJVK (DFNB59), PNPT1*, <u>PIIP5K2</u> , PTPRQ, RDX, RIPOR2 (FAM65B), <u>ROR1*</u> , S1PR2, SERPINB6, SLC26A4*, SLC26A5, SLITRK6*, <u>SPNS2</u> , STRC, SYNE4, TBC1D24*, TMC1*, TMEM132E, TMIE, TMPRSS3, TPRN, TRIOBP, TSPEAR, USH1C*, <u>WBP2</u> , WHRN*,
Lié à l'X (6 +1)	AIFM1 (DFNX5)*, COL4A6, <u>GPRASP2</u> , POU3F4, PRPS1, SMPX, TBL1X
<b>Surdités syndromiques ( N=88)</b>	
USHER	MYO7A*(USH1B), USH1C*, CDH23 (USH1D), PCDH15* (USH1F), SANS (USH1G), USH2A, ADGRV1(USH2C, GPR98), WHRN*(USH2D), CLRN1 (USH3), HARS, PDZD7 (USH3B)
Branchiooculofacial -BOF	TFAP2A
BOR	EYA1, SIX1*, (SIX5)
cérébrooculofacial-COFS	ERCC2
Alport	COL4A3, COL4A4, COL4A5*
Charge	CHD7, SEMA3E
Pendred	SLC26A4*, FOXI1, KCNJ10,
Perrault*	CLPP, HARS2, HSD17B4, LARS2
Stickler	COL2A1, COL9A1, COL9A2, COL11A1, COL11A2,
Jervel et Lange Nielsen	KCNE1, KCNQ1
Norrie	NDP
Waardenburg et Hirschprung	ECE1, EDNRB, EDN3, MITF, PAX3, SNAI2, SOX10,
Treacher Collins	POLR1C, POLR1D, TCOF1
Kallmann	ANOS1(KAL1), FGF8, FGFR1, PROK2, PROKR2
Townes Brocks	SALL1, SALL4
PHARC	ABHD12
Harboyan	SLC4A11
Myopie surdité (ANSD)	SLITRK6*
Déficit transporteur riboflavine (ANSD)	SLC52A2, <u>SLC52A3</u>
Insuffisance hypophysaire et surdité	LHX3
Atrésie congénitale	TSHZ1
Alagille	JAG1
LAMM, Muenke	FGF3, FGFR3
Barakat (HDR) Microphthalmie Piebaldisme et surdité Mohr-Tranebjaerg (MTS) (ANSD)	GATA3 SOX2 KIT TIMM8A
Wolfram	WFS1*
Charcot-Marie-Tooth et surdité Syndrome d'Emberger Duane microtie	PMP22 <u>GATA2</u> , CHN1, HOXA2, MAN2B1
<b>Neuropathies auditives (17)</b> Isolées (NA, RA, X) Syndromiques (ANSD)	AIFM1* AUNA, CABP2*, <u>CAV1</u> , LOXHD1, OTOF*, <u>ROR1*</u> , * <u>SMAD4</u> , SLC17A8*, TBC1D24*, <u>TMTC2</u> , C10ORF2 (TWNK), CMT1 (MPZ), ERAL1, ERCC4, ERCC6, ERCC8, FDXR, FXN, OPA1, PNPT1*, <u>PTRH2</u> , SLC19A2, TMEM126A

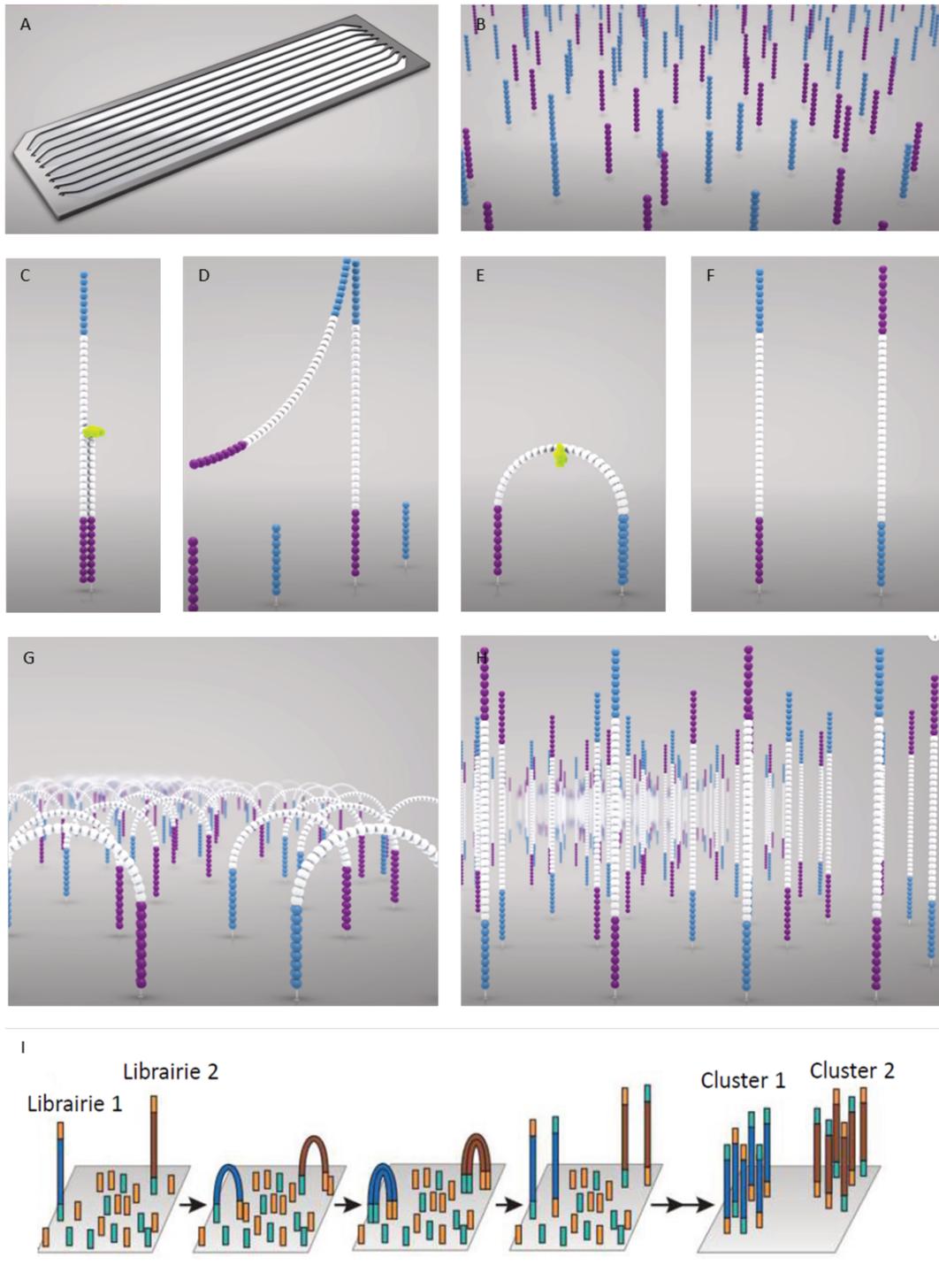
nouveaux gènes panel V4 , (\*) gènes appartenant à plusieurs groupes

## Annexe 4 : Principe de la préparation d'une librairie pour séquençage NGS



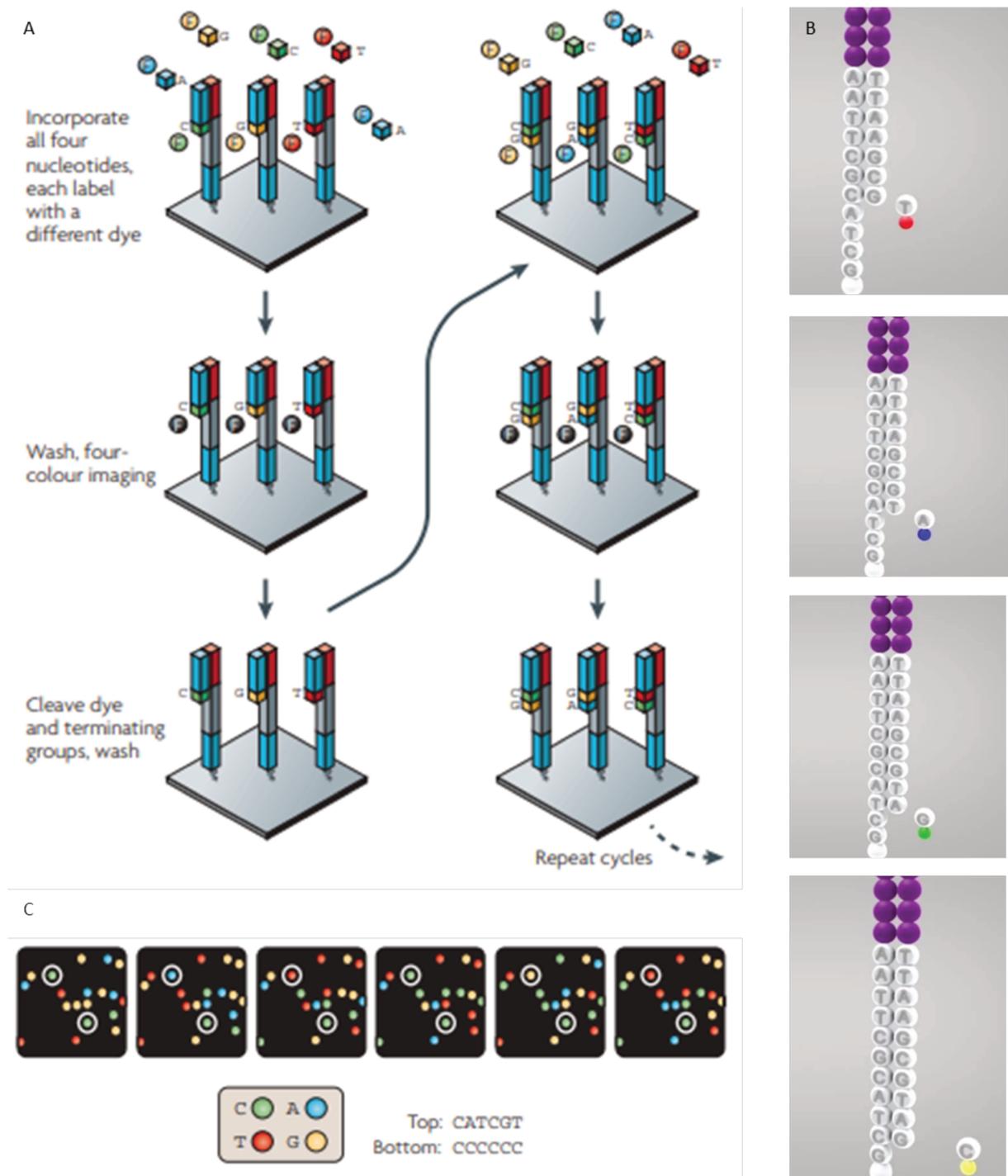
Annexe 3 : Préparation d'une librairie pour séquençage NGS. A : Digestion de l'ADN génomique (en bleu) par 16 enzymes de restriction en fragments de taille variable. B : Hybridation de sondes spécifiques aux fragments d'ADN génomique digérés correspondant aux régions cibles que l'on souhaite séquencer. Le design des sondes permet la circularisation des fragments d'ADN cibles avec incorporation des motifs nucléotidiques contenus dans la sonde (amorces de séquençage, séquences d'identification du patient, adaptateurs universels à la flow cell, biotine marquant une extrémité de la sonde). Ces fragments d'intérêt sont ensuite « capturés », c'est-à-dire fixés à des billes aimantées recouvertes de streptavidine grâce à la biotine. Ces fragments peuvent ainsi être isolés du reste de l'ADN génomique. C : Les fragments capturés sont ligués par une ADN ligase. D : Amplification par PCR des fragments d'ADN capturés, permettant d'obtenir une librairie d'amplicons représentatifs des régions du génome que l'on souhaite séquencer. E : Composition d'un amplicon après préparation d'une librairie : la région d'ADN cible est flanquée des amorces de séquençage, de la séquence d'identification et des amorces permettant la réalisation de la Bridge PCR. D'après (176).

## Annexe 5 : Principe de la *Bridge PCR* sur support solide



Annexe 4 : Schémas illustrant le principe de la *Bridge PCR* sur support solide. A : Vue macroscopique d'une flow-cell, le support sur lequel est déposé le milieu réactionnel pour la *Bridge PCR* et le séquençage. B : Sur la flow-cell sont fixés des amorces universelles. C : Les amplicons d'une librairie se fixent par complémentarité aux amorces fixées sur la flow-cell. Une polymérase effectue l'élongation de cette amorce, permettant la synthèse d'un brin complémentaire. D : Dénaturation de l'ADN double brin, laissant un amplicon simple brin fixé de manière covalente à la flow cell. E : Hybridation de l'extrémité libre de l'amplicon à une amorce proche fixée à la flow cell, formant ainsi un pont (Bridge). Une polymérase synthétise de nouveau un brin complémentaire par élongation d'amorce. F : Dénaturation des 2 brins formant « le pont », laissant 2 amplicons simple brin portant des séquences d'ADN complémentaires et fixés de manière covalente à la flow cell. G et H : Ces étapes sont répétées, permettant l'amplification clonale des amplicons. I : Schéma récapitulatif illustrant la formation de clusters d'amplicons différents en fonction de la localisation sur la flow-cell. D'après (177).

## Annexe 6 : Principe du séquençage NGS par synthèse



Annexe 5 : Schémas illustrant le principe du séquençage à haut débit (NGS) par synthèse. A et B : à chaque cycle de séquençage, une polymérase intègre au fragment complémentaire de l'amplicon fixé sur le support un nucléotide couplé à un fluorophore présent dans le milieu réactionnel par complémentarité de base, ce nucléotide intégré émet alors une fluorescence spécifique (chaque type de nucléotide émet une fluorescence différente), le fluorophore est clivé du nucléotide ajouté au brin en cours d'extension, après une étape de lavage le cycle recommence. C. Représentation schématique des émissions de fluorescence pour 6 cycles de séquençage successifs, ces données de fluorescences constituent les données brutes de séquençage. D'après (177,178).

## Annexe 7 : Variants de classe 4 et 5 identifiés chez les patients présentant une surdité isolée

Patient	Gène	Transcrit	Allèle 1				Allèle 2				Statut	Diagnostic
			cDNA	protéique	type de variant	ACMG	cDNA	protéique	type de variant	ACMG		
393	EYA4	NM_172105	délétion exons 4-20	p.?	délétion intragénique	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA10
569	EYA4	NM_172105	c.238G>A	p.(Asp80Asn)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA10
662	EYA4	NM_172105	c.1035G>C	p.(Arg345Ser)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA10
129	COL11A2	NM_080680	c.4135 C>T	p.(Arg1379*)	non-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA13
568	ACTG1	NM_001614	c.151G>A	p.(Asp51Asn)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA20
580	ACTG1	NM_001614	c.721G>A	p.(Glu241Lys)	faux-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA20
35	ACTG1	NM_001614	c.994C>G	p.(Pro332Ala)	faux-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA20/26
496	MYO6	NM_004999	c.1496_1498del	p.(Glu499del)	délétion <i>in frame</i>	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA22
559	MYO6	NM_004999	c.1666C>T	p.(Arg556*)	non-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA22
619	MYO6	NM_004999	c.497+1_c.497+2delGT	p.?	épissage	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA22
23	SIX1	NM_005982	c.395A>C	p.(Lys132Ser)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA23
53	SIX1	NM_005982	c.536_549del	p.(Arg179Glyfs*11)	<i>frameshift</i>	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA23
527	SIX1	NM_005982	c.334C>T	p.(Arg112Cys)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA23
657	SIX1	NM_005982	c.378del	p.(Thr127Profs*125)	<i>frameshift</i>	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA23
45	KCNQ4	NM_004700	c.829G>C	p.(Gly277Arg)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA2A
154	KCNQ4	NM_004700	c.961G>A	p.(Gly321Ser)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA2A
184	KCNQ4	NM_004700	c.1292+1G>T	p.?	épissage	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA2A
215	KCNQ4	NM_004700	c.806_808del	p.(Ser269del)	délétion <i>in frame</i>	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA2A
257	KCNQ4	NM_004700	c.961G>A	p.(Gly321Ser)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA2A
3	MYH14	NM_001145809	c.2299C>T	p.(Arg767Cys)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA4A
84	MYH14	NM_001145809	c.2910+2T>A	p.?	épissage	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA4A
534	MYH14	NM_024729	c.2176C>T	p.(Arg726Cys)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA4A
604	GSDME	NM_001127453	c.228_235del	p.(Asp76Glufs*75)	<i>frameshift</i>	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA5
644	TNC	NM_002160	c.5317G>A	p.(Val1773Met)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA56
639	DMXL2	NM_001174116	c.253C>T	p.(Pro85Ser)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA71
151	TECTA	NM_005422	c.1756C>T	p.(Arg586*)	non-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA8/12
160	TECTA	NM_005422	c.3365G>T	p.(Cys1122Phe)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA8/12
63	COCH	NM_001135058	c.226G>A	p.(Ala76Thr)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA9
143	STRC	NM_153700	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	homozygote	DFNB16
146	STRC	NM_153700	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	homozygote	DFNB16
267	STRC	NM_153700	c.3899dupC	p.(Leu1297Profs*89)	<i>frameshift</i>	5	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	hétérozygote composite	DFNB16
352	STRC	NM_153700	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	homozygote	DFNB16
390	STRC	NM_153700	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	homozygote	DFNB16
416	STRC	NM_153700	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	homozygote	DFNB16
511	STRC	NM_153700	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	c.4883G>T	p.(Cys1628Phe)	faux-sens	4	hétérozygote composite	DFNB16
545	STRC	NM_153700	c.3503A>C	p.(Glu1168Pro)	faux-sens	4	c.3670C>T	p.(Arg1224*)	non-sens	5	hétérozygote composite	DFNB16
565	STRC	NM_153700	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	homozygote	DFNB16

Patient	Gène	Transcrit	Allèle 1				Allèle 2				Statut	Diagnostic
			cDNA	protéique	type de variant	ACMG	cDNA	protéique	type de variant	ACMG		
573	STRC	NM_153700	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	homozygote	DFNB16
678	STRC	NM_153700	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	homozygote	DFNB16
193	OTOG	NM_001277269	c.514G>T	p.(Gly172*)	non-sens	5	c.6489G>A	p.(Trp2163*)	non-sens	5	hétérozygote composite	DFNB18B
82	GJB2	NM_004004	c.35delG	p.(Gly12Valfs*2)	frameshift	5	c.35delG	p.(Gly12Valfs*2)	frameshift	5	homozygote	DFNB1A
122	GJB2	NM_004004	c.35delG	p.(Gly12Valfs*2)	frameshift	5	c.269T>c	p.(Leu90Pro)	faux-sens	5	hétérozygote composite	DFNB1A
175	GJB2	NM_004004	c.-22-2A>C	p.?	épissage	5	c.35delG	p.(Gly12Valfs*2)	frameshift	5	hétérozygote composite	DFNB1A
275	GJB2	NM_004004	c.35delG	p.(Gly12Valfs*2)	frameshift	5	c.101T>C	p.(Met34Thr)	faux-sens	5	hétérozygote composite	DFNB1A
387	GJB2	NM_004004	c.101T>C	p.(Met34Thr)	faux-sens	5	c.109G>A	p.(Val37Ile)	faux-sens	5	hétérozygote composite	DFNB1A
394	GJB2	NM_004004	c.35delG	p.(Gly12Valfs*2)	frameshift	5	c.101T>C	p.(Met34Thr)	faux-sens	5	hétérozygote composite	DFNB1A
448	GJB2 ; GJB6	NM_004004	c.35delG	p.(Gly12Valfs*2)	frameshift	5	délétion complète de <i>GJB6</i>			5	digénisme	DFNB1A
207	MYO7A	NM_000260	c.5215C>T	p.(Arg1739*)	non-sens	5	c.5215C>T	p.(Arg1739*)	non-sens	5	homozygote	DFNB2
303	MYO7A	NM_000260	c.1117C>T	p.(Arg373Cys)	faux-sens	4	c.3074C>T	p.(Pro1025Leu)	faux-sens	4	hétérozygote composite	DFNB2
93	TECTA	NM_005422	c.6016G>A	p.(Asp2006Asn)	faux-sens	4	c.6017A>G	p.(Asp2006Gly)	faux-sens	4	hétérozygote composite	DFNB21
224	OTOA	NM_144672	c.1970G>A	p.(Gly657Glu)	faux-sens	4	del exons 1-21	p.?	délétion	5	hétérozygote composite	DFNB22
254	PCDH15	NM_0033056	c.1A>T	p.?	start loss	5	c.733C>T	p.(Arg245*)	non-sens	5	hétérozygote composite	DFNB23
623	TRIOBP	NM_001039141	c.1108_1109insCTTC	p.(Cys371Serfs*53)	frameshift	5	c.4570G>T	p.(Glu1524*)	non-sens	5	hétérozygote composite	DFNB28
62	MYO15A	NM_016239	c.4759del	p.(Leu1587Trpfs*9)	frameshift	5	c.8905_8908del	p.(Ala2969Profs*64)	frameshift	5	hétérozygote composite	DFNB3
144	MYO15A	NM_016239	c.2384dup	p.(Ser796Valfs*184)	frameshift	4	c.5287C>T	p.(Arg1763Trp)	faux-sens	4	hétérozygote composite	DFNB3
164	MYO15A	NM_194248	c.5203C>T	p.(Arg1735Trp)	faux-sens	4	c.8468A>G	p.(Asp2823Gly)	faux-sens	4	hétérozygote composite	DFNB3
472	MYO15A	NM_194248	c.1137delC	p.(Tyr80Metfs*64)	frameshift	5	c.5761C>T	p.(Arg1921*)	non-sens	5	hétérozygote composite	DFNB3
495	MYO15A	NM_194248	c.580_583dup 34	p.(Ser195Thrfs*)	frameshift	5	c.1454T>C	p.(Val485Ala)	faux-sens	4	hétérozygote composite	DFNB3
683	MYO15A	NM_194248	c.4966G>A	p.(Gly1656Ser)	faux-sens	4	c.8149-1G>A	p.?	épissage	5	hétérozygote composite	DFNB3
56	LHFPL5	NM_182548	c.527G>T	p.(Arg176Leu)	faux-sens	4	c.527G>T	p.(Arg176Leu)	faux-sens	4	homozygote	DFNB67
70	LOXHD1	NM_144612	c.4465G>A	p.(Glu1489Arg)	faux-sens	4	c.4480C>T	p.(Arg1494*)	non-sens	5	hétérozygote composite	DFNB77
213	LOXHD1	NM_144612	c.3333_3337del	p.(Asp1111Glufs*20)	frameshift	5	c.4480C>T	p.(Arg1484*)	non-sens	5	hétérozygote composite	DFNB77
414	LOXHD1	NM_144612	c.5040delG 15	p.(Glu1680Aspfs*)	frameshift	5	c.6043A>G	p.(Ile2015Val)	faux-sens	4	hétérozygote composite	DFNB77
681	LOXHD1	NM_144612	c.4480V>T	p.(Arg1484*)	non-sens	5	c.4480V>T	p.(Arg1484*)	non-sens	5	homozygote	DFNB77
37	TMPRSS3	NM_1256317	c.208del	p.(His70Thrfs*19)	frameshift	5	c.413C>A	p.(Ala138Glu)	faux-sens	5	hétérozygote composite	DFNB8
478	TMPRSS3	NM_001256317	c.208del	p.(His70Thrfs*19)	frameshift	5	c.413C>A	p.(Ala138Glu)	faux-sens	5	hétérozygote composite	DFNB8
7	OTOF	NM_194248	c.1896del	p.(Phe633Leufs*5)	frameshift	5	c.1896del	p.(Phe633Leufs*5)	frameshift	5	homozygote	DFNB9
22	OTOF	NM_194248	c.2348delG	p.(Gly783Alafs*17)	frameshift	5	c.4362+1G>T	p.?	épissage	5	hétérozygote composite	DFNB9
229	POU3F4	NM_000307	c.346dup	p.(Ala116Glyfs*77)	frameshift	5	-	-	-	-	hémizygote	DFNX2
133	STRC / CATSPER2	-	g.43885055-43941082	p.?	délétion	5	g.43885055-43941082	p.?	délétion	5	homozygote	DIS
216	PROK2	NM_001126128	c.70G>C	p.(Ala24Pro)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	hypogonadisme hypogonadotrope
162	MYO7A	NM_000260	c.3289C>T	p.(Glu1097*)	non-sens	5	c.5262_5263dup	p.(Ala1755Glyfs*51)	frameshift	5	hétérozygote composite	Usher 1B
651	USH2A	NM_206933	c.653T>A	p.(Val218Glu)	faux-sens	4	c.11940_11944del	p.(Leu3982fs*29)	frameshift	5	hétérozygote composite	Usher 2A
666	USH2A	NM_206933	c.2299delG	p.(Glu767Serfs*21)	frameshift	5	c.13316C>A	p.(Thr4439Lys)	faux-sens	5	hétérozygote composite	Usher 2A

Abréviations : del : délétion ; dup : duplication ; cDNA : coordonnées en ADN codant.

## Annexe 8 : Variants de classe 4 et 5 identifiés chez les patients présentant une surdité syndromique

Patient	Gène	Transcrit	Allèle 1				Allèle 2				Statut	Diagnostic
			cDNA	protéine	type de variant	ACMG	cDNA	protéine	type de variant	ACMG		
314	COL4A4	NM_000092	c.2320G>C	p.(Gly774Arg)	faux-sens	5	c.4394G>A	p.(Gly1465Asp)	faux-sens	4	hétérozygote composite	Alport
423	COL4A5	NM_033380	c.1691del	p.(Gly564Valfs*54)	frameshift	5	-	-	-	-	hémizyote	Alport
620	COL4A3	NM_000091	c.2666G>T	p.(Gly889Val)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	Alport
104	SIX1	NM_005982	c.385T>C	p.(Tyr129His)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	BORS
131	EYA1	NM_172058	c.1041+1G>T	p.?	épissage	5	-	-	-	-	hétérozygote	BORS
152	EYA1	NM_172058	c.1448G>T	p.(Gly483Val)	faux-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	BORS
294	EYA1	NM_172058	c.1663G>A	p.(Gly555Arg)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	BORS
465	EYA1	NM_172058	c.823C>T	p.(Gln275*)	non-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	BORS
555	EYA1	NM_172058	c.447C>A	p.(Tyr149*)	non-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	BORS
564	EYA1	NM_172058	délétion exons 12-16	p.?	délétion intragénique	5	-	-	-	-	hétérozygote	BORS
642	SIX1	NM_005982	c.538C>G	p.(Arg180Gly)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	BORS
658	SIX1	NM_005982	c.386A>G	p.(Tyr129Cys)	faux-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	BORS
106	CHD7	NM_017780	c.6955C>T	p.(Arg2319Cys)	faux-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	CHARGE
141	CHD7	NM_017780	c.3879_3882del	p.(Ile1295Thrfs*7)	frameshift	5	-	-	-	-	hétérozygote	CHARGE
274	KCNQ4	NM_004700	c.1991_1992dup	p.(Thr665Serfs*77)	frameshift	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFN2A
298	KCNQ4	NM_004700	c.961G>A	p.(Gly321Ser)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFN2A
11	ACTG1	NM_001614	c.353 A>T	p.(Lys118Met)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA20
668	MYO6	NM_004999	c.3176G>C	p.(Arg1059Thr)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA22
132	GJB3	NM_001005752	c.194_196del	p.(Asp66del)	délétion in frame	4	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA2B
488	COCH	NM_001135058	c.271C>T	p.(Arg91*)	non-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNA9
372	GJB2	NM_004004	c.35delG	p.(Gly12Valfs*2)	frameshift	5	c.101T>C	p.(Met34Thr)	faux-sens	5	hétérozygote composite	DFNB1
18	EPS8L2	NM022772	c.478-2A>G	p.?	épissage	5	c.478-2A>G	p.?	épissage	5	homozygote	DFNB106
148	STRC	NM_153700	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	homozygote	DFNB16
191	STRC	NM_153700	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	homozygote	DFNB16
443	STRC	NM_153700	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	del exons 1-29	p.?	délétion complète	5	homozygote	DFNB16
24	GJB2	NM_004004	c.35delG	p.(Gly12Valfs*2)	frameshift	5	c.109G>A	p.(Val37Ile)	faux-sens	5	hétérozygote composite	DFNB1A
158	GJB2	NM_004004	c.139G>T	p.(Glu47*)	non-sens	5	c.139G>T	p.(Glu47*)	non-sens	5	homozygote	DFNB1A
205	GJB2	NM_004004	c.101T>C	p.(Met34Thr)	faux-sens	5	c.119C>A	p.(Ala40Glu)	faux-sens	5	hétérozygote composite	DFNB1A
665	MYO7A	NM_000260	c.3764del	p.(Lys1255Argfs*8)	frameshift	5	c.4040G>A	p.(Arg1347His)	faux-sens	4	hétérozygote composite	DFNB2
552	TRIOBP	NM_001039141	c.1489C>T	p.(Arg497*)	non-sens	5	c.5014G>T	p.(Glu1672*)	non-sens	5	hétérozygote composite	DFNB28
50	MOY15A	NM_016239	c.4538C>T	p.(Ala1513Val)	faux-sens	4	c.6704_6706del	p.(Ser2235del)	délétion in frame	4	hétérozygote composite	DFNB3
429	WHRN	NM_015404	c.1873C>T	p.(Gln625*)	non-sens	5	c.1873C>T	p.(Gln625*)	non-sens	5	homozygote	DFNB31

Patient	Gène	Transcrit	Allèle 1				Allèle 2				Statut	Diagnostic
			cDNA	protéine	type de variant	ACMG	cDNA	protéine	type de variant	ACMG		
308	LRTOMT	NM_001145308	c.802C>T	p.(His268Tyr)	faux-sens	4	c.802C>T	p.(His268Tyr)	faux-sens	4	homozygote	DFNB63
383	LOXHD1	NM_144612	c.3614A>G	p.(Asp1205Gly)	faux-sens	4	c.4212+1G>A	p.?	épissage	5	hétérozygote composite	DFNB77
381	PTPRQ	NM_001145026	c.6013-1G>A	p.?	épissage	5	c.6705_6706del	p.(Arg2235Serfs*24)	frameshift	5	hétérozygote composite	DFNB84
618	PRPS1	NM_002764	c.640C>T	p.(Arg214Trp)	faux-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	DFNX1
211	POU3F4	NM_000307	c.634C>T	p.(Gln212*)	non-sens	5	-	-	-	-	hémizyote	DFNX2
228	CHN1	NM_001822	c.388G>A	p.(Ala130Thr)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	Duane
316	PROKR2	NM_144773	c.518 T>G	p.(Leu173Arg)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	hypogonadisme hypogonadotrope
330	PROKR2	NM_144773	c.518T>G	p.(Leu173Arg)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	hypogonadisme hypogonadotrope
377	TBL1X	NM_005647	dup exons 4-18	p.?	duplication	5	-	-	-	-	hémizyote	hypothyroïdie congénitale
473	KAL1	NM_000216	c.1458C>G	p.(Tyr486*)	non-sens	5	-	-	-	-	hémizyote	Kallmann
537	KAL1	NM_000216	c.1150C>T	p.(Arg384Trp)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	Kallmann
36	SLC26A4	NM_000441	c.1223C>A	p.(Ser408Tyr)	faux-sens	4	c.2162C>T	p.(Thr721Met)	faux-sens	5	hétérozygote composite	Pendred
55	SLC26A4	NM_000441	c.1334T>G	p.(Leu445Trp)	faux-sens	5	c.1334T>G	p.(Leu445Trp)	faux-sens	5	homozygote	Pendred
263	SLC26A4	NM_000441	c.269C>T	p.(Ser90Leu)	faux-sens	5	c.1226G>A	p.(Arg409His)	faux-sens	5	hétérozygote composite	Pendred
321	SLC26A4	NM_000441	c.707T>C	p.(Leu236Pro)	faux-sens	5	c.707T>C	p.(Leu236Pro)	faux-sens	5	homozygote	Pendred
328	SLC26A4	NM_000441	c.626G>T	p.(Gly209Val)	faux-sens	5	c.1246A>C	p.(Thr416Pro)	faux-sens	5	hétérozygote composite	Pendred
483	SLC26A4	NM_000441	c.410C>T	p.(Ser137Leu)	faux-sens	4	c.410C>T	p.(Ser137Leu)	faux-sens	4	homozygote	Pendred
649	SLC26A4	NM_000441	c.626G>T	p.(Gly209Val)	faux-sens	5	c.1489G>A	p.(Gly497Ser)	faux-sens	5	hétérozygote composite	Pendred
548	LARS2	NM_015340	c.1565C>A	p.(Thr522Asn)	faux-sens	5	c.1565C>A	p.(Thr522Asn)	faux-sens	5	homozygote	Perrault
688	HARS2	NM_012208	c.448C>T	p.(Arg150Cys)	faux-sens	4	c.448C>T	p.(Arg150Cys)	faux-sens	4	homozygote	Perrault
83	COL2A1	NM_001844	c.3727 C>T	p.Gln1243*	non-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	Stickler
119	COL2A1	NM_001844	c.709G>T	p.(Gly237Cys)	faux-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	Stickler
210	COL2A1	NM_001844	c.1833+1G>A	p.?	épissage	5	-	-	-	-	hétérozygote	Stickler
212	COL2A1	NM_001844	c.4148C>T	p.(Thr1383Met)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	Stickler
270	COL11A1	NM_001854	c.3654+2dup	p.?	épissage	5	-	-	-	-	hétérozygote	Stickler
347	COL9A1	NM_001851	c.1926+1G>C	p.?	épissage	5	c.1926+1G>C	p.?	épissage	5	homozygote	Stickler
427	COL2A1	NM_001844	c.3574C>T	p.(Arg1192*)	non-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	Stickler
450	COL11A1	NM_001854	c.3852+1G>A	p.?	épissage	5	-	-	-	-	hétérozygote	Stickler
464	COL2A1	NM_001844	c.3879G>A	p.(Trp1293*)	faux-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	Stickler
508	COL2A1	NM_001844	c.3003+1G>A	p.?	épissage	5	-	-	-	-	hétérozygote	Stickler
613	COL11A1	NM_001854	c.1080T>G	p.(Tyr360*)	non-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	Stickler
111	FGF3	NM_005247	c.306_314del	p.(Arg102_LeudelinsSer )	délétion insertion	4	c.306_314del	p.(Arg102_LeudelinsSer )	délétion insertion	4	homozygote	surdité-microtie- microdontie- agénésie de l'OI
51	MYO7A	NM_000260	c.655_660del	p.(Ile219_His220del)	délétion <i>in frame</i>	4	c.655_660del	p.(Ile219_His220del)	délétion <i>in frame</i>	4	homozygote	Usher 1B
217	MYO7A	NM_000260	c.2652G>A	p.(Gly1218Arg)	faux-sens	4	c.3719G>A	p.(Arg1240Gln)	faux-sens	5	hétérozygote composite	Usher 1B

Patient	Gène	Transcrit	Allèle 1				Allèle 2				Statut	Diagnostic
			cDNA	protéine	type de variant	ACMG	cDNA	protéine	type de variant	ACMG		
221	MYO7A	NM_000260	c.18+5G>C	p.?	épissage	4	c.1771C>T	p.(Gln591*)	non-sens	5	hétérozygote composite	Usher 1B
272	MYO7A	NM_000260	c.6028G>A	p.(Asp2010Asn)	faux-sens	5	c.6070C>T	p.(Arg2024*)	non-sens	5	hétérozygote composite	Usher 1B
440	MYO7A	NM_000260	c.2074G>A	p.(Val692Met)	faux-sens	4	c.6025del	p.(Ala2009Profs*32)	frameshift	5	hétérozygote composite	Usher 1B
95	USH2A	NM_206933	c.653T>A	p.(Val218Glu)	faux-sens	4	c.13274C>T	p.(Thr4425Met)	faux-sens	4	hétérozygote composite	Usher 2A
196	USH2A	NM_206933	c.2276G>T	p.(Cys259Phe)	faux-sens	5	c.12845T>C	p.(Leu4282Pro)	faux-sens	4	hétérozygote composite	Usher 2A
201	USH2A	NM_206933	c.653T>A	p.(Val218Glu)	faux-sens	4	c.14225_14252 dup	p.(Val4753Profs*36)	frameshift	5	hétérozygote composite	Usher 2A
202	USH2A	NM_206933	c.1606T>C	p.(Cys536Arg)	faux-sens	5	c.11864G>A	p.(Trp3955*)	non-sens	5	hétérozygote composite	Usher 2A
214	USH2A	NM_206933	c.2276G>T	p.(Cys759Phe)	faux-sens	5	c.13274C>T	p.(Thr4425Met)	faux-sens	4	hétérozygote composite	Usher 2A
287	USH2A	NM_206933	c.949C>A	p.(Arg317=)	synonyme*	4	c.1876C>T	p.(Arg626*)	non-sens	5	hétérozygote composite	Usher 2A
290	USH2A	NM_206933	c.2299delG	p.(Glu767Serfs*21)	frameshift	5	c.653T>A	p.(Val218Glu)	faux-sens	4	hétérozygote composite	Usher 2A
315	USH2A	NM_206933	c.1606T>C	p.(Cys536Arg)	faux-sens	5	c.13576C>T	p.(Arg4526*)	non-sens	5	hétérozygote composite	Usher 2A
324	USH2A	NM_206933	c.2299delG	p.(Glu767Serfs*2)	frameshift	5	c.13313G>A	p.(Trp4438*)	non-sens	5	hétérozygote composite	Usher 2A
333	USH2A	NM_206933	c.8232G>A	p.(Trp2744*)	non-sens	5	c.12302_12304 del	p.(Asn4101del)	délétion <i>in frame</i>	4	hétérozygote composite	Usher 2A
396	USH2A	NM_206933	c.653T>A	p.(Val218Glu)	faux-sens	4	c.14343+1G>A	p.?	épissage	5	hétérozygote composite	Usher 2A
421	USH2A	NM_206933	c.11095G>T	p.(Glu3699*)	non-sens	5	c.13010C>T	p.(Thr4337Met)	faux-sens	5	hétérozygote composite	Usher 2A
492	USH2A	NM_206933	c.10073G>A	p.(3358Tyr)	faux-sens	5	c.11713C>T	p.(Arg3905Cys)	faux-sens	5	hétérozygote composite	Usher 2A
512	USH2A	NM_206933	c.2299delG	p.(Glu767Serfs*21)	frameshift	5	c.11534A>G	p.(Glu3845Pro)	faux-sens	4	hétérozygote composite	Usher 2A
667	USH2A	NM_206933	c.653T>A	p.(Val218Glu)	faux-sens	4	c.8167C>T	p.(Arg2723*)	non-sens	5	hétérozygote composite	Usher 2A
8	EDNRB	NM_003991	c.553G>A	p.(Val185Met)	faux-sens	4	c.553G>A	p.(Val185Met)	faux-sens	4	homozygote	Waardenburg
98	PAX3	NM_181459	c.879dup	p.(Phe294Valfs*116)	frameshift	5	-	-	-	-	hétérozygote	Waardenburg
291	MITF	NM_198159	del exons 1-9	p.?	délétion complète	5	-	-	-	-	hétérozygote	Waardenburg
295	SOX10	NM_006941	c.386T>C	p.(Leu129Pro)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	Waardenburg
317	PAX3	NM_181459	c.784C>T	p.(Arg262*)	non-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	Waardenburg
323	SOX10	NM_006941	c.1303del	p.(Leu435Serfs*67)	frameshift	5	-	-	-	-	hétérozygote	Waardenburg
463	PAX3	NM_181459	c.400C>T	p.(Arg134*)	non-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	Waardenburg
522	SOX10	NM_006941	c.216C>G	p.(Ile72Met)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	Waardenburg
539	PAX3	NM_181459	c.51del	p.(Glu18Argfs*92)	frameshift	5	-	-	-	-	hétérozygote	Waardenburg
630	PAX3	NM_181459	c.400_407del	p.(Arg134Ilefs*8)	frameshift	5	-	-	-	-	hétérozygote	Waardenburg
685	PAX3	NM_181459	c.68G>A	p.(Ser23Asn)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	Waardenburg
180	WFS1	NM_006005	c.2590G>A	p.(Glu864Lys)	faux-sens	5	-	-	-	-	hétérozygote	Wolfram
327	WFS1	NM_006005	c.1211C>T	p.(Pro404Leu)	faux-sens	4	-	-	-	-	hétérozygote	Wolfram

Abréviations : del : délétion ; dup : duplication ; cDNA : coordonnées en ADN codant. \* : ce variant, bien que synonyme, est rapporté dans les bases de données chez des patients atteints de syndrome d'Usher de type 2A, il est également *en trans* avec un variant pathogène, selon les critères ACMG, il est considéré comme probablement pathogène.

**AUTEUR : Nom : BOUSSION**

**Prénom : Simon**

**Date de soutenance : 18/06/2021**

**Titre de la thèse : Diagnostic des surdités d'origine génétique au CHU de Lille : caractérisation clinique et moléculaire d'une cohorte de 692 patients**

**Thèse - Médecine - Lille - 2021**

**Cadre de classement : Génétique**

**DES + spécialité : Génétique médicale**

**Mots-clés : Surdité isolée, surdité syndromique, NGS, diagnostic moléculaire, taux diagnostique, signes associés.**

**Résumé :** La surdité est le handicap sensoriel le plus répandu dans les pays développés. Son incidence est estimée entre 1/1000 et 1/500 naissances. Les surdités congénitales sont d'origine génétique dans 60 à 80% des cas. Ces pathologies sont hétérogènes cliniquement et génétiquement. Le séquençage à haut débit (NGS) a permis de grandes avancées dans leur diagnostic étiologique. Les implications de celui-ci sont nombreuses : conseil génétique, pronostic, optimisation de la prise en charge ORL, dépistage des atteintes associées. L'objectif principal de cette étude rétrospective et multicentrique est l'analyse descriptive clinique et moléculaire des patients ayant bénéficié de l'analyse NGS du panel de gènes associés aux surdités au CHU de Lille de 2018 à 2020. Notre cohorte comprend 692 patients, dont 304 cas de surdité isolée et 388 cas de surdité syndromique. Le taux diagnostique du panel est de 26%. Il est significativement plus élevé dans les formes familiales que pour les cas sporadiques. Les 75 cas positifs de surdité isolée présentent tous une atteinte bilatérale. Les profils sont variables par ailleurs. Les 97 cas positifs de surdité syndromique sont répartis parmi 15 syndromes différents. Les plus fréquents sont les syndromes d'Usher (n=24), Waardenburg (n=11), Stickler (n=11), BOR (n=9) et Pendred (n=7). Certains signes cliniques sont fortement prédictifs d'un diagnostic précis. Nous nuancions le caractère prédictif d'autres signes classiquement associés à un syndrome particulier. Il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la littérature, les stratégies d'analyses variant selon les études. La description de larges cohortes améliore les connaissances cliniques et biologiques des surdités génétiques. Un nombre conséquent de cas négatifs de surdité isolée familiale, non éligibles au plan France Médecine Génomique, incite à proposer localement des analyses plus larges.

**Composition du Jury :**

**Présidente :**

**Madame le Professeur Sylvie MANOUVRIER**

**Assesseurs :**

**Madame le Professeur Florence PETIT**

**Madame le Docteur Claire-Marie DHAENENS**

**Monsieur le Docteur Nicolas-Xavier BONNE**

**Directeur de thèse :**

**Madame le Docteur Catherine VINCENT-DELORME**