

ORIGINAL

## Characterisation of exon two of the GJB2 gene in Cubans with autosomal recessive prelingual isolated hearing loss

## Caracterización del exón dos del gen GJB2 en cubanos con hipoacusia aislada prelingual autosómica recesiva

Estela Morales Peralta<sup>1</sup>  , Mercedes Arceo Alvarez<sup>1</sup>  , Yuledmi Perdomo Chacón<sup>2</sup>  , Teresa Collazo Mesa<sup>1</sup>  , Katrin Beyer<sup>3</sup>  

<sup>1</sup>Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Hospital Borrás-Marfán. La Habana, Cuba.

<sup>3</sup>Departamento de Neurociencias Instituto de Investigación Germans Trias y Pujol, Badalona, Cataluña, España.

**Citar como:** Morales Peralta E, Arceo Alvarez M, Perdomo Chacón Y, Collazo Mesa T, Beyer K. Characterisation of exon two of the GJB2 gene in Cubans with autosomal recessive prelingual isolated hearing loss. Salud, Ciencia y Tecnología. 2025; 5:1575. <https://doi.org/10.56294/saludcyt20251575>

Enviado: 25-03-2025

Revisado: 01-07-2025

Aceptado: 07-10-2025

Publicado: 08-10-2025

Editor: Prof. Dr. William Castillo-González 

Autor para la correspondencia: Estela Morales Peralta 

### ABSTRACT

**Introduction:** Hearing loss is the most common neurological disorder in humans. In its prelingual form, it occurs in one in every 1 000 live births. The most common type is isolated autosomal recessive hearing loss, caused mainly by pathogenic variants of the GJB2 gene. The most common of these in all populations is c.35delG, located in exon two, which encodes this gene. This mutation has been identified in heterozygosity in Cubans with hearing loss. Given its high allelic heterogeneity, Sanger sequencing is recommended to confirm the molecular diagnosis.

**Objective:** to characterise exon 2 of the GJB2 gene in a series of Cuban patients with autosomal recessive prelingual isolated hearing loss.

**Method:** a descriptive, cross-sectional study was conducted. From 379 cases in which molecular study was performed by allele-specific PCR of the pathogenic variant c.35delG, 13 heterozygotes were selected in which deletions D13S1830 and D13S1854 of the GJB6 gene had previously been ruled out. Sanger sequencing of exon 2 was performed, for which four specific oligonucleotides were designed to amplify two overlapping fragments to ensure complete analysis of the coding region of the GJB2 gene. Given the characteristics of the c.35delG mutation, two additional primers were included to analyse the start of exon 2. Information on the identified variants was sought on the ClinVar website. The audiometric characteristics of the patients were observed. Throughout the research, the principles of human research ethics were followed.

**Results:** the c.427C>T variant was identified in three individuals, while the c.94C>T mutation was found in another, and c.139G>T in a fifth. The patients presented sensorineural hearing loss with severity levels exceeding 61 dB.

**Conclusion:** Three pathogenic variants were identified in the coding region of the GJB2 gene, associated with severe to profound hearing loss.

**Keywords:** Connexin 26; Non-Syndromic; Deafness; Autosomal Recessive; Gab B 2 Binding Protein.

### RESUMEN

**Introducción:** la hipoacusia constituye la disfunción neurológica más frecuente en el humano, en su forma prelingual aparece en uno de cada 1000 nacidos vivos; las que se presentan en mayor proporción son las aisladas autosómicas recesivas, causadas fundamentalmente por variantes patogénicas del gen GJB2; de ellas

la más común en todas las poblaciones es la c.35delG, que se localiza en el exón dos, el codificante de este gen. En cubanos hipoacúsicos se ha identificado esta mutación en heterocigosis; para concluir su diagnóstico molecular -dada su gran heterogeneidad alélica- se recomienda aplicar la secuenciación mediante el método Sanger.

**Objetivo:** caracterizar el exón 2 del gen GJB2 en una serie de pacientes cubanos con hipoacusia aislada prelingual autosómica recesiva.

**Método:** se realizó un estudio descriptivo, de corte transversal. A partir de 379 casos en que se practicó el estudio molecular por PCR alelo específico de la variante patogénica c.35delG; se seleccionaron 13 heterocigóticos, en los que previamente se habían descartado las delecciones D13S1830 y D13S1854 del gen GJB6. Se practicó la secuenciación por método de Sanger del exón 2, para la que fueron diseñados cuatro oligonucleótidos específicos a fin de amplificar dos fragmentos solapantes para asegurar el análisis completo de la región codificante del gen GJB2. Dadas las características de la mutación c.35delG, se incluyeron dos cebadores adicionales para analizar el inicio del exón 2. Se buscó la información de las variantes identificadas en la página web “ClinVar”. Fueron observadas las características audiométricas de los pacientes. A lo largo de la investigación se cumplieron los principios de la ética de la investigación en humanos.

**Resultados:** se identificó en tres individuos la variante c.427C>T; mientras se halló en otro la mutación c.94C>T, y en un quinto la c.139G>T. Los pacientes presentaron pérdida auditiva neurosensorial con niveles de severidad que superaron los 61 dB.

**Conclusión:** se identificaron tres variantes patogénicas en la región codificante del gen GJB2, asociada a pérdidas auditivas de severa a profunda.

**Palabras clave:** Conexina 26; No Sindrómica; Sordera; Autosómica Recesiva; Proteína de Unión Gab B 2.

## INTRODUCCIÓN

La sordera es la pérdida, en cualquier grado, de la capacidad para percibir y discriminar sonidos. En su forma prelingual aparece en todas las poblaciones con una frecuencia aproximadamente 1 cada 500 recién nacidos. Afecta el desarrollo del habla, que es la forma habitual de comunicación utilizada por el hombre; por lo que provoca trastornos del aprendizaje, las relaciones interpersonales y la identidad a la comunidad.<sup>(1,2)</sup>

Se estima que en el 80 % sean de causa genética, con una amplia heterogeneidad, que comprende formas aisladas o indiferenciadas -también llamadas no sindrómicas-, y enfermedades en las que la pérdida auditiva es uno de sus signos clínicos reconocibles, usualmente referidas como sindrómicas. Las aisladas aparecen en mayor proporción y se distinguen de acuerdo al modo de herencia en: autosómicas -sean dominantes o recesivas-, ligadas al X y con transmisión materna, o mitocondrial; mientras que en las sindrómicas se clasifican según las manifestaciones clínicas que acompañan a la pérdida de la audición. Las formas más frecuentes de sorderas de causa genética son las no sindrómicas autosómicas recesivas (NSAR), de aparición prelingual, con pérdida auditiva profunda y estable.<sup>(1,3,4)</sup>

El desarrollo científico logrado en los últimos años ha puesto nuevos métodos de estudios moleculares a disposición de la práctica clínica, y con ello se han logrado identificar las bases moleculares de muchas sorderas hereditarias, con lo que se ha ampliado el conocimiento sobre los genes vinculados con la audición, y demostrado que las variantes patogénicas causales más frecuentes yacen en el gen GJB2 (del inglés “Gap junction protein B2”), localizado en el brazo largo del cromosoma 13 (locus: 13q11-12), que codifica para la síntesis de la conexina 26 (Cx26).<sup>(5,6)</sup>

El fenotipo que aparece en mayor proporción, asociado a mutaciones del gen GJB2, es la sordera NSAR, denominada DFNB1A (las tres letras de las siglas de las consonantes del inglés deafness, B por ser recesiva y 1 A su tipo).<sup>(7)</sup> Se han descrito más de 53 variantes patogénicas causales de este tipo de sordera, la mayoría localizadas en su exón dos, que es el codificante.<sup>(4)</sup>

La mutación causal de la sordera NSAR tipo DFNB1A que se ha observado con mayor frecuencia en todas las poblaciones, es la c.35delG;<sup>(8,9)</sup> por lo que el primer proceder recomendado, como parte del proceso diagnóstico, tanto en casos de ocurrencia esporádica (que es una forma de presentación de la herencia recesiva) o cuando existen evidencias de transmisión autosómico recesivo es la aplicación del estudio molecular directo, a través reacción en cadena de la polimerasa (PCR, siglas tomada del inglés *Polymerase Chain Reaction*), para identificar esta variante patogénica.<sup>(10,11)</sup>

A través de la Red Nacional de Genética Médica de Cuba está disponible esta técnica desde el año 2001, y aplicándose a los individuos que clínicamente presentan una sordera NSAR, se ha logrado demostrar que la variante patogénica c.35delG se halla en una proporción alta en estos casos estudiados.<sup>(12)</sup> En los que se halló en homocigosis, se concluyó su diagnóstico molecular; pero en un grupo se encontró esta variante patogénica en heterocigosis, en ausencia de las delecciones D13S1830 y D13S1854 del gen GJB6, que en forma digénica pueden

observarse en las sorderas NSAR, junto a variantes patogénicas del gen GJB2.<sup>(7,13,14)</sup>

Concluir el diagnóstico certero de estos pacientes es imprescindible en su manejo clínico, incluido el hecho de que se les debe comunicar sus riesgos de transmitir una pérdida auditiva, y al estar debidamente informados, tomen las decisiones que consideren acertadas, brindadas a través de estrategias preventivas basadas en el Asesoramiento Genético.

Para ello se hace necesario aplicar otros procedimientos. Como existen diversas variantes del gen GJB2, y la mayoría se encuentran en el exón 2, que es el codificante,<sup>(15)</sup> es importante estudiarlo por lo que el objetivo de este trabajo fue caracterizar el exón dos del gen GJB2 en una serie de pacientes cubanos con hipoacusia aislada prelingual autosómica recesiva.

**MÉTODO**

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal entre el 2001 y 2024, a partir de 379 pacientes con sordera no sindrómica congénita. La recopilación de la información clínica la ejecutó un mismo colectivo profesional entrenado en la atención de pacientes con pérdida auditiva. Se escogieron los casos que presentaron evidencia de herencia autosómica recesiva o aparecieron de forma aislados en sus familias. Se tuvo en cuenta el grado de pérdida auditiva de acuerdo a su magnitud, frecuencia y lateralidad; así como la procedencia de los pacientes.

Fueron seleccionados los heterocigóticos para la variante patogénica c.35delG del gen GJB2, que no presentaron alguna de las delecciones: D13S1830 y D13S1854 del gen GJB6 y su ADN conservaba las especificaciones de calidad requeridas para su secuenciación por método de Sanger. Finalmente, la muestra estuvo constituida por 13 casos.

**Oligonucleótidos**

A fin de realizar un análisis completo de la región codificante del gen GJB2 fueron utilizados los siguientes cebadores, con las siguientes temperaturas de hibridación:

| Tabla 1. Cebadores utilizados con su temperaturas de hibridación para análisis completo de la región codificante del gen GJB2 |                             |                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|                                                                                                                               | secuencia 5' --> 3'         | Temperatura de hibridación |
| Reverso                                                                                                                       | AGT TGG TTC TGT CTT CAC CTG | 55°C                       |
| Directo                                                                                                                       | TGG TGT TTG CTC AGG AAG AG  | 60°C                       |
| Directo                                                                                                                       | TCA TCC CTC TCA TGC TGT CT  |                            |
| Directo                                                                                                                       | TGA GCC TTG ACA GCT GAG CA  |                            |

Para analizar el inicio del exón 2 se utilizaron los siguientes cebadores:

| Tabla 2. Cebadores utilizados con su temperaturas de hibridación para analizar el inicio del exón 2 |                            |                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                                                                                     | secuencia 5' --> 3'        | Temperatura de hibridación |
| Reverso                                                                                             | CTA CCG GAG ACA TGA GAA GA | 56°C                       |
| Directo                                                                                             | TCT TCT CAT GTC TCC GGT AG |                            |

**PCR y secuenciación**

En un primer paso se estandarizaron todas las PCR aplicando un gradiente la temperatura de hibridación para poder asegurar la amplificación correcta de los fragmentos deseados. Una vez determinadas las temperaturas de hibridación específicas para cada par de cebadores, se realizaron las PCRs. Los productos de PCR fueron visualizados mediante electroforesis, para evaluar el resultado. Después se purificaron los fragmentos de PCR y se secuenciaron utilizando uno de los dos cebadores de PCR mediante el método Sanger.

**Métodos de procesamiento y análisis de la información**

*Análisis in silico*

Para determinar las características de cada una de las variantes identificadas se buscó la información correspondiente en la base de datos “CinVar”.<sup>(16)</sup>

Toda la información que se generó se analizó a través de técnicas de estadística descriptiva, a través de las

frecuencias relativas halladas.

### Aspectos éticos

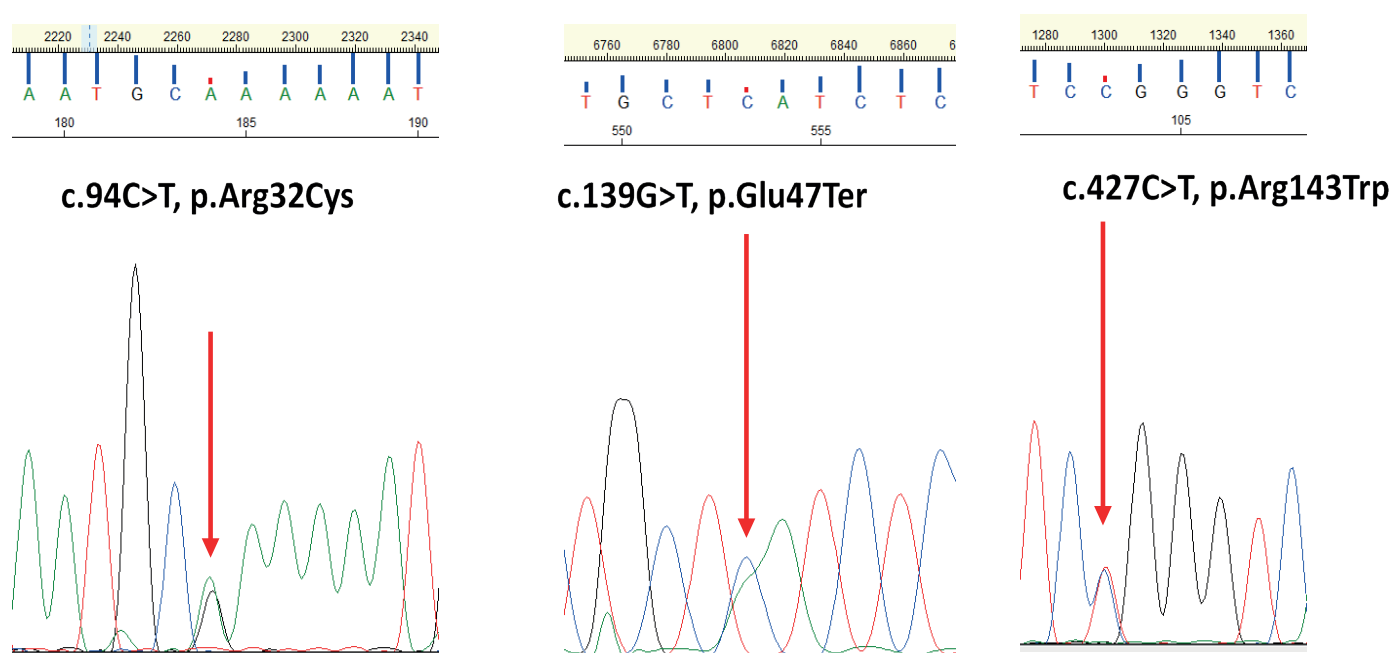
Esta investigación se realizó, a través de la autorización del Comité de Ética de la Investigación del Centro Nacional de Genética. A lo largo de la misma se veló porque se cumpliera lo establecido en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial 2023, que establece los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos.<sup>(17)</sup>

### RESULTADOS

El estudio fue realizado en 13 individuos que presentaron sordera no síndromica, todos con aparición esporádica en su familia y negaron antecedentes de consanguinidad, en ellos fue comprobada su condición de heterocigóticos para la variante patogénica c.35delG.

En cinco de los 13 fueron identificadas mutaciones del exón dos del gen GJB2. Las secuenciaciones halladas se ilustran en la figura número 1. En tres de ellos la c.427C>T, p.Arg143Trp, mientras en los dos restantes las c.94C>T, p.Arg32Cys y c.139G>T, p.Glu47Ter.

En todos los casos estudiados las audiometrías correspondieron a hipoacusia neurosensorial profunda bilateral prelingual, con pérdida de la audición superior a los 61 db.



**Figura 1.** Secuenciación del exón dos del gen GJB2 en los casos que se identificó, además de la variante patogénica c.35delG, las mutaciones: c.94C>T, c.139G>T y c.427C>T

### DISCUSIÓN

La Cx26 -codificada por el gen GJB2- se expresa en las membranas citoplasmáticas de las células ciliadas de la cóclea, asociadas en hexámeros, constituyen los conexones; dos de los cuales, procedentes de células adyacentes, se unen a través de sus regiones extracelulares formando un canal funcional por el que ocurre el reciclaje de potasio, necesario para mantener la alta concentración endolinfática de este ión, requerida para preservar la función del oído interno.<sup>(15,18,19)</sup>

Las variantes patogénicas del gen GJB2, que codifica para la síntesis de la CX26 son la causa más frecuente de sordera NSAR, su diagnóstico se complica por el hecho de que se ha observado que un grupo de los que presentan mutaciones GJB2 portan solo un alelo mutante, y presentaban adicionalmente deleciones del gen GJB6 (que codifica la conexina-30), específicamente las D13S1830 y D13S1854. (doble heterocigosidad) en forma de una sordera prelingual con herencia digénica por mutaciones que involucran a los genes GJB2 y GJB6.<sup>(7,14,20)</sup>

Por lo anterior fue importante en la selección de la muestra de esta investigación partir de individuos que en ausencia de tales deleciones del gen GJB6, presentaron la variante patogénica c.35del G del gen GJB2 en heterocigosis. Adicionalmente el análisis por expertos del ADN aseguró que las muestras se hallaran en óptimo estado y por lo tanto cumplieran las especificaciones de calidad requeridas para la secuenciación.

Los cebadores fueron diseñados a fin de caracterizar el exón 2 del gen GJB2. Si bien se amplificaron dos

fragmentos solapantes para asegurar el análisis completo de la secuencia a estudiar; dadas las características de la mutación c.35delG, se diseñaron cebadores adicionales para analizar el inicio del exón 2. Esto último sirvió como comprobación de que todos los pacientes de la serie estudiada eran heterocigóticos para la variante patogénica c.35delG.<sup>(16)</sup>

A través de la secuenciación del exón dos, que es la región codificante del gen GJB2, se verificó la presencia de la condición de heterocigótico en los 13 casos estudiados. Fueron identificados tres cambios genéticos que afectan la secuencia de nucleótidos de la conexina 26 (c.94C>T, c.139G>T y c.427C>T), mediante la consulta de la base de datos ClinVar, que recoge todas las mutaciones descritas en el contexto de enfermedades genéticas hasta el momento, se identificaron que se trataba de variantes patogénicas.<sup>(21)</sup>

La mutación puntual c.94C>T, conduce a un cambio en la posición 32 de la CX26 de un aminoácido cargado positivamente (arginina) por cisteína, que contiene un grupo tiol (p.Arg32Cys). Ello afecta la estructura y función de esta proteína.<sup>(22,23,24,25,26,27,28,29,30)</sup>

En la variante c.139G>T se produce un remplazo de guanina (G) por una timina (T) en el nucleótido 139 del gen GJB2; esto introduce un codón de parada prematura en la secuencia del gen GJB2 y, por lo tanto, a la producción de una Cx26 truncada, no funcional p.Glu47Ter, es referida en algunos textos como E47X) que provoca la producción de una proteína truncada y no funcional, lo que interrumpe la síntesis de la CX26 y por lo tanto la formación de las uniones gap y afecta la audición.<sup>(31,32,33,34,35)</sup>

El cambio en la posición 427 de citosina (C) por una timina (T) (c.427C>T) produce un cambio de arginina por triptófano en la posición 143 de la CX26 (p.Arg143Trp), se ha descrito en otras regiones de Latinoamérica y Europa;<sup>(36,37,38)</sup> entre las variantes encontradas en este estudio fue la que apareció en una mayor frecuencia (3/5).

Las últimas dos variantes (c.139G>T, c.427C>T) fueron previamente descritas en otra serie de casos cubanos reportados, mientras la c. 94C>T es la primera vez que se describe en una muestra de este país. De igual modo en el estudio citado fueron halladas otras mutaciones no encontradas en esta investigación.<sup>(39)</sup> Las descritas, adicionales a la c.35delG, varían en frecuencia con respecto a lo hallado en este trabajo. Esto refleja la alta heterogeneidad genética alélica que presenta el gen GJB2.

Las tres variantes halladas en esta investigación son reconocidas como patogénicas en las bases de datos consultadas;<sup>(16,17,18,19)</sup> y en ellas se han descrito pérdida auditiva neurosensorial cuya severidad puede variar de leve a profunda. Los pacientes incluidos presentaron sorderas neurosensoriales profunda bilateral prelingual con pérdida auditiva que varió de severa a profunda; aunque se han descrito casos con estas variables con hipoacusia leve, puede corresponderse al hecho de que la fuente de obtención de los casos fue el Centro Nacional de Genética Médica de Cuba, que es una institución de referencia nacional.

Con los resultados obtenidos se precisó el diagnóstico de los pacientes estudiados. A partir de ello se puede diseñar un pesquiasaje en cascada en sus familias, a través de estudios moleculares mediante PCR alelo específicos, con lo que se precisaría los que son portadores. Esto es importante para trazar estrategias preventivas, basadas en el asesoramiento genético. Adicionalmente estos hallazgos sugieren que estas variantes patogénicas pueden ser halladas en la población cubana y deben tomarse en cuenta en el algoritmo diagnóstico en el país.

## CONCLUSIÓN

Se identificaron tres variantes patogénicas en la región codificante del gen GJB2, asociada a pérdidas auditivas de severa a profunda.

## Limitaciones de esta investigación

Fueron estudiados solo casos en que se tenía evidencia de la presencia de la variante patogénica c35delG en heterocigosis del gen GJB2, una ampliación de este estudio puede aportar nuevos resultados.

## REFERENCIAS

1. Shearer AE, Hildebrand MS, Smith RJH. Hereditary hearing loss and deafness overview. En: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editores. GeneReviews®. Seattle (WA): University of Washington; 2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1434/>
2. Nussbaum RL, McInnes R, Willard H. Thompson & Thompson Genetics in Medicine. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2015. 546 p.
3. Smith RJ, Ranum PT. Nonsyndromic hearing loss and deafness, DFNA3. En: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., editores. GeneReviews®. Seattle (WA): University of Washington; 2016. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1536/>
4. Van Camp G, Smith R. Hereditary Hearing Loss Homepage. Available from: <https://hereditaryhearingloss.org>



5. Wang MH, Weng H. Genetic test, risk prediction, and counseling. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1005:21-46.
6. Yu Y, Zhang J, Zhan Y, Luo G. A novel method for detecting nine hotspot mutations of deafness genes in one tube. *Sci Rep.* 2024;14(1):454.
7. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). #220290 Deafness, autosomal recessive 1A; DFNB1A. Baltimore (MD): Johns Hopkins University; 2024. Available from: <https://omim.org/entry/220290>
8. Azadegan-Dehkordi F, Ahmadi R, Koohiyan M, Hashemzadeh-Chaleshtori M. Update of spectrum c.35delG and c.-23+1G>A mutations on the GJB2 gene in individuals with autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *Ann Hum Genet.* 2019;83(1):1-10.
9. Hajilari M, Sharifinya A, Khosravi T, Kianmehr A, Taziki MH, Khosravi A, et al. Frequency of c.35delG mutation in GJB2 gene in patients with autosomal recessive non-syndromic hearing loss of five ethnic groups in Golestan, Iran. *Int J Pediatr.* 2023;11(1):17286-98.
10. Dragomir C, Ionescu AI, Savu L, Severin E. Detection of the GJB2 gene mutations in two children with hearing impairment. *Rev Rom Med Lab.* 2015;23(4):495-9.
11. Koohiyan M. Genetics of hereditary hearing loss in the Middle East: A systematic review of the carrier frequency of the GJB2 mutation (35delG). *Audiol Neurotol.* 2019;24(4):161-5.
12. Roblejo Balbuena H. Manual de normas y procedimientos. Servicios de genética médica en Cuba. Havana: Editorial Ciencias Médicas; 2017. 168 p. Available from: [www.ecimed.sld.cu/2019/06/06/manual-de-normas-y-procedimientos-servicios-de-genetica-medica-en-cuba](http://www.ecimed.sld.cu/2019/06/06/manual-de-normas-y-procedimientos-servicios-de-genetica-medica-en-cuba)
13. Morales Peralta E, Arceo Alvarez M, Perdomo Chacón Y, Gómez Martínez M, Collazo Mesa T. Pathogenic variant c.35delG of the GJB2 gene associated with nonsyndromic prelingual deafness. *Salud Ciencia Tecnol.* 2024;4:766. Available from: <https://doi.org/10.56294/saludcyt2024766>
14. Arceo-Álvarez M, Morales-Peralta E, Perdomo-Chacón Y, Collazo-Mesa T. Deleciones GJB6-D13S1830 y GJB6-D13S1854 en pacientes con sordera prelingual no sindrómica. *Rev Finlay.* 2024;14(3):[aprox. 5 p.]. Available from: <https://revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/1426>
15. Zytsar MV, Barashkov NA, Bady-Khoo MS, Shubina-Olejniak OA, Danilenko NG, Bondar AA, et al. Updated carrier rates for c.35delG (GJB2) associated with hearing loss in Russia and common c.35delG haplotypes in Siberia. *BMC Med Genet.* 2018;19(1):138.
16. National Center for Biotechnology Information (NCBI). ClinVar: "GJB2" [GENE]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2023. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=%22GJB2%22\[GENE\]&redir=gen](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=%22GJB2%22[GENE]&redir=gen)
17. World Medical Association. Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human participants. *JAMA.* 2024. Available from: <https://doi.org/10.1001/jama.2024.21972>
18. Aboagye ET, Adadey SM, Wonkam-Tingang E, Amenga-Etego L, Awandare GA, Wonkam A. Global distribution of founder variants associated with non-syndromic hearing impairment. *Genes.* 2023;14(2). Available from: <https://doi.org/10.3390/genes14020399>
19. Elsayed O, Al-Shamsi A. Mutation spectrum of non-syndromic hearing loss in the UAE: A retrospective cohort study and literature review. *Mol Genet Genomic Med.* 2022;10(11):e2052.
20. Buonfiglio P, Bruque CD, Luce L, Giliberto F, Lotersztejn V, Menazzi S, et al. GJB2 and GJB6 genetic variant curation in an Argentinean non-syndromic hearing-impaired cohort. *Genes (Basel).* 2020;11(10).
21. ClinVar. "GJB2" [GENE]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=%22GJB2%22\[GENE\]&redir=gen](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=%22GJB2%22[GENE]&redir=gen)
22. Carranza C, Menendez I, Herrera M, Castellanos P, Amado C, Maldonado F, et al. A Mayan founder

mutation is a common cause of deafness in Guatemala. *Clin Genet*. 2016;89(4):461-5.

23. Yilmaz A. Bioinformatic analysis of GJB2 gene missense mutations. *Cell Biochem Biophys*. 2015;71(3):1623-42.

24. Xia H, Xu H, Deng X, Yuan L, Xiong W, Yang Z, et al. Compound heterozygous GJB2 mutations associated to a consanguineous Han family with autosomal recessive non-syndromic hearing loss. *Acta Otolaryngol*. 2016;136(8):782-5.

25. Moctar ECM, Riahi Z, El Hachmi H, Veten F, Meiloud G, Bonnet C, et al. Etiology and associated GJB2 mutations in Mauritanian children with non-syndromic hearing loss. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016;273(11):3693-8.

26. Maxwell KN, Hart SN, Vijai J, Schrader KA, Slavin TP, Thomas T, et al. Evaluation of ACMG-guideline-based variant classification of cancer susceptibility and non-cancer-associated genes in families affected by breast cancer. *Am J Hum Genet*. 2016;98(5):801-17.

27. Tabor HK, Auer PL, Jamal SM, Chong JX, Yu JH, Gordon AS, et al. Pathogenic variants for Mendelian and complex traits in exomes of 6,517 European and African Americans: implications for the return of incidental results. *Am J Hum Genet*. 2014;95(2):183-93.

28. Rayess HM, Weng C, Murray GS, Megerian CA, Semaan MT. Predictive factors and outcomes of cochlear implantation in patients with connexin 26 mutation: A comparative study. *Am J Otolaryngol*. 2015;36(1):7-12.

29. Bazazzadegan N, Nikzat N, Fattahi Z, Nishimura C, Meyer N, Sahraian S, et al. The spectrum of GJB2 mutations in the Iranian population with non-syndromic hearing loss—a twelve-year study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2012;76(8):1164-74.

30. de la Luz Arenas-Sordo M, Menendez I, Hernández-Zamora E, Sirmaci A, Gutiérrez-Tinajero D, McGetrick M, et al. Unique spectrum of GJB2 mutations in Mexico. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2012;76(11):1678-80.

31. Kecskeméti N, Szönyi M, Gáborján A, Küstel M, Milley GM, Süveges A, et al. Analysis of GJB2 mutations and the clinical manifestation in a large Hungarian cohort. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2018;275(10):2441-8.

32. Leclère JC, Le Gac MS, Le Maréchal C, Ferec C, Marianowski R. GJB2 mutations: Genotypic and phenotypic correlation in a cohort of 690 hearing-impaired patients, toward a new mutation? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2017;102:80-5.

33. Dalamón V, Wernert MF, Lotersztejn V, Craig PO, Diamante RR, Barteik ME, et al. Identification of four novel connexin 26 mutations in non-syndromic deaf patients: genotype-phenotype analysis in moderate cases. *Mol Biol Rep*. 2013;40(12):6945-55.

34. Denoyelle F, Weil D, Maw MA, Wilcox SA, Lench NJ, Allen-Powell DR, et al. Prelingual deafness: High prevalence of a 30delG mutation in the connexin 26 gene. *Hum Mol Genet*. 1997;6(12):2173-7.

35. Martínez-Saucedo M, Rivera-Vega MR, Gonzalez-Huerta LM, Urueta-Cuellar H, Toral-López J, Berruecos-Villalobos P, et al. Two novel compound heterozygous families with a trimutation in the GJB2 gene causing sensorineural hearing loss. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2015;79(12):2295-9.

36. Aboagye ET, Adadey SM, Esoh K, Jonas M, de Kock C, Amenga-Etego L, et al. Age estimate of GJB2-p.(Arg143Trp) founder variant in hearing impairment in Ghana, suggests multiple independent origins across populations. *Biology (Basel)*. 2022;11(3). Available from: <https://doi.org/10.3390/biology11030476>

37. Smith RJ, Azaiez H, Booth K. GJB2-related autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. En: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Amemiya A, editores. *GeneReviews®*. Seattle (WA): University of Washington; 1993.

38. Namba K, Mutai H, Matsunaga T, Kaneko H. Structural basis for pathogenic variants of GJB2 and hearing levels of patients with hearing loss. *BMC Res Notes*. 2024;17(1):131.

39. Menéndez I, del Castillo I, Carrillo B, Villamar M, Ponce de León M, Uriarte A, et al. Mutaciones del gen de la conexina 26 (GJB2) en familias cubanas con sorderas no sindrómicas autosómicas recesivas. Rev Cubana Invest Bioméd. 2001;20:167-72.

#### FINANCIACIÓN

Ninguna.

#### CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

#### CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

*Conceptualización:* Estela Morales Peralta, Katrin Beyer.

*Curación De Datos:* Estela Morales Peralta, Katrin Beyer.

*Análisis Formal:* Estela Morales Peralta, Katrin Beyer.

*Investigación:* Estela Morales Peralta, Katrin Beyer, Teresa Collazo Mesa, Mercedes Arceo Alvarez, Yuledmi Perdomo Chacón.

*Metodología:* Estela Morales Peralta, Katrin Beyer, Teresa Collazo Mesa.

*Administración Del Proyecto:* Estela Morales Peralta.

*Recursos:* Katrin Beyer.

*Software:* Katrin Beyer.

*Supervisión:* Estela Morales Peralta, Katrin Beyer.

*Validación:* Estela Morales Peralta, Katrin Beyer.

*Visualización:* Estela Morales Peralta, Katrin Beyer, Teresa Collazo Mesam.

*Redacción Del Borrador Original:* Estela Morales Peralta.

*Redacción Revisión Y Edición:* Estela Morales Peralta, Teresa Collazo Mesa, Katrin Beyer.