

Papel de la herencia en los acúfenos: es hora de buscar en el genoma

Role of inheritance in tinnitus: it is time to search the genome

Jose A. Lopez-Escamez^{1,2}, Christopher R. Cederroth³, Juan M. Espinosa-Sanchez^{1,2}

¹Grupo Otolología y Neurootología, Departamento de Medicina Genómica, Pfizer - Universidad de Granada - Junta de Andalucía Centro de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO), PTS, Avenida de la Ilustración 114, 18016 Granada, Spain

²Servicio de Otorrinolaringología, Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España

³Experimental Audiology, Department of Physiology and Pharmacology, Karolinska Institutet, Von Eulers väg 8, 171 77 Stockholm, Sweden

Resumen

Los acúfenos son un síntoma frecuente que puede estar causado por muy diversas enfermedades y que, independientemente de sus características psicoacústicas, tienen una repercusión muy variable en la calidad de vida de cada individuo afecto. Esta heterogeneidad clínica hace que hoy día se considere imprescindible una mejora en la definición del fenotipo y una categorización según distintos subtipos para que la investigación avance en esta área.

Los factores hereditarios pueden ser importantes en algunos tipos de acúfenos. Los estudios previos de agregación familiar y de concordancia entre gemelos monocigóticos que habían evaluado el papel de la herencia en los acúfenos no han podido encontrar una contribución significativa de los factores genéticos en la aparición de los acúfenos. Sin embargo, estos diseños han incluido un espectro clínico muy amplio de pacientes con acúfenos

Un estudio reciente realizado sobre una cohorte de gemelos suecos ha evidenciado que existe una heredabilidad significativa entre los pacientes con acúfenos bilaterales. Esto demuestra la heterogeneidad clínica y la necesidad de establecer una caracterización fenotípica de los pacientes con acúfenos para definir la contribución de los factores genéticos en subgrupos específicos de pacientes. De este modo se podría desarrollar un tratamiento personalizado y más efectivo.

Abstract

Tinnitus is a common symptom that may be caused by a variety of diseases. Its impact on the quality of life differs widely for each patient, regardless of their psychoacoustic characteristics. This clinical heterogeneity makes it essential a precise phenotyping and subtyping for tinnitus research nowadays.

Hereditary factors could be important in some tinnitus subtypes. Previous familial aggregation studies and concordance studies in monozygotic twins have assessed the role of inheritance in tinnitus, but they have not evidenced a significant influence of genetic factors to tinnitus. However, these studies have included a wide spectrum of tinnitus patients.

A recent Swedish twin study has shown a significant heritability in patients with bilateral tinnitus. This demonstrates the clinical heterogeneity and the need for a deep phenotyping to define the contribution of genetic factors to specific subtypes of tinnitus patients to develop a personalized and more effective treatment.

Palabras clave: acúfenos, herencia, genética, hipoacusia, fenotipado, heterogeneidad genética.

Keywords: : tinnitus, inheritance, genetics, hearing loss, phenotyping, genetic heterogeneity

INTRODUCCIÓN

Los acúfenos son la percepción de un sonido en ausencia de un estímulo sonoro externo. Afectan al 5-15% de la población adulta, aumentando su frecuencia al incrementarse la edad, y en

el 1% ocasionan un problema importante por su impacto en la calidad de vida relacionada con la salud (1).

La fisiopatología de los acúfenos es compleja y todavía no es bien comprendida. La hipótesis más aceptada considera los

acúfenos como la expresión perceptiva de una actividad neuronal anómala de la corteza auditiva desencadenada tras una desafección auditiva en la que concurre una plasticidad neural inadaptada (2, 3, 4). Así, se ha observado como en la presbiacusia, la ototoxicidad por salicilatos y el trauma sonoro, todos ellos causas bien conocidas de acúfenos, aparecen una serie de alteraciones en la dinámica de los neurotransmisores de la vía auditiva que conducen a un desequilibrio entre la actividad excitadora del glutamato y la inhibitoria del GABA con un resultado neto de sobreexcitación, la cual conduciría a una hiperactividad en la vía auditiva. Esta hipótesis se sustenta en la constatación de un aumento en la actividad neural espontánea en el núcleo coclear dorsal, el colículo inferior, el tálamo y la corteza auditiva, tanto primaria como secundaria. Del mismo modo, se ha observado un aumento de la actividad en ráfagas en el propio nervio auditivo, el núcleo coclear dorsal y el colículo inferior, así como de la sincronización neural en las fibras del nervio auditivo y en las neuronas del colículo inferior y de la corteza auditiva. Esta actividad sincrónica equivaldría a un patrón de coherencia temporal y precisamente ocurre en aquellas bandas de frecuencia correspondientes a la pérdida auditiva que hipotéticamente actúa como desencadenante de estas alteraciones. En modelos murinos de hipoacusia inducida por ruido, a nivel molecular esta hiperactividad estaría ocasionada por una disminución en la actividad del canal de potasio Kv7.2/3 en las células fusiformes del núcleo coclear dorsal, causada por un cambio de voltaje de Kv7 que aumenta su umbral de activación (5).

Por otro lado, también se ha apreciado como a estos cambios neurofisiológicos se asocian una serie de modificaciones en la plasticidad sináptica en la corteza auditiva, que conllevan una reorganización tonotópica cortical que se corresponde con una sobrerrepresentación de las frecuencias superiores adyacentes a aquellas afectadas por la falta de aferencias auditivas (6).

A todas estas alteraciones en la vía auditiva habría que sumar las derivadas de las proyecciones del núcleo dorsomedial del tálamo al núcleo lateral de la amígdala, que explicarían el papel esencial que desempeña el sistema límbico en la persistencia y cronificación de los acúfenos (7).

Aunque tradicionalmente los acúfenos se han considerado un síntoma otológico, es decir, del órgano receptor periférico, más bien son el resultado de alteraciones en diversas áreas del sistema nervioso central y no solo en la vía auditiva. Desde este punto de vista, los acúfenos se han asociado a diversas enfermedades, considerándose como resultado de factores medioambientales y con una escasa contribución genética. Así, existen múltiples factores que se asocian a la aparición de acúfenos, tales como la exposición al ruido, la hipoacusia neurosensorial de alta frecuencia, el estrés, los factores de riesgo vascular (hipertensión, diabetes, dislipemia), fármacos ototóxicos o alteraciones de la articulación temporomandibular, entre otros. Sin embargo, recientemente se ha empezado a revisar la contribución de los factores genéticos en la aparición de los acúfenos (8). Los escasos trabajos publicados apuntan hacia una probable herencia compleja, poligénica, con penetrancia incompleta, que determinaría una susceptibilidad o predisposición genética que interactuaría con factores ambientales muy diversos como los antes señalados.

GENÉTICA DE LOS ACÚFENOS

La primera conclusión que se puede extraer tras revisar los trabajos sobre genética de los acúfenos es que resulta imprescindible mejorar la caracterización clínica de los pacientes para definir mucho mejor el fenotipo. La razón es que existe una gran heterogeneidad clínica en los pacientes con acúfenos y parece muy necesario definir subtipos o endofenotipos antes de embarcarse en estudios multicéntricos a escala genómica (9). Efectivamente, los acúfenos pueden ser objetivos (somatónicos que pueden ser escuchados por un observador) o subjetivos, constantes o episódicos, unilaterales, bilaterales u holocraneales, pulsátiles o no, agudos, subagudos o crónicos, de inicio súbito o progresivo, similares a un ruido o un tono puro, de tonalidad grave, media o agu-

da, y de intensidad fija o variable, pudiendo asociarse a distintas comorbilidades y estar desencadenados por factores muy diversos.

Esta heterogeneidad fenotípica que se aprecia en los pacientes con acúfenos explicaría, al menos en parte, porque han fracasado los intentos por encontrar marcadores genéticos en los pacientes con acúfeno crónico (10-15). Precisamente, la dificultad para definir las características psicoacústicas de los acúfenos, intensidad y frecuencia principalmente, permite comprender por qué los estudios de agregación familiar no han demostrado ninguna heredabilidad (16), y que no se haya podido establecer diferencias en la prevalencia de los acúfenos de acuerdo al origen étnico de la población (17-19).

Los acúfenos presentan variaciones entre los individuos de una población y estas variaciones resultan de la interacción entre múltiples factores genéticos y medioambientales. La heredabilidad se puede definir como la fracción del fenotipo que puede ser explicada por factores genéticos, que interaccionan de forma aditiva para generar un rasgo clínico. Para estudiar el posible papel de la herencia en los acúfenos de han empleado diferentes estrategias. Los primeros estudios utilizaron cuestionarios en familias de pacientes con acúfenos encontrando una probabilidad de sufrir acúfenos multiplicada por 1.7 cuando otro hermano está afectado (16). Sin embargo, la heredabilidad descendió al 0.11 en otro trabajo que también empleaba cuestionarios en familias (20).

Los estudios de asociación entre casos y controles en genes candidatos se utilizan para buscar asociaciones entre las variantes en genes candidatos y enfermedades complejas. Este tipo de estudio sólo permite identificar variantes ligadas a un gen concreto y requieren estudios a escala genómica previa para proponer genes candidatos. Por otra parte, la selección de variantes puede presentar un sesgo de selección, por la asociación entre el marcador genético en estudio y la variante genética de riesgo verdadera (desequilibrio de ligamiento), resultando difícil determinar cuál es la variante que confiere el riesgo para la fenotipo (21).

Hasta ahora se han realizado 9 estudios de casos-control con 18 genes candidatos (10-13, 22-26). (Tabla 1). En la mayoría de estos trabajos no se ha encontrado significación estadística al comparar la frecuencia de los alelos estudiados entre los casos con acúfenos y los controles sanos. Tampoco se ha identificado nuevas variantes ni variantes que se correlacionen con la intensidad de los acúfenos.

Hoy día sabemos que muchas de las enfermedades con base genética no son debidas a una mutación en un gen concreto, sino que son poligénicas y están causadas por la combinación de muchas variantes en un gran número de genes.

La técnicas de secuenciación de nueva generación, en inglés NGS (*Next-Generation Sequencing*) y también conocida como *high-throughput sequencing*, han permitido pasar de los estudios de asociación de genes candidatos a los estudios de asociación de genoma completo o GWAS en inglés (*Genome-wide association study*) en los que se estudian miles de individuos para hallar variantes de un solo nucleótido, o SNV en inglés (*single-nucleotide variant*), esto es, variaciones en la secuencia de ADN que afectan a una sola base. Los GWAS se han convertido en el método de elección para identificar los genes implicados en enfermedades complejas. Estos estudios se realizan habitualmente en varias fases. En la primera, empleando herramientas bioinformáticas se seleccionan los SNVs a genotipar a partir de bloques de SNVs que estén en desequilibrio de ligamiento. Después se analiza estadísticamente la asociación para determinar SNVs en los que un alelo esté estadísticamente sobrerrepresentado en los casos respecto a los controles sanos. Finalmente, en las regiones en las que se detectó asociación hay que genotipar más SNVs en esa zona concreta para delimitar mejor el área implicada. Los resultados obtenidos deben ser confirmados en cohortes distintas con un número similar de casos y controles. A pesar de que los GWAS suponen una ventaja enorme en cuanto a coste y tiempo frente a los estudios de asociación basados en genes candidatos también tienen sus limitaciones, pues el efecto encontrado es muy pequeño y explica una parte muy pequeña de la heredabilidad.

Gen	Función del gen	Resultado	Referencia
Genes asociados con el sistema cardiovascular			
ACE	Enzima conversora de la angiotensina I	- Ninguna importancia	Yüce et al., 2016
ADD1	Adducina 1	- El genotipo heterocigoto p.G460W (p= 0.009) y el alelo W (p=0.021) son estadísticamente significativamente más altos en pacientes que en controles	Yüce et al., 2016
Factores neurotróficos			
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro	- Ninguna correlación entre acúfenos y los polimorfismos rs2049046 y rs6265	Sand et al., 2012b
GDNF	Factor neurotrófico derivado de célula glial	-Ninguna correlación entre acúfenos y los polimorfismos rs884344, rs3812047 y rs1110149 - La heterocigosidad era significativamente más baja (p= 0.02) para rs1110149 entre pacientes y controles - Ninguna correlación entre acúfenos y los polimorfismos rs1110149, rs884344 y rs3812047	Orenay-Boyacioglu et al., 2016 Sand et al., 2012b
Genes de la ruta de reciclaje del potasio			
KCNE1	Subunidad 1 reguladora de la subfamilia E del canal de potasio dependiente de voltaje	- Ninguna correlación entre la severidad de acúfenos y 46 variantes polimórficas -Se detecta la nueva variante V47I - Fue detectada significación en rs915539 (p= 0.005) en sujetos resistentes al ruido y al comparar pacientes con acúfenos vs. controles en grupos resistentes al ruido y susceptibles (p= 0.018)	Sand et al., 2010 Pawelczyk et al., 2012
KCNE3	Subunidad 3 reguladora de la subfamilia E del canal de potasio dependiente de voltaje	- Ninguna asociación entre acúfenos y 11 variantes	Sand et al., 2011
SLC12A2	Co-transportador Na/K/Cl	- Fue detectada significación en rs10089 (p= 0.016) en sujetos susceptibles al ruido y en la comparación de pacientes con acúfenos vs. controles en grupos resistentes al ruido y susceptibles (p= 0.026)	Pawelczyk et al., 2012
Subunidad receptor GABA_B			
KCTD12	Dominio de tetramerización 12 de canal de potasio	- rs34544607 estaba asociado con acúfenos (p= 0.04) pero se debilitó después de realizar screening en 50 casos más (p=0.07) - El gen no predecía la severidad del acúfeno	Sand et al., 2012a
Receptor/transportador de serotonina			
HTR1A	Receptor 1A de la 5-hidroxitriptamina	- Ninguna correlación entre acúfenos y el polimorfismo rs1800043	Kleinjung et al., 2006

Tabla 1. Resumen de estudios de genes candidatos para acúfenos. Modificado de Vona 2017 (ref. 8).

En este sentido, los estudios de asociación sólo detectan variantes genéticas comunes (frecuencia alélica superior a 5%), por lo que deben existir otras variantes más raras con mayor efecto sobre el fenotipo.

Recientemente, Gilles et al. (15) han realizado un primer estudio GWAS piloto utilizando una pequeña cohorte de 167 pacientes con acúfenos frente a 749 controles. Después del genotipado de 4×10^6 SNPs ninguno de ellos alcanzó significación, si bien se estimó que el porcentaje de variación explicado por todos los SNPs analizados era de un 3.2%. Esto puede ser debido al pequeño tamaño muestral. Sin embargo, se encontró significación en varias rutas metabólicas especialmente en las implicadas en la respuesta al estrés oxidativo, el estrés oxidativo del retículo endoplasmático y la señalización mediada por los receptores de serotonina. Esto es interesante pues se ha visto como el estrés oxidativo es mayor en pacientes con acúfenos y el estrés oxidativo del retículo endoplasmático se ha asociado con la hipoacusia a través de mecanismos de apoptosis. Igualmente, esto podría explicar el potencial efecto beneficioso de los antidepresivos en algunos pacientes con acúfenos.

Otro diseño de estudio en epidemiología genética para estudiar la heredabilidad es la comparación de cohortes de gemelos monocigóticos y dicigóticos para determinar la concordancia para el fenotipo. Bogo et al. (27) han calculado una heredabilidad media del 0.4 para los pacientes con acúfenos.

Un estudio utilizando el registro de gemelos suecos con una muestra mayor (N=70186) del Consorcio TINNET ha demostrado la importancia de la lateralidad en los pacientes con acúfenos (28). Así, el 15% de los gemelos presentaban acúfenos y, mientras los pacientes con acúfenos bilaterales presentan una susceptibilidad genética relevante en hombres ($H^2=0.68$), esto no ocurre en los pacientes con acúfeno unilateral. Aunque el estudio no aporta los umbrales auditivos y está basado en cuestionarios completados por los individuos (29, 30, 31), los resultados demuestran el efecto de seleccionar un subgrupo de individuos para disminuir la heterogeneidad clínica e identificar la heredabilidad. Así, al estratificar los pacientes por género y lateralidad, se reduce el espectro fenotípico y se acumulan variantes genéticas asociadas a la enfermedad. Estos valores de $H^2=0.68$ son próximos a los observados en el autismo o el trastorno por déficit de atención e hiperactividad, cuya contribución genética es bien conocida. A pesar de que se requieren nuevos estudios para determinar la contribución genética de la hipoacusia en estos valores de alta heredabilidad para los acúfenos bilaterales, estos hallazgos indican la existencia de formas específicas de acúfenos con una contribución genética significativa, por lo que los estudios genéticos futuros deberían realizarse en individuos con acúfenos bilaterales.

Aunque estos resultados deberían ser replicados en otras cohortes de gemelos, los estudios para buscar genes causales de acúfenos deberían comenzar en familias con múltiples casos, que presenta un espectro fenotípico aún más reducido. Los acúfenos familiares son un trastorno poco frecuente, pero la selección de familias con varios individuos afectados para la secuenciación del exoma parece el siguiente paso para identificar variantes raras con elevada penetrancia en estas familias. Esta estrategia ha demostrado ser exitosa en la identificación de los genes *DTNA*, *PRKCB*, *SEMA3D* y *DPT* en la enfermedad de Meniere autosómica dominante (32, 33, 34).

CONCLUSIONES

La identificación de la elevada heredabilidad en los acúfenos bilaterales es el punto de partida para los estudios genéticos en pacientes con acúfenos. Estos trabajos han de contribuir a satisfacer la gran necesidad de desarrollar tratamientos personalizados para estos pacientes (35, 36). Dichos estudios van a requerir decenas de miles de pacientes y los médicos especialistas en otorrinolaringología y los audiólogos deberían mejorar la recogida de datos clínicos para definir el fenotipo y comenzar a conservar muestras de ADN en biobancos (9). En este sentido, será necesaria la creación de un gran consorcio internacional para descifrar las bases genéticas de los acúfenos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Shargorodsky J, Curhan GC, Farwell WR. Prevalence and characteristics of tinnitus among US adults. *Am J Med.* 2010; 123: 711-8.
- Eggermont JJ, Roberts LE. The neuroscience of tinnitus: understanding abnormal and normal auditory perception. *Front Syst Neurosci.* 2012; 6:53. doi:10.3389/fnsys.2012.00053.
- Eggermont JJ, Tass PA. Maladaptive neural synchrony in tinnitus: origin and restoration. *Front. Neurol.* 2015; 6: 29. doi: 10.3389/fneur.2015.00029.
- Elgoyhen AB, Langguth B, De Ridder D, Vanneste S. Tinnitus: perspectives from human neuroimaging. *Nat Rev Neurosci.* 2015; 16: 632-42.
- Li S, Choi V, Tzounopoulos T. Pathogenic plasticity of Kv7.2/3 channel activity is essential for the induction of tinnitus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013; 110: 9980-5.
- Roberts LE, Eggermont JJ, Caspary DM, Shore SE, Melcher JR, Kaltenbach JA. Ringing ears: the neuroscience of tinnitus. *J Neurosci.* 2010; 30: 14972-9.
- Roberts LE, Husain FT, Eggermont JJ. Role of attention in the generation and modulation of tinnitus. *Neurosci Biobehav Rev.* 2013; 37: 1754-73.
- Vona B, Nanda I, Shehata-Dieler W and Haaf T. Genetics of Tinnitus: Still in its Infancy. *Front. Neurosci.* 2017; 11:236. doi: 10.3389/fnins.2017.00236
- Lopez-Escamez JA, Bibas T, Cima RF, Van de Heyning P, Knipper M, Mazurek B, Szczeppek AJ, Cederroth CR. Genetics of tinnitus: an emerging area for molecular diagnosis and drug development. *Front Neurosci.*; 10: 377. doi: 10.3389/fnins.2016.00377.
- Sand PG, Luettich A, Kleinjung T, Hajak G, Langguth B. An Examination of KCNE1 Mutations and Common Variants in Chronic Tinnitus. *Genes (Basel.)* 2010;1: 23-37.
- Sand PG, Langguth B, Kleinjung T. Deep resequencing of the voltage-gated potassium channel subunit KCNE3 gene in chronic tinnitus. *Behav Brain Funct.* 2011; 7: 39.
- Sand PG, Langguth B, Schecklmann M, Kleinjung T. GDNF and BDNF gene interplay in chronic tinnitus. *Int J Mol Epidemiol Genet.* 2012; 3: 245-51.
- Sand PG, Langguth B, Itzhacki J, Bauer A, Geis S, Cardenas-Conejo ZE, Pimentel V, Kleinjung T. . Resequencing of the auxiliary GABA(B) receptor subunit gene KCTD12 in chronic tinnitus. *Front Syst Neurosci.* 2012; 6, 41.
- Gallant E, Francey L, Fetting H, Kaur M, Hakonarson H, Clark D, Devoto M, Krantz, ID. Novel COCH mutation in a family with autosomal dominant late onset sensorineural hearing impairment and tinnitus. *Am J Otolaryngol.* 2013; 34; 230-5.
- Gilles A, Van Camp G, Van de Heyning P, Franssen E. A Pilot Genome-Wide Association Study Identifies Potential Metabolic Pathways Involved in Tinnitus. *Front Neurosci.* 2017 11:71.
- Hendrickx JJ, Huyghe JR, Demeester K, et al. Familial aggregation of tinnitus: a European multicentre study. *B-ENT* 2007; 3 Supl 7: 51-60.
- Khedr, EM, Ahmed MA, Shawky OA, Mohamed ES, El Attar GS, Mohammad KA. Epidemiological study of chronic tinnitus in Assiut, Egypt. *Neuroepidemiology* 2010; 35: 45-52.

18. Lasisi AO, Abiona T, Gureje O. Tinnitus in the elderly: Profile, correlates, and impact in the Nigerian Study of Ageing. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010; 143: 510-5.
19. Michikawa, T., Nishiwaki, Y., Kikuchi, Y., et al. Prevalence and factors associated with tinnitus: a community-based study of Japanese elders. *J Epidemiol* 2010; 20: 271-6.
20. Kvestad E, Czajkowski N, Engdahl B, Hoffman HJ, Tambs K. Low heritability of tinnitus: results from the second Nord-Trondelag health study. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010;136: 178-82.
21. Flores-Alfaro E, Burguete-García AI, Salazar-Martínez E. Diseños de investigación en epidemiología genética. *Rev Panam Salud Publica.* 2012; 31: 88-94
22. Kleinjung T, Langguth B, Fischer B, Hajak G, Eichhammer P, Sand P G. Systematic screening of the serotonin receptor 1A (5-HT1A) gene in chronic tinnitus. *J Otol.* 2006; 1: 83-5.
23. Deniz M, Bayazit YA, Celenk F, , et al. Significance of serotonin transporter gene polymorphism in tinnitus. *Otol Neurotol.* 2010; 31: 19-24.
24. Pawełczyk M, Rajkowska E, Kotyło P, Dudarewicz A, Van Camp G, Śliwińska-Kowalska M. Analysis of inner ear potassium recycling genes as potential factors associated with tinnitus. *Int J Occup Med Environ Health* 2012; 25: 356-64.
25. Orenay-Boyacioglu S, Coskunoglu A, Caki Z, Cam FS. Relationship between chronic tinnitus and glial cell line-derived neurotrophic factor gene rs3812047, rs1110149, and rs884344 polymorphisms in a Turkish Population. *Biochem Genet.* 2016; 54: 552-63.
26. Yüce S, Sancakdar E, Bağcı G et al. Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) I/D and Alpha-Adducin (ADD1) G460W gene polymorphisms in Turkish Patients with severe chronic tinnitus. *J Int Adv Otol.* 2016; 12: 77-81.
27. Bogo R, Farah A, Karlsson KK, Pedersen NL, Svartengren M., Skjongsberg A. Prevalence, Incidence Proportion, and Heritability for Tinnitus: A Longitudinal Twin Study. *Ear Hear.* 2017; 38: 292-300.
28. Maas I, Brüggemann P, Requena T, et al. Genetic susceptibility to bilateral tinnitus in a Swedish twin cohort. *Genet Med.* 2017 (in press).
29. Lichtenstein P, De Faire U, Floderus B, Svartengren M, Svedberg P, Pedersen NL. The Swedish Twin Registry: a unique resource for clinical, epidemiological and genetic studies. *J Intern Med* 2002; 252: 184-205.
30. Pedersen NL, Lichtenstein P, Svedberg P. The Swedish Twin Registry in the third millennium. *Twin Res.* 2002; 5, 427-32.
31. van Dongen J, Slagboom PE, Draisma HH, Martin NG, Boomsma DI. The continuing value of twin studies in the omics era. *Nat Rev Genet.* 2012;13, 640-53.
32. Requena T, Cabrera S, Martín-Sierra C, Price SD, Lysakowski A, Lopez-Escamez JA. Identification of two novel mutations in FAM136A and DTNA genes in autosomal-dominant familial Meniere's disease. *Hum Mol Genet.* 2015; 24: 1119-26.
33. Martín-Sierra C, Requena T, Frejo L, et al. A novel missense variant in PRKCB segregates low-frequency hearing loss in an autosomal dominant family with Meniere's disease. *Hum Mol Genet.* 2016; 25: 3407-15.
34. Martín-Sierra C, Gallego-Martinez A, Requena T, Frejo L, Batuecas-Caletrio A, Lopez-Escamez JA. Variable expressivity and genetic heterogeneity involving DPT and SEMA3D genes in autosomal dominant familial Meniere's disease. *Eur J Hum Genet.* 2017; 25: 200-7
35. Cederroth CR, Canlo B, Langguth B. Hearing loss and tinnitus--are funders and industry listening? *Nat Biotechnol.* 2013; 31: 972-4.
36. Espinosa-Sanchez JM, Heitzmann-Hernandez T, Lopez-Escamez JA. Tratamiento farmacológico de los acúfenos: mucho ruido y pocas nueces. *Rev Neurol.* 2014; 59: 164-74.