
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

Facultad de Ciencias de la Salud

Departamento de Morfología

Programa de Doctorado: "Biomedicina aplicada a la práctica clínica"



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

TESIS DOCTORAL

"Incidencia de la sordera genética en
Fuerteventura en la población de 3 a 6 años.
Tratamiento y seguimiento".

Tesis presentada por:

Alina María García de Hombre

Tesis dirigida por los Drs.:

D. Ángel Ramos Macías, D. Alfredo Santana Rodríguez,
D. Pedro Saavedra Santana y D. Juan José Cabrera Galván

Las Palmas de Gran Canaria, 2013

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

Facultad de Ciencias de la Salud

Departamento de Morfología

Programa de Doctorado: "Biomedicina aplicada a la práctica clínica"



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

TESIS DOCTORAL

" Incidencia de la sordera genética en
Fuerteventura en la población de 3 a 6 años.
Tratamiento y seguimiento."

Tesis presentada para optar al grado de Doctora por:

Alina María García de Hombre

Tesis dirigida por los Drs.:

D. Ángel Ramos Macías, D. Alfredo Santana Rodríguez,
D. Pedro Saavedra Santana y D. Juan José Cabrera Galván

Las Palmas de Gran Canaria, 2013





UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Morfología

D. PEDRO HERRÁEZ THOMAS, SECRETARIO DEL DEPARTAMENTO DE MORFOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA,

CERTIFICA,

Que el Consejo de Doctores del Departamento en su sesión de fecha dieciocho de enero de dos mil trece tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación, a la Tesis Doctoral titulada **“Incidencia de la sordera genética en Fuerteventura en la población de 3 a 6 años. Tratamiento y seguimiento”** presentada por la doctoranda Dña. Alina María García de Hombre y dirigida por los Doctores D. Ángel Ramos Macías, D. Alfredo Santana Rodríguez, D. Pedro Saavedra Santana y D. Juan José Cabrera Galván.

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Artículo 73.2 del Reglamento de Estudios de Doctorado de esta Universidad, firmo la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a dieciocho de enero de dos mil trece.



Fdo: D. Pedro Herráez Thomas,
Secretario del Departamento de Morfología,
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

Departamento: MORFOLOGÍA

Programa de Doctorado: Biomedicina Aplicada a la Práctica Clínica

Título de la Tesis

“INCIDENCIA DE LA SORDERA GENÉTICA EN FUERTEVENTURA
EN LA POBLACIÓN DE 3 A 6 AÑOS. TRATAMIENTO Y SEGUIMIENTO”

Tesis Doctoral presentada por D^a. Alina María García de Hombre

Dirigida por el Dr. D. Ángel Ramos Macías, Dr. D. Alfredo Santana Rodríguez,
Dr. D. Pedro Saavedra Santana y el Dr. D. Juan José Cabrera Galván

El/la Director/a

El/la Director/a

El/la Director/a

El/la Director/a

(firma)

(firma)

(firma)

(firma)

El/la Doctorando/a,

(firma)

Las Palmas de Gran Canaria, a 31 de enero de 2013.

Dr. Don Ángel Ramos Macías, Profesor Titular Área Medicina – Otorrinolaringología y Jefe del Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Insular de Las Palmas de Gran Canaria.

Por medio de la presente certifica:

Que el presente trabajo de la licenciada doña Alina María García de Hombre, presentado para optar al Grado de Doctora en Medicina y Cirugía, bajo el título **“INCIDENCIA DE LA SORDERA GENÉTICA EN FUERTEVENTURA EN LA POBLACIÓN DE 3 A 6 AÑOS. TRATAMIENTO Y SEGUIMIENTO”**, desarrollado en los Servicios de Otorrinolaringología del Hospital de Fuerteventura y del Complejo Universitario Materno Infantil así como en la Unidad de Genética Médica del Hospital Materno Infantil de Las Palmas de Gran Canaria, ha sido realizado bajo nuestra dirección, y consideramos que reúne las condiciones necesarias para su defensa ante el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, donde proceda, expido y firmo el presente, en Las Palmas de Gran Canaria, a 31 de enero de 2013.

Dr. Don Alfredo Santana Rodríguez, Facultativo adscrito a la Unidad de Genética Médica (Hospital Materno Infantil de Las Palmas de Gran Canaria) e Investigador científico asociado a la Unidad de Investigación (Grupo de Medicina Regenerativa-Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín), al Centro de Investigaciones Biomédicas en Red en Enfermedades Raras (CIBER-ER, U740) y al Centro de Medicina Regenerativa CABIMER-CSIC_Sevilla.

Por medio de la presente certifica:

Que el presente trabajo de la licenciada doña Alina María García de Hombre, presentado para optar al Grado de Doctora en Medicina y Cirugía, bajo el título **“INCIDENCIA DE LA SORDERA GENÉTICA EN FUERTEVENTURA EN LA POBLACIÓN DE 3 A 6 AÑOS. TRATAMIENTO Y SEGUIMIENTO”**, desarrollado en los Servicios de Otorrinolaringología del Hospital de Fuerteventura y del Complejo Universitario Materno Infantil así como en la Unidad de Genética Médica del Hospital Materno Infantil de Las Palmas de Gran Canaria, ha sido realizado bajo nuestra dirección, y consideramos que reúne las condiciones necesarias para su defensa ante el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, donde proceda, expido y firmo el presente, en Las Palmas de Gran Canaria, a 31 de enero de 2013.

Don. Pedro Saavedra Santana, Doctor en Ciencias Matemáticas, Catedrático de Estadística e Investigación Operativa de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Por medio de la presente certifica:

Que el presente trabajo de la licenciada doña Alina María García de Hombre, presentado para optar al Grado de Doctora en Medicina y Cirugía, bajo el título **“INCIDENCIA DE LA SORDERA GENÉTICA EN FUERTEVENTURA EN LA POBLACIÓN DE 3 A 6 AÑOS. TRATAMIENTO Y SEGUIMIENTO”**, desarrollado en los Servicios de Otorrinolaringología del Hospital de Fuerteventura y del Complejo Universitario Materno Infantil así como en la Unidad de Genética Médica del Hospital Materno Infantil de Las Palmas de Gran Canaria, ha sido realizado bajo nuestra dirección, y consideramos que reúne las condiciones necesarias para su defensa ante el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, donde proceda, expido y firmo el presente, en Las Palmas de Gran Canaria, a 31 de enero de 2013.

Dr. D. Juan José Cabrera Galván, Catedrático de la Facultad de Medicina de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Facultativo del Departamento de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Materno Infantil de Las Palmas de Gran Canaria.

Por medio de la presente certifica:

Que el presente trabajo de la licenciada doña Alina María García de Hombre, presentado para optar al Grado de Doctora en Medicina y Cirugía, bajo el título **“INCIDENCIA DE LA SORDERA GENÉTICA EN FUERTEVENTURA EN LA POBLACIÓN DE 3 A 6 AÑOS. TRATAMIENTO Y SEGUIMIENTO”**, desarrollado en los Servicios de Otorrinolaringología del Hospital de Fuerteventura y del Complejo Universitario Materno Infantil así como en la Unidad de Genética Médica del Hospital Materno Infantil de Las Palmas de Gran Canaria, ha sido realizado bajo nuestra dirección, y consideramos que reúne las condiciones necesarias para su defensa ante el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, donde proceda, expido y firmo el presente, en Las Palmas de Gran Canaria, a 31 de enero de 2013.



A Domingo, mi esposo, por la comprensión, estímulo y cariño que me ha dado.

A Javier, mi hijo, que me perdone el tiempo que le he dejado de dedicar.

A mis padres por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

A mis hermanos, por estar conmigo y apoyarme siempre. Los quiero mucho.

De un modo especial a mi abuela, en el recuerdo.

“Haber nacido sordo sitúa a la persona en una posición peculiar respecto a los demás, limitándola a una gama de posibilidades lingüísticas y, en consecuencia, intelectuales y culturales, que en un mundo oralista, a duras penas son capaces de soportar”.

Por Oliver Sacks en: *Seeing voices. A journey into the world of the deaf.*

“*Veo una voz: un viaje al mundo de los sordos*” libro del neurólogo Oliver Sacks, comienza con la historia de las personas sordas en los Estados Unidos, y narra no sólo la forma, a menudo indignante, en que se han visto tratados en el pasado, sino su constante lucha por la aceptación en un mundo oyente. Asimismo nos muestra lo sorprendente y hermoso del lenguaje visual de los sordos.

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas que, de un modo u otro, me han ayudado en este trabajo. No quiero dejar de manifestarles a todos ellos mi más sincero agradecimiento.

Al Dr. Ángel Ramos Macías, Profesor Titular Área Medicina – Otorrinolaringología y Jefe del Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Insular de Las Palmas de Gran Canaria, director de este trabajo que me ha orientado, apoyado y corregido en mi labor científica, estando dispuesto a brindarme su ayuda en todo momento.

Al Dr. Alfredo Santana Rodríguez, Facultativo de la Unidad de Genética Médica, Hospital Materno Infantil de Las Palmas de Gran Canaria e Investigador científico asociado al Centro de Medicina Regenerativa (CABIMER-CSIC) segundo director de este trabajo por su amabilidad, profesionalidad, optimismo y entrega que han colmado las expectativas que deposité en su persona.

A D. Pedro Saavedra Santana, Doctor en Ciencias Matemáticas, Catedrático de Estadística e Investigación Operativa de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, que gracias a sus ilustres charlas y encuentros personales, nos hizo razonar y aplicar con acierto, las herramientas estadísticas que previamente nos había enseñado. Te agradezco el haber aprendido de ti el razonamiento matemático de los hechos cotidianos. Su ayuda desinteresada y paciencia ha sido vital para todos nosotros. Muchas gracias.

Al profesor Juan José Cabrera Galván, Catedrático de la Facultad de Medicina de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, cuya rica experiencia y dedicación en el campo de la docencia y la investigación, así como su constancia y entusiasmo, hicieron posible que los profesionales de la isla de Fuerteventura tuviésemos la posibilidad de recibir los cursos de doctorado de la mano de magníficos profesores, al tiempo que nos animó a que realizar el trabajo de suficiencia investigadora.

No puedo dejar de agradecer la disposición de mis pacientes y sus familiares, en especial los padres, pues todos son los verdaderos protagonistas de este trabajo.

A mi compañero otorrinolaringólogo del Hospital General de Fuerteventura que me ha apoyado y ayudado en este estudio.

Quiero darle las gracias a doña Cecilia Moreno Fonoaudióloga de GAES, por su ayuda en la interpretación de los estudios y en el apoyo técnico audiológico.

Mi reconocimiento, asimismo, al personal de enfermería de Consulta Externa de Otorrinolaringología del Hospital General de Fuerteventura, especialmente a doña Hortensia Mesa Cabrera, enfermera de nuestra consulta, que realizó los estudios audiológicos y colaboró sin descanso en la localización de los pacientes afectos. Sin su ayuda hubiese resultado difícil culminar este estudio. A doña Olga Machín Perdomo, auxiliar de enfermería, mil gracias por su colaboración en el control de las historias clínicas y en la organización de la consulta.

Mi profundo agradecimiento a todo el personal de la Unidad de Hipoacusia del Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Insular de Las Palmas de Gran Canaria en especial a D. Juan Carlos Falcón González, doña Ofelia Roque Rodríguez (Uche) y Margarita Torres García que gracias a su inagotable paciencia, profesionalidad y eterna sonrisa hicieron posible que estos niños fueran estudiados, diagnosticados y felizmente tratados.

A la enfermera doña María Teresa Ruiz de Gauna Zuzuarregui (Maite) del Hospital Materno Infantil en Las Palmas de Gran Canaria por su colaboración.

A D. Aníbal Montelongo Betancor, informático del Hospital General de Fuerteventura, y a doña Alicia González Afonso, del Departamento de Gestión, por su apoyo técnico.



Índice General

ÍNDICE GENERAL

I.- INTRODUCCIÓN	1
1.1 Concepto de hipoacusia	2
1.2 Anatomía y fisiología de la audición	2
1.3 Clasificación de la hipoacusia	7
1.3.1 Según la edad de aparición	7
1.3.2 Según el momento de adquisición	7
1.3.3 Por la localización de la lesión (topografía)	7
1.3.4 Según la intensidad de la hipoacusia	7
1.3.5 Según factor etiológico	8
1.3.6 Por la etiopatogenia de la lesión	8
1.3.7 Por su forma de presentación	8
1.3.8 Según el curso evolutivo	8
1.4 Epidemiología actual de la hipoacusia	8
1.5 Historia de la genética y la hipoacusia	11
1.5.1 Conceptos generales de genética a considerar: ADN, replicación, cromosoma, gen, dominancia vs recesividad, codominancia, penetrancia, expresividad, locus y loci, alelos, pleitrofismo, homocigótico, heterocigótico, fenotipo, genotipo, polimorfismo, homoplasmia y heteroplasmia	13
1.5.2 Sordera genética	14
1.6. Categoría de las enfermedades genéticas	15
1.6.1 Enfermedades monogénicas o mendelianas	15
1.6. 2 Defectos cromosómicos	15
1.6. 3 Enfermedades multifactoriales o poligénicas	15
1.6.4 Enfermedades mitocondriales	15
1.6.5 Afecciones debido a imprinting genético	15
1.6.6 Afecciones por disomías uniparentales	15
1.6.7 Afecciones por defectos genéticos de células somáticas	15
1.7 Patrones básicos de transmisión de la herencia	15
1.7.1 Autosómico recesivo	15
1.7.2 Autosómico dominante	16
1.7. 3 Ligado al sexo (recesivo y dominante)	16
1.7.4 Herencia mitocondrial (materna)	16
1.8 El genoma humano	17

1.9 Sospecha de sordera genética no sindrómica por mutaciones en el gen de la Cx26 y en el ADN mitocondrial	17
1.9.1 Manifestaciones clínicas de la hipoacusia por déficit de conexina 26 (Cx 26)	17
1.9.2 Manifestaciones clínicas de la hipoacusia por mutación del ADN mitocondrial	18
1.10 Diagnóstico de la hipoacusia por déficit de Conexina 26 y mutación del ADN mitocondrial	19
1.11 Posibilidades de tratamiento	19
1.12 Consejo genético	19
1.13 Fisiopatogenia de la sordera genética	20
1.13.1 Patogenia de la sordera por alteración en el gen que codifica la conexina 26. Comprensión de los desórdenes que ocurren en el gen GJB2	24
1.13.1.1 Conexinas	24
1.13.1.2 Uniones Gap	25
1.13.1.3 Estructura y función de las uniones gap	26
1.13.1.4 Mutaciones en el GJB2	26
1.13.2 Patogenia de la sordera por mutación del ADN mitocondrial	27
1.14 Estado actualidad del conocimiento en la hipoacusia neurosensorial no sindrómica autosómica recesiva	28
1.15 Punto de partida de nuestro estudio	31
II. HIPÓTESIS DE TRABAJO. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS	37
2 Justificación del presente estudio	38
2. 1 Objetivos	38
III. MATERIAL Y MÉTODOS	41
A- MATERIAL	42
3. Ámbito de estudio	42
3.1 Características de la población	42
3.2 Población objeto de los servicios	42
3.3 Atención primaria	43
3.4 Atención especializada	44
3.5 Sujetos de estudio	44
3.6 Criterios de selección	45
3.6.1 Criterios de inclusión	45

3.6.2	Criterios de exclusión	45
3.6.3	Criterios de hipoacusia neurosensorial	45
3.6.4	Factores de riesgo relacionados con hipoacusia	45
3.7	Localización y nivel de atención sanitaria en que se realiza el estudio	45
B-	MÉTODOS	46
4.	Metodología de estudio	46
I-	Información a los padres o tutores de los pacientes	46
II-	Autorización para colaborar en una investigación	46
III-	Confidencialidad de datos y aspectos éticos	46
IV-	Confección de la historia clínica otorrinolaringológica	39
V-	Exploración audiológica adecuada a la edad del niño	47
<u>V-A</u>	<u>Estudios audiológicos realizados</u>	47
1	Otoemisiones evocadas transitorias (OEA)	47
2	Impedanciometría	47
3	Audiometría tonal liminar conductual en campo libre	47
a-	Audiometría tonal liminar conductual de juego	
b-	Audiometría tonal liminar conductual con auriculares	
4.	Audiometría vocal (logoaudiometría)	47
5.	Potenciales evocados auditivos de tronco cerebral (PEATC)	47
<u>V-B</u>	<u>Descripción de los estudios audiológicos</u>	47
<u>V-C</u>	<u>Interpretación de los resultados audiológicos</u>	50
VI-	Estudios de imagen	52
7	Tomografía Axial Computarizada (TAC)	52
8	Resonancia Magnética Nuclear (RMN)	52
VII-	Metodología de estudio de las posibles mutaciones. Protocolo clínico genético	53
VII-A	Extracción de ADN	53
VII-B	Análisis genético de la mutación 35delG en el gen de la conexina 26	53
VII-C	Análisis genético de la mutación R143W	53
VII-D	Análisis genético de la mutación A1555G en el genoma mitocondrial	54
VIII-	Evaluación del tratamiento seleccionado	54
C-	BÚSQUEDA DE LA EVIDENCIA CIENTÍFICA	55
D-	ESTUDIO ESTADÍSTICO	55
5.	Diseño del estudio	55
5.1	Estudio estadístico	55

E- COMITÉ DE ÉTICA Y DECLARACIÓN DE INTERESES	56
IV. RESULTADOS	59
V. DISCUSIÓN	71
1- Discusión sobre el diseño, contexto y metodología del estudio	72
2- Discusión sobre resultados descriptivos	73
VI. CONCLUSIONES	87
FUTURO	88
RECOMENDACIONES	88
VII. BIBLIOGRAFÍA	91
APÉNDICES	107
1- Modelo de consentimiento informado	
2- Formulario de recolección de datos	

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Nº	Descripción
A	Adenina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
C	Citosina
CCI	Célula ciliada interna.
CMV	Citomegalovirus
CODEPEH	Comisión para la detección precoz de la hipoacusia
Cx26	Conexina 26
dB	Decibelio
db HL	Hearing level (nivel de audición)
dB SPL	Sound pressure level (nivel de presión sonora)
DFNA	Transmisión autosómica dominante
DFNB	Transmisión autosómica recesiva
DFN	Transmisión ligada al cromosoma X
FDA	Food and Drug Administration
FUNCIS	Fundación Canaria de Investigación y Salud
G	Guanina
Gendearf	Red Europea de Sordera Genética
GENESCOPE	Centro Nacional de Decodificación Genética de Francia
GJB2	Gen gap junction beta-2
HNS	Hipoacusia neurosensorial
Hz	Hercios
JCJH	Joint Committee on Infant Hearing
mt DNA	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
PEATC	Potenciales evocados auditivos de tallo cerebral
rRNA	Gen ARN ribosómico
SPL	Nivel de presión sonora
T	Tiamina
TORCHS	Toxoplasmosis, rubeola, citomegalovirus, herpes virus, sífilis
UG	Uniones gap
UCIP	Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos



Introducción

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Concepto de Hipoacusia.

La comunidad científica considera que existe hipoacusia cuando el umbral de percepción sonora de un individuo supera los 20 dB por encima del promedio de una población control de adultos y jóvenes sanos. Según otros autores es la pérdida de la función auditiva mayor de 27 dB promedio en las frecuencias de 500-1000-2000 Hz (1, 2).

1.2 Anatomía y Fisiología de la audición.

A efectos anatómicos y didácticos el oído se divide clásicamente en externo, medio e interno. Esta compartimentación anatómica tiene una base embriológica y filogenética. El oído externo está formado por el pabellón auricular y el conducto auditivo externo. El pabellón consta de una armazón fibrocartilaginosa sujeta por ligamentos. El conducto auditivo externo es una estructura tubular cartilaginosa en su tercio externo y óseo en sus dos tercios internos.

El oído medio tiene tres porciones: la caja timpánica, el sistema neumático temporal y la trompa de Eustaquio.

La caja timpánica delimitada por seis paredes, alberga una cadena de huesecillos anclados a sus paredes por distintos ligamentos y músculos. Se relaciona con la espira basal de la cóclea, el nervio facial, la fosa craneal media, el golfo de la yugular, las celdas mastoideas. Externamente lo hace con la membrana timpánica, mientras que en la parte anterior comunica con la trompa de Eustaquio. El sistema neumático del temporal está formado por una serie de celdas de distintos tamaños intercomunicadas; la mayor es el antro mastoideo. La trompa de Eustaquio es un conducto osteo-condro-membranoso que permite el paso del aire desde la rinofaringe hacia el oído medio, equilibrándose así el gradiente de presiones entre el interior y el exterior del oído medio.

El oído interno se divide morfológicamente en laberinto óseo y laberinto membranoso. El laberinto óseo es la cápsula ósea que rodea al laberinto membranoso, y éste último consiste en un sistema hueco que contiene a la endolinfa. Entre el laberinto óseo y el membranoso se encuentra la perilinfa, que es en parte un filtrado de la sangre y en parte difusión de líquido cefalorraquídeo. La endolinfa se produce en la estría vascular. El sistema perilinfático desemboca en el espacio subaracnoideo a través del acueducto coclear, mientras que el sistema endolinfático viaja a lo largo del ducto endolinfático y termina en el espacio epidural en un saco ciego llamado saco endolinfático. Dentro del oído interno se reconocen sistemas distintos, el laberinto posterior encargado del equilibrio y el laberinto anterior o cóclea encargado de la parte auditiva.

El caracol o cóclea contiene en su interior al Órgano de Corti, que es un mecanorreceptor. Está formado por células ciliadas que descansan sobre la membrana basilar. Los cilios de estas células se encuentran en contacto con la membrana tectoria. Cuando se produce un estímulo el estribo ejerce presión sobre la ventana oval, lo que genera una onda en la perilinfa que viaja a lo largo de la cóclea desplazando la membrana basilar. Esto produce flexión de los cilios en contacto con la membrana tectoria, acción que se traduce en cambios de potencial celular que generan estímulos nerviosos a través de las células bipolares del nervio coclear.

La fisiología auditiva incluye la fisiología del oído externo, medio e interno, así como la del sistema nervioso auditivo. El oído traduce la señal acústica en una señal organizada de actividad neuronal que permite el tratamiento central y la percepción

auditiva.

El oído extrae la información del tiempo, de la frecuencia y de la intensidad del estímulo sonoro. Todas las conexiones centrales, ya sean ascendentes o descendentes, permiten multiplicar las oportunidades de convergencia y divergencia de la información sonora hasta la corteza cerebral, efectuar un tratamiento de la señal en paralelo y/o en serie, y modular la actividad de los centros subyacentes mediante retrocontrol.

El oído externo participa en la localización de la fuente sonora y protege el oído medio modificando la amplitud y fase con que actúa la fuente sonora.

El oído medio ejerce una doble función de transmisión del sonido y de protección. Es el transformador de las vibraciones sonoras que llegan a la membrana timpánica en variaciones de presión que tienen lugar en los compartimentos líquidos del oído interno. Adapta la impedancia del oído externo (aéreo) y el interno (líquido) por tanto protege al oído interno. Todo ello lo realiza a través de los desplazamientos de la membrana timpánica y de la cadena osicular contando con la participación de la musculatura de la cadena de huesillos (2, 3, 4).

La fisiología del oído interno y del nervio auditivo ha sufrido una revolución desde hace unos quince años. La cóclea es el sitio donde la energía mecánica de las ondas sonoras es convertida en potenciales de acción para el nervio coclear, iniciándose así la transmisión de la información auditiva tanto hacia los centros del tronco cerebral como hacia los centros superiores de la corteza cerebral, proceso necesario para la comprensión e interpretación de los sonidos. La cóclea está localizada en la porción petrosa del hueso temporal, la dividen tres compartimentos llamados escalas o rampas: la escala vestibular, la escala media y la escala timpánica. (Fig. 1).

Entre las diferentes rampas se encuentran los líquidos laberínticos con funciones complejas entre ellas:

- Permiten la transmisión de la presión sonora que recibe la membrana oval a las células sensoriales.
- Establecen un ambiente iónico favorable rico en potasio.
- Generan entre ellos un potencial estático (potencial endococlear) que participa en los intercambios iónicos durante la actividad sonora.
- Sirven de transporte de nutrientes y gases desde la sangre a los distintos tipos celulares de la cóclea.

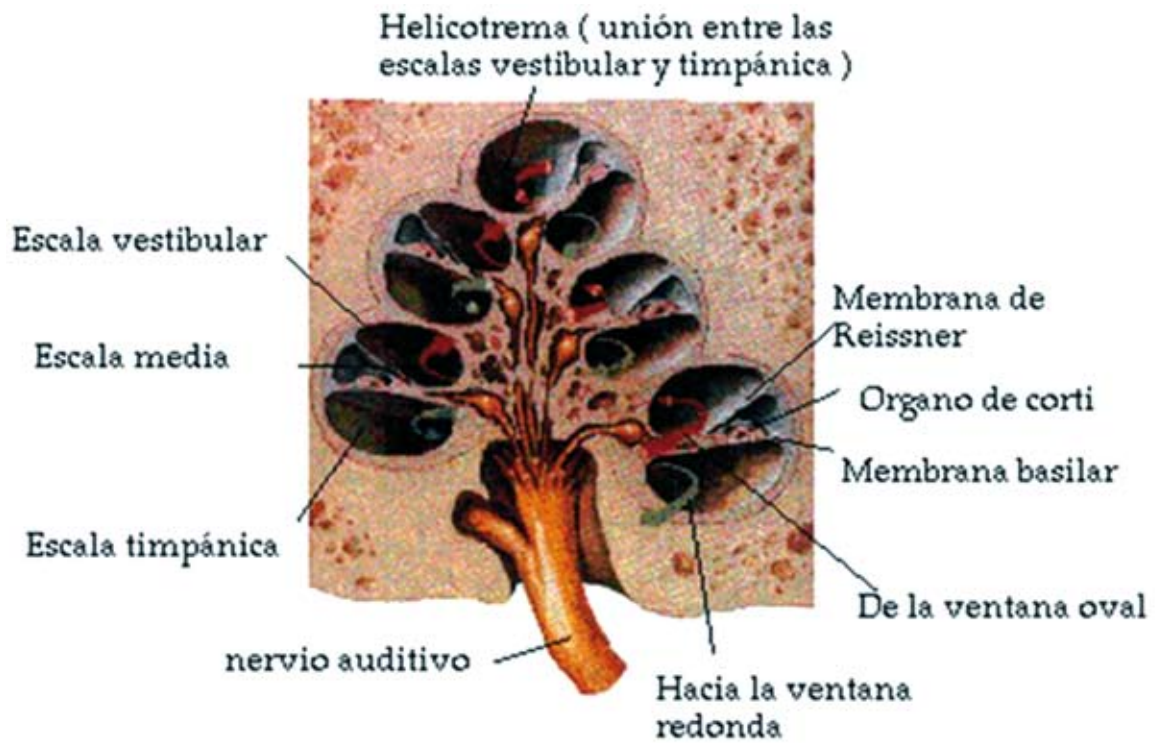


Figura 1: Cóclea (3).

La escala media contiene endolinfa con alta concentración de potasio y baja concentración de sodio; esta discrepancia en la composición electrolítica de los líquidos del oído interno genera una diferencia de potencial eléctrico entre el interior y el exterior de la célula, que ejerce un papel central en el proceso de transducción de la información que se lleva a cabo en la cóclea.

El receptor auditivo (órgano de Corti) está situado sobre la membrana basilar y tiene dos células principales: las células ciliadas internas (unas 13.000 en cada cóclea) y las externas (3.500 en cada cóclea). También posee células de soporte (células de los pilares o arcos de Corti, células de Deiters y otras de menor relevancia funcional o estructural).

Existe selectividad coclear de frecuencias. Al vibrar la membrana basilar ante el sonido desde su base al vértice, cuanto más próximo al vértice más grave es la frecuencia de estimulación.

El extremo de los estereocilios de las células ciliadas externas están embebidos en la membrana tectoria; dichos cilios tienen un esqueleto de actina y formas no convencionales de miosina que están fijadas a una lámina cuticular rica en actina que a su vez sujeta el estereocilio al citoesqueleto celular. Los estereocilios son transductores mecano-eléctricos altamente polarizados. Están anclados unos a otros cerca de su ápice de tal forma que se mueven en conjunto.

El órgano de Corti recibe una inervación doble, a la vez aferente y eferente. Las células ciliadas internas (CCI) son los receptores primarios y reciben la mayoría de las fibras aferentes del nervio coclear. Utilizan como neurotransmisor el glutamato.

Las células ciliadas externas (CCE), reciben la mayor parte de la información eferente del mismo nervio y tienen por función

promover la discriminación de frecuencia y amplificación de la señal, modulando el funcionamiento del receptor primario. (Fig. 2). El sistema eferente emplea varios neurotransmisores, como la acetilcolina, ácido gamma-aminobutírico (GABA), y la dopamina.

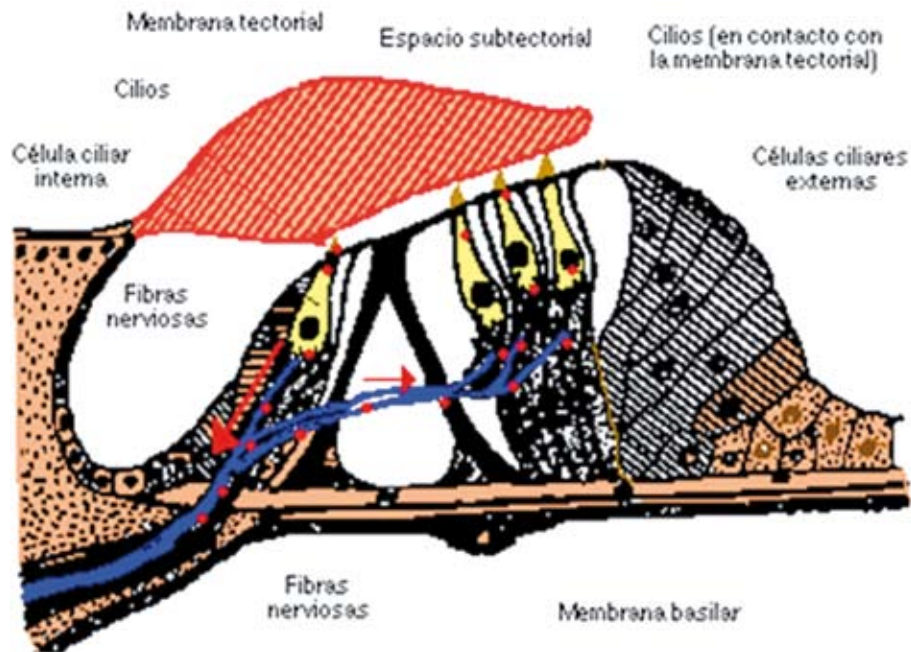


Figura 2: Células de la cóclea (4).

Los movimientos de la membrana timpánica, en respuesta a las ondas sonoras, son transmitidos y amplificados por la cadena osicular y retransmitidos como ondas de compresión hacia la escala vestibular de la cóclea. Estas ondas mueven la membrana basilar causando la deflexión de los estereocilios contra la membrana tectoria. La deflexión de los estereocilios conduce a la apertura de canales iónicos que permiten la entrada de potasio al interior de la célula ciliada despolarizándola. La despolarización celular genera la activación de canales de calcio que implican la movilización de las vesículas sinápticas y posterior liberación del neurotransmisor en el espacio sináptico; se inicia, de esta forma, la activación del nervio coclear.

Las moléculas de miosina no convencional representan un papel importante en el proceso de transducción manteniendo la tensión entre las uniones de los ápices de los estereocilios.

Para mantener el funcionamiento de la célula ciliada, los iones de potasio que entran en su interior deben salir; además, debe mantenerse una alta concentración a nivel de la endolinfa. Con el fin de mantener este proceso se ha descrito un mecanismo de reciclaje del potasio mediante el cual estos iones salen de la célula ciliada a nivel de su membrana basolateral por un canal de potasio, alcanzando las células de soporte del órgano de Corti. Posteriormente difunde en forma pasiva de célula a célula, a través de uniones brecha (*gap junctions*) compuestas por una proteína multimérica (Fig. 3), denominada conexina 26 (Cx 26), presente en las células de soporte del órgano de Corti, células del limbo y del ligamento espiral (5, 6, 7).

Las conexinas son proteínas que se localizan en la membrana de las células formando unos canales llamados *gap junctions*, que comunican una célula con la adyacente.

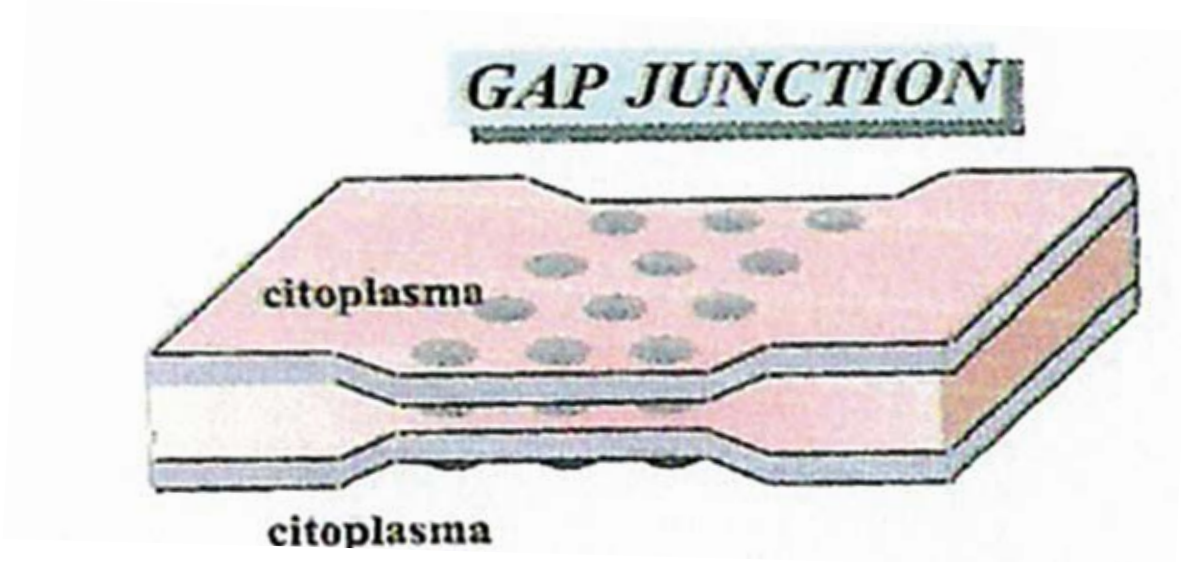


Figura 3: Representación esquemática del *gap junction* o uniones en hendidura (8).

Una vez los iones de potasio alcanzan la estría vascular son activamente bombeados hacia la endolinfa por canales de potasio dependientes de voltaje.

El receptor auditivo periférico es, en realidad, un sistema de filtros en cadena, mecánicos (membrana basilar y CCE) y neurales (sistema eferente olivo coclear lateral).

Estos filtros permiten que la cóclea realice un primer análisis de las frecuencias desde 20- 20.000 Hz y de la intensidad hasta 130 dB de sonido.

Por tanto, la misión de las CCI es que el mensaje que se envíe a la vía auditiva tenga un significado.

Las contracciones lentas de las CCE se producen a intensidades muy altas lo que también es un sistema de defensa frente a los sonidos intensos. A la membrana celular de las CCE se le asocia una proteína contráctil, la prestina, descrita en 2004 (9). Bajo la red cortical se encuentra el citoesqueleto contráctil en los que se destacan la actina y la espectrina. Este sistema contráctil permite la modulación de la intensidad del sonido.

La membrana tectoria es una estructura acelular con una función mecánica en el proceso de transducción de la señal, conformada por una matriz proteica. Varios tipos de colágeno forman más de la mitad de su estructura, predominando el colágeno tipo II, y menores cantidades de tipo IX y XI. La proteína no colágeno más abundante es la tectorina (10, 11).

Los mensajes auditivos se transmiten en forma de potenciales de acción por el conjunto de las fibras aferentes del nervio coclear, que une la cóclea con los núcleos cocleares del tronco encefálico. La información viaja hasta la corteza auditiva pasando por el tronco cerebral (núcleos cocleares y complejo olivar superior), mesencéfalo (colículo inferior), diencefalo (cuerpo geniculado medial) y el córtex auditivo. En numerosos puntos del sistema auditivo, después de los núcleos cocleares, existen decusaciones que permiten que la información proveniente de ambos oídos se reagrupe y compare. La misma tonotopía que existe en la cóclea la hay en las estructuras centrales. El córtex auditivo está situado en la cisura de Silvio en la circunvolución temporal superior del lóbulo temporal correspondiente a las zonas 41 y 42 (12).

1.3 Clasificación de las hipoacusias.

El problema de clasificar las hipoacusias atendiendo a un sólo aspecto ocasiona que se pierda una gran parte de información fundamental sobre el resto de las características de las mismas; además, es muy difícil realizar una clasificación globalizadora o integradora de todas las clasificaciones existentes. Nuestro propósito al hacer una exposición de las diferentes clasificaciones de la hipoacusia no es meramente nosológico, académico o didáctico, sino que, nos va a permitir, a la vez, definir las características de las hipoacusias perceptivas infantiles.

1.3.1 Según la edad de aparición (cronología)

- Hipoacusia congénita: Déficit auditivo presente en el nacimiento.
- Hipoacusia progresiva o de aparición tardía: Déficit auditivo que se manifiesta después del nacimiento (8, 13).

1.3.2 Según el momento de adquisición

- Prelocutiva o prelingual: La sordera aparece antes de la adquisición del lenguaje (0-2 años). Puede ser congénita o adquirida poco después del nacimiento.
- Perilocutiva o perilingual: La pérdida auditiva se manifiesta durante la adquisición del lenguaje. Aparece cuando el niño comienza a hablar, pero aún no sabe leer, así que los pocos conocimientos que posea pueden desaparecer rápidamente (2-5 años).
- Postlocutiva o poslingual: La hipoacusia acontece tras la estructuración de lenguaje, o sea, después de la adquisición del mismo (mayor de 5 años) (14).

1.3.3 Por la localización de la lesión (topografía)

- a) Sordera de transmisión (conductiva): El sonido no llega a estimular con suficiente intensidad las células sensoriales del órgano de Corti. Suele deberse a lesiones localizadas en el oído externo y/o medio.
- b) Sordera de percepción (neurosensorial): Bajo esta denominación se incluyen las hipoacusias cocleares o sensoriales y las retrococleares o neurales. En las cocleares la lesión se localiza en las células sensoriales del órgano de Corti. Por su parte, en las retrococleares, se puede localizar en el nervio coclear o central (en el tronco cerebral) o hasta la corteza auditiva.
- c) Sordera mixta: Es aquella en la que se asocia una hipoacusia de transmisión y una de percepción, originándose por varias lesiones coexistentes que afectan al mismo tiempo al oído medio y a la cóclea, las vías y los centros de la audición (14).

1.3.4 Según la intensidad de la hipoacusia

- Audición normal: Umbral auditivo medio entre 0-20 dB.
- Hipoacusia leve: Umbral auditivo medio entre 21-40 dB. Solo aparecen problemas con voz baja y ambiente ruidoso. El desarrollo del lenguaje es normal.
- Hipoacusia moderada: Umbral auditivo medio entre 41-70 dB donde se aprecian dificultades con la voz normal. Existen problemas en la adquisición del lenguaje y en la producción de sonidos.
- Hipoacusia severa: Umbral auditivo medio entre 71-90 dB. Solo se oye cuando se grita o se usa amplificación. No se desa-

rolla el lenguaje sin ayuda.

- Hipoacusia profunda: Umbral auditivo medio está entre 91-119 dB. La comprensión es prácticamente nula, incluso con amplificación.
- Cofosis: La pérdida tonal media es de 120 dB, percepción sonora inexistente (15).

1.3.5 Según factor etiológico

- Hereditaria: Hipoacusia aislada o formando parte de un síndrome.
- No hereditaria: Hipoacusia causada por factores adquiridos tales como infecciones, medio ambiente, tóxicos, etcétera.
- Aislada: Casos únicos en los que no es posible definir si es o no hereditaria (16).

1.3.6 Por la etiopatogenia de la lesión (traumática, infecciosa, tóxica, tumoral inmunológica, genética, entre otros) (14).

1.3.7 Por su forma de presentación

- Aguda o súbita
- Lenta o progresiva (13, 14).

1.3.8 Según el curso evolutivo

- Progresiva y estable (13, 14, 16).

1.4 Epidemiología actual de la hipoacusia.

La pérdida auditiva es la alteración sensorial más común en el ser humano. Su incidencia es tres veces más frecuente que el síndrome de Down, seis veces más que la espina bífida y alrededor de 25 veces más frecuente que el hipotiroidismo. Se estima que más de 278 millones de personas en todo el mundo tienen una pérdida auditiva de moderada a profunda que afecta la comunicación normal (17).

La Organización Mundial de la Salud, cifra la incidencia de todas las formas de hipoacusia en 5 de cada mil recién nacidos. Si nos referimos a las hipoacusias moderadas sería entre 1 y 3 por cada mil; y si se trata de hipoacusias de grado severo a profundo, nos situaríamos en 1 de cada mil recién nacidos (18). Esta cifra se incrementa cuando se trata de niños de alto riesgo. Diversos autores sitúan la prevalencia de la hipoacusia infantil entre 1.5 a 6/1000 casos (19, 20).

Estas cifras alcanzan una gran variabilidad en función del área geográfica y de los diversos grupos poblacionales.

En los países desarrollados, aproximadamente el 6-8% de la población padece pérdidas de audición en mayor o menor cuantía (21,22, 23).

Según la Academia Americana de Pediatría el 75% de los sordos padece hipoacusia genética (24).

Según la European Network on Genetic Deafness (GENDEAF), o Red Europea de Sordera Genética, el 10% de la población europea tiene trastornos auditivos, el 50% de los cuales es de causa genética. La proporción de niños con deficiencias audi-

tivas causadas por factores genéticos varía considerablemente dentro de la Unión Europea oscilando entre un 9% hasta un 54% (25).

El diagnóstico precoz de la hipoacusia infantil ha sido recomendado por varios comités de expertos. Las primeras recomendaciones en este sentido se dieron desde EE.UU en 1971, con sucesivas revisiones y actualizaciones de la lista de factores de riesgo y medidas de diagnóstico e intervención (26). En España, en 1996, la Comisión para la Detección Precoz de la Hipoacusia (CODEPEH) publicó el protocolo para la detección precoz de la hipoacusia en recién nacidos con indicadores de riesgo (27). Pero en 1994 el *Joint Committee on Infant Hearing* (JCIH) de los EEUU diseñó las directrices en las que recomendaba la realización de un *screening* auditivo mediante otoemisiones acústicas evocadas a todos los recién nacidos (28). Posteriormente, en 1998, el *European Consensus Development Conference on Neonatal Hearing Screening*. En 1999 la Academia Americana de Pediatría y la Comisión de Detección Precoz de la Hipoacusia Infantil en España (CODEPEH) se sumaron a esta recomendación (29, 30, 31).

En España la incidencia por pérdida auditiva severa y profunda es de dos a cuatro por cada mil nacidos vivos, lo que la ubica como una de las anomalías congénitas más comunes (2, 14). En estos momentos es la tercera afección en importancia después de la artrosis y la hipertensión en el paciente adulto. A modo de comparación, el hipotiroidismo y la fenilcetonuria (para la cuales existe un plan nacional de detección), afecta a 1/3.000 y 1/14.000 recién nacidos, respectivamente (32).

Ya desde 1994, en Navarra, Manuel Manrique y colaboradores (33) realizan un estudio multicéntrico en recién nacidos de alto riesgo y llega a la conclusión de que la prevalencia de la hipoacusia es aproximadamente 40-50 veces mayor que en la población general, encontrando que de ellos el 7,69 % tiene umbrales auditivos mayores de 30 dB y el 2,13 % es severa a profunda.

El Pleno del Congreso de los Diputados aprobó el 16 de marzo de 1999, mediante una proposición no de Ley, instar al Gobierno a la elaboración de un Plan Nacional de Prevención de la Sordera Infantil en coordinación con las Comunidades Autónomas. Posteriormente el Ministerio de Sanidad y Consumo el 19 de abril de 2003, en el seno de la Comisión de Salud Pública del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud, aprobó el programa de detección precoz de la hipoacusia para todas las Comunidades Autónomas, encontrándose actualmente en diferentes fases de implantación. Dichos programas establecen protocolos para identificar y diagnosticar a todos los recién nacidos con sordera e iniciar precozmente el tratamiento más adecuado (17).

Son varias las Comunidades Autónomas españolas que han puesto en marcha el Programa de Detección Precoz de la Hipoacusia.

En Castilla y León, el 14 de febrero de 2001, las Cortes aprueban la creación de un Programa de Detección auditiva universal en neonatos. En 2003 se realiza la revisión de los métodos de *screening* en hipoacusias, reflejando que los niños con factores de riesgo tienen un 7,6% de hipoacusia neurosensorial y un 2,5% sufre de hipoacusia neurosensorial profunda bilateral (33).

En Cantabria el programa de detección precoz de la hipoacusia a todos los recién nacidos, que comenzó en 2001, ya en el primer año de funcionamiento obtuvo una incidencia de hipoacusia permanente congénita uni o bilateral de 1,2/1.000 recién nacidos (21,5/1.000 en neonatos con factores de riesgo, y 0,76/1.000 sin factores de riesgo) (34).

En el área 3 de Madrid, en 2001, la incidencia de hipoacusia neurosensorial (HNS) encontrada por Teresa Rivera en población de riesgo, es de 4,34 % siendo de carácter severo profunda el 2,8% (35).

En 1999 en Las Palmas de Gran Canaria se realiza un estudio prospectivo de pacientes y se encuentra una incidencia mucho más alta de positividad de los PEATC, con un 47% y de ellos el 2,6% con hipoacusia profunda bilateral (36).

El Programa de cribado universal de hipoacusia neonatal fue pilotado y posteriormente implantado desde 2006 en el Complejo Universitario Materno Infantil de Gran Canaria. La Consejería de Sanidad del Gobierno de Canarias, por iniciativa de la Dirección General de Programas Asistenciales, implanta en enero de 2009, en el Hospital General de Fuerteventura, el programa de cribado universal, según información facilitada por la Consejería de Sanidad del Gobierno de Canarias.

Hoy día más del 10% de la población sufre trastornos auditivos y el 50% de los mismos se debe a causas genéticas y de este el 70% se presenta aislada (la forma de transmisión autosómica recesiva es la más frecuente) y el 30% restante forma parte de un cuadro sindrómico (13). En el 50% restante, el 25% son por causa ambiental (adquiridas) ya sean en el período prenatal, perinatal o postnatal. Actualmente, en el 25 % restante no se puede determinar la causa (17).

En España anualmente nacen alrededor de 1200 niños con hipoacusia neurosensorial; asimismo, cada año más de 1500 familias se ven afectadas por la presencia de una discapacidad auditiva en uno de sus hijos (17).

El 80% de las sorderas infantiles están presentes en el momento del nacimiento y el 95% de los niños sordos nacen en familias normo oyentes según los datos del Instituto Nacional para la Detección Precoz de la Hipoacusia en Recién Nacidos (CODEPEH) (27, 37).

Hay descritos hasta el momento cerca de 100 genes asociados a sordera no sindrómica y algunos más, relacionados con sordera sindrómica. A su vez, existe constancia de cerca de 400 síndromes en los que puede existir déficit auditivo asociado a déficit en otros órganos (38, 39).

Sin embargo, el conocimiento acerca de la prevalencia de los genes, su forma de transmisión y expresión fenotípica, todavía está siendo objeto de estudio. Esto puede atribuirse a insuficientes o inexistentes procedimientos estandarizados para el diagnóstico genético de la hipoacusia o a la existencia de diferencias en la expresión génica entre diversas poblaciones.

La sordera conlleva un problema de especial importancia en la infancia, pues el desarrollo intelectual y social está íntimamente condicionado a una correcta audición. Un niño sordo, sobre todo en sus primeros años de vida, se convierte en un niño profundamente discapacitado. En el recién nacido tiene consecuencias negativas en el desarrollo del niño, el acceso a la lectura, las aptitudes de aprendizaje, la personalidad y el rendimiento académico. La pérdida auditiva acarrea a los afectados importantes cargas sociales y económicas. La intervención precoz antes de los seis meses de vida mejora los resultados del lenguaje, en el habla y en el desarrollo socio-emocional (40, 41).

Según la GENDEAF la identificación de las causas representa uno de los factores más importantes en la prevención primaria y secundaria de las deficiencias auditivas permanentes. La herencia es una fuente muy grande de sorderas, y la prevención es

el único recurso para reducir tal incidencia, por lo cual hay que generar, aplicar y discutir su conocimiento (25).

Las investigaciones sobre el genoma humano en los últimos quince años están permitiendo averiguar las bases genéticas de muchas enfermedades graves con minusvalías, incluidas las sorderas. Estos logros han sido posibles gracias a la colaboración voluntaria y desinteresada de familias con uno o varios miembros afectados de sordera o hipoacusia, los cuales también se benefician de los resultados obtenidos.

Desde un punto de vista general, el descubrimiento de los genes implicados permite una mejor comprensión de las causas concretas de cada tipo de sordera. Hay que tener en cuenta que este conocimiento es necesario para el eventual desarrollo de terapias contra la pérdida de audición. Desde un punto de vista particular, cada miembro de una familia participante en el estudio tiene acceso a los análisis de detección de la alteración genética típica de su familia.

1.5 Historia de la genética y la hipoacusia.

La genética humana, la teoría de la herencia o de la transmisión hereditaria, es la ciencia que estudia la transmisión de los rasgos hereditarios, con especial aplicación a las enfermedades.

La historia de la genética humana se inicia a finales del siglo XIX con el descubrimiento de las leyes de Mendel y la demostración de que éstas también afectan al hombre (42).

El ácido desoxirribonucleico (ADN) fue aislado por primera vez de las células del pus y del esperma del salmón, y estudiado por el suizo Friedrich Miescher en 1869. Lo llamó nucleína por su participación en el núcleo celular (43).

No obstante, fue en 1900 cuando nació oficialmente la ciencia de la genética gracias a que varios investigadores de la reproducción de las plantas se hicieron eco del trabajo de Johann Gregor Mendel. La investigación de este monje austriaco, aunque fue publicado en 1866, había sido ignorado en la práctica (44).

En 1898, Edward Allen Fay, observando el comportamiento de los hijos de matrimonios sordos en Estados Unidos, describe la hipoacusia neurosensorial severa autosómica dominante (45).

Se han necesitado casi 70 años de investigación para poder identificar por completo los sillares principales y la estructura del esqueleto de los ácidos nucleicos.

En 1929 el biólogo estadounidense Hermann Joseph Muller observó que la tasa de mutaciones aumentaba mucho con la exposición a los rayos X. Más tarde, se vio que otras formas de radiación, así como las temperaturas elevadas y varios compuestos químicos, podían inducir mutaciones (46).

Maurice Hugh Frederick Wilkins, nacido en Nueva Zelanda, biofísico y Premio Nobel británico, contribuyó, entre los años 1940 y 1960, a determinar la estructura del ácido nucleico conocido como ADN. Demostró que la molécula de ADN estaba constituida por filamentos en forma helicoidal (47).

A principios de la década de 1940, dos genetistas estadounidenses, George Wells Beadle y Edward Lawrie Tatum, descubrieron no sólo que los genes están formados por unidades de nucleótidos, sino que también dirigen la síntesis de proteínas (48, 49).

Este trabajo orientó los estudios hacia la naturaleza química de los genes y ayudó a establecer el campo de la genética molecular.

En 1944, el bacteriólogo canadiense Oswald Theodore Avery, demostró que el ADN era el que desempeñaba la función de transmisión de información genética. Al extraer ADN de una cepa bacteriana e introducirlo en otra diferente, la segunda no sólo adquirió las características de la primera sino que también las transmitió a generaciones posteriores (50).

Wilkins, junto con Rosalind Franklin, trabajando sobre la difracción de rayos X, también describen la estructura helicoidal del ADN, que posteriormente servirá de base para la descripción de dicha estructura por James Watson y Francis Crick. En 1953, el genetista estadounidense James Dewey Watson y el británico Francis Harry Compton Crick trabajaron juntos en la estructura del ADN, demostraron la estructura tridimensional en forma de doble hélice de la molécula de ADN a partir de sus componentes fundamentales (azúcar, base nitrogenada y fósforo). En el año 1962 fueron galardonados junto a Maurice Hugh Frederick con el premio Nobel de Fisiología y Medicina (51).

Severo Ochoa y sus hallazgos fueron decisivos para descifrar el código genético, ya que fue el primer científico que sintetizó, en 1955, un ácido nucleico. También aisló la polinucleotidofosforilasa, enzima capaz de realizar la síntesis de ácidos ribonucleicos (ARN). Con motivo de este descubrimiento le fue concedido el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1959, compartido con el bioquímico estadounidense Arthur Kornberg, por investigaciones similares realizadas sobre el ADN (52, 53).

El giro decisivo de la genética humana hacia la biología molecular y la bioquímica se produce en la década de 1950 con el descubrimiento del gen como unidad básica funcional de la información hereditaria (código genético) y los progresos en el análisis cromosómico.

Diez años después de que Watson y Crick determinaran la estructura del ADN faltaba averiguar cómo interpreta el organismo la secuencia de las distintas bases que forman la estructura lineal del ADN para sintetizar las cadenas de aminoácidos de las proteínas. La solución a este enigma, el código genético, se descubrió en 1966 gracias a la colaboración de numerosos investigadores, entre ellos Marshall Nirenberg (54).

El estudio genético de los pacientes con hipoacusia ha ayudado a aclarar y a ampliar el conocimiento de la fisiología del oído interno en su porción coclear, incluso se han descrito procesos no sospechados hasta estos descubrimientos. Hoy día hemos logrado pasar del diagnóstico clínico al diagnóstico genético mediante la detección de mutaciones causales de sordera no sindrómica y sindrómica (55).

Desde el año 1963 comienzan a aparecer publicaciones en la que se describen pacientes afectados por hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva profunda (56, 57, 58, 59, 60, 61, 62).

Aunque el ADN mitocondrial fue descubierto en 1963 (63), hasta 1988 no fueron encontradas mutaciones con trascendencia

patológica.

Las investigaciones sobre sorderas no sindrómicas han experimentado un desarrollo espectacular desde el año 1992.

1.5.1 Conceptos generales de genética a considerar.

Alguno de estos conceptos sólo se utilizan en la descripción de las enfermedades mendelianas.

El ácido desoxirribonucleico (**ADN**) es el material genético de todos los organismos celulares y de casi todos los virus, su **replicación** es un proceso semiconservativo, en el cual se copia el ADN.

Se denomina **cromosoma** a cada uno de los corpúsculos, generalmente en forma de filamentos, que existen en el núcleo de las células y controlan el desarrollo genético de los seres vivos. La base de cada cromosoma es una molécula larga de ADN formada por dos cadenas. La producción de dos dobles hélices idénticas dará lugar a dos cromosomas idénticos.

Los genes son partículas de material genético que determinan la herencia de una característica determinada, o de un grupo de ellas, están localizados en los cromosomas, en el núcleo celular, y se disponen en línea a lo largo de cada uno de ellos. Los genes y sus alelos mutantes se representan obligatoriamente con la misma letra, uno con mayúscula (para el gen dominante) y el otro con minúscula (para el gen recesivo).

El término empleado para describir la preponderancia de uno de los integrantes del par de genes sobre el otro se llama **dominancia**. De forma más general, cuando un fenotipo se manifiesta de la misma manera tanto en homocigóticos como en heterocigóticos es **dominante**. Por el contrario, un fenotipo que se manifiesta sólo en homocigotos o en rasgos ligados al cromosoma X, que se manifiesta en los hombres y no en las mujeres, es **recesivo**.

La **penetrancia**, definida como el porcentaje de individuos con un genotipo dado que muestran el fenotipo asociado a este genotipo. Puede haber individuos que siendo portadores de un determinado gen dominante no muestren en su fenotipo el carácter que corresponde a este gen pero sí lo puedan transmitir a sus descendencia. Entonces a este fenómeno los llamamos **impenetrancia**.

Sin embargo, la **expresividad** que es la capacidad que tiene el gen de manifestar su efecto, viene dada por el porcentaje de individuos que muestran el fenotipo bien desarrollado de entre los que no lo muestran. En otras palabras, significa la mayor o menor manifestación clínica presente en un individuo (74, 75).

Existen unos 21.000 genes distribuidos en los 23 pares de cromosomas. Unos se localizan en los cromosomas autosómicos y otros en los cromosomas sexuales, básicamente en el cromosoma X. El **locus** es la posición que ocupa cada gen en el cromosoma. El plural es **loci**, proveniente del latín.

Cada gen puede tener diferentes conformaciones y esto recibe el nombre de **alelos**.

Para un gen pueden existir a veces diferentes variedades, dando lugar a características distintas en el individuo. Estos alelos

están localizados en cada cromosoma del mismo par, es decir, en los cromosomas homólogos: el materno y el paterno. Cuando se encuentran múltiples alelos para un *locus* determinado, puede decirse entonces, que dicho *locus* es **polimórfico** dentro de esa población.

La manifestación de múltiples efectos producidos por un mismo gen se llama **pleiotropismo**; o dicho de otra manera, es la capacidad que tiene un gen de producir varias características distintas. Los efectos pleiotrópicos de un gen explican que en ciertos síndromes dismórficos un mismo individuo presente alteraciones multisistémicas como, por ejemplo, un compromiso simultáneo facial, ocular, auditivo o cardíaco.

Los individuos diploides poseen en sus células dos juegos de cromosomas homólogos, uno aportado por el gameto masculino y el otro por el gameto femenino. Si en ambos cromosomas homólogos reside el mismo alelo diremos que el individuo es **homocigótico** para ese carácter. Por el contrario, si en cada cromosoma homólogo hay un alelo distinto, el individuo será **heterocigótico** para ese carácter.

Todas las células de un individuo normal tienen el mismo ADN mitocondrial, es decir, se trata de una **homoplasmia**. Si en una célula aparecen dos poblaciones de ADN mitocondrial, normal y mutada, se dice que estamos en una situación de **heteroplasmia** (76).

1.5.2 Sordera genética.

La sordera genética comprende un grupo altamente heterogéneo de enfermedades, y se clasifica según las manifestaciones clínicas, el patrón de herencia y el *locus* afecto.

Desde el punto de vista clínico se divide en dos grandes grupos: aisladas o no sindrómicas (solo hay déficit sensorial auditivo) y sindrómicas (cuando existe otra patología asociada) (64, 65).

A lo largo de estos años se han encontrado numerosos *locus* donde residen genes responsables de sordera sindrómica y no sindrómica. Muchos de estos genes ya han sido identificados (23, 65, 66).

La nomenclatura internacional utilizada para denominar a los *locus* genéticos, de estas diferentes formas de hipoacusia se designan con las siglas DFNA; así *Deafness "A"* hace referencia a las formas de transmisión autosómico dominante; DFNB (*Deafness B*) a las formas autosómico recesivas y DFN (*Deafness*) aquellas con transmisión ligada al cromosoma X. Adicionalmente se coloca un número consecutivo, según el orden cronológico de su descripción; por ejemplo, los *locus* relacionados con la forma de transmisión autosómica dominante se designan de DFNA1 hasta el último DFNA encontrado (42).

En los países desarrollados, más del 60% de los casos de sorderas prelocutivas se atribuyen actualmente a causas genéticas. Las sorderas no sindrómicas han sido hasta hace poco las más desconocidas aún siendo las más frecuentes (16, 17, 21).

Se ha demostrado que la DFNB1 en el cromosoma 13 es el mayor *locus* de sordera recesiva, ocupando el 80% de las familias sordas en la población Mediterránea. El gen *gap junction beta 2*, (GJB2) que codifica la Cx 26, es el más frecuentemente mutado en estas familias y el alelo mutante más frecuente el 35delG. Este hallazgo ha dado lugar al interés creciente por los

estudios genéticos en pacientes sordos (38, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73).

En España se estima que 1 de cada 30 sujetos son portadores asintomáticos de la mutación 35delG, esto es, oyentes en riesgo de procrear hijos con afecciones auditivas, sin siquiera sospecharlo, por lo que se propone que sea ésta la primera mutación a estudiar en el país (64).

1.6. Categoría de las enfermedades genéticas

1.6.1 Enfermedades monogénicas o Mendelianas: Se refiere a aquellas debidas a la mutación de un gen único y específico. Los trastornos monogénicos son poco comunes, pero dado que hay cerca de 3.000 trastornos de este tipo conocidos, su impacto combinado es considerable.

1.6.2 Defectos cromosómicos. Son aquellas enfermedades en las cuales es posible demostrar alguna anomalía cromosómica, bien sea en el número de cromosomas presentes o en la estructura de algunos de ellos. Habitualmente involucra a varios genes.

1.6.3 Enfermedades multifactoriales y/o poligénicas: Definen ciertas condiciones patológicas, producto de la interacción simultánea de varios genes, ubicados en distintas cromosomas y factores ambientales (77).

Existen otras categorías menos frecuentes como:

1.6.4 Enfermedades mitocondriales: Son enfermedades raras, en las que el defecto se localiza en el ADN mitocondrial.

1.6.5 Afecciones debido a *imprinting* genético (*impronta genética*): Son consecuencia de la expresión diferencial de genes dependiente del origen de los cromosomas materno y paterno.

1.6.6 Afecciones por disomías uniparentales: Aparece por herencia de dos cromosomas homólogos de un mismo progenitor.

1.6.7 Afecciones por defecto genético de células somáticas: Puede ocurrir una mutación del huevo fertilizado después de que haya ocurrido las primeras divisiones, entonces se originan mosaicos (dos o más genotipos distintos en un mismo individuo). Este mosaico puede ser gonadal, somático o ambos (76, 77).

1.7 Patrones básicos de transmisión de la herencia (trastorno monogénico).

Se clasifican en función de la localización y comportamiento de cada gen implicado.

1.7.1 Autosómico recesivo

1.7.2 Autosómico dominante

1.7.3 Ligado al sexo

1.7.4 Herencia mitocondrial (materna) (75).

En lo referente a las sorderas, las personas con una copia del gen para enfermedad recesiva se denominan “portadores” y normalmente no manifiestan la enfermedad.

1.7.1. Sordera autosómica recesiva: Es el patrón más frecuente, identificada en más del 75% de los casos. Solo se manifiesta en homocigosis (las dos copias alélicas están mutadas). Los heterocigóticos son portadores de la enfermedad.

Mayoritariamente es de instalación prelocutiva, bilateral, con un grado de hipoacusia entre severo y profundo, manteniéndose la intensidad de la pérdida estable. Clínicamente clasificamos una sordera como recesiva cuando se encuentran un mínimo de dos niños sordos en una misma familia (generalmente hermanos) o ante un niño sordo en una familia consanguínea. El riesgo de transmisión es del 25%, o sea la posibilidad de que los hermanos o hermanas de un niño afectado tengan la enfermedad es de 1 en cada 4. Para que un niño tenga los síntomas de un trastorno autosómico recesivo debe recibir el gen recesivo de ambos padres. Los heterocigotos para un gen recesivo se llaman, también, **portadores**. Los hombres y las mujeres tienen las mismas posibilidades de resultar afectados.

1.7.2. Sordera autosómica dominante: Se presenta en el 10%-20% de los casos. La pérdida auditiva neurosensorial unilateral o bilateral leve en las familias sugiere herencia dominante. Es de instalación postlocutiva y progresiva. La caracteriza la **expresividad** variable y la **penetrancia** incompleta.

Sólo precisa la presencia de un alelo para que la enfermedad se manifieste. Cada afectado tiene un padre afectado y cada hijo de este padre afectado tiene un 50% de probabilidades de heredar la enfermedad ya que se manifiesta en heterocigosis (el alelo mutado domina sobre el normal). Los miembros normales de una familia no transmiten la enfermedad. Los hombres y mujeres tienen la misma probabilidad de padecer la enfermedad. Un fenotipo anormal es el efecto observado de un gen anormal.

1.7.3. Patrón de herencia ligado al sexo: El gen heredado se encuentra localizado en el cromosoma X o en el Y. En genética se habla más de la herencia ligada a X, simplemente porque la herencia ligada a Y no es muy comúnmente observada.

Se detecta en el 2%-3% de los casos. Los varones afectados presentan una sordera prelocutiva, entre severa y profunda. Podemos diferenciar:

- Herencia ligada al cromosoma X recesiva: Su comportamiento es casi exclusivo recesivo. Esto significa que los varones, con un solo cromosoma X, los genes mutados recesivos (al no tener la copia homóloga normal) van a expresar un fenotipo patológico. Los hombres no los transmiten a sus hijos sino a todas sus hijas que serán portadoras asintomáticas.
- Herencia ligada al cromosoma X dominante: La presencia de un gen defectuoso aparece en las mujeres, incluso habiendo un cromosoma X normal presente. Dado que los varones le transmiten el cromosoma Y a sus hijos, los hombres afectados no tendrán hijos varones afectados, pero sí tendrán a todas sus hijas afectadas. Los hijos o las hijas de mujeres afectadas tendrán un 50% de probabilidad de adquirir la enfermedad.

1.7.4. Herencia mitocondrial (materna): Las mitocondrias están presentes en casi todas las células del cuerpo y son las

responsables de la producción de energía. Estas cuentan con su ADN particular. Se ha demostrado que más de 60 trastornos hereditarios resultan de cambios (mutaciones) en el ADN mitocondrial. Dado que las mitocondrias provienen sólo del óvulo, la mayoría de los trastornos relacionados con ellas se heredan únicamente de la madre.

Estos trastornos pueden causar ceguera, retraso del desarrollo, problemas gastrointestinales, hipoacusia, trastornos del ritmo cardíaco, alteraciones metabólicas y baja talla (5, 8, 74, 75, 76, 77).

1.8 El genoma humano

Es el proyecto más ambicioso de este milenio, su meta es descifrar el mapa genético del ser humano a partir de su ADN.

El sueño de muchos genetistas ha sido conocer a la secuencia de nucleótidos del ADN humano y diseñar mapas que permitan ubicar los genes en los cromosomas. La esperanza es que gracias a estos mapas genéticos, pueda identificarse la ubicación de genes defectuosos en los cromosomas y poder aplicar terapias que apunten a reemplazarlos o modificarlos. Esta tarea determinó el comienzo de un gran trabajo llamado Proyecto Genoma Humano, en el cual fueron involucrados científicos de todo el mundo.

Es importante considerar que esta metodología de trabajo nos permite estudiar las bases moleculares que determinan la esencia de un ser humano, de manera que los cambios y alteraciones que se produzcan en el ADN se transmitirán a las generaciones futuras.

Se ha logrado descifrar las “unidades biológicas básicas” presentes en los aproximadamente 21.000 genes que forman un ser humano. Ahora, en un segundo paso, se debe anotar correctamente la formación secuenciada del genoma humano y describir variaciones genéticas.

El consenso de las investigaciones es que esas variaciones, aunque tan sólo sean de un nucleótido, indican la predisposición de una persona para desarrollar una larga y dolorosa lista de diferentes enfermedades hereditarias, que actualmente se estiman en más 3000. Después, en otra etapa, comenzará el largo proceso de identificación de cada gen para determinar qué papel desempeña en el funcionamiento del cuerpo humano.

El 24 de mayo del 2000, el Centro Nacional de Decodificación Genética de Francia (GENESCOPE), anuncia que el genoma humano tiene 30.000 genes, aunque actualizaciones posteriores sitúan el número total en unos 21 genes (78).

1.9 Sospecha de sordera genética no sindrómica por mutaciones en el gen de la Cx 26 y en el ADN mitocondrial.

1.9.1 Manifestaciones clínicas de la hipoacusia por déficit de Cx 26.

- Es una pérdida de audición aislada y bilateral que aparece sistemáticamente antes de la adquisición del lenguaje. Dicha pérdida oscila entre leve y profunda, con expresiones variables dentro de una misma familia, y entre una familia y otra. La

progresión es inexistente o muy leve (a lo largo de un período de 10 años aproximadamente). No se han descrito episodios de agravamiento intenso.

- La sordera puede afectar a las altas frecuencias o a todas las frecuencias con la misma severidad. Algunos pacientes exhiben audición residual en las bajas frecuencias.
- Entra en el espectro de las mutaciones encontradas en el GJB2, varía considerablemente de una población a otra y hay predominio de los alelos en dependencia de los grupos étnicos.
- En pacientes homocigóticos, para la mutación del alelo 35delG, se demuestra que la ausencia total de conexina está asociada a sordera severa o profunda.
- La consanguinidad aumenta la frecuencia de la mutación.
- La función vestibular rara vez se estudia, los test calóricos vestibulares son aparentemente normales.
- La tomografía axial computarizada (TAC) no ha demostrado ninguna anomalía de la porción petrosa del hueso temporal.
- La detección neonatal de la sordera congénita debida a mutaciones en el gen de la Cx 26 será muy útil en el caso de querer aplicar al niño un implante coclear, dado que, cuanto antes se detecte la sordera en el recién nacido, antes se le podrá realizar el implante coclear y su adaptación será mejor (64, 65, 66, 67, 68, 69, 79, 80).

1.9.2 Manifestaciones clínicas por mutación del ADN mitocondrial.

- Son responsables de patología tanto sindrómica como no sindrómica.
- La hipoacusia neurosensorial (HNS) es postlocutiva simétrica. Se han encontrado HNS severa profunda de comienzo en la infancia, unos pocos en la adolescencia y menos en la edad adulta.
- Dado que las mitocondrias provienen solo del óvulo, la herencia mitocondrial es matrilineal, es decir, el genoma mitocondrial se hereda exclusivamente de la madre.
- Un 15% de ellos tendrá una audición dentro de la normalidad. Los hombres no transmiten la enfermedad a sus hijos.
- Se ha calculado que la posibilidad de que un individuo a los 30 años desarrolle la enfermedad es del 95% si se expone a aminoglucósidos y del 40% si no recibe tratamiento.
- Hay variabilidad fenotípica intrafamiliar y penetrancia incompleta. En el caso de las hipoacusias no sindrómicas, hacen que el típico patrón de herencia matrilineal sea fácilmente reconocible en solamente un 25% de los casos.
- Esta penetrancia incompleta es una consecuencia de la intervención de otros factores genéticos (heteroplasmia, genes

modificadores) que modulan el fenotipo. Hay que señalar, sin embargo, que la mayoría de las mutaciones del genoma mitocondrial que producen sordera no sindrómica se encuentran en homoplasmia, y, cuando están en heteroplasmia la carga mutacional suele ser bastante elevada. Por consiguiente, el efecto modulador corresponde en su mayor parte a los genes modificadores que, en la actualidad, están pendientes de ser identificados. Los genes modificadores pudieran ser mitocondriales o nucleares.

- De las 5 mutaciones responsables de hipoacusias no sindrómicas, la más frecuente, la A1555G, hace al individuo más susceptible a la ototoxicidad inducida por aminoglucósidos (aunque puede desarrollarse la enfermedad sin la necesidad de exposición a éstos) con una expresión fenotípica muy variada que va desde la normalidad auditiva hasta la hipoacusia precoz y profunda.
- El diagnóstico de esta mutación es muy importante desde el punto de vista de la prevención, pues evitando el tratamiento con aminoglucósidos en pacientes con esta mutación, se puede retrasar o incluso evitar el desarrollo de la sordera (81, 82, 83, 84, 85).

1.10 Diagnóstico de la hipoacusia por déficit de Cx 26 y mutación del ADN mitocondrial.

- **La orientación de la historia prenatal, natal y postnatal:** Indagando sobre la gestación, enfermedades maternas, condiciones del parto, alcoholismo, medicación recibida, diabetes, íctero, estancia en unidades de cuidados intensivos, trauma o hipoxia durante el parto, sufrimiento fetal, etc, podemos descartar otras causas que provocan sordera (86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99).

- **Historia familiar de sordera.**

- **Exploración física:** Se realiza examen otorrinolaringológico completo, que incluye la otomicroscopía y la exploración oto-neurológica en busca de anomalías auriculares y cráneo faciales.

- **Exámenes complementarios.**

a)- Exámenes de audición (Otoemisiones acústicas, audiometría tonal liminar, audiometría vocal, potenciales evocados auditivos).

b)- Exámenes por radioimágenes: Tomografía axial computarizada de peñasco y cóclea (TAC), resonancia magnética nuclear de conducto auditivo interno y ángulo ponto cerebeloso (RMN).

c)- Diagnóstico genético.

1.11 Posibilidades de tratamiento

- Prótesis auditiva
- Implante coclear
- Rehabilitación auditiva
- Células madre (en fase de estudio)

1.12 Consejo genético

El asesoramiento genético resulta importante cuando se pretende dar orientación a las parejas con el fin de prevenirlos en cuanto al riesgo de incidencia de enfermedades genéticas en sus descendientes y a la actitud a tomar con relación a la reproducción racional.

En la actualidad el asesoramiento genético de la sordera continúa siendo uno de los aspectos no resueltos en la práctica médica, dada la gran heterogeneidad etiológica, así como la complejidad de los mecanismos implicados en este tipo de patología.

El consejo genético, con relación a la sordera, considera el aspecto socio-cultural y la gran diversidad etiológica con sus correspondientes implicaciones. El médico genetista deberá proporcionar a la familia la información necesaria. La decisión de tener hijos o no, es de competencia exclusiva de las parejas con riesgo.

En las circunstancias en que la etiología se resiste a una descripción clara, el genetista se ve forzado a mostrar en la consulta los riesgos empíricos, calculados según las pesquisas poblacionales sobre la aparición de la sordera entre los hijos de las parejas afectadas, parejas normales, y parejas con un cónyuge sordo y otro normal. De cualquier manera, la herencia autosómica recesiva debe considerarse siempre, cuando otros factores etiológicos se hayan tenido en cuenta (100).

1.13 Fisiopatogenia de la sordera genética

Al cigoto el espermatozoide le transmite una dotación cromosómica haploide y el óvulo la complementaria. Los cromosomas se encuentran formados por genes. Se estima que en la formación y configuración del oído interno, la cóclea y el caracol, pueden estar implicados unos 150 genes. Cuando uno cualquiera de ellos está alterado y no ejerce la función biológica que le es propia puede aparecer la hipoacusia o sordera.

La gravedad de la sordera depende del gen alterado, de la naturaleza de la alteración y de si ésta se encuentra presente en una copia del gen, o en ambos alelos.

En la sordera que comienza en la infancia tardía o en la adolescencia, sólo uno del par de genes está alterado, el otro es normal. En las sorderas de la primera infancia que se presentan antes de adquirir el habla, las dos copias del gen, tanto la recibida del padre como la recibida de la madre, están alteradas aunque los padres sean oyentes. En estos casos los padres oyentes tienen una copia del gen normal y otra alterada.

Los genes hasta ahora codificados modifican productos implicados en funciones muy variadas.

Los primeros genes identificados de entre los 95 descritos hasta la fecha para la sordera no sindrómica de herencia autosómica recesiva fueron el gen GJB2, que se expresa en las células de soporte que cubren el oído interno (células epiteliales y conectivas), y el gen codificante para la miosina VII (MYO7A), que se expresa a nivel del estereocilio de las células ciliadas del oído, asegurando el contacto entre cada estereocilio (101, 102).

Un mecanismo fundamental en el funcionamiento del órgano de Corti es el reciclaje del potasio, ión que entra en la célula ciliada e induce su despolarización, saliendo por la membrana lateral y viajando a través de las células del órgano hasta la estría

vascular, lugar en donde nuevamente es secretado a la endolinfa. Algunas alteraciones en este mecanismo son las causas más frecuentes de sordera de origen genético, destacando las mutaciones en el gen GJB2, causando sordera no sindrómica (102).

En un principio se pensó que las Cx 26 y Cx 30 estaban implicadas en el reciclaje de potasio en la endolinfa, y que la hipoacusia podía deberse a una anomalía de la concentración del K⁺ endolinfático. Pero desde que se dispone de modelos animales de experimentación se conoce mejor la patogenia de la hipoacusia. Se sabe que en el ratón el oído interno se desarrolla con normalidad, y hacia los 14 días post natales comienza la muerte celular, que ocurre, al principio, a nivel de las CCI. La concentración de potasio en la endolinfa se mantiene normal hasta ese momento. La muerte celular se extiende a las demás células de sostén y a las células ciliadas. Lo anterior hace proponer la hipótesis de una toxicidad desencadenada por la respuesta de las CCI a la estimulación sonora (103).

Existen cinco sitios donde con mayor frecuencia se producen alteraciones estructurales y funcionales del órgano de Corti que provocan un mal funcionamiento bioquímico del mecanismo de audición, estos sitios son:

- Alteraciones de los componentes de la membrana y proteínas.
- Alteraciones del citoesqueleto celular.
- Alteraciones de moléculas estructurales del órgano de Corti y de la matriz extracelular.
- Alteraciones en proteínas involucradas en otros procesos celulares.
- Alteraciones en los genes mitocondriales.

1- Alteraciones de los componentes de la membrana y proteínas

La **conexina 26** es una molécula estructural presente en la membrana basolateral que forma las uniones brecha. El ensamblaje de seis subunidades de conexina forman una estructura llamada conexón, a su vez el empalme de dos conexones adyacentes, establecen una unión brecha, a través de la cual, células contiguas intercambian moléculas de pequeño tamaño como iones. Estas uniones a nivel de la cóclea se han encontrado en la estría vascular, membrana basilar, limbo y ligamento espiral. A la Cx 26 le corresponde un papel central en el mecanismo de reciclaje del potasio.

Hay otras conexinas también involucradas en la sordera. Puede ocurrir una delección (supresión) de un segmento de ADN de 342 kilobases por participación del gen GJB6, que codifica la **conexina 30**. Esto también es causa de hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva (DFNB1) y de sordera dominante (104, 105, 106).

En la piel, el oído, la placenta y el ojo se expresa de manera predominante la **conexina 31** (GJB3). Sus mutaciones se asocian con la eritroqueratodermia variabilis y una forma autosómica dominante de deterioro auditivo DFNA2 (107, 108).

En el hígado, el páncreas exocrino, el sistema nervioso central y el epitelio del sistema gastrointestinal se expresa la **conexina 32** (GJB1). En los seres humanos, Cx 32 es crítica para las células de Schwann de los nervios periféricos. La mutación de su gen da lugar a una forma de neuropatía hereditaria denominada enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, ligada al cromosoma X. Algunos casos también tienen discapacidad auditiva.

Recientemente se ha demostrado que la GJA1 (**Cx 43**), está involucrada en la sordera recesiva (109).

La proteína cadherina, media en la adhesión célula-célula dependiente de Ca^{2+} en los tejidos.

La otoferlina, proteína presuntamente implicada en el tráfico de las vesículas sinápticas generadas en las CCI, está codificada por el gen OTOF. Mutaciones de este gen se han encontrado en pacientes con DFNB9.

La wolframina, proteína localizada en la membrana del retículo endoplásmico. La TMC1, proteína de membrana de función desconocida.

Otros genes implicados en el reciclaje del potasio pero cuyo mecanismo de transmisión es autosómico dominante, es el KCNQ4 (DFNA2), que codifica un canal de potasio importante en la remoción de este ión de las células ciliadas. El gen KCNQ1 (o KCNE1) codifica para un canal de potasio importante en la secreción de este ión hacia la endolinfa; su mutación se asocia con el síndrome de Jervell y Lange-Nielsen (defecto cardíaco y sordera).

La pendrina, es un transportador de cloro y yodo independiente del sodio que se expresa tanto en el oído interno como en la glándula tiroidea; su mutación en animales de experimentación produce dilatación del compartimiento endolinfático y defecto otoconial, lo cual supone un rol en la homeostasis iónica del oído interno. Mutaciones en el gen PDS, que codifica la pendrina, se encuentra tanto en casos de sordera no sindrómica (DFNB4), como en el síndrome de Pendred (sordera y alteraciones tiroideas), el cual es la causa más común de sordera prelingual sindrómica.

Una proteína denominada claudin-14, proteína de las uniones intercelulares estrechas o *tight functions*, se encuentra mutada en casos de DFNB29. Estas uniones son un importante mecanismo de barrera y un modulador de la permeabilidad transcelular. Actúa como límite entre las membranas apical y basolateral, manteniendo los gradientes electrolíticos y la diferencia de potencial entre la endolinfa y las células del órgano de Corti, para permitir la despolarización de las células ciliadas (110, 111, 112, 113).

2. Alteraciones moleculares en los componentes del citoesqueleto celular de las células sensoriales del oído interno.

Las miosinas (MYO) son moléculas que usan la energía liberada de la hidrólisis del ATP para generar fuerza y movimiento a lo largo de los filamentos de la actina. En este grupo encontramos tres genes que codifican un tipo de miosinas no convencionales porque difieren de las encontradas en las células musculares. Estas son: la MYO7A, MYO6 y la MYO15. Sus mutaciones se asocian con DFNB2, DFNB3 y DFNA11. En el oído interno las miosinas no convencionales se encuentran en las estereocilias y en la lámina cuticular de las células ciliadas. Junto con la actina representan un papel importante en la organización de la estereocilia así como en el movimiento de las uniones de los extremos de las mismas, estructura crucial en el flujo de cationes durante la transducción de la señal.

Las mutaciones en MYO7A se han identificado en el síndrome de Usher tipo IB (sordera congénita, disfunción vestibular y retinosis pigmentosa).

El gen Diaphanous codifica para la proteína diaphanous, ésta regula la cinetosis y el establecimiento de la polaridad celular. Se cree que regula la polimerización de actina y ayuda a mantener el citoesqueleto de ésta en las células ciliadas. Mutaciones en

el gen *Diaphanus* (*DIAPH1*) se han identificado en pacientes con DFNA1.

El gen *STRC* codifica a la estereocilina proteína asociada a los estereocilios de las células ciliadas del oído interno que influye también en la distorsión del sonido (114).

3. Alteraciones de moléculas estructurales del órgano de Corti y de la matriz extracelular.

Un colágeno tipo XI y la alfa tectorina son proteínas estructurales de la membrana tectoria del oído interno; por su parte, la coclina está presente en las estructuras de soportes y en los canales neurales del laberinto.

Las proteínas de la familia del colágeno son moléculas heterogéneas codificadas por más de 30 genes diferentes. A nivel del órgano de Corti, la mutación en el gen para una de ellas, el *COL11A2*, se asocia con DFNA13 y a una forma del Síndrome de Stickler (malformaciones faciales, alteraciones oculares, artritis e hipoacusia).

La a-Tectorina es una molécula que interactúa con la b-Tectorina para formar canales neurales del laberinto, parte de la matriz no-colágena de la membrana tectoria. Mutaciones en su gen, *TECTA*, se asocian con varios tipos de sordera no sindrómica: DFNA8, DFNA12 y DFNB2.

El gen *COCH* codifica para un producto que parece ser una proteína extracelular encontrada en el ligamento espiral y en el estroma del epitelio vestibular. Se cree que es importante en el mantenimiento de las otras proteínas estructurales de la cóclea. Su mutación causa una forma de sordera sindrómica dominante, DFNA9, progresiva, de establecimiento tardío y asociada a compromiso vestibular del que pueden derivarse cuadros similares a la Enfermedad de Meniere, incluyendo vértigo, tinnitus, y plenitud aural, hasta en un 25% de los pacientes (114, 115).

4. Alteraciones en proteínas involucradas en otros procesos celulares (reguladores transcripcionales).

El gen *POU4F3* codifica para un miembro de la familia de los factores de transcripción, importantes en el proceso de regulación de la expresión de otros genes; este producto génico es requerido para la maduración, mantenimiento, y supervivencia de las células ciliadas. Su mutación conduce a un tipo de sordera progresiva autosómica dominante de establecimiento tardío, DFNA15.

Otro regulador del desarrollo celular, el producto del gen *POU3F4*, se ha encontrado mutado en familias con sordera congénita mixta, conductiva y neurosensorial; su mecanismo de transmisión es ligado a X, DFN3, y se encuentra en pacientes que presentan fijación estapedial y una anormal comunicación entre el líquido cefalorraquídeo y la perilinfa (116).

5. Alteraciones en componentes de la maquinaria de biosíntesis de proteínas en la mitocondria

Los trastornos mitocondriales pueden aparecer a cualquier edad con una amplia variedad de síntomas y signos inespecíficos. Estos trastornos pueden causar alteraciones metabólicas, retraso en el desarrollo, ceguera, pérdida de la audición, trastornos en el ritmo cardíaco, baja talla y problemas gastrointestinales.

Estos trastornos se refieren a mutaciones en el RNA ribosómico 12S (12S rRNA) y el tRNA-Ser. En contraste con el genoma nuclear, el genoma mitocondrial contiene sólo información para codificar 13 subunidades polipeptídicas de la cadena respiratoria, junto con las subunidades 12S y 16S del RNA ribosómico y las 22 moléculas del RNA de transferencia, necesarias para la traducción del RNA mensajero y la síntesis proteica de las mitocondrias.

Respecto a la hipoacusia congénita, se han visto tanto casos sindrómicos como no sindrómicos. Los órganos y tejidos más afectados por las mutaciones del ADNmt serán aquellos que tengan un mayor requerimiento energético: el sistema nervioso central, los órganos de los sentidos, el corazón, el riñón y el aparato endocrino.

En los cuadros sindrómicos se asocian a sordera congénita con episodios de encefalopatía, acidosis láctica, miopatía, diabetes mellitus, oftalmoplejia, ataxia y atrofia óptica. La mutación en el gen RNA ribosómico 12S (12S rRNA) y tRNA-Ser pueden conducir a sordera no sindrómica. Asimismo, la mutación en el gen 12S rRNA también se asocia con susceptibilidad a los aminoglucósidos, conduciendo a hipoacusia en aplicaciones de dosis que normalmente no afectarían la audición.

El elevado número de genes implicados y la diversidad funcional de las proteínas codificadoras son consecuencias lógicas de la natural complejidad anatómica y fisiológicas del oído interno humano.

Se puede estimar que más de cien genes pudieran estar directamente implicados en las sorderas hereditarias no sindrómicas, de los cuales hasta el momento solo se han identificado 25 genes nucleares de los más de 73 localizaciones en el mapa genético.

La localización y la caracterización molecular de los genes causantes de sordera, y la identificación de sus productos y funciones correspondientes, son el futuro en la tentativa de la elucidación de la patogénesis de la sordera. Estos conocimientos podrán ser utilizados en el diagnóstico prenatal, en la detección de heterocigotos para genes recesivos, y en el tratamiento de los afectados (117, 118, 119, 120).

1.13.1 Patogenia de la alteración en el gen que codifica la conexina 26 (gen GJB2). Comprensión de los desórdenes que ocurren en el gen GJB2.

1.13.1.1 Conexinas

Actualmente se encuentran identificadas 20 tipos de conexinas en el genoma humano. Se expresan en todos los tejidos con excepción de los glóbulos rojos y las células del músculo esquelético.

Se usan dos nomenclaturas para clasificarlas: una las divide en dos grupos (alfa y beta) de acuerdo con similitudes en sus secuencias proteicas, y la otra las agrupa por su peso molecular, el kilodaltons (kDa), que es la más usada.

Las conexinas contienen regiones especializadas que les permiten fijarse en la doble capa lipídica de la membrana celular, además, poseen segmentos extracelulares de fijación al conexón opuesto y regiones intracelulares con funciones reguladoras. Estas regiones son básicamente dos terminales citoplasmáticas (Fig. 4), amino una (N) y carboxílica la otra (C), un bucle citoplasmático (CL), dos bucles extracelulares (E1, E2) y cuatro dominios transmembrana (M1 a M4). (121).



Fig. 4. Estructura básica de la conexina: el esquema representa la cadena de conexina (en gris) transcurriendo la membrana celular. E1, E2: bucles extracelulares. M1, M2, M3, M4: dominios transmembrana. CL: bucle citoplasmático. N, C: terminales amino y carboxílico citoplasmáticos (121).

El tercer dominio transmembrana (M3) de cada conexina forma el límite externo del canal (Fig. 5) y es el segmento en mayor contacto con el poro acuoso de la unión *gap* (UG). Las conexinas difieren entre sí en la secuencia de los bucles intracelulares y los terminales carboxílicos. La permeabilidad de la UG depende de los tipos de conexina constitutivas y de la carga de la molécula que transita el poro (121).

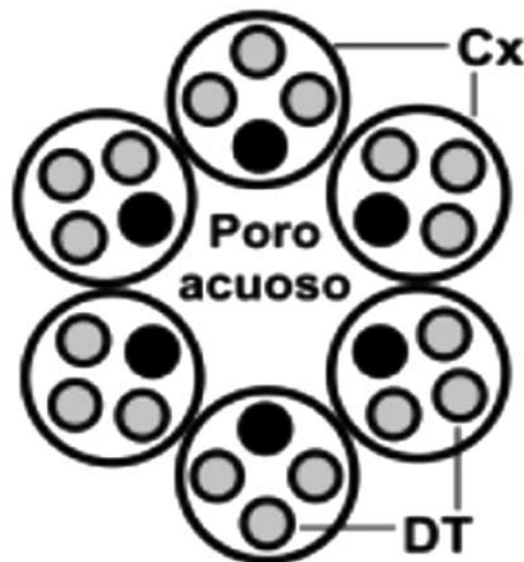


Fig. 5. Diagrama del corte transversal de un conexón: el poro acuoso rodeado por seis conexinas y sus cuatro dominios transmembrana. El dominio M3 (círculo negro lleno) conforma los límites externos del poro. Cx: conexina. DT: dominio transmembrana (121).

En el órgano de Corti del oído interno se expresan la conexina 26, 30, 31, 32 y 43, pero de todas ellas, principalmente, la conexina 26. Mutaciones espontáneas de su gen se asocian con la sordera no sindrómica hereditaria autosómica recesiva, la forma más común de sordera hereditaria.

1.13.1.2 Uniones *Gap* (UG).

Cada célula mantiene su individualidad funcional, aunque la funcionalidad tisular depende de la coordinación armónica con otras células. Los organismos han desarrollado múltiples estrategias para alcanzar estos propósitos, que incluyen interacciones a distancia mediadas por mecanismos neuronales o endocrinos, o interacciones cercanas mediadas por contacto físico directo, célula a célula, por medio de canales especializados. Una forma de comunicación intercelular involucra a verdaderos poros o canales acuosos de la membrana plasmática entre células contiguas, denominados canales intercelulares, uniones comunicantes, uniones *gap* o *gap junctions*.

1.13.1.3 Estructura y función de las uniones *gap*.

Las UG son sistemas de comunicación de la membrana celular que une los citoplasmas de células adyacentes, constituidos de canales por los cuales los organismos multicelulares se proveen de un sencillo método de sincronización de respuestas mediante intercambio directo de iones, que son pequeñas moléculas, de peso molecular no superior a 1.000-1.200 dalton, como Ca^{++} , cAMP, glutatión y macromoléculas como nucleótidos, azúcares y aminoácidos. Estas funciones intercelulares permiten actividades de coordinación rápida, como la transmisión de señales eléctricas neuronales.

Las UG están constituidas por proteínas transmembrana denominadas conexinas, que en grupos de seis rodean un poro de la membrana formando un hemicanal o conexón (Fig. 6).

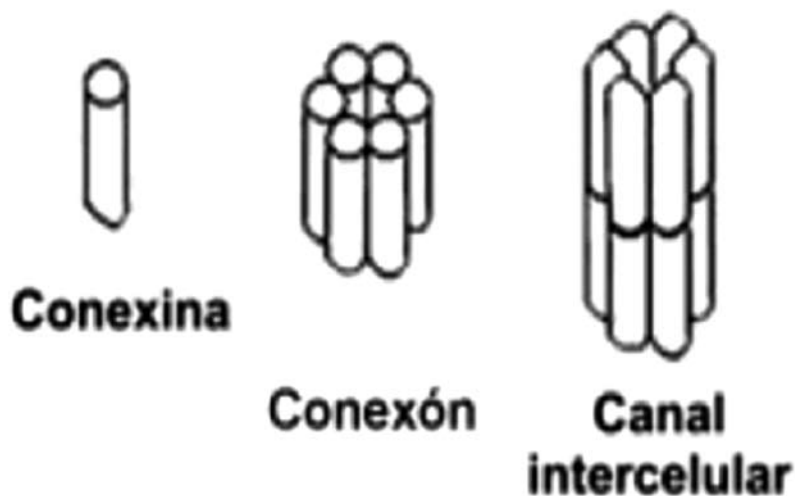


Fig. 6. La conexina agrupada en seis unidades conforma un conexón, que perfora la membrana plasmática. Dos conexones, acoplados en el espacio extracelular, forman una unión *gap*, la que, rodeando el poro acuoso, conecta los citoplasmas de dos células vecinas. (121).

Dos conexones de células adyacentes se alinean y anclan entre sí, en el espacio extracelular, para formar una UG o canal intercelular. Cantidades variables de UG se agrupan en segmentos de la membrana y conforman placas unionales (121).

1.13.1.4 Mutaciones en el GJB2.

El gen GJB2 localizado en el brazo largo del cromosoma 13 (13q12), codifica la proteína Cx 26 (122).

Mutaciones en este gen han sido descubiertas en sordera no sindrómica autosómica dominante (DFNA3) y sordera no-sindrómica autosómica recesiva (DFNB1) y desde entonces se ha comprobado que son prevalentes en la población sorda (123).

Hay descritas en el GJB2, a fecha de octubre de 2012 causante de sordera (38):

- Sindrómica autosómica dominante: 8 mutaciones.
- No sindrómica:
 - Autosómica dominante: 8 mutaciones.
 - Autosómica recesiva: 92 mutaciones.

Con respecto a la patogenia de las mutaciones en el gen GJB2 asociadas a hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva y de mayor interés en este trabajo, destacamos:

- Las mutaciones 35delG y 30delG son las más frecuentemente encontradas. Tiene una frecuencia de transmisión alélica en la población caucásica de 1/31 y 1/35 según Lench I (1997), Estivill (1998) y Gasparini (2000), (66, 67, 80).

La mutación se produce en una serie de sus residuos G en las posiciones 30-35 de la secuencia de ADN del gen GJB2. La proteína que se origina a partir de un gen con esta mutación es una proteína truncada que no puede realizar su función.

Esta proteína está relacionada con el reciclaje de iones de potasio endolinfático en las células ciliadas durante la transducción del sonido. Es sabido que personas con mutaciones en el gen GJB2, muestran pérdida neuronal auditiva. Si la red de uniones tipo *gap* es interrumpida, se rompe una vía mayor para el reciclaje del potasio (102, 103, 104, 105, 106).

- La mutación R143W en la que estructuralmente ocurre una sustitución del aminoácido C por T en la posición 427 lo cual genera un cambio de aminoácido en la Cx26 (Arginina por Triptófano). Fue inicialmente descubierta en población africana (124) y en la actualidad se sabe que es la mutación más prevalente en África. Aunque no se conoce en profundidad la fisiopatología de la mutación, se ha demostrado *in vitro* que su presencia en homocigosis evita la formación de canales funcionales (125).

Aunque su presencia en heterocigosis por sí misma no produce sordera, se ha comprobado que los portadores sanos poseen una epidermis engrosada (126). Este rasgo está relacionado con una ventaja selectiva de los portadores ya que el mayor grosor en la piel los hace menos susceptibles a invasión celular por patógenos como *Shigella Flexneri* (127).

1.13.2 Patogenia de la sordera por mutación del ADN mitocondrial.

El ADN mitocondrial es una molécula circular de 16.569 nucleótidos que se encuentra en el interior de las mitocondrias. Éstas son pequeñas organelas que están presentes en casi todas las células del cuerpo y tienen su propio ADN privado.

La frecuencia de estas mutaciones en el ADN mitocondrial difieren mucho de un país a otro. En Europa es del 0,5%-2,4% y en España es del 15%.

Las células ciliadas con mayor número de mitocondrias son las células ciliadas externas del órgano de Corti, y dentro de éste las situadas en la espira basal del caracol (lo que explicaría que las primeras frecuencias en afectarse en las alteraciones genéticas mitocondriales sean las altas). Aún así, son muchas las lagunas que quedan por dilucidar en cuanto al mecanismo de producción de la hipoacusia por parte de las mutaciones del ADN mitocondrial.

Dentro de las mutaciones del ADN mitocondrial pueden haber deleciones, inserciones, duplicaciones, etc.

Se han descrito en el genoma mitocondrial cinco mutaciones generadoras de hipoacusia no sindrómica. Sin embargo, para tres de esas cinco mutaciones se han encontrado en pacientes síntomas adicionales acompañando a la hipoacusia. Con excepción de la mutación del A1555G en el gen del rRNA 12S, todas las mutaciones responsables de hipoacusias no sindrómicas están localizadas en el gen del rRNA Ser (UCN).

La mutación del A1555G parece ser más la frecuente y tiene una distribución mundial. Se produce por la sustitución de una base nucleotídica, la adenina; por otra, la guanina, en la posición 1555 del gen 12S del RNA ribosómico (rRNA), que interviene en la unión con el RNA de transferencia (tRNA). Este cambio provoca que la unión de los distintos tRNA sea mucho más laxa, dando lugar a errores en la traducción proteica.

Esta alteración queda notablemente incrementada con la administración de aminoglucósidos los cuales parecen unirse de forma específica en esta región de la subunidad 12S, aumentando la dificultad en el acoplamiento de los tRNA.

La mutación del A1555G se localiza en el gen del rRNA 12s, afectando a una región del RNA ribosómico que, en su homólogo bacteriano, está implicado en la unión al aminoglucósido. Se supone que la mutación haría su estructura secundaria más parecida a la bacteriana, produciendo una mayor susceptibilidad a los aminoglucósidos.

Por lo tanto, existe la hipótesis de que la mutación A1555G cambia el ribosoma humano y lo hace más parecido al homólogo bacteriano de *Echerichia Coli*, susceptible a los aminoglucósidos, con el consiguiente efecto tóxico ante la toma de este tipo de fármaco.

También la aparición de hipoacusia en ausencia de este tipo de medicamento podría estar explicado porque la región rRNA-12S mitocondrial es una zona altamente conservada. En presencia de la mutación se produce un déficit traslacional de RNAm que se manifiesta por un déficit de la capacidad reparadora del daño coclear producido por cualquier causa, ya sea ruido, edad, toma de ácido acetil salicílico (AAS), llevando a la muerte celular.

Otra posible explicación es la “teoría energética,” que se deriva de que el aporte energético del órgano de Corti (células ciliadas) y la estría vascular tiene como origen la fosforilación oxidativa mitocondrial, de tal forma, que produce un déficit de energía en forma de ATP provocando la muerte celular.

(117, 118, 119, 120).

1.14 Estado actual del conocimiento en la hipoacusia neurosensorial no sindrómica autosómica recesiva.

Actualmente se han localizado en los cromosomas humanos más de un centenar de genes que, alterados, pueden generar sordera o hipoacusia.

Se sabe que hay un gran número de alelos mutantes y aunque aún no han sido todos perfectamente localizados, es evidente la heterogeneidad genética de la sordera.

Dada la importancia de la sordera como problema de salud pública su estudio, se ha incrementado en todos los países.

A finales del año 2012, la *Hereditary Hearing Loss Homepage* lista un total de 171 *loci* de **sordera no sindrómica**: 64 de sordera no sindrómica autosómica dominante; 95 de sordera no sindrómica autosómica recesiva; 5 de sordera no sindrómica ligada al cromosoma X, y 7 para las formas de transmisión mitocondrial (38).

Antes de 1992 a la mayoría de las sorderas congénitas se les atribuía la posible causa de infección viral durante el embarazo. Aunque desde la década de los 70 del pasado siglo se publicaban series de familias afectadas de sordera, ya fuese congénita o postlocutiva, en las que sospechan la etiología genética no se había logrado aislar genes implicados en la misma.

En 1992 se describe el primer cromosoma implicado en la sordera, el 5q31, responsable de hipoacusia no sindrómica post-lingual autosómica dominante. Se descubre en una familia de Costa Rica de ocho generaciones documentada desde 1754. Los enfermos comenzaban con sordera bilateral a partir de los 10 años e inevitablemente progresaba afectando todas las frecuencias (128).

En 1993, Prezant realiza en una familia árabe - israelí la primera identificación de la mutación del ADN mitocondrial, en concreto la A1555G, que a su vez era el primer defecto molecular causante de HNS no sindrómica frente a la exposición de aminoglucósidos (118).

Guilford, en **1994**, localizó el primer *locus* asociado HNS prelingual no sindrómica autosómica recesiva en dos familias de Túnez. Este *locus*, el DFNB1, fue mapeado en el cromosoma 13q (122). Con posterioridad, Hutchin, en 1993, en Japón, y Pandya, en 1997, en Mongolia, publican nuevos casos afectos de HNS no sindrómica frente a la exposición de aminoglucósidos (81, 82).

Pandya describe a dos familias que sufren sordera irreversible después de exposición a tratamiento con aminoglucósidos y demuestra que son afectas de la mutación del ADN mitocondrial (82).

En 1996, Matthijs, en el Zaire, publica nuevos casos en ausencia a la exposición de antibióticos (83).

En España, Sarduy y colaboradores, en 1998, gracias a un estudio conjunto de población española y cubana, encuentran casos afectados por la mutación del ADN mitocondrial, y no todos habían estado expuestos a aminoglucósidos (84).

Gallo Terán, en 1998, en Cantabria, detecta en el genoma mitocondrial que a excepción de la mutación A1555G, que está en el gen rRNA 12S, todas las hipoacusias responsables de sordera no sindrómica, están localizadas en el gen tRNA^{Ser} (UCN)

(110).

Estivill, en el mismo año, estudia la mutación en 70 familias españolas con pérdida neurosensorial (36 congénita y 34 de comienzo tardío), detectando que la mutación del A1555G es la más común. La padece el 27,1% de todas las familias con HNS y el 55,9% de los que tienen HNS progresiva (120).

El *locus* DFNB1 contiene el gen *gap junction* beta-2 (GJB2) que codifica la proteína Cx 26, fue descrito por Kellsell en 1997 (129).

Varios grupos se han detenido a realizar tamizaje en diversas poblaciones para buscar mutaciones en el gen GJB2 en familias con sordera no sindrómica autosómica recesiva (DFNB1). Estudios en España, Italia, Pakistan, Cuba e Israel, demuestran una alta frecuencia de mutaciones en este gen (130, 131, 132, 133).

Durante mucho tiempo se pensaba que los genes responsables de la sordera no sindrómica se expresarían sólo en la cóclea, ya que el fenotipo clínico se limitaba a la sordera. Además se pensaba que estos genes serían responsables de funciones únicas dentro del oído interno. Sorprendentemente la mayoría de los genes de la sordera no sindrómica no se limitan a la cóclea.

Basaremos nuestro estudio en la sordera genética, no sindrómica autosómica recesiva en la que la implicación del gen GJB2 está en más del 55 % de los casos, y de ellos un 30% se presenta como esporádicos en familias sin historia anterior de sordera. Hay más de 70 genes identificados relacionados con la sordera, pero hoy día en la práctica clínica, los test de diagnóstico genético están limitados a pocos genes (GJB2, GJB6, SLC26A4, WFS1 y algunas sorderas por mutación del ADN mitocondrial) (40, 19, 20, 134, 135).

En 1997, Carrasquillo y colaboradores demostraron que el gen GJB2 se segregaba de manera autosómica recesiva y que el alelo mutante era el 35delG (65).

Simultáneamente, Denoyelle y colaboradores realizaron el mismo tamizaje en familias de Túnez, Francia, Nueva Zelanda e Inglaterra, reportando que de 72 individuos estudiados, el 69% poseían la mutación 35delG (66). El grupo de Estivill, en 1998, estudió en familias de Italia y España encontrando la mutación 35delG en un 85% de ellas. También ha sido descrita en el 37 % de casos aislados y esporádicos (67).

La Unidad de Genética Molecular del Hospital Ramón y Cajal se descubrió en el año 2002 la segunda causa genética más frecuente de sordera profunda prelocutiva en España. Encuentran una nueva mutación que afecta a un gen muy próximo al GJB2. Se trata del gen de la conexina 30, gen denominado GJB6, lo que explica la herencia digénica (104).

Por tanto, el *locus* DFNB1 es un locus de hipoacusia complejo que contiene dos genes, GJB2 y GJB6, que codifican productos estructural y funcionalmente relacionados: las conexinas 26 y 30 (104, 105, 106, 110, 129, 135).

En 2001 se encontraron otros genes responsables de HNS, que codifican otras conexinas: el GJB3 (conexina 31) (108).

En la población española las cuatro mutaciones responsables de hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva que se han hallado con mayor frecuencia son la mutación 35delG (también llamada 30delG) con un 67,8% en el gen que codifica la Cx 26, (GJB2); la delección de 309 kilobases (Kb), que afecta al gen de la Cx 30, representa el 7,7% de los alelos mutantes de hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva (GJB6-D13S1830); la mutación Q829X en el gen de la otoferlina 3% (todas ellas son prelocutivas), y la mutación A1555G en el gen ARN ribosómico (ARNr) 12S del genoma mitocondrial de manifestación postlocutiva (110, 111, 112).

Menéndez y colaboradores, en Cuba, en 2001 estudian la mutación del gen de la Cx 26 en 47 individuos pertenecientes a 15 familias con HNS autosómico recesiva. Observan que en 10 de 15 familias (66,66%) existen mutaciones en ambos alelos de la Cx 26. En estas familias 25 de 32 cromosomas analizados contenían la mutación 35delG. Se detectaron en heterocigosis con la 35delG, las mutaciones E47X, W77R, R143W, V95M, R184P (131).

1.15 Punto de partida de nuestro estudio.

En el año 2004 ponemos en marcha en el Hospital Insular Universitario de Gran Canaria el primer estudio en todo el archipiélago canario dedicado a la búsqueda de la prevalencia de mutaciones en el gen codificador de la Cx 26 en la población con HNS severa profunda bilateral no sindrómica.

Tras un análisis realizado por la Fundación Canaria de Investigación y Salud (FUNCIS), organismo externo oficial de evaluación, se otorga financiación para este estudio que abarcó tanto la investigación básica como la investigación clínica aplicada.

Se diseñaron tres subproyectos para llevar a cabo el estudio:

El subproyecto 1 analizó la introducción en la clínica de pruebas diagnósticas que permitieran la identificación de la delección 35delG, del gen codificador de la Cx 26, de forma habitual, con adecuada relación costo-efectividad.

Para ello se estudiaron a 68 individuos (32 mujeres y 36 hombres) afectados de sordera neurosensorial no sindrómica, bilateral, congénita o prelocutiva de intensidad profunda, pertenecientes a 32 familias, documentadas en la Unidad de Atención a Hipoacusias del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria.

Estudiamos un rango de edad de 3 a 57 años. La media de edad fue de 24,7.

De las 32 familias estudiadas desecharmos 6, a la que pertenecían 28 individuos, en las que se detectó el modo de transmisión dominante.

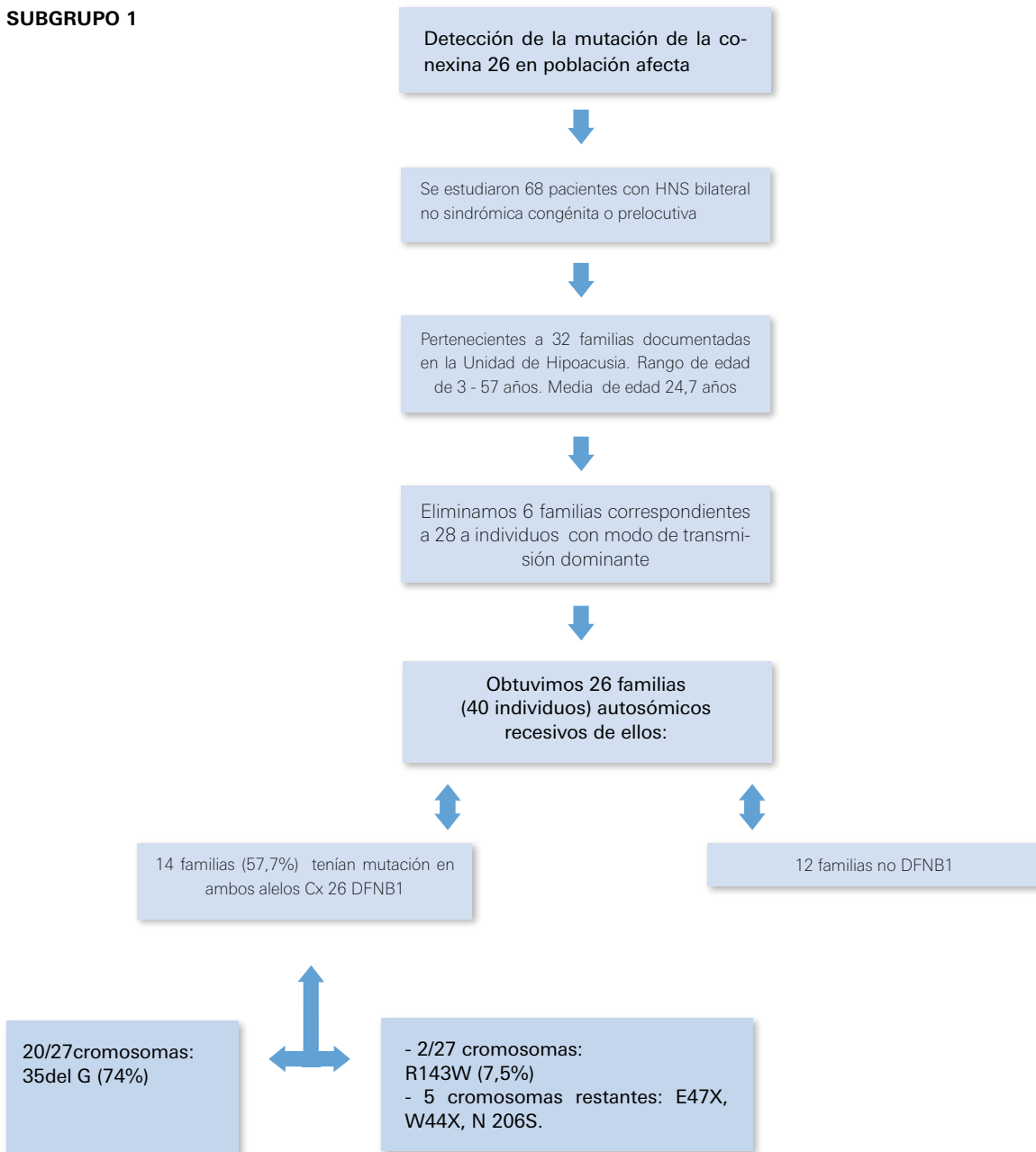
De las 26 familias restantes (formadas por 40 individuos), clasificadas como de herencia autosómica recesiva, en 14 se identificaron mutaciones en ambos alelos de la conexina 26 (57,7%); por tanto se clasificaron como DFNB1, y a 12 familias como no DFNB1 (42,3%).

De estas familias DFNB1, 20 de 27 cromosomas afectados contenían la mutación 35delG. En 17 cromosomas la delección 35delG apareció en homocigosis, mientras que en 3 cromosomas se observó en heterocigosis.

Otras mutaciones del gen Cx 26 detectadas fueron la R143W, E47X, W44X y la N206S.

Se concluyó que la mutación más frecuente del gen de la Cx 26 (GJB2) fue la 35delG en la Comunidad Autónoma de Canarias, responsable del 74% de los casos de sordera no sindrómica autosómico recesiva, seguida de la R143W, con el 7,5% de la casuística en nuestra serie. (Esquema 1).

SUBGRUPO 1



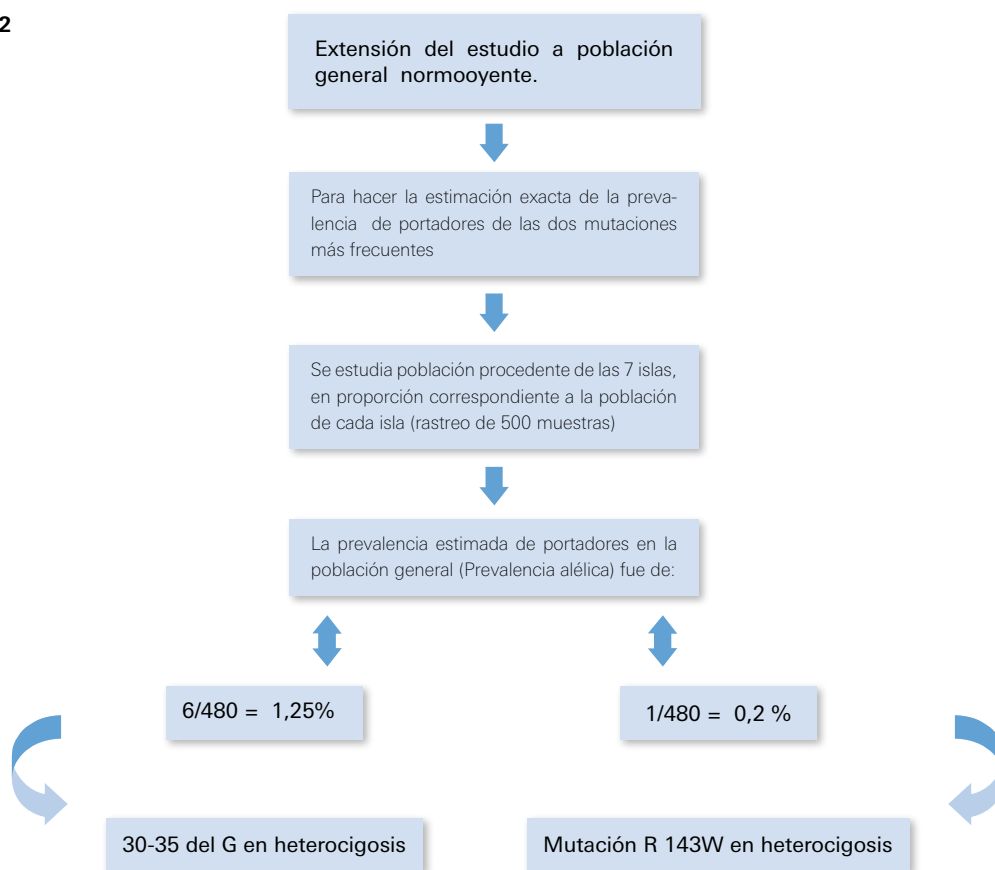
Esquema 1

En el subproyecto 2 como ya era conocido cuáles eran las mutaciones más frecuentes en la población afecta, se extendió el estudio a la población general. Se tomó una población normooyente para la determinación y análisis de la frecuencia de las mutaciones más habituales del gen GJB2.

Para ello se realizó un rastreo en 500 muestras de población general (normooyente) procedentes de las 7 islas del archipiélago canario, en proporciones correspondientes a las poblaciones de cada isla para hacer una estimación exacta de la prevalencia de portadores de las dos mutaciones más frecuentes encontradas en la primera parte de este estudio (30-35delG y R143W). Las muestras de sangre procedían de la genoteca del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria y del Departamento de Genética Forense de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

La prevalencia estimada de portadores en la población general para la mutación 30-35delG resultó ser de 6/480 (1,25%) y de la R143W 1/480 (0,2%) (Esquema 2).

SUBGRUPO 2



Esquema 2

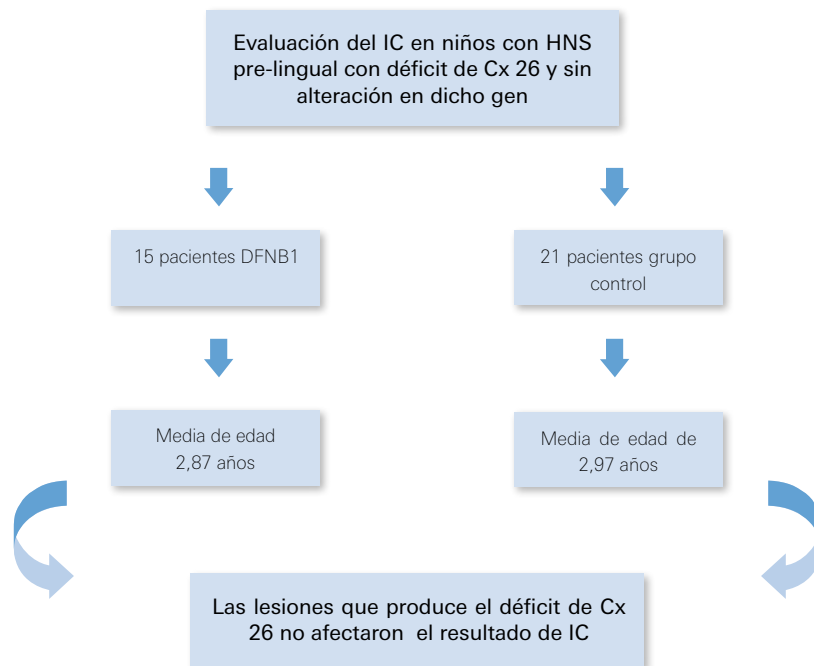
Por último el **subproyecto 3** evaluó el efecto y resultados terapéuticos del implante coclear en niños con HNS profunda prelingual, con mutación en el gen GJB2, comparándolo con niños implantados con hipoacusia congénita sin alteraciones de dicho gen.

Al momento de terminarse el estudio teníamos 206 niños implantados de junio de 1993 a diciembre de 2003.

Para el estudio se incluyeron 15 niños en el grupo DFNB1 y 21 en el grupo control. La media de edad fue de 2.87 años para el DFNB1 y de 2.97 años para el control, por lo que no existieron diferencias importantes en la edad de implantación.

No se encontró diferencias significativas en los resultados tanto audiométricos como en las evaluaciones del lenguaje al comparar los niños con DFNB1 y el grupo control. Al parecer las lesiones que produce el déficit de Cx 26 en el oído interno no parecían afectar el resultado del implante coclear, por lo que estos pacientes serían buenos candidatos a implante coclear. (Esquema 3).

SUBGRUPO 3



Esquema 3

Ante la problemática creciente de la sordera genética se hace necesario realizar estudios tendentes a aclarar la situación en nuestra isla de Fuerteventura sobre la prevalencia de la HNS genética no sindrómica en la población hipoacúsica pediátrica, así como conocer las características clínicas de los pacientes portadores de estas mutaciones.

En el Hospital General de Fuerteventura se puso en marcha el *screening* auditivo a todos los recién nacidos en el año 2009. Nuestros pacientes están fuera de este *screening*. No obstante es bueno aclarar que el *screening* auditivo no puede identificar

las hipoacusias adquiridas o progresivas de aparición tardía. Se requieren otros métodos de seguimiento para identificarlas; éstas pueden oscilar entre un 10% a un 20% de todos los casos de hipoacusia infantil (19, 136).

El presente estudio permitirá reevaluar a aquellos niños con sordera. El conocimiento de la predisposición a padecer sordera evitará posibles tratamientos perjudiciales y, cuando proceda, se les orientará acerca del consejo genético.

La precocidad en la detección de la hipoacusia y su diagnóstico determinarán el desarrollo del lenguaje oral y la integración de los niños en nuestra sociedad (137, 138, 139, 140).



Planteamiento y objetivos

II. HIPOTESIS DE TRABAJO. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS.

2. Justificación del presente estudio.

- Es indudable que el progreso científico técnico pone a nuestra disposición métodos diagnósticos sensibles para la detección precoz de la sordera. A pesar de todo, no existe un acuerdo unánime sobre la interpretación de la efectividad de los tests, sobre la evaluación de los resultados y sobre la selección de las estrategias terapéuticas.
- Es imposible que a cada paciente con deficiencia auditiva se le realice los tests para todos los genes involucrados en la sordera, por el alto coste y la demora que ello conlleva. Sólo con una amplia colaboración multidisciplinar, realizando estimaciones sobre la prevalencia de la sordera, con un número amplio de sujetos es posible reconocer nuevos enfermos o portadores de genes anormales y mejorar la sensibilidad de los actuales métodos existentes.
- El conocimiento de cuáles son las mutaciones más frecuentes y de qué fenotipo se puede esperar, como consecuencia de una mutación en un gen determinado, deberá contribuir a orientar el diagnóstico y el consejo genético.
- Los datos de epidemiología genética orientan el diagnóstico molecular, puesto que permiten diseñar protocolos de detección de mutaciones adaptadas a cada población.
- Atendiendo a los datos de prevalencia de sordera genética por mutación en el gen GJB2 y en el ADN mitocondrial, tanto a nivel internacional como en los estudios nacionales, resulta factible y se justifica conocer cuál es la situación que tenemos en la isla de Fuerteventura, con el fin de dilucidar si el protocolo actual que se sigue es el adecuado, máxime cuando aún no está instaurado el protocolo de diagnóstico precoz de sordera.
- La heterogeneidad genética y clínica de la sordera me ha motivado a realizar este trabajo de investigación.

2.1 Objetivos

• Generales:

- Establecer la morbilidad por hipoacusia genética en el Área de Salud de Fuerteventura de la población pediátrica pre-escolar, comprendida de tres a seis años, en el periodo de enero de 2003 a diciembre de 2008.
- Buscar su incidencia, mecanismos genéticos y no genéticos, gravedad, evolución y posibilidades de tratamiento de la sordera genética no sindrómica autosómica recesiva.

• Específicos:

1. Determinar la incidencia de sordera genética secundaria a mutaciones en el gen GJB2 y en el ADN mitocondrial.
2. Estudiar variables: sexo, edad de sospecha de hipoacusia, edad del diagnóstico de hipoacusia, procedencia y evaluación del tratamiento seleccionado.
3. Valorar los factores de riesgo prenatal, perinatal y post natal presentes en cada caso.

4. Orientar posibles prioridades para la estrategia de desarrollo de análisis molecular rutinario, mejorando los protocolos de diagnóstico existentes.



Material y método

III. MATERIAL Y MÉTODO

A. MATERIAL

3. Ámbito de estudio

Isla de Fuerteventura, en la población fija de niños entre tres y seis años, con HNS congénita, bilateral, no sindrómica, en el período de investigación: de enero de 2003 al 31 de diciembre de 2008.

3.1 Características de la población

En los últimos diez años, Fuerteventura ha experimentado un relevante auge poblacional en el que existe una importante diversidad racial fruto de la abundante inmigración recibida por la isla a consecuencia del buen desarrollo económico.

La población, de tres a seis años, cursa educación infantil distribuida en cuarenta y seis colegios. De estos centros, dos son preferentes para la integración de niños con minusvalía auditiva. Se encuentra, uno, en Gran Tarajal; el otro, en Puerto del Rosario.

En la Consejería de Educación, durante los años 1997-2008, no hay registrado niño alguno que comenzara el primer curso de primaria sin haber estado escolarizado en educación infantil.

No existe contaminación ambiental ni acústica urbana. La principal fuente riqueza de la isla es la industria turística, seguida de la construcción, el comercio, la ganadería caprina, la pesca, y en menor medida, la agricultura, cuyo grano destaca en calidad.

3.2 Población objeto de los servicios

Niños de tres a seis años con tarjeta sanitaria en el Área de Salud de Fuerteventura, del 1 de enero de 2003 al 31 de diciembre de 2008, según consta en los registros de población adscrita a la tarjeta sanitaria del Servicio Canario de la Salud. Durante el quinquenio estudiado la población ha oscilado en torno a los 4630 pacientes entre 3 y 6 años.

La distribución de la población por grupos de edades con tarjeta sanitaria censada en el Área de Salud de Fuerteventura se detalla en la siguiente tabla.

Como se aprecia el número de niños de 3-6 años en 2003 ascendía a 4.168 y en el año 2008 a 4.798.

ÁREA DE SALUD DE FUERTEVENTURA**POBLACIÓN ABSCRITA A TARJETA SANITARIA**

EDAD	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
0 - 2	1.437	1.492	1.354	1.919	2.447	2.747	3.020	3.143	3.375	3.556	3.693	3.706
3 - 6	2.624	2.625	2.438	2.841	3.346	3.772	4.168	4.527	4.673	4.855	4.933	4.798
7 - 14	5.125	5.277	5.001	5.426	5.890	6.256	6.582	7.024	7.283	7.514	7.741	7.400
15 - 65	36.218	38.743	42.113	48.467	55.267	61.548	65.681	71.301	74.645	77.079	78.496	70.385
> 65	3.621	3.876	4.403	4.621	4.794	5.220	5.071	5.271	5.453	5.582	5.903	5.876
TOTAL	49.025	52.013	55.309	63.274	71.744	79.543	84.522	91.266	95.429	98.586	100.766	92.165

Tabla III.1: Población adscrita a tarjeta sanitaria. Fuente: Memoria anual de actividad 2008 (141).

3.3 Atención primaria**ESTRUCTURA ATENCIÓN PRIMARIA****ÁREA DE SALUD DE FUERTEVENTURA AÑO 2008**

Zona Básica de Salud	Centros
La Oliva	Centro de Salud de Corralejo Consultorio local de la Oliva
Puerto del Rosario	Centro de Salud de Puerto del Rosario Consultorio local de Antigua Consultorio local de Betancuria Consultorio local de Vega de Río Palmas Consultorio local de Valle de Santa Inés
Tuineje-Pájara	Centro de Salud de Gran Tarajal Consultorio local de Tuineje Consultorio local de Pájara Consultorio local de Tiscamanita Consultorio local de La Lajita Consultorio local de Tarajalejo
Península de Jandía	Centro de Salud de Morro Jable Consultorio local de Costa Calma
Antigua Betancuria	Centro de Salud de Antigua

Tabla 2. Área de Salud de Fuerteventura 2008. Fuente: Memoria anual de actividad 2008 (141).

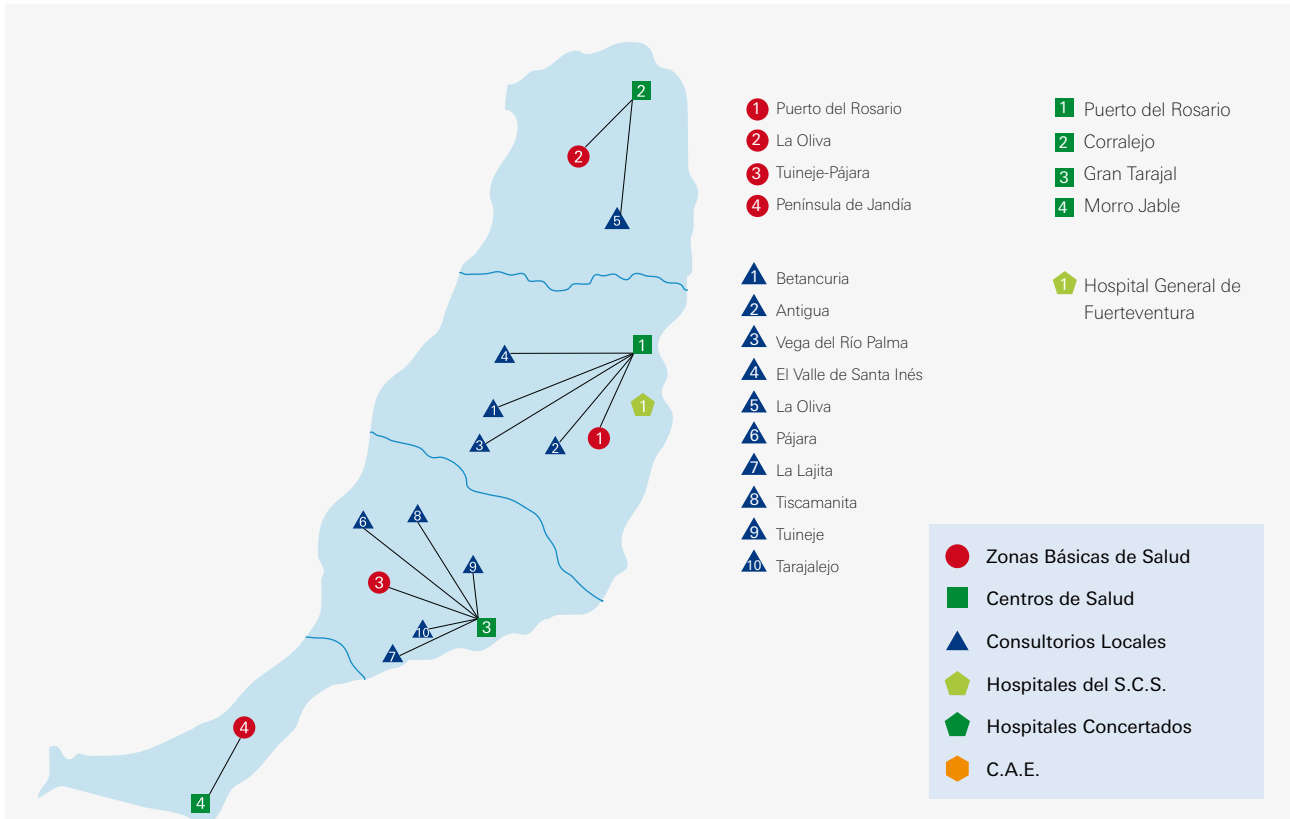


Figura 7: Mapa sanitario. Fuente: Gobierno de Canarias (142).

En la tabla 5 se detallan los Centros de Salud con sus respectivos consultorios locales distribuidos de manera estratégica para cubrir la totalidad de la isla de Fuerteventura. (Fig. 7).

Progresivamente se ha ido aumentando el número de facultativos que prestan servicios en Atención Primaria siendo en el año 2008 un total de 79 médicos de cabecera y 15 pediatras (141).

3.4 Atención especializada

A lo largo del periodo 2003-2008, los recursos comunes en Atención Especializada consistieron en dos facultativos especialistas en Otorrinolaringología, así como cuatro consultas semanales para cada uno, con los recursos materiales y organizativos necesarios.

El plan funcional del Hospital General tuvo como consecuencias la aprobación del proyecto de ampliación y la mejora del mismo, lo que supone un crecimiento de un 100 % de la superficie actual.

3.5 Sujeto de estudio

- Pacientes incluidos en el registro del área educativa de niños con deficiencia auditiva de la Consejería de Educación del Gobierno de Canarias.
- Pacientes nuevos, diagnosticados en la consulta externa de otorrinolaringología del Hospital General de Fuerteventura.

- Pacientes diagnosticados de hipoacusia adscritos al Área de Salud de Fuerteventura y registrados en el Instituto Nacional de Empleo.

Una vez seleccionados se procedió a asignarle a la historia clínica un número correlativo especialmente destinado a este estudio.

3.6 Criterios de selección

3.6.1 Criterios de inclusión

- Sexo: ambos sexos
- Edad: Entre 3 y 6 años.
- No carácter sindrómico de la hipoacusia (no integrada a un síndrome polimalformativo o polipatológico).
- No factores etiológicos conocidos
- Hipoacusia neurosensorial bilateral
- Establecimiento tanto congénito (prelingual) como postlingual de la hipoacusia.
- Únicamente se seleccionarán los pacientes a los que se les puedan realizar los estudios.

3.6.2 Criterios de exclusión

- Menores de tres años
- Mayores de 6 años
- Pacientes con deficiencias neurológicas asociadas que impidan su evaluación o multisindrómicos.
- Pacientes cuya causa podría ser justificada únicamente debido a un factor ambiental, por ejemplo: trauma acústico.
- Pacientes que no desean ser estudiados.
- Padres o tutores que no deseen que su hijo sea estudiado.

3.6.3 Criterios de HNS bilateral no sindrómica.

El umbral tonal por vía aérea fue medido y se determinó la conducción por vía ósea para identificar el tipo de hipoacusia. Se definió HNS siempre que existía una afectación ósea superior a 30 dB y siguiendo los criterios audiométricos del *Dutch College of General Practitioners* (139). Se confirmó la sordera con PETC. No se consideraron pacientes con sordera asociada a algún síndrome conocido.

3.6.4 Factores de riesgo relacionados con hipoacusia.

Se tuvieron en cuenta los factores de riesgo considerados por el JCIH en su posicionamiento de 2007 (144).

3.7 Localización y nivel de atención sanitaria en que se realiza el estudio.

A-1. Consulta externa de otorrinolaringología, Hospital General de Fuerteventura. Se confecciona la historia clínica otorrinolaringológica y la exploración física. Se realiza la exploración auditiva con otoemisiones acústicas transitorias (OEAT), timpano-

metría y audiograma tonal liminar (ATL) con auriculares en cabina insonorizada.

A-2. Unidad de Hipoacusia, Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. Se realizó audiometría infantil, los potenciales evocados auditivos de tallo cerebral (PEATC) y audiometría verbal (logoaudiometría).

A-3. Unidad de Genética Médica, Hospital Materno Infantil de Las Palmas de Gran Canaria. Se aisló el ADN genómico y se llevó a cabo el estudio genético de las mutaciones 35delG, R143W y A1555G.

B- MÉTODO

4. Metodología del estudio

Si los pacientes cumplían los criterios de inclusión y exclusión de esta tesis, se procedió a:

I - Informar a los familiares del paciente.

II- Solicitar autorización para colaborar en una investigación.

III- Asegurar la confidencialidad de los datos. Aspectos éticos.

A- Entregamos información y formulario de consentimiento informado.

Los padres o tutor legal recibieron información adecuada y se obtuvo su consentimiento por escrito antes de revisar su historia clínica y ser incluido en el estudio. El modelo de consentimiento se archivó y se hizo constar fecha y firmas de la médica investigadora y de los padres o tutor legal (apéndice 1).

B- Confidencialidad de los datos

Los datos de carácter personal del estudio fueron datos disociados. Se prosiguió de acuerdo con lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre, "Protección de Datos de Carácter Personal", para el manejo de datos personales disociados (145).

En el formulario de recogida de datos el paciente fue identificado sólo mediante un código. El médico investigador mantuvo un registro confidencial que relacionó los códigos de identificación con la identificación del paciente.

Los datos se llevaron al Departamento de Estadística de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, donde se intentó identificar la incidencia de sordera genética no sindrómica, relacionándola con la alteración específica encontrada, la posible identificación con factores asociados y el valor predictivo de los mismos.

IV- Confección de historia clínica otorrinolaringológica (ORL) completa.

IV-A La historia clínica constó de anamnesis detallada, centrada en todos los aspectos relacionados con la hipoacusia, en la

que se buscó factores y grupos de riesgos según criterios de inclusión y exclusión. En la exploración física del paciente se midieron variables de filiación, antropométricas, edad, sexo, umbral auditivo en el momento del diagnóstico y post tratamiento seleccionado, tipo de sordera genética, etc. Los detalles de la base de datos aparecen en el apéndice 2.

V- Exploraciones audiológicas adecuadas a la edad del niño, para confirmar el tipo y grado de hipoacusia.

La evaluación de la audición y el lenguaje, según protocolo modificado descrito por Huarte y colaboradores (146).

V-A Estudios audiológicos realizados:

- 1- Emisiones otoacústicas transitorias (EOAT).
- 2- Impedanciometría.
- 3- Audiometría tonal liminar (ATL) infantil por observación del comportamiento: sin audífono, con audífono y con implante: al diagnóstico y a los 6 y 12 meses de haber comenzado el tratamiento seleccionado (uso de la prótesis o activación del implante coclear).
 - A) Audiometría por el método de condicionamiento visual a través del Reflejo de Orientación Condicionado (ROC).
 - B) Audiometría condicionada al juego.
 - C) Audiometría tonal liminar conductual con auriculares en campo libre o audiometría tonal liminar convencional con auriculares en cabina a mayores de 5 años muy colaboradores.
- 4- Audiometría vocal (logoaudiometría) en campo libre. **Sin audífono, con audífono y con implante: al diagnóstico y a los 6 y 12 meses de haber comenzado el tratamiento seleccionado (uso de la prótesis o activación del implante coclear).**
- 5- Potenciales evocados auditivos del tronco cerebral (PEATC) a todos los pacientes.

V-B Descripción de los estudios audiológicos:

1. Otoemisiones acústicas transitorias (OEAT): Para su realización se utilizó el equipo ECHO-SCREEN, que utiliza OEA evocadas transitorias. Son provocadas por estímulos breves, clicks de rarefacción; es decir, una estimulación de banda ancha, con una duración de 80 milisegundos y entre 80 – 87 dB de intensidad.

El niño se coloca en una cabina insonorizada y se efectúa la prueba primero en un oído y después en el otro. El estímulo se presenta a través de una sonda ajustada al conducto auditivo externo. Las respuestas se distribuyen en la región de las frecuencias medias 1000-4000 Hz, sin dar información selectiva.

Se informaron las respuestas como *pass* y *no pass* (pasa y no pasa). Para un registro adecuado debe cumplirse:

- Nivel de ruido inferior a 39 dB SPL
- Estabilidad del estímulo en el tiempo superior al 85% (20, 147, 148).

2. Impedanciometría: Se utilizó el impedanciómetro AUTO.TYMP GST 28 A para obtener curvas de timpanometrías. Se registró la impedanciometría mediante las curvas descritas por Jerger A, B, C, Ad y As (149).

Para su realización se requirió el calibrado del equipo, que el paciente esté sentado y con ruido ambiental menor de 50 dB.

3. ATL infantil.

A)- Audiometría por el método de condicionamiento visual a través del ROC.

Esta prueba se realiza en niños de corta edad, cuyo desarrollo comprensivo no permite realizar adecuadamente la audiometría tonal con auriculares. La técnica tiende a ajustarse de acuerdo a la edad y al desarrollo madurativo de cada niño (150).

La exploración fue en campo libre, por lo tanto fueron respuestas binaurales, no de cada oído por separado y así se registraron.

El campo libre se realizó por dos personas, dentro de una cabina insonorizada de 2,25 x 1,25 metros. La fuente sonora (altavoces) estaba situada a 1 metro de distancia del niño. Se emitió un tono *warble*, por vía aérea, en las distintas frecuencias e intensidades. El niño se colocó en el regazo de la madre, con una angulación de 45° respecto a la fuente sonora.

El examinador condicionó al niño con un estímulo luminoso, de forma que, al escuchar el sonido, aquel giraba la cabeza hacia al altavoz del que procedía el estímulo sonoro obteniendo, sólo entonces, la recompensa de ver un destello luminoso.

Se realizó sin prótesis auditiva, con prótesis y post implante, repetidos a los 6 meses y 12 meses post implante o prótesis auditiva.

La simbología utilizada fue:

- umbral pre implante o pre-prótesis
- * umbral post implante o con prótesis

B)- Audiometría condicionada al juego.

A partir de los 3 años de edad realizamos la audiometría condicionada con el juego mediante una participación activa y una acción voluntaria que coincide con la percepción del sonido. En nuestros casos se usó un puzzle de encaje. Cada vez que el niño percibía el estímulo sonoro empujaba una pieza hasta encajarla en el puzzle. Se realizó en las mismas condiciones de campo libre descrito anteriormente y con igual simbología.

C)- Audiometría tonal liminar convencional con auriculares.

Se realizó en niños mayores de 5 años muy colaboradores utilizando cabina insonorizada. Se empleó el audiómetro convencional AUDIOTEST 330, que entrega también tono *warble* a intensidades comprendidas entre los -10 dB HL (*Hearing level*) y los 120 dB HL, desde los 125 – 8000 Hz para explorar la vía aérea y la conducción ósea entre 250-4000 Hz.

Los resultados se plasmaron en los gráficos de audiogramas donde:

Se consideró hipoacusia si presentan un umbral por encima de 20 dB en algunas de las frecuencias estudiadas, no justificadas por su edad o por algún factor ambiental (150, 151, 152).



Esquema 4: Símbolos gráficos audiograma.

En la audiometría tonal liminar conductual con auriculares en campo libre se procedió con igual metodología que la ATL convencional para explorar la vía aérea. Las condiciones de campo libre fueron las mismas que en las anteriores exploraciones en que se usó.

4. Prueba logaudiométrica a campo libre, en contexto cerrado y en contexto abierto.

Mide la inteligibilidad para determinados fonemas, o sea, la audición social del sujeto. Para ello se han establecido una serie de pruebas en las que se emplean listas de palabras o frases que pueden ser pasadas en contexto cerrado o abierto, con o sin apoyo de la lectura labial y que deben estar adaptadas al desarrollo madurativo, cognitivo y lingüístico del niño.

El campo libre se realizó se llevó a cabo en las mismas condiciones que para la ATL.

Nosotros utilizamos el **test verbal bisilábico de Navarra**, testado en contexto abierto, sin apoyo de la lectura labial ni de material gráfico. Se realizó en cabina insonorizada con el paciente situado a 1 metro de cada altavoz con un ángulo de 45°. La intensidad de estimulación es de 65 dB HL. El test fue pasado a viva voz y su presentación única, sin permitirse la repetición del ítem.

El material acústico estaba constituido por 16 listas de 20 palabras bisilábicas, con significado, pertenecientes al vocabulario usual infantil y fonéticamente equilibradas. Los resultados se anotaron en porcentaje (según el número de aciertos) debajo de cada lista de palabras (153).

En aquellos niños que todavía no eran capaces de colaborar para la repetición de las palabras se presentó una lámina de imágenes correspondientes a palabras bisilábicas perteneciente al test de identificación temprana de la palabra.

Esta lámina se pone en una mesita delante del niño, y éste al escuchar una determinada palabra relacionada con el dibujo, señala la imagen correspondiente.

Se utilizó el **test de identificación de palabras adaptadas a la edad (test de percepción temprana de la palabra simplificado a niños de 2 a 4 años) testadas en contexto cerrado**. Descrito por Geers AE, Moog y adaptado a la lengua castellana por el Departamento de Otorrinolaringología de la Clínica Universitaria de Navarra (154).

También se realiza en cabina insonorizada, a viva voz, con una intensidad de 65 dB HL, sin apoyo visual de labiolectura, pero sí con apoyo gráfico. El niño de corta edad con sospecha de hipoacusia es capaz de ejecutar una acción motora (señalar una imagen por ejemplo) con menor dificultad que repetir palabras que se le presentan. Esta prueba es menos compleja que la ejecutada en contexto abierto.

Se emplearon objetos familiares para el niño (pelota, coche, pan, etc), no existiendo, ninguna lista previamente preparada. Antes de comenzar es necesario un preentrenamiento con el fin de que el niño llegue a discriminar pares de objetos de diferente longitud, comenzando con apoyo visual y auditivo.

Debe responder correctamente a 6 ítems consecutivos antes de considerar que la tarea ha sido comprendida por el niño.

El objetivo de la prueba es categorizar la percepción de la palabra en aquellos pacientes con hipoacusia profunda.

Los pacientes fueron testados sin audífono, con audífono, o con implante coclear, repitiendo la evaluación a los 6 y 12 meses post activación del implante o de uso de la prótesis auditiva.

5. Potenciales evocados auditivos del tronco cerebral (PEATC).

El estudio neurofisiológico de PEATC constituye un método objetivo de detección precoz de trastornos de la audición y evaluación funcional de la vía auditiva.

Se utilizó el equipo AUDIOTEST 625 con el software EP 15 *operation manual* que emplea potenciales tempranos. La obtención de los PEATC se efectuó con el niño en reposo o durante el sueño natural. Se usaron cuatro electrodos de superficie, uno en cada mastoides, en el vértex y en la mejilla. Previa colocación de los electrodos se limpió la piel con gel dérmico y luego con alcohol para obtener un nivel bajo de impedancia. Se insertaron en ambos conductos auditivos externos (CAE) auriculares intracanales de goma-espuma, existiendo una distancia entre 2 y 3 mms entre el extremo distal del CAE y el borde exterior del molde de goma-espuma. El estímulo consistió en clicks unilaterales con ruido de enmascaramiento contralateral. Antes de comenzar se comprueba la impedancia.

V-C Interpretación de los resultados audiológicos.

1. EOA evocadas transitorias: Están presentes en sujetos con audición normal. El resultado de *pass* determina la presencia de emisión, lo que nos informa del normal funcionamiento de la cóclea, equivalentes a umbrales de audición menores de 30 dB. Descarta una sordera de más de 30 dB (5, 147, 148).

2. Impedanciometría.

Timpanograma

Tipo A: Morfología normal, presión y distensibilidad normales del oído medio.

Tipo B: Sugiere poca o ninguna movilidad de la membrana timpánica y concuerda con la presencia de líquido en el oído medio.

Tipo C: Presión negativa en el oído medio, esto sugiere retracción de la membrana timpánica y disfunción de la trompa de Eustaquio.

Tipo As: Es un tímpano tipo A con restricción de la movilidad.

Tipo Ad: Existe una laxitud del oído medio o hiperdistensibilidad. Puede observarse en membrana timpánica flácida o en desarticulación de la cadena de huesecillos (149).

3. Audiometría tonal liminar (ATL) infantil por observación del comportamiento.

Las respuestas se anotaron en el gráfico de audiograma y la no respuesta se marcó en 120 dB. Se utilizó el símbolo de un cuadrado para el umbral antes del tratamiento y el de un asterisco para el post tratamiento.

Se consideró audición normal un umbral de tonos puros por debajo de 20 dB en frecuencias estudiadas. La audiometría fue considerada simétrica si la configuración de los dos oídos era igual y la diferencia del valor medio entre ambos en cada frecuencia era menor de 15 dB (150, 151, 152).

El cálculo del grado del déficit auditivo: Se realizó la clasificación de la hipoacusia neurosensorial por grados, según la recomendación del Buró Internacional de Audiofonología. En ella debe considerarse que se refiere a una pérdida en decibelios en relación al oído normal (dB HL) tomando como referencia con las normas ISO.

La pérdida tonal media se calcula atendiendo a la pérdida en dB en la gama de frecuencias conversacionales 500, 1000, 2000 y 4000 Hz (15).

I. Audición normal.

II. Deficiencia auditiva ligera. Pérdida auditiva entre 21-40 dB.

III. Deficiencia auditiva moderada.

Primer grado: La pérdida tonal media está entre 41-55 dB.

Segundo grado: La pérdida tonal media está entre 56-70 dB.

IV. Deficiencia auditiva severa.

Primer grado: La pérdida tonal media está entre 71-80 dB.

Segundo grado: La pérdida tonal media está entre 81-90 dB.

V. Deficiencia auditiva profunda.

Primer grado: La pérdida tonal media está entre 91-100 dB.

Segundo grado: La pérdida tonal media está entre 101-110 dB.

Tercer grado: La pérdida tonal media está entre 111-119 dB.

VI. Deficiencia auditiva total-cofosis: Pérdida tonal media de 120 dB.

Toda frecuencia no percibida es anotada a 120 dB de pérdida. La suma se divide entre 4 y se redondea a la unidad superior. En el caso de sordera asimétrica, el nivel medio de la pérdida en dB se multiplica por 7 para el oído mejor y por 3 para el oído peor. La suma se divide entre 10 (15).

4. Prueba logaudiométrica.

- **Test verbal bisilábico de Navarra en contexto abierto.** Los resultados se anotan en porcentaje, según el número de aciertos debajo de cada lista de palabras (153).

- **Test de identificación de palabras adaptadas a la edad (test de percepción temprana de la palabra simplificado a niños de 2 a 4 años) en contexto cerrado** (153, 154).

A) Categoría 1 o percepción de patrones: El niño tiene que diferenciar palabras de 1 y 3 sílabas de su vocabulario usual. Se seleccionan al menos 4 objetos. Se requieren 6 respuestas correctas para pasar a la categoría 2.

B) Categoría 2 o identificación de bisílabas: Al igual que el anterior se emplean 4 objetos para identificar las palabras bisílabas. Las respuestas han de ser correctas en 6 presentaciones consecutivas para alcanzar la categoría 3.

C) Categoría 3 o identificación de monosílabos. El niño tiene que identificar las diferentes palabras monosílabas que se le presentan. Son necesarias 10 respuestas correctas para alcanzar la categoría 4.

D) Categoría 4. Los que alcanzan esta categoría poseen una consistente identificación de la palabra.

Según el porcentaje de aciertos se considera:

90 a 100 % Audición normal o hipoacusia conductiva.

50 a 80 % Sordera mixta o formas leves de sordera neurosensorial.

22 a 48 % Hipoacusia neurosensorial coclear.

22 % o menos Hipoacusia neurosensorial por afectación retrococlear.

El resultado menor del 10 % es criterio de implante coclear (155).

5. PEATC: El umbral de audición normal se define como la mínima intensidad a la cual aparece la onda V. Desde el punto de vista de detección, la deficiencia auditiva se identificará cuando no se obtenga una onda V a amplitud y latencias normales con estímulos de 30dB HL, por tanto el normo-oyente alcanza el umbral de onda V a 30 dB HL (5, 156, 157).

VI - Estudios de imagen realizados.

- Tomografía axial computarizada (TAC) de cóclea y/o Resonancia magnética (RMN) en aquellos casos que lo requieran.

Se solicitaron para descartar posibles malformaciones: cerebrales o cocleares, sobre todo agenesia o hipoplasia del nervio coclear u osificación de cóclea, utilizando el algoritmo habitual de ventana ósea.

VI-1. Tomografía axial computarizada (TAC) de cóclea.

Se empleó el equipo CT Siemens Sist. Helicoidal para descartar cualquier alteración que pudiera ser causa de sordera. Se empleó técnica de alta resolución, con cortes superpuestos de 2 mm cada 1 mm, y se realizaron de forma estándar secciones en posición axial. Por lo general, en niños de 3 años de edad se realizó una sedación anestésica para poder practicar esta prueba.

VI-2. Resonancia magnética nuclear (RMN) de ambas cócleas y nervio acústico: Cuando se evidenció alguna alteración, como malformación u osificación, se completó este estudio mediante resonancia magnética. Se utilizó un equipo Philips 0,5 Teslas. También en los niños más pequeños se requirió sedación anestésica.

VII- Estudios genéticos.

Una vez realizado el estudio audiológico se tomó una muestra de 10 ml de sangre periférica anticoagulada con EDTA tripotásico, enviándola inmediatamente a la Unidad de Genética Médica del Hospital Materno Infantil en Las Palmas de Gran Canaria. Luego se siguió la siguiente metodología:

VII-A Extracción de ADN genómico.

El ADN fue aislado a partir de células nucleadas presentes en la sangre periférica usando un procedimiento estándar basado en la extracción con fenol/cloroformo/alcohol isoamílico (158).

Se describe a continuación brevemente el procedimiento. Tras someter a la sangre total a una lisis hemática mediante una solución hipotónica, el pellet celular de leucocitos es lisado en presencia de SDS durante un periodo mínimo de 30 minutos en agitación. Seguidamente, el lisado es extraído dos veces consecutivas con una solución de fenol: cloroformo: isoamílico pudiéndose finalmente aislar el ADN genómico libre de proteínas y ARN. El ADN es finalmente precipitado en etanol absoluto en presencia de acetato sódico y, tras su lavado en etanol 70%, es disuelto en 500µl de Tris:EDTA y guardado a 4°C en la genoteca, especialmente diseñada para este estudio de investigación.

VII-B Análisis genético de la mutación 35delG.

La deleción fue analizada usando un ensayo directo diseñado *ad hoc* haciendo uso de una amplificación por PCR alelo específico. Para ello se prepararon dos cebadores *Sense* diseñados de tal forma que uno de ellos reconoce una G en posición 35 del único exón del gen (alelo normal) (5'GCA GAC GAT CCT GGG GGG 3') y el otro reconoce una T en la misma posición como consecuencia de la deleción (alelo mutante) (5'GCA GAC GAT CCT GGG GGT 3'). Se realizan dos PCRs en paralelo para cada paciente usando uno de estos cebadores junto a un cebador Antisense común (5'GCA GGG TGT TGC AGA CAA AG 3') y en condiciones estándar de amplificación ajustadas para conseguir la máxima sensibilidad y especificidad. Tras 30 ciclos de amplificación (95°C/1min; 61°C/30seg; 72°C/30seg) los productos fueron sometidos a electroforesis submarina en agarosa al 2% y visualizados en transiluminador de UV tras tinción con bromuro de etidio. Los geles fueron fotodocumentados (GelDoc, Biorad) y analizados en busca de amplificación del alelo normal, alelo mutante o ambos (heterocigotos).

En caso de duda, el ensayo es siempre repetido y, en ocasiones, el fragmento que contiene la deleción fue secuenciado en ambas direcciones para garantizar el diagnóstico.

VII- C Análisis genético de la mutación R143W.

La mutación fue analizada mediante el uso de un ensayo basado en la metodología conocida como Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción (RFLP). En un primer paso se realiza PCR convencional con cebadores específicos (*Sense*= 5'ATT TAA GGA CAT CGA GGA GAT C 3' y *Antisense*= 5'GAC ACA AAG CAG TCC ACA GTG 3') cuyo amplificado contiene la posición nucleotídica 427 correspondiente al cambio R143W (CGG/TGG). Una alícuota de la PCR es sometida a electroforesis submarina en agarosa, comprobando la robustez y especificidad del amplicón (206pb).

En una segunda fase, 10µl de PCR fueron digeridos con la enzima de restricción MspI (C/CGG) durante toda una noche a 37°C. Los productos de digestión fueron sometidos a electroforesis submarina en agarosa al 3% y visualizados en transiluminador de UV tras tinción con bromuro de etidio. Los geles fueron fotodocumentados (GelDoc, Biorad) y analizados en busca del alelo normal (121pb y 81pb) y el alelo mutante (206pb) en homo o heterocigosis.

VII-D Análisis genético de la mutación A1555G.

La mutación fue analizada mediante un ensayo directo RFLP diseñado *ad hoc* usando cebadores específicos (*Sense*= 5'AGA AAT GGG CTA CAT TTT CTA CCC 3' y *Antisense*= 5'GTT CGT CCA AGT GCA CCT TCC A3') y comprobando la especificidad y robustez de la amplificación (248pb).

Posteriormente, una alícuota de 10µl de PCR fue digerida con la enzima de restricción BsmA1 (GTCTCN/) y los productos de digestión visualizados en minigel de acrilamida al 6%. Mientras que la presencia del alelo normal genera dos fragmentos de 197 y 51pb, la presencia de mutación elimina el sitio de corte para la enzima generándose un único fragmento de 248pb. La aparición de un genotipo heteroplásmico es, por tanto, fácilmente visualizable por la presencia conjunta de los tres fragmentos descritos.

Posterior a la detección de una o varias mutaciones en el paciente se procedió al análisis genético de ambos progenitores así como de hermanos, pudiendo establecerse de esta forma la segregación de las mutaciones y por tanto el tipo de herencia en cada familia.

VIII- Evaluación del tratamiento seleccionado.

Considerando los criterios de la *Food and Drug Administration* de 1996, se definió como HNS profunda bilateral y, por tanto, candidatos a implante coclear aquellos casos con (159):

- Pérdida media en frecuencias de 500-1000-2000 y 4000 Hz igual o superior a 90 dB HL.
- Discriminación verbal con menos del 10% de respuestas en el reconocimiento de frases o palabras en contexto abierto, sin apoyo visual, con un adecuado equipamiento audiotrófico y con intensidad de estimulación en campo libre de 65 dB HL.
- PEATC con un umbral de onda V a 90 dB o ausencia de umbral en ambos oídos.

A los criterios anteriores se une la experiencia previa en el empleo de audífono durante al menos 6 meses y con un coeficiente intelectual dentro de la normalidad.

Todos los sujetos a los que se le realizó implante coclear fueron intervenidos por el mismo cirujano, la metodología de programación aplicada fue la misma en todos ellos y las recomendaciones de seguimiento logopédico fueron idénticas en todos los casos. Para descartar factores de sesgo las adaptaciones protésicas fueron realizadas por la misma profesional, al igual que su seguimiento periódico.

Se consideró respuesta adecuada con el uso de audífono, en general, a una respuesta media en frecuencia de 500 Hz, 1 kHz y 2 kHz, menor a 55 dB HL, al menos en el 60 % de las respuestas en reconocimiento en contexto abierto; con la prótesis auditiva equipada en las mejores condiciones (160).

C- BÚSQUEDA DE EVIDENCIA CIENTÍFICA

La búsqueda de Evidencia Científica se realizó mediante revisión y actualización bibliográfica realizando búsquedas en las bases de datos COCHRANE, MEDLINE, EMBASE y el INDEX MÉDICO ESPAÑOL usando como palabras de búsqueda: "*deficit of connexin 26*", "*hereditary hearing loss*", "*hereditary non-syndromic deafness*", "*cochlear implant*" y "*mitochondrial DNA mutation*", en las bases de datos de lengua inglesa y déficit de conexina 26, hipoacusia congénita, y hipoacusia no sindrómica, implante coclear y mutación del ADN mitocondrial, en la base de datos de lengua castellana. El abordaje de desarrollo de la estrategia de búsqueda fue la utilización inicial de los términos simples y combinados con el operador booleano "OR", para luego utilizar el operador booleano "AND" y poder así abordar las condiciones de "conexinas" y "sordera".

Se seleccionó, como período de búsqueda, a partir del año 1993, en que fue el año en que se encuentra el primer defecto molecular causante de hipoacusia neurosensorial (HNS) no sindrómica.

Estas búsquedas fueron suplementadas con una búsqueda bibliográfica cruzada de las citas referenciadas en los trabajos encontrados mediante el "*PubMed citation matcher*" y el "*Cochrane org search*".

Se localizaron 1251 citas con estos patrones de búsqueda electrónica de los que seleccionamos por los "*Abstracts*" 120 trabajos que se consideraron de utilidad para el presente estudio y a los que pudimos acceder al trabajo completo.

D- ESTUDIO ESTADÍSTICO

5. Diseño del estudio.

El presente trabajo es un estudio descriptivo de diseño transversal, realizado en niños afectados de HNS, congénita, bilateral no sindrómica, en la población preescolar de tres a seis años de la isla de Fuerteventura. El período de estudio abarcó del uno de enero de 2003 al 31 de diciembre de 2008.

Se seleccionaron los pacientes según aceptaron ser incluidos en la investigación y si cumplían los criterios de inclusión. La información obtenida en este trabajo se recopiló elaborando para ello una hoja de campo, que se fue completando a medida que se iban recopilando los estudios realizados.

5.1 Análisis de datos.

Las variables categóricas se resumieron en frecuencias y porcentajes y las numéricas en medias o en medianas y rangos (mínimo-máximo) según fuesen o no aceptables los supuestos de normalidad. Los valores medios de los marcadores de ATL en campo libre obtenidos para cada tratamiento se representaron gráficamente según la frecuencia explorada (rango de 500 a 4000 Hz). Asimismo, los porcentajes medios de logaudiometría se representaron según el tratamiento (sin prótesis, con prótesis, 6 y 12 meses de evolución). Los datos fueron analizados utilizando el paquete estadístico SPSS versión 18.0.

Los resultados obtenidos lo comparamos con el trabajo inicial que desarrollamos en la Unidad de Hipoacusia en población de todo el archipiélago canario. En ambos estudios el equipo humano (personal técnico) y equipamiento fue el mismo.

Los valores de la ATL se promediaron según control X y se representaron gráficamente.

La incidencia de sordera se expresó en frecuencias absolutas.

E- COMITÉ DE ÉTICA – DECLARACIÓN DE INTERESES

No se plantean impedimentos éticos por el diseño del estudio, ni existen incompatibilidades ni competencia de intereses por parte del investigador.



Resultados

IV. RESULTADOS

Población de estudio.

La población total del estudio estuvo compuesta por 8 niños, de los cuales 6 (75%) fueron varones. Para la edad de sospecha de hipoacusia, la mediana fue de 17 meses y el rango comprendido entre los 6 y 36 meses. Para la edad de diagnóstico, la mediana fue de 28 meses y el rango estuvo comprendido entre los 10 meses y 72 meses. Se constató que todos los niños tenían sordera bilateral. El 50% padecían sordera de moderada a severa por lo que se les adaptó una prótesis auditiva. La otra mitad presentaban sordera profunda o cofosis, por lo que fueron tratados con implante coclear.

Procedencia e incidencia anual.

En relación a la procedencia e incidencia anual de los recién nacidos positivos de la mutación estudiada, se identificó a un niño nacido en el año 1999 cuyos padres procedían de Galicia y a otro en el 2001 cuya de familia materna y paterna son oriundos de la isla de Fuerteventura. En 2003 nació un niño, portador de la misma mutación en heterocigosis, sus padres eran también de Fuerteventura.

De esta forma, la incidencia de HNS (no sindrómica) autosómica recesiva en la población de 3 a 6 años en Fuerteventura para el periodo de estudio fue de dos niños nacidos en los años 1999 y 2001 respectivamente.

Factores de riesgo.

Dentro de los factores de riesgo de HNS considerados había dos niños con el antecedente de prematuridad, otro con meningitis y un último con consumo, durante la gestación, de drogas y alcohol por parte materna (Tabla IV.1).

La exploración física, incluida la otoscopia, no detectó alteraciones excepto signos de otitis serosa en dos niños.

Población	Total N = 8	Grado de sordera	
		Moderada / Severa N = 4	Profunda / cofosis N = 4
Varones / mujeres	6 / 2	2 / 2	4 / 0
Edad sospecha, meses	17 (6 – 36)	21 (7 – 36)	12 (6 – 19)
Edad diagnóstico, meses	28 (10 – 72)	35 (10 – 72)	26 (15 – 72)
Prematuros (< 30 semanas), n	2	1	1
Drogas, n	1	1	0
Meningitis, n	1	1	0
Alcohol	1	1	0

Las variables categóricas se resumen en frecuencias y las continuas en medianas (mínimo -máximo)

Tabla IV.1. Descripción de la población de estudio y según grado de sordera

Durante el despistaje auditivo se trataron dos niños con otitis media serosa y dos con disfunción tubárica.

Estudios audiológicos y radiológicos.

Las EOAT estaban ausentes bilateralmente en todos los casos. No se registraron respuestas en los PEATC ante estímulos en forma de clic de 100 dB HL en 4 pacientes con sordera profunda o cofosis.

En los estudios radiológicos realizados (TAC de cóclea y la RMN de ambas cócleas y nervios acústicos) no se detectaron malformaciones en el oído interno, sólo se evidenció alteración en el TAC en un niño con osificación de la escala basal de la cóclea bilateral.

En la figura 8 se muestran los promedios de la ATL a campo libre según nivel de frecuencia. Nótese que la pérdida tonal media (0,5-4kHz) sin prótesis auditiva es de 70,9 dB HL y con la prótesis auditiva es de 43.75 dB HL. A los 6 meses, tras el uso de la prótesis auditiva, se obtiene una media de umbrales tonales de 41,25 dB HL, y a los 12 meses, tras el uso de la prótesis auditiva, se obtiene una media de umbrales tonales 40,9 dB HL.

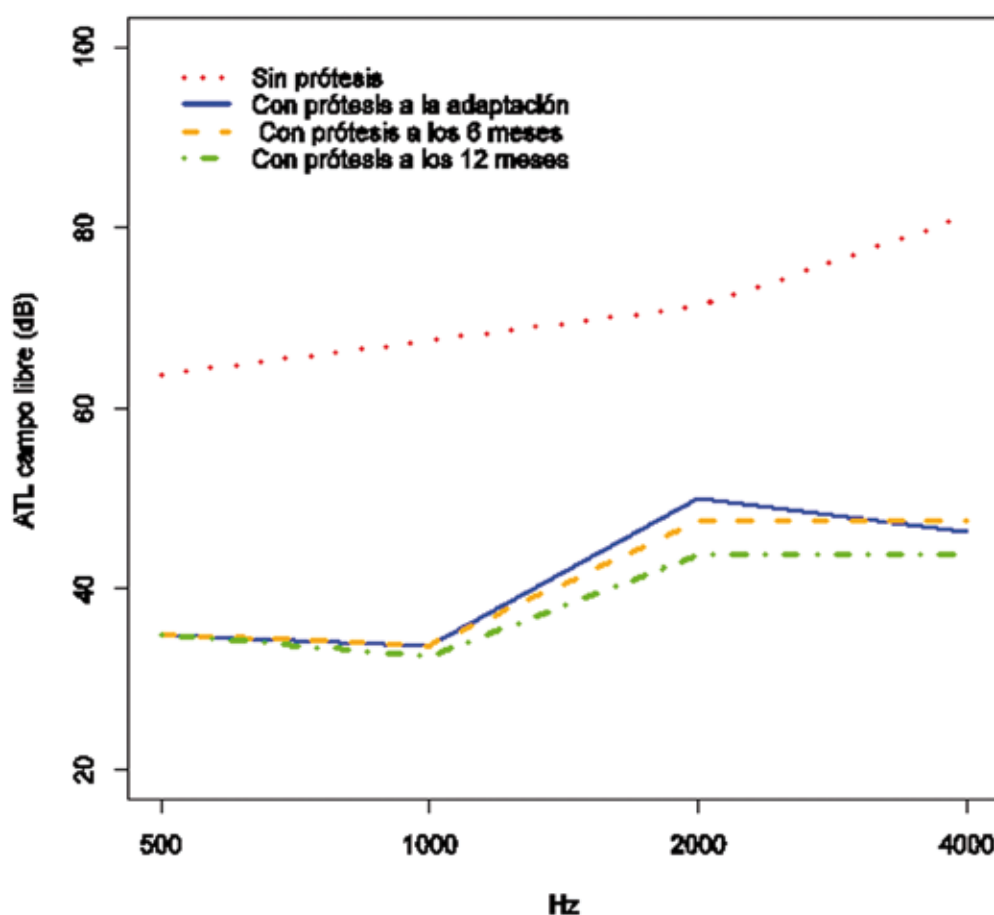


Figura 8. Niños con audición.

Valores de los umbrales medios obtenidos en la ATL después de promediar los umbrales auditivos conseguidos en las frecuencias de 500-1000-2000 y 4000 Hz, antes del uso de la prótesis auditiva, a los 6 meses y 12 meses del uso de la prótesis auditiva.

De igual manera, la evaluación de los umbrales audiométricos obtenidos en la ATL a campo libre en niños que inicialmente no tenían audición, muestra que no hay respuesta a los estímulos audiométricos en la ATL. Realizada la ATL con prótesis auditiva, la pérdida tonal media (0,5-4kHz) es de 110 dB HL. Tras 6 meses de la activación del implante coclear, la media de

umbrales tonales es de 51,56 dB HL. A los 12 meses del uso del implante coclear se obtiene una media de umbrales tonales 38,43 dB HL.

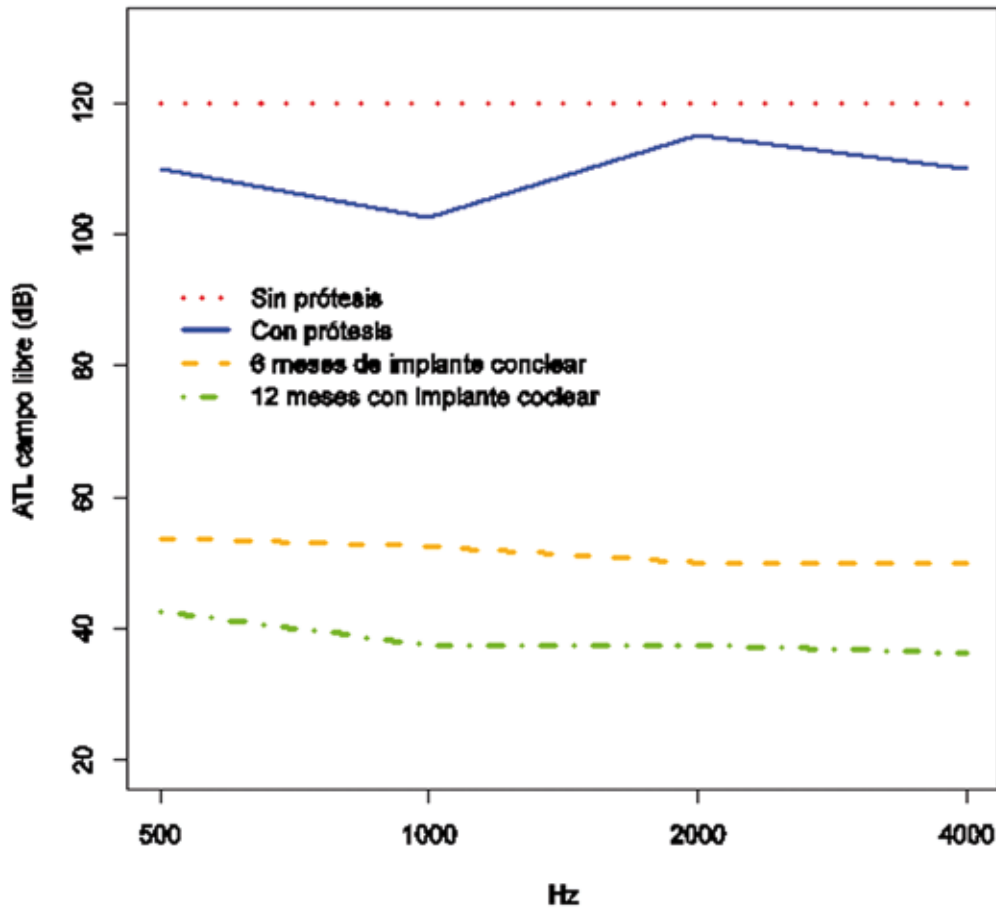


Figura 9. Niños que inicialmente no tenían audición

Valores de los umbrales medios obtenidos en la ATL después de promediar los umbrales auditivos conseguidos en las frecuencias de 500-1000-2000 y 4000 Hz, antes del uso del implante coclear, a los 6 meses y 12 meses del uso del mismo.

Valoración logaudiométrica.

Las figuras 10 y 11 muestran la evolución en los diferentes materiales logaudiométricos utilizados en los tres períodos de evaluación.

El análisis de las evaluaciones mediante test de palabras bisilábicas adaptadas a niños muestra que aquellos con implante coclear ofrecen inicialmente porcentajes muy bajos próximos a 0%. Ello es atribuible a que estos tenían sordera profunda o cofosis. A los 6 meses, tras la activación del implante coclear, alcanza un 66,50% y a los 12 meses un 78,25%. Esto supone una mejoría significativa en la detección de sonidos, que se mantiene proporcionalmente a los 6 y a los 12 meses tras la activación.

Los tratados con prótesis auditiva parten con un test bisilábico sin prótesis del 51,25% y, con prótesis, del 75%. Luego muestran una rápida evolución que va desde un 77,50% a los 6 meses hasta un 87,50% al año de uso de la prótesis.

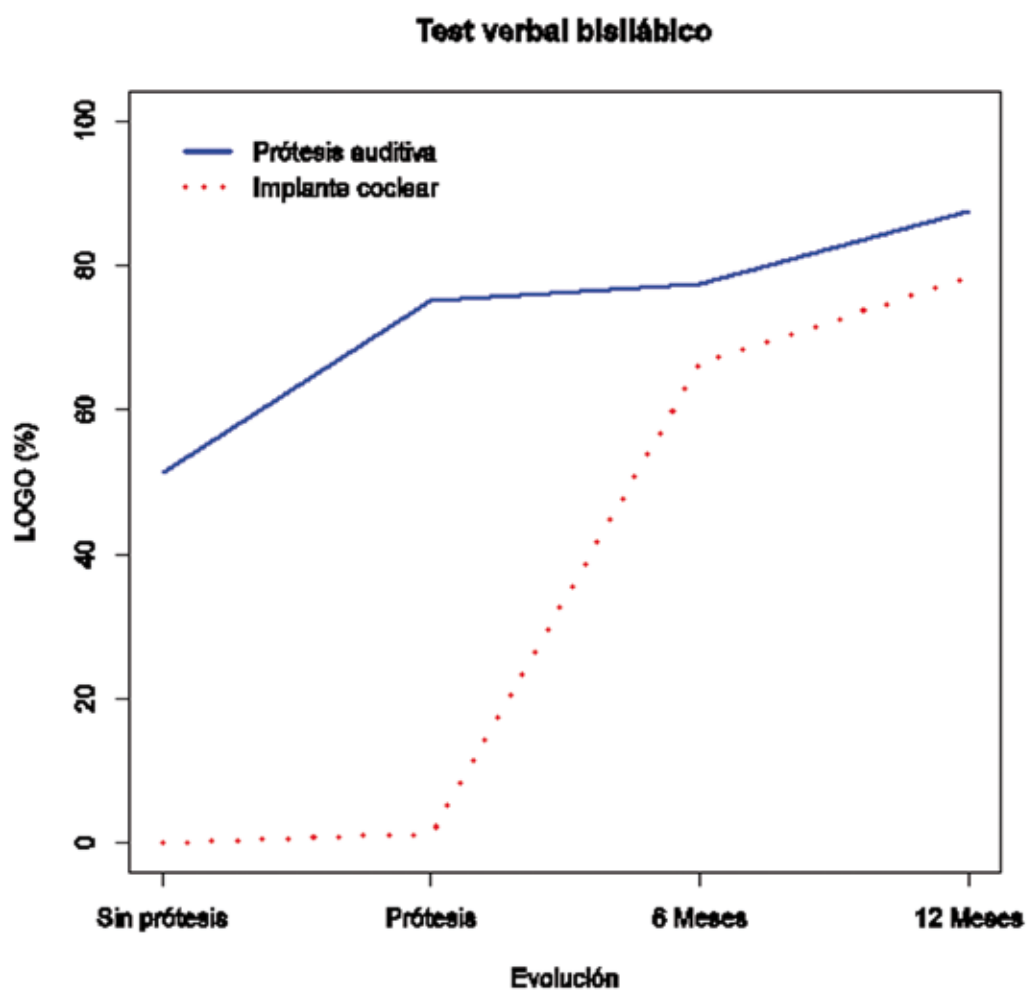


Figura 10

Evolución de los promedios de los test verbal bisilábico en el sentido: sin prótesis, con prótesis, a los 6 meses y a los 12 meses de activado el implante coclear o del uso de la prótesis auditiva.

Los resultados del test de identificación temprana de la palabra adaptada a la edad reflejan que los niños oyentes tienen sin prótesis un 62,50 % y con la prótesis un 93,75%. Los no oyentes pasan del 0 % al 37,50 % a los 6 meses de la activación del implante coclear, para llegar a los 12 meses al 67%.

El grupo de niños con prótesis auditiva obtiene a los 6 meses un porcentaje del 83,75 % y a los 12 meses 91,25 %.

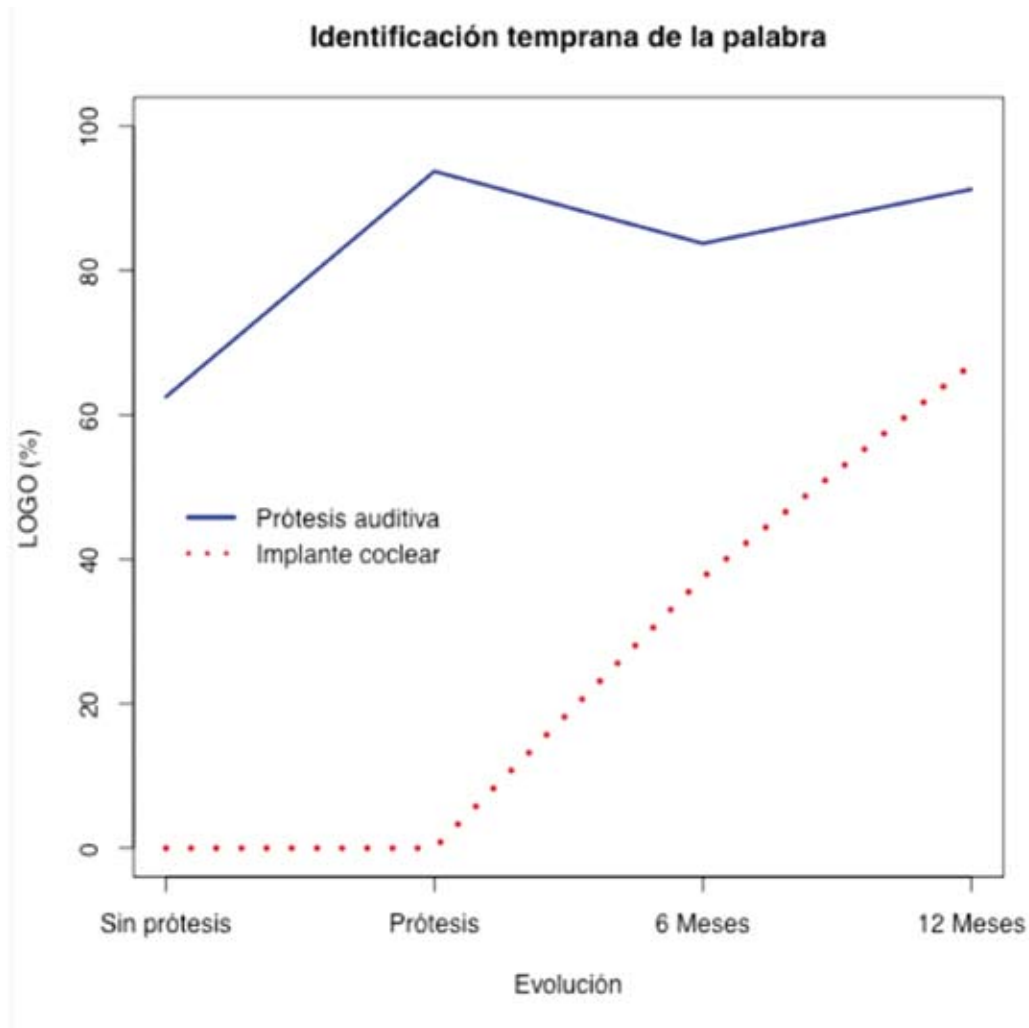


Figura 11

Evolución de los promedios del test verbal de identificación temprana de la palabra en el sentido: sin prótesis, con prótesis, a los 6 meses y a los 12 meses de activado el implante coclear o del uso de la prótesis auditiva.

Resultados del estudio genético.

El estudio genético puso de manifiesto que en 2/8 niños (25%) la mutación 35delG está presente en homocigosis y en 1/8 niños (12,5%) en heterocigosis.

En los 5 pacientes restantes (62,5%) no se demostró causa genética, al menos en las mutaciones estudiadas, la R143 W y la mutación A1555 en el ADN mitocondrial (Tabla IV.2).

Población	Total N = 8	Grado de sordera	
		Moderada / Severa N = 4	Profunda / cofosis N = 4
Hipoacusia genética, n	3	1	2
Tipo de mutación			
35 del G en homocigosis	2	0	0
35 del G en heterocigosis	1	1	2
Probable no genética	5	3	4
Sordera bilateral, n	8	4	2

Tabla IV.2. Genotipado poblacional y grado de sordera.

Cada uno de los pacientes con diagnóstico genético certero (35delG en homocigosis) fue adscrito a un número de familia (familia 1 y familia 2). Se establece entonces un árbol genealógico de cada familia, cubriendo dos generaciones; asimismo, se realiza estudio genético de las tres mutaciones en los diversos miembros de cada familia.

- Familia1: Además del caso índice (figura 12), se estudian los progenitores y un hermano varón sin sordera.

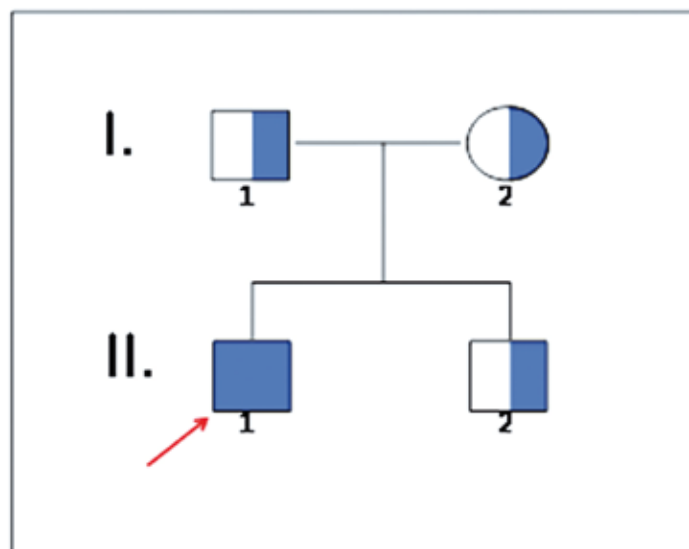


Figura 12

Segregación de la mutación 35delG en la Familia 1.

El análisis genético de la mutación 35delG determina con claridad que ambos progenitores son portadores sanos de la misma, lo cual confirma el diagnóstico del caso índice (Fig 13). Asimismo, clasifica a su hermano sano como portador de la mutación 35delG con importantes implicaciones futuras en su descendencia.

El análisis genético de las mutaciones R143 (Fig 14) y A1555G (Fig 15) identifica un genotipo normal para todos los miembros de la familia.

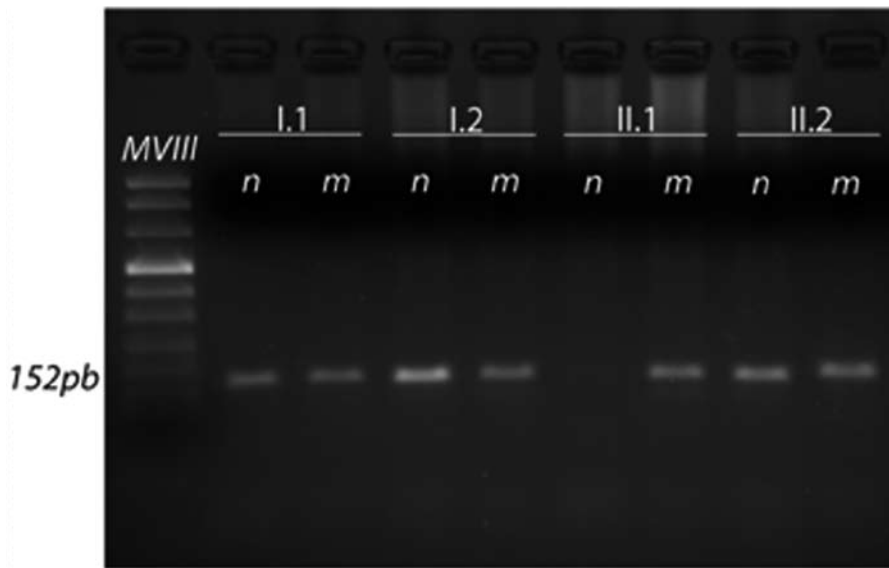


Figura 13

Análisis genético de la mutación 35delG en la Familia 1. Un ensayo directo basado en una PCR alelo específica permite identificar la presencia del alelo normal (n) y/o del alelo mutante (m).

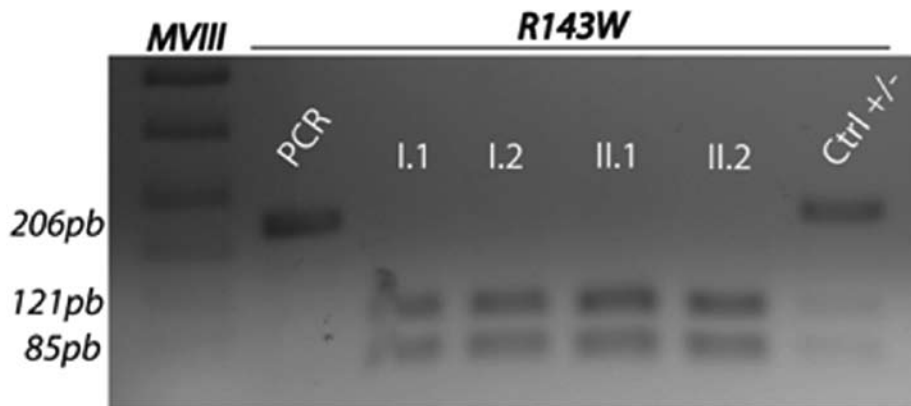


Figura 14

Análisis genético de la mutación R143W en la Familia 1. El ensayo RFLP permite identificar el alelo normal (fragmentos 121+85p) así como el alelo patológico (fragmento 206pb) tal y como muestra la última calle (Ctrl +/-). La calle PCR identifica una muestra amplificada sin digerir mostrando la robustez y especificidad de la misma.

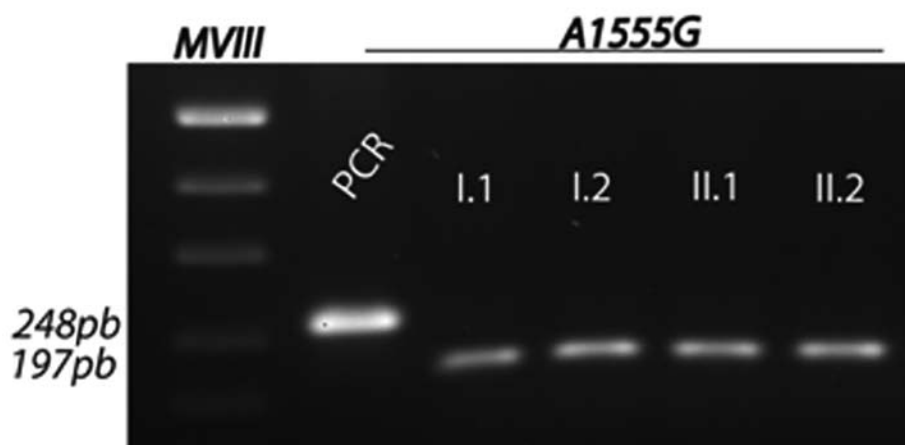


Figura 15

Análisis genético de la mutación A1555G en la Familia 1. El ensayo RFLP permite identificar el alelo normal (fragmentos 197pb) así como el alelo patológico (fragmento 248pb). Todos los miembros de la familia presentan el alelo normal en homoplasmia. La calle PCR identifica una muestra amplificada sin digerir mostrando la robustez y especificidad de la misma.

- Familia 2: Además del caso índice (figura 16), se estudian los progenitores y un hermano varón también con sordera no incluido en este trabajo.

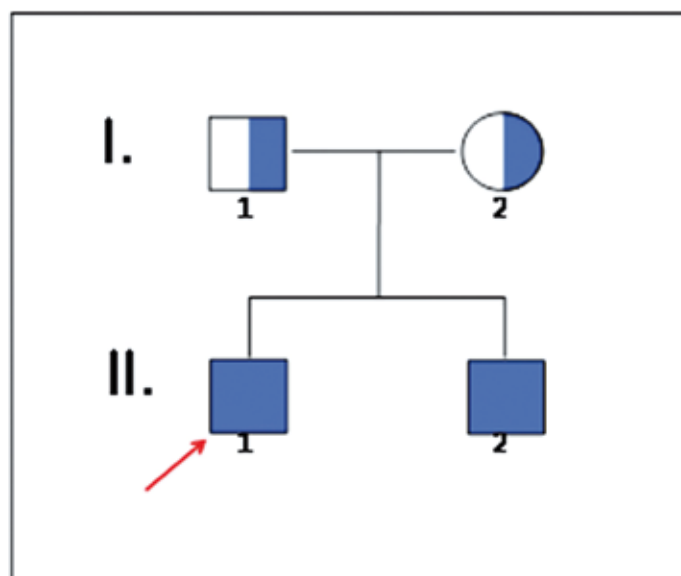


Figura 16

Segregación de la mutación 35delG en la Familia 2.

El análisis genético de la mutación 35delG determina con claridad que ambos progenitores son portadores sanos de la misma lo cual confirma el diagnóstico del caso índice (Fig 17). El otro hermano afecto de la familia también es diagnosticado como portador de 35delG en homocigosis confirmando el carácter genético de su sordera.

El análisis genético de las mutaciones R143W (Fig 18) y A1555G (Fig 19) identifica un genotipo normal para todos los miembros de la familia.

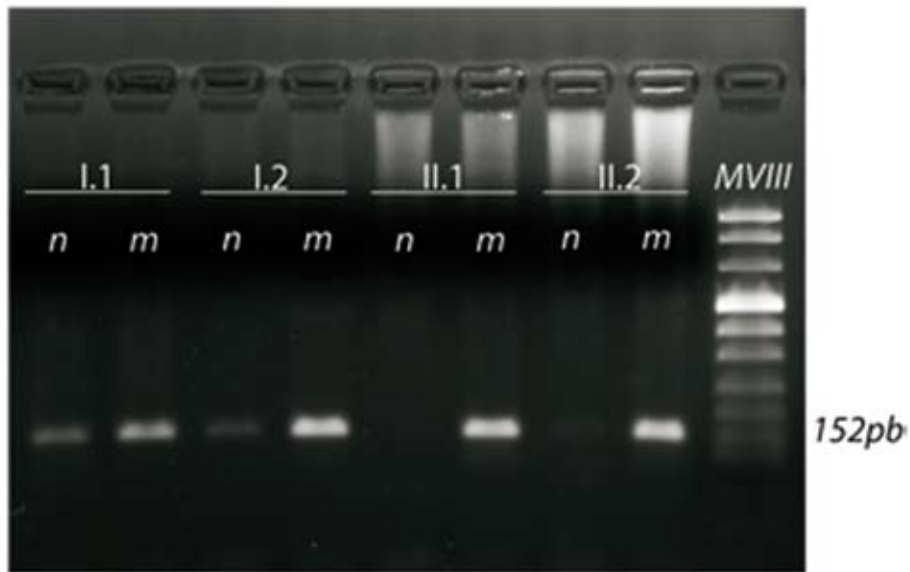


Figura 17

Análisis genético de la mutación 35delG en la Familia 2. Un ensayo directo basado en una PCR alelo específica permite identificar la presencia del alelo normal (n) y/o del alelo mutante (m).

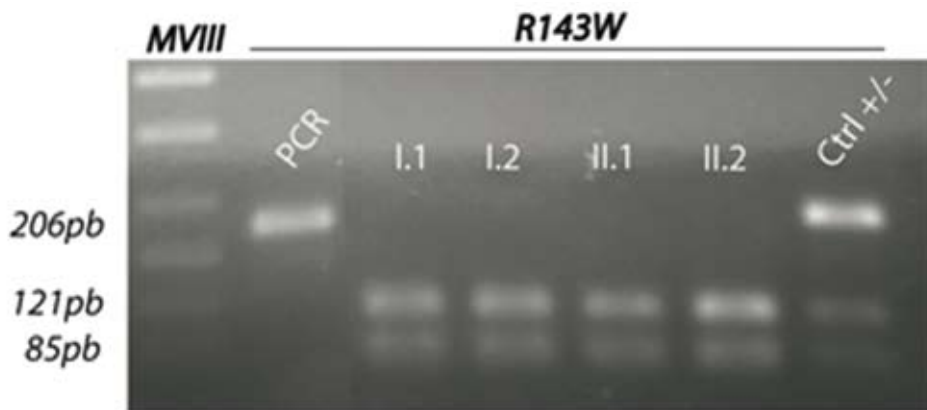


Figura 18

Análisis genético de la mutación R143W en la Familia 2. El ensayo RFLP permite identificar el alelo normal (fragmentos 121+85p) así como el alelo patológico (fragmento 206pb) tal y como muestra la última calle (Ctrl +/-). La calle PCR identifica una muestra amplificada sin digerir mostrando la robustez y especificidad de la misma.

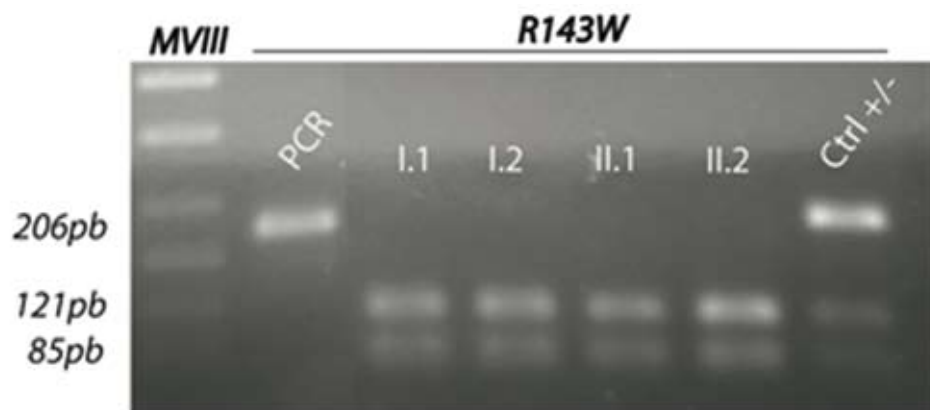


Figura 19

Análisis genético de la mutación A1555G en la Familia 2. El ensayo RFLP permite identificar el alelo normal (fragmentos 197pb) así como el alelo patológico (fragmento 248pb). Todos los miembros de la familia presentan el alelo normal en homoplasmia. La calle PCR identifica una muestra amplificada sin digerir mostrando la robustez y especificidad de la misma.



Discusión

V. DISCUSIÓN

1. DISCUSIÓN SOBRE EL DISEÑO, CONTEXTO Y METODOLOGÍA DEL ESTUDIO

Sobre el diseño.

- El estudio parte de una inquietud puramente asistencial: EL DIAGNÓSTICO PRECOZ DE SORDERA EN EL RECIÉN NACIDO, LA DEMANDA DE VALORACIÓN AUDITIVA Y LA DETERMINACIÓN DE SU POSIBLE CAUSA.

El objetivo de todo proceso de diagnóstico médico es la determinación de la etiopatogenia de una enfermedad. Los avances en genética molecular están imprimiendo un cambio en la metodología del clínico. La disponibilidad y accesibilidad adecuada a los test genéticos para la filiación de la causa de muchos procesos permite un diagnóstico inmediato que en muchos casos va a obviar la necesidad de más exploraciones complementarias, aportando además datos adicionales sobre el pronóstico y el tipo de tratamiento a realizar. Esta realidad condiciona nuestro estudio en varios sentidos:

- En aquellos casos en los que se sospeche hipoacusia y que pudiera estar causada por un factor genético, hace que a día de hoy podamos ofrecerle la alternativa del diagnóstico genético de su sordera. Por otra parte, se brinda la posibilidad de asesoramiento genético a aquellas familias que lo soliciten. Ésta es otra de las prestaciones de la que se pueden favorecer nuestros usuarios, redundando todo ello la mejora de la calidad asistencial recibida. Descubrir el origen de muchas de las sorderas hereditarias es un hecho trascendental que ha experimentado un avance considerable en los últimos 10 años.

- Nuestro estudio se concentra en población de 3-6 años, por lo que se selecciona enormemente la población estudiada. La limita a un grupo muy específico: a los niños que están escolarizados y que además tienen sordera no sindrómica prelocutiva (sin otro trastorno añadido).

- Las características de este diseño hacen muy difícil la comparación de resultados con otros estudios hechos en poblaciones más grandes, pero hemos querido saber la realidad en el Área de Salud de Fuerteventura que abarca la totalidad de la isla.

- No obstante, sí hemos podido establecer más análisis es en el resultado del estudio genético de nuestra población remitiéndonos comparativamente el resultado del trabajo previo que realizamos en población general del archipiélago canario.

Sobre contexto.

- El escenario asistencial en el que nos ubicamos es un hospital comarcal que cubre la asistencia de toda la población del Área de Salud de Fuerteventura, tanto adulta como pediátrica, y que cuenta con maternidad.

- El sesgo es mínimo puesto que los niños de 3-6 años están todos escolarizados. Asimismo, las vías de detección de los niños con alteración auditiva han sido: los registros hospitalarios, los controles en los colegios preferentes y el seguimiento en la Consejería de Educación.

- Al no existir un programa de cribado auditivo neonatal universal instaurado oficialmente en nuestro centro asistencial a fecha de terminación de este trabajo, condiciona el hecho de que la población estudiada tenga que obtenerse, previo consentimiento de padres o tutores legales, de los registros oficiales de pacientes con algún tipo de minusvalía auditiva.

- La circunstancia de que nuestro hospital de referencia cuente no sólo con una Unidad de Hipoacusia, sino que además sea centro de referencia para implante coclear en la Comunidad Autónoma de Canarias, favorece aún más el poder identificar y estudiar los casos en los que se sospeche sordera genética.

- El presente trabajo se encuadra en un diseño de estudio limitado a la detección de las mutaciones más frecuentes encontradas en la población española y del archipiélago canario.

Sobre la metodología.

Se trata de un estudio transversal prospectivo en el que evaluamos la incidencia de la hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva, en concreto la causada por la mutación del gen que codifica la proteína Cx 26, especialmente el alelo 35delG, la mutación R143W, y la presencia de mutación A1555 en el ADN mitocondrial en un período de 6 años. Idealmente se debería hacer el estudio en el recién nacido y evaluar a largo plazo la evolución de la misma. La información obtenida en este tipo de estudio, además de ayudarnos a mejorar la selección del tratamiento, aporta tranquilidad a los familiares y sobre todo es una herramienta en el consejo genético.

2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

DISCUSIÓN SOBRE LOS RESULTADOS DESCRIPTIVOS.

2.1. Resultados globales del estudio en relación al hallazgo de hipoacusia genética en la población de Fuerteventura.

En los 6 años estudiados, de enero de 2003 a diciembre de 2008, se han detectado y estudiado 8 niños que padecen hipoacusia neurosensorial de moderada/severa a profunda bilateral de origen coclear. El primer dato a considerar, y uno de los objetivos prioritarios de nuestro estudio, es el hallazgo de que 2 niños, un 25 % de la población en estudio, tiene sordera neurosensorial demostrada de causa genética.

En ambos pacientes (pertenecientes a dos familias diferentes) el diagnóstico genético confirmatorio identifica la mutación 35delG en homocigosis. Hay 1 caso (12,5%) que presenta la mutación en heterocigosis con resultado normal en el resto de mutaciones estudiadas.

Si buscamos la incidencia anual en Fuerteventura de sordera para esta mutación tenemos 1 niño afecto nacido en 1999 y un segundo niño nacido en el año 2001 lo que la sitúa en 2 casos en 6933 nacimientos ocurridos en este período.

La primera dificultad que encontramos para valorar estos datos es la falta de estudios con diseños similares al nuestro. El

rango de edad considerado y la inclusión en el estudio de sólo sorderas no sindrómicas hace que el número de los casos encontrados sea escaso e impida encontrar estudios comparables.

No obstante, debemos mencionar algunas referencias para contextualizar nuestros hallazgos:

- Los valores clásicos citados para hipoacusia infantil, en general se refieren a proporciones en relación al número de recién nacidos según la OMS (18):

- 1/1000 recién nacidos con hipoacusia severa-profunda.
- 1-3/1000 recién nacidos considerando desde hipoacusias moderadas.
- 5/1000 recién nacidos considerando todos los grados de hipoacusia.

Tomando como referencia la cifra de incidencia dada por la OMS citada anteriormente, encontramos que nuestro hospital tiene una media anual de nacimientos de 1155,50 niños en el período estudiado (1 de enero de 2003 a 31 de diciembre de 2008), según las correspondientes memorias anuales del Área de Salud de Fuerteventura (141). Con ello tendríamos que haber tenido al menos 5,77 recién nacidos con algún problema o déficit auditivo cada año, de los cuales 1,15 serían de tipo severa o profunda y de ellos 0,80 niños (70%) responderían a una causa genética.

Si llevamos estos datos a nivel de la Comunidad Autónoma, según el Instituto Canario de Estadística (ISTAC) (161), los recién nacidos vivos en Canarias en este período de tiempo estudiado fueron 119.680, lo que supondría un total de 598,40 niños con algún grado de minusvalía auditiva y 119,68 recién nacidos con hipoacusia severo-profunda, lo que significaría 20 casos al año. El número de hipoacusias de origen genético a esperar sería de 83,77 casos en 6 años, con una media anual de 13,96 casos por año.

Si pretendemos ubicar nuestro resultado en el marco general de la población pediátrica actual en relación a la posibilidad de padecer sordera genética tendríamos:

- La población pediátrica en España < de 18 años (o sea, de 0 – 17 años) en 2010, según el Instituto Nacional de Estadística (INE) es 7.823.341 (162). Esto implica que tenemos 39.116,70 casos con algún grado minusvalía auditiva < 18 años. De lo anterior se deduce que serían severo-profundo 7823,34 y, de ellos, 5476,33 de etiología genética.

Comparando nuestro resultado con otros estudios de sordera genética tendríamos: el primer estudio realizado en canarias en el año 2004 en la Unidad de Hipoacusia del Hospital Insular, (dirigido por Dr. Ramos Macías), para identificar la existencia de mutación en el gen GJB2 (mutación 35delG), contamos con 68 pacientes en total, tanto adultos como niños afectados de HNS. Encontramos que 40 pacientes estaban afectados por esta mutación, y que, el 57 % de los mismos eran homocigotos. El alelo mutado en el 74% de los cromosomas resultó ser el 35delG y en el 7,5 % fue la mutación R143W.

Nuestros resultados difieren de los anteriores, obtuvimos sólo el 25% con la mutación 35delG en homocigosis y en nuestros casos no se encontró enfermos ni portadores de la mutación la R143W. Esto creemos que se debe a que la población sorda que se eligió en el primer estudio era más heterogénea, contemplaba tanto a niños como adultos y pertenecía a todo el archipiélago canario, porque la Unidad de Hipoacusia es el Centro de Referencia para esta patología en la Comunidad.

Zelante también en 1997 estudia 35 pacientes entre 4 y 45 años con HNS no sindrómica, refuerza que la forma autosómica recesiva es la forma más común de pérdida auditiva genética. Demuestra que la DFNB1 en el cromosoma 13 ocupa 80% en las familias del Mediterráneo y que la conexina-26 (GJB2) se encuentra mutada en la DFNB1 de estas familias (64).

Gasparini y col también en 1997 en población mediterránea estudia 40 familias (30 españolas y 18 italianas). Demuestra claramente que la DFNB1 juega un a papel importante (79 %) en las familias del Mediterráneo con HNS no sindrómica (69).

El Departamento de Otorrinolaringología de la Universidad de Iowa, en 1999 se estudia la tasa de portadores de GJB2 en el oeste medio de Estados Unidos. En los 52 sujetos estudiados menores de 19 años con HNS congénita de moderada a profunda procedentes de una unidad de implante coclear o un centro referencia de hipoacusia, 22 (42%) tenían mutación del GJB2. La mutación del gen 35delG fue identificada en 29 de los 41 alelos mutantes (163).

La mutación 35delG en el gen GJB2 ha sido identificado como la más importante entre las causas genéticas de la discapacidad auditiva, ya que representa la mayoría de las mutaciones en los caucásicos sordos, ya sea en el estado de homocigotos o en heterocigosis compuesta (dentro de GJB2 o en el gen GJB6) (72, 80).

En el año 2009 se publica en la *International Journal of Audiology* un meta-análisis en el que se evalúa la presencia de la mutación del gen 35delG y su relación con HNS no sindrómica, en distintos continentes. Se detecta el promedio más alto de portadores en el sur de Europa y más bajo en el este de Asia. Se confirma la existencia de un gradiente de sur a norte de Europa, explicado por el efecto fundador, y un gradiente de oeste a este de Asia (134).

La detección de la mutación del 35delG varía en las poblaciones del 28 al 63%. Una mutación en el gen GJB6 se ha identificado como la segunda mutación más frecuente de causa no sindrómica, prelingual, autosómica recesiva no solo en las poblaciones europeas de España, Francia, el Reino Unido, sino también en los brasileños y los judíos (137).

Los resultados de nuestro estudio sugieren claramente que la mutación 35delG debe ser incluida en los estudios genéticos de pacientes sordos canarios.

Si comparamos el resultado con la incidencia de otras enfermedades como el hipotiroidismo y la fenilcetonuria, en las que desde hace muchos años se realiza el *screening* en el recién nacido, vemos que éstas afectan a 1/3.000 y 1/14.000 recién nacidos, respectivamente, siendo menos frecuente que la sordera profunda (32).

Sin embargo, aunque la participación de la mutación en la etiología de la sordera se ha encontrado en 2 pacientes sordos, existe la posibilidad de otras mutaciones menos frecuentes que escapan de la detección en nuestro trabajo.

Toda la bibliografía consultada aboga en que cada vez es más frecuente la causa de sordera genética en niños con sordera profunda o cofosis. Según la GENDEAF en Europa la el 50 % de los trastornos auditivos tiene una base genética (25). La genética de las hipoacusias no sindrómicas se ha desarrollado en gran medida en los últimos 12 años.

Antes del descubrimiento de los genes implicados en las hipoacusias no sindrómicas, se consideraba que las causas genéticas eran minoritarias entre el conjunto de las hipoacusias.

Las sorderas no sindrómicas prelocutivas constituyen el defecto sensorial hereditario más frecuente que se conoce (66, 79, 80, 101, 102). Las mutaciones en el gen de la conexina 26, locus DFNB1, en el brazo largo del cromosoma 13, dan cuenta del 60 % de estas hipoacusias con herencia recesiva y se han encontrado en portadores sanos de poblaciones caucásicas con una frecuencia que oscila entre 1 a 2,8 % (119).

En el trabajo de Rabionet en el año 2000 en población española e italiana encuentra esta mutación entre un 0,5 y 1,6 % de los alelos mutados GJB2 (103).

Tampoco tuvimos estudios positivos de la mutación A1555G. Gallo- Terán y col. en 2002, estudia en Cantabria la frecuencia de la mutación mutaciones A1555G en el ADN mitocondrial en 21 pacientes pertenecientes a 21 familias no consanguíneas y no relacionadas entre sí, con hipoacusia neurosensorial bilateral postlocutiva no sindrómica. El estudio mostró la presencia de la mutación A1555G en 6 pacientes, de los cuales 5 tenían antecedentes de exposición a aminoglucósidos (119).

Luego en 2005 estudia también en Cantabria a 38 sujetos con hipoacusia neurosensorial no sindrómica de inicio congénito o en la infancia. La edad de los pacientes osciló entre los 9 y los 85 años, con una media de 39,3 años. En 7 pacientes (18,4%) no existían antecedentes familiares de hipoacusia, es decir, se trataba de casos esporádicos. El resto (81,6%) eran casos familiares, no relacionados entre sí. Se encontró la mutación A1555G en homoplasmia en 9 pacientes (23,7%). La intensidad de la hipoacusia en este grupo de pacientes era ligera en un individuo (11,1%), moderada en 3 (33,3%), severa en 4 (44,4%) y profunda en uno (11,1%). En todos ellos el perfil audiométrico era descendente. Este hallazgo sitúa esta mutación como la cuarta más frecuente en España. (110).

Nuestro estudio, aunque con escaso número de pacientes, tiene importancia en lo que se refiere a mejorar el nivel de aprendizaje en el diagnóstico de sordera genética, en la prevención del retraso y deterioro cognitivo, y en minimizar el grado de minusvalía de estos enfermos. Por otro lado, la relevancia social y económica que entraña cuando tenemos un niño sordo, es merecedor, de, al menos, diagnosticarlo cuanto antes.

2.2- Edad de sospecha de hipoacusia y edad de diagnóstico de la hipoacusia. Sexo y procedencia.

La media de edad de sospecha de hipoacusia fue de 17 meses con un rango entre 6 meses y 36 meses. La media de edad en el diagnóstico de la hipoacusia fue de 28 meses con un rango entre los 10 meses y 72 meses.

En la Junta de Extremadura de Salud estudiaron a 1000 recién nacidos con *screening* auditivo de EOA de 1999-2000. La edad de sospecha de la hipoacusia fue de 3 meses y el diagnóstico se estableció a los 6 meses, muy inferior a la media de detección de otros estudios que no efectúan cribado universal con OEA y/o PEATC que oscila entre los 2,5 y 3,5 años (148).

En el Departamento de Psicopatología de la Universidad de Turín, Italia 2006, en un análisis retrospectivo destaca la ventaja del *screening* auditivo del recién nacido.

Estudian 46 niños con diferentes motivos de derivación (retraso del lenguaje, antecedentes familiares de sordera u otro factor de riesgo). La media de edad de diagnóstico de HNS severa profunda en el grupo en su conjunto fue de 20,5 meses, sin em-

bargo en los que niños que fueron sometidos a cribado se redujo a 6,8 meses y en el grupo no *screening* a 29,3 meses (20).

Todo lo anterior aún está lejos de alcanzar a cumplir la recomendación del *Joint Committee on Infant Hearing* en que la edad para el diagnóstico la establece en 3 meses (144).

En Los Ángeles, Sininger en 2009 realizó un estudio en 64 niños sobre el diagnóstico de sordera en el recién nacido y la intervención entre 20 a 25 meses. Analiza la edad del diagnóstico, la edad de amplificación y la edad de intervención. En la actualidad pocos estudios encontramos en los que en la misma población, se compare los aspectos anteriores, en niños sometidos a cribado auditivo y no cribados. El estudio aprovecha los programas de cribado emergentes en California para comparar la calidad de los programas de *screening* según las recomendaciones de la *Joint Committee on Infant hearing*. Quedó claro que los niños sometidos a *screening* auditivo se diagnosticaron 24,62 meses antes que los *no screening*, se equiparon con audífono 23,51 meses antes y por tanto redujeron el momento de la intervención temprana en 19,98 meses.

Se concluye que los niños con HNS que no son sometidos al programa de *screening* auditivo, sufren retrasos dramáticos en la consecución del desarrollo auditivo a los 24 meses (40).

El posicionamiento del *Joint Committee on Infant Hearing* (JCIH) 2007 establece las guías de detección e intervención de la sordera en el recién nacido. Los niños recién nacidos que no pasen el *screening* auditivo deben de ser examinados en un plazo de un mes y aquellos que no pasen esta revisión deben de tener evaluación audiológica completa en 3 meses. Si hay pérdida auditiva confirmada deben de tener intervención audiológica en un plazo de 6 meses. La intervención temprana mejora los rendimientos lingüísticos (144).

Esta cifra resulta alta en nuestro entorno. Nuestros pacientes no estuvieron contemplados en el programa de *screening* auditivo porque el mismo se implantó en nuestro hospital a principio de 2009.

La bibliografía no hace referencia a que la mutación encontrada tenga relación con el tipo sexo, excepto la mutación del ADN mitocondrial que la transmisión es materna (81, 82, 83, 84).

La procedencia de los enfermos nos interesó para saber si la mutación en los pacientes afectos correspondía a casos esporádicos o eran heredadas de su familia autóctona canaria o por antepasados procedentes de fuera de la Comunidad Autónoma. En la familia 1 ambos padres eran autóctonos de la isla de Fuerteventura, tuvieron dos hijos, uno enfermo y otro sano portador. En la familia 2 ambos progenitores eran sanos portadores y procedían de Galicia, tuvieron dos hijos en Fuerteventura enfermos. Ningún caso correspondió a casos de esporádicos o de consanguinidad.

Para Gasparini (80) la cifra de casos esporádicos puede llegar al 30% y para Zelante un 46% (64). La aplicación de técnicas genéticas para identificar la mutación 35delG resulta en ocasiones imprescindible en el diagnóstico, fundamentalmente en aquellos casos de ocurrencia esporádica en familias donde se están segregando genes recesivos asociados a pérdidas auditivas; asimismo, permite con certeza conocer la condición de portadores entre los familiares del caso índice. De este modo la intervención de los genetistas clínicos posibilita vencer las incertidumbres y llegar mucho más allá de lo que permite la sensibilidad clínica (134).

2.3. Evaluación del tratamiento seleccionado

Los pacientes implantados presentan la capacidad de detectar sonidos desde los primeros momentos de la implantación, como revela el estudio de los resultados de la audiometría.

El análisis de los umbrales audiométricos obtenidos en campo libre antes del implante coclear de 110 dB HL y tras 6 meses de activación muestran un umbral de detección de sonidos puros comprendidos entre 0,5 y 4 kHz, en torno a los 51,56 dB HL. El análisis de los resultados de la ATL revela la capacidad de los niños con sordera profunda para detectar la presencia de sonidos, dentro del espectro conversacional y que mejora con posterioridad a la implantación, pues a los 12 meses se alcanzan 38,43 dB HL.

Constantino Morera en el Hospital de La Fe en Valencia, realizó un estudio en niños que padecían HNS profunda bilateral, que se implantaron entre los años 1994 y 2002.

Evaluó 60 niños tras de 6 meses de programación del implante y un seguimiento de cinco años de media. De ellos 58 padecía hipoacusia prelingual congénita y dos con hipoacusia prelingual tardía. La media de edad de implantación fue 4,99 años (límites 1,5-14 años). Todos ellos presentaban un umbral auditivo medio igual o superior a 90 dB HL y no superaban el 30% de respuestas correctas en la audiometría verbal, en los casos en los que pudo realizarse con, con bisilábos a una intensidad de 65 dB HL en las mejores condiciones de utilización de audífono.

La comparativa de la ATL preimplante comparada con las audiometrías en campo libre que se practicaron a los 6 y 12 meses de la implantación, pone de manifiesto una mejoría del umbral auditivo en todos los pacientes, que se mantiene estable a lo largo del tiempo llegando a los 12 meses del IC a 38 dB HL. En menores de 7 años las pruebas logaudiométricas testadas en contexto cerrado alcanzaron prácticamente resultados máximos a los 12 meses en los patrones perceptivos y un 80% de aciertos en la identificación de palabras. La progresión fue más lenta en mayores de 7 años, sin que no se alcanzaran valores máximos hasta los 18 meses en la identificación de los patrones y hasta los 2 años en palabras. Pero los pacientes prelinguales implantados a edades precoces en estas pruebas logaudiométricas a los 6 meses ya presentan el 50% de aciertos y alcanzan niveles máximos alrededor de los 18 meses de experiencia con el IC en los bisilábicos.

Con respecto a las pruebas testadas en contexto abierto en los menores de 7 años, los resultados fueron pobres por la poca colaboración y la dificultad de la edad, sin embargo, a medida que adquirieron experiencia con el IC, se obtuvo mejoría y se alcanzó niveles máximos a partir de los 4 años con un 65%. En los niños mayores nunca alcanzaron los resultados de los implantados precozmente (164).

Manrique y colaboradores en 2004 en Navarra, un centro de referencia terciario, evalúa los resultados auditivos después del implante coclear en 130 niños con sordera profunda bilateral pre lingual. Los divide en dos grupos uno de 0-2 años y el otro de 2-6 años y hace un seguimiento durante los primeros 5 años. Comparó las pruebas verbales en contexto cerrado y abierto antes y después del IC. El test de percepción de la palabra y la audición mejoraron de forma significativa después del IC. El rendimiento del bebé era mejor cuanto antes se realizaba el IC y las pruebas de lenguaje mostraron en estos niños tenían un desarrollo similar a los niños normales y no se observaron complicaciones adicionales cuando se comparaban con los IC en niños mayores (165).

Aunque no es el objetivo de nuestro trabajo es bueno reseñar que diversos autores han comparado los resultados de este umbral en función de la edad de implantación, siguiendo el criterio de muestras homogéneas, con un coeficiente de inteligencia dentro de la normalidad, valores de hipoacusia superiores a 100 dB HL en 0,5 y 2 kHz, con experiencia previa en el empleo de audífonos durante al menos 6 meses, eliminando causas secundarias de sordera (en su totalidad estimulados con la misma estrategia de codificación y con una inserción completa de los electrodos activos del sistema implantado) (138, 139, 160). Todos coinciden en la importancia de la intervención temprana. Retrasar la implantación limita, de forma irreversible, las posibilidades potenciales de los niños afectados por hipoacusias graves y profundas.

En la actualidad según la FDA, los criterios audiométricos para la indicación de implante coclear son: cuando existe una HNS profunda bilateral, de asiento coclear, con una pérdida media de frecuencias de 500, 1000, 20000 y 40000 Hz mayor de 90 dB HL y con menos del 40 % de respuestas en el reconocimiento de frases o palabras en contexto abierto, sin apoyo visual y con un adecuado equipamiento audióprotésico, con una intensidad de estimulación en campo libre de 65 dB HL (162).

Para McCormick, en población infantil este umbral se sitúa en 55 dB HL, para las frecuencias de 2 y 4 Kz, exclusivamente, sin tener en cuenta las frecuencias graves, en las cuales este umbral podría localizarse entre 40 y 50 dB (166).

Por respuesta adecuada con audífono en general se entiende una respuesta media en frecuencias de 500 Hz, 1000 Hz, 2000 Hz y 40000 Hz, menor a 55 dB, con al menos el 60% de respuestas en reconocimiento en contexto abierto, con la prótesis auditiva equipada en las mejores condiciones. Se observa en la figura 8 que los umbrales tonales con prótesis son válidos para la percepción de los elementos del lenguaje, no ocurriendo así en el caso de la figura 9 en que los umbrales se sitúan por en 120 dB HL (160).

Si bien en la mayoría de los casos el resultado de la audiometría tonal con audífonos se correlaciona con la respuesta obtenida con ellos en la audiometría verbal, no siempre es así en todos los sujetos. Así como en los adultos es posible llevar a cabo un completo estudio auditivo que incluya ATL y vocal, con y sin audífonos, en la población infantil, que aún no ha desarrollado un lenguaje oral, es preciso tomar una decisión de implantación según los datos que se extraigan de la audiometría tonal (160). Los resultados de las pruebas logaudiométricas testadas en contexto abierto y cerrado revelan una homogénea mejoría de los diferentes materiales logaudiométricos concluyen que la percepción del lenguaje oral, en un contexto completamente abierto sin apoyo visual, por lo general se alcanza cuando la estimulación con implante coclear se lleva a cabo dentro de los primeros 6 años de vida, pero es en los cuatro primeros cuando se obtiene un mayor aprovechamiento.

Todo lo anterior se explica por la existencia de un período crítico auditivo en el ser humano que abarcaría los primeros 6 años de vida, tiempo durante el cual se desarrollan los principales cambios madurativos en la corteza cerebral auditiva a partir de estímulos llegados desde la periferia. La capacidad para variar los patrones de desarrollo del sistema auditivo central es a lo que se llama plasticidad neural auditiva, y es relevante en los primeros años de vida, como queda demostrado en la obtención de los más altos resultados y la rapidez con que se obtienen dichos resultados, por parte de la población implantada antes de los tres años edad.

2.4. Factores de riesgo relacionados con hipoacusia.

Nosotros tuvimos 4 niños que tenían sordera profunda o cofosis de ellos 2 de causa genética y los otros dos sin causa cono-

cida aparente. Los otros cuatro niños con sordera de moderada a severa tuvieron el antecedente de prematuridad. Además, uno de ellos padeció meningitis bacteriana sin germen conocido, en uno se detectó madre alcohólica y consumidora de cannabis y en el otro niño no se encontró causa demostrada para la sordera.

En la actualidad la identificación de factores de riesgo pediátrico incluidos los de hipoacusia son recogidos por el pediatra en la historia clínica del recién nacido. Está claro que cuando se realiza este trabajo no contábamos con el programa de detección precoz de hipoacusia en el recién nacido y se le prestaba mucha mayor atención al niño que por alguna razón había estado hospitalizado en las Unidades de Cuidados Intensivo Pediátrico (UCIP). A día de hoy existe un cribado auditivo universal, dejando atrás cribados selectivos basados en los niños de alto riesgo, en los que se dejaba fuera el 50% de los niños con hipoacusia que no presentan antecedentes.

Además, hay bebés con factores de riesgo desconocidos que desarrollan la pérdida tardía de la audición. Por lo tanto, la responsabilidad de la vigilancia de todos los niños se ha trasladado al Médico de Atención Primaria. Para los niños con algún factor de riesgo, por lo menos una evaluación de audiológica entre los 24 a 30 meses es la recomendación. Por el contrario, para un niño con factores de riesgo conocidos por estar asociados con el inicio tardío o la pérdida progresiva de la audición, como por ejemplo, el citomegalovirus (CMV) o los antecedentes familiares, la evaluación temprana y más frecuente es lo adecuado. Debe ser evaluado cada 6 meses, dependiendo de los hallazgos clínicos y preocupaciones (3, 93, 136).

La JCIH en 2007 en el apéndice 1, en la listas de los factores de riesgo de hipoacusia, identifica los factores de riesgo asociados con el inicio tardío o la pérdida progresiva de audición con un asterisco. Hace hincapié que el número de visitas de re-evaluaciones de los niños con factores de riesgo debe ser personalizado e individualizado en función de la probabilidad relativa de una pérdida auditiva posterior de aparición tardía. Los bebés que pasan el screening neonatal, pero tienen un factor de riesgo deben tener al menos una evaluación de diagnóstico de audiológica de 24 a 30 meses de edad. La evaluación temprana y más frecuente puede estar indicada para los niños con infección por (CMV), los síndromes asociados con la pérdida progresiva de la audición, trastornos neurodegenerativos, trauma, o cultivo positivo de infecciones posnatales asociadas con la pérdida auditiva neurosensorial, para los niños que han recibido oxigenación por membrana extracorpórea o quimioterapia; y cuando existe la preocupación del cuidador o un historial familiar de pérdida auditiva (144).

En relación al orden de frecuencia de presentación de los factores de riesgo, los 5 primeros factores de riesgo con sospecha de hipoacusia son: retraso simple del lenguaje, meningitis, síndrome de Down e hipoacusia familiar.

La sospecha de hipoacusia y el retraso simple del lenguaje aparecen como los motivos de consulta más frecuentes, ambos van a detectarse mucho después del nacimiento, y resultan altamente inespecíficos como orientación sobre el origen de la posible hipoacusia, porque en la mayoría de los casos no existe otros indicadores de riesgo en la historia clínica.

Las relaciones descritas entre las patologías durante el embarazo y la hipoacusia neurosensorial infantil se reducen a referencias limitadas y con pocas evidencias sobre diabetes (86), hipotiroidismo materno (87), HTA o preeclampsia (89, 90), ototóxicos maternos (91, 92).

También se cita la posibilidad de hipoacusia inducida por ruido si la madre está expuesta a esta noxa durante el embarazo, pero no existen evidencias claras (93).

El síndrome alcohólico fetal sí ha sido relacionado más consistentemente con la hipoacusia neurosensorial, citándose hasta un 27% de afectación, y postulándose incluso mecanismos lesivos no solamente a nivel coclear sino también neural e incluso central. En un estudio que se realiza en un hospital cerca de París, Toutain y col (94) investigan a 170 madres. 56 de ellas declaran no haber modificado sus hábitos de consumo de alcohol durante el embarazo, 30 dicen haberlo reducido y 84 manifiestan abstinencia total. El estudio demuestra que los bebés nacidos de madres que no modifican su consumo de alcohol durante el embarazo eran más propensos a ser prematuros (30%) y ser hospitalizados en la unidad de neonatología del hospital (60,7%).

En nuestra escasa casuística relacionada con estos factores, tuvimos dos casos de niños prematuros, uno con meningitis bacteriana uno con consumo de alcohol y otro con consumo de drogas por la madre durante la gestación. En estos casos la identificación más temprana de la hipoacusia se realizó en los que estuvieron hospitalizados en la UCIP.

En los casos en que la etiología resultó ser genética, fue más tardía la sospecha y el diagnóstico de sordera.

Prematuridad y bajo peso

Nosotros tuvimos dos niños prematuros uno con HNS modera-severa y otro profunda, ninguno de ellos presentó alteración genética.

Con la inmadurez que ello conlleva son factores de riesgo para la viabilidad y el correcto desarrollo de los recién nacidos. Gracias a la creación y especialización de las UCIP, y a los cuidados neonatológicos estos niños sobreviven aunque con secuelas en un porcentaje no despreciable. El parto prematuro es la mayor causa de mortalidad y morbilidad neonatal y es responsable del 75-90% de todas las muertes neonatales y del 50% de la discapacidad neurológica infantil, incluidas parálisis cerebral, ceguera e hipoacusia (88).

Los recién nacidos se pueden dividir en tres categorías de acuerdo a su edad gestacional tomando como fecha de inicio el primer día de la última menstruación:

- A- Pre-término menos de 38 semanas
- B- Término entre 38 y 41 semanas
- C- Post-término mayor de 41 semanas

Se estima que anualmente nacen en el mundo alrededor de 13 millones de prematuros. El límite más bajo de supervivencia se encuentra alrededor de los 435 g y 25,2 semanas de gestación (167). La morbimortalidad aumenta en niños que pesan menos de 1000 gr, llegando a encontrarse un 82% de discapacidad neurológica, 42 % de problemas visuales, 16 % auditivos (89).

La función pulmonar es la deficiencia más crítica de estos niños y requieren asistencia respiratoria. Hay tendencia a las hemorragias por disminución de los factores de la coagulación producidos por el hígado. Esta fragilidad capilar favorece las hemorragias intracraneales. Los reflejos de succión, deglución no existen o son muy escasos. Los prematuros son esencialmente lábiles a los cambios de temperatura, tanto por la inmadurez del centro regulador central por el escaso aporte calórico que tiene, por la desproporción entre peso y superficie corporal como por la delgadez de la piel.

Antecedentes de ventilación asistida

Uno de nuestros niños con sordera recibió ventilación mecánica mayor de 5 días, que también coincidió con ser prematuro. El bajo recién pre término está íntimamente relacionado con problemas de desarrollo pulmonar, trastornos de la adaptación respiratoria, patologías infecciosas, anemia, asfixia perinatal, afecciones cardiovasculares y sin dudas muchas de ellas requieren de ventilación mecánica asistida.

Se estima que alrededor de 60 por ciento de los neonatos con peso muy bajo al nacer requieren apoyo ventilatorio y su morbilidad respiratoria es alta, especialmente en los más inmaduros (91). La práctica tradicionalmente utilizada en estos casos es la ventilación ciclada por tiempo y limitada por presión, la cual se aplica como ventilación intermitente. Este procedimiento favorece la asincronía entre el paciente y el ventilador, hecho que con frecuencia determina la variabilidad del volumen de ventilación pulmonar suministrado y produce un intercambio ineficaz de gases. Esto lleva a su vez, a la necesidad de proporcionar más apoyo ventilatorio, lo cual contribuye al desarrollo de diversas complicaciones tales como: alteraciones en el flujo sanguíneo sistémico y cerebral, síndrome de fuga aérea (efecto de la espiración activa), hemorragia pulmonar, complicaciones neurológicas (como hemorragia periventricular, leucomalacia periventricular) y neumopatía crónica (95, 168).

Durante el decenio de 1990 se desarrolla la ventilación desencadenada por el paciente, también llamada sincronizada, que permite al paciente controlar diversos parámetros ventilatorios que antes elegía el médico, a través de la emisión de una señal que activa la presión positiva del ventilador al inicio de la inspiración, reduciendo con esto algunos de los efectos atribuidos a la asincronía, como evitar la espiración activa contra la respiración mecánica activada (164). De esta manera, se logra una mejor oxigenación, lo que puede llevar a reducir las presiones ventilatorias y disminuir la exposición al oxígeno en este grupo de neonatos. La asincronía ha sido asociada con espiración activa, disminución de la oxigenación, neumotórax y hemorragia intraventricular, tal hecho se ve limitado con la ventilación sincronizada, lo que puede reducir las variaciones de la velocidad del flujo sanguíneo cerebral.

Aún no se han definido de manera sistemática estrategias ventilatorias suficientes sobre el manejo del síndrome de dificultad respiratoria y el uso de ventilación sincronizada; sin embargo, cuando se compara ésta contra la ventilación convencional, pareciera tener ventajas al poder manejar dos modalidades en la ventilación desencadenada por el mismo (asisto control y ventilación sincronizada propiamente dicha) por lo que futuros estudios deberán contemplar estas opciones, así como la posibilidad de medir flujos, volúmenes y constantes de tiempo. Éstos, hasta hoy no han sido investigados en forma sistemática en relación con el sistema de respiración, lo cual podría abrir nuevas preguntas y líneas de investigación que puedan sugerir estrategias de manejo ventilatorio sincronizado (170).

Meningitis bacteriana

Tuvimos un paciente prematuro que sufrió meningitis bacteriana a germen desconocido. Ambos sucesos lo obligaron a estar más de 5 días intubado en UCIP y actualmente padece HNS severa-profunda.

El riesgo global y en particular auditivo que entraña el padecer meningitis bacteriana está claramente reflejado en la literatura. En el año 2010, en Londres, se publica una revisión sistemática y meta-análisis sobre las secuelas importantes y menos graves que padecen estos pacientes (96). Este estudio comprende los años 1980 y 2008. Se detecta un 12,8% de secuelas importantes (déficit cognitivo, pérdida auditiva bilateral, déficit motor, convulsiones, problemas visuales e hidrocefalia) y un

8,6% de problemas menos graves (problemas de conducta, dificultades de aprendizaje, pérdida auditiva unilateral, hipotonía y diplopía). Dentro de la categoría de importantes la pérdida auditiva representa el 33,9%. La meningitis neumocócica es responsable del 24,7% de las secuelas, el Haemophilus Influenzae tipo b (Hib) del 9,5% y la meningitis a meningococo del 7,2%. Lo que está claro que estas secuelas son dos veces mayor en los países de África (25,1), Asia Sudoriental (21,6) y Europa 9,4%.

La sordera neurosensorial permanente se produce por invasión del espacio perilinfático a través del espacio subaracnoideo, y por tanto la inflamación el laberinto con la consecuente lesión coclear (96).

Antes de la década de 1990 el Haemophilus tipo b era la principal causa de meningitis, la aplicación de la vacuna para esta bacteria ha disminuido la tasa de incidencia de meningitis cobrando mayor importancia las producidas por Streptococcus Pneumoniae.

En la Unión Europea las tasas de notificación de enfermedad invasora pediátrica por neumococo osciló (años) entre un mínimo de 1,7 (<2 años) a 4,2 (2-15 años) en Suecia y una máxima de 93,5 a 174 (<2 años) a 56,2 (<5 años) en España por 100 000 (171).

Las tasas de incidencia de enfermedad neumocócica invasora son similares en las distintas áreas geográficas de nuestro país y concordantes con las registradas en otros países europeos, cuando se calculan teniendo en cuenta sólo los casos de enfermedad invasora demostrada (con clínica) y se excluye la bacteriemia oculta, la cual, por sí misma, no debe ser considerada una forma de enfermedad invasora.

Según distintos estudios epidemiológicos, las tasas de incidencia anual de meningitis neumocócica en nuestro país oscilan entre 10 y 15 casos por 100.000 niños menores de dos años y entre 5 y 10 casos por 100.000 menores de 5 años (171).

Los PEATC en la fase aguda tienen un papel relevante para objetivar de forma temprana la existencia de casos con hipoacusia lo cual es de gran importancia para poder iniciar una rehabilitación auditiva precoz y decidir el implante coclear si procede. Por otra parte se ha demostrado el efecto beneficioso de la terapia precoz con dexametasona intravenosa para prevenir el deterioro auditivo (172).

Drogas en el embarazo

Las drogas ilícitas (marihuana, cocaína, éxtasis, anfetaminas y heroína) y el tabaco consumidas durante la gestación puede hacer que el bebé nazca con bajo peso, retardo del crecimiento fetal, pretérmino, o que presente síntomas de dependencia, defectos congénitos o problemas de aprendizaje y conducta (97).

No obstante, dado que la mayoría de las mujeres embarazadas que consumen drogas ilícitas también consume alcohol y tabaco (que también representan un riesgo para el feto), suele ser difícil determinar qué problemas de salud son causados por una droga ilícita específica. Además, a veces las drogas ilícitas contienen impurezas que pueden ser nocivas para el embarazo. Las mujeres embarazadas que consumen drogas ilícitas pueden tener otros hábitos no saludables que ponen en riesgo su embarazo, como una mala alimentación o el desarrollo de infecciones de transmisión sexual.

Todos estos factores hacen que sea difícil determinar con exactitud cuáles son los efectos de las drogas ilícitas en el embarazo (97).

La marihuana es la droga ilícita de consumo más frecuente entre las mujeres en edad fértil en los Estados Unidos. Algunos estudios sugieren que el consumo de marihuana durante el embarazo puede retrasar el crecimiento del feto y reducir ligeramente la duración del embarazo (con un posible aumento del riesgo de parto prematuro). Estos efectos se observan principalmente en las mujeres que consumen marihuana regularmente (seis o más veces por semana). Después del parto pueden aparecer síntomas de dependencia, como llanto y temblor excesivos, dificultad con la regulación de estados (la capacidad de adaptarse fácilmente al tacto y a cambios en su entorno), son más sensibles a la estimulación y tienen patrones de sueño deficientes (98).

El consumo de éxtasis, metanfetamina y otras anfetaminas ha aumentado considerablemente en los últimos años. A la fecha, se han realizado pocos estudios sobre la manera en que el éxtasis puede afectar el embarazo. Un estudio de pequeña envergadura detectó un posible aumento en los defectos congénitos cardíacos y, únicamente en las mujeres, de un defecto esquelético llamado pie torcido (97).

Otra anfetamina de consumo difundido es la metanfetamina, también conocida como "speed", "ice", "crank" y "cristal". Un estudio realizado en 2006 descubrió que los bebés de las mujeres que consumen esta droga tienen tres veces más probabilidades que los bebés no expuestos a no desarrollarse lo suficiente antes de nacer. Aumenta el riesgo de complicaciones, como parto prematuro y problemas en la placenta. También se han registrado casos de defectos congénitos, como con labio leporino, en los bebés expuestos, pero los investigadores aún no han determinado si la droga contribuye a dichos defectos (99).

La mayoría de los bebés de mujeres que consumen heroína presenta síntomas de dependencia durante los tres días después de nacer, como fiebre, estornudos, temblor, irritabilidad, diarrea, vómitos, llanto continuo y convulsiones (99).

Del listado actualizado de factores de riesgo existente la sospecha por parte del cuidador acerca del retraso del habla y la historia familiar de hipoacusia, constituyen los dos factores de riesgo a los que hay que darle más valor (144).

2.5. Análisis genético rutinario, mejorando los protocolos de diagnóstico existentes.

A día de hoy, con la natalidad que hay en Fuerteventura, ante un resultado de EOA no pasan al nacer y que se mantengan sin aparecer al mes de nacido, sin que existan factores de riesgo conocidos, se debe pasar a la determinación de la mutación 35delG. La incidencia esperada es de 1x1000 recién nacidos y de ellos el 70 % debe tener esta mutación.

Garantizar la coordinación sociosanitaria entre los distintos niveles asistenciales es muy importante, puesto que en la rapidez del diagnóstico dependerá el tratamiento específico y el posible consejo genético que se derive de cada caso en particular.



Conclusiones

VI. CONCLUSIONES

Considerando los análisis expuestos anteriormente y los objetivos que guiaron la presente investigación, se han extraído las siguientes conclusiones:

1. La incidencia de sordera genética secundaria a la mutación 35delG del gen codificante de la Cx 26 (*gap function* beta 2 protein-GJB2) en Fuerteventura en población de 3 a 6 años de enero de 2003 a diciembre de 2008 es de 2 casos.
2. No encontramos pacientes portando la mutación R143 W ni la mutación A1555G en el ADN mitocondrial.
3. Los dos casos positivos de la mutación fueron varones.
4. La media de edad de sospecha de hipoacusia fue de 17 meses.
5. La media de edad en el diagnóstico de la hipoacusia fue de 28 meses.
6. La familia de un afecto procedía de Fuerteventura y la del otro enfermo de Galicia.
7. Evaluación del tratamiento seleccionado:
 - El análisis de los umbrales audiométricos obtenidos antes del implante coclear no dejan duda sobre el claro beneficio que proporciona este tratamiento a las personas con un hipoacusia profunda bilateral.
 - Aquellos pacientes no candidatos a implante coclear, no presentaron progresión de la sordera al menos en el período estudiado, por lo que fueron tratados con prótesis auditiva.
8. La prematuridad con o sin padecimiento de meningitis fueron los factores de riesgo más detectados.

FUTURO

Actualmente las tecnologías de secuenciación de segunda generación permiten secuenciar el genoma en un único experimento en el plazo de unas semanas. Desafortunadamente, las limitaciones metodológicas aún hacen complejo el análisis de las secuencias obtenidas, y la necesidad de validar los resultados incrementa los costes del proceso. Sin embargo, en el futuro, al análisis completo del genoma de un individuo tendrá un coste similar al que tiene actualmente la secuenciación mediante tecnología de primera generación (secuenciación Sanger) de un único gen con varios exones codificantes. La futura utilización en la práctica clínica habitual de los secuenciadores de segunda y tercera generación, previsiblemente revolucionará la práctica clínica y, por supuesto, influirá radicalmente en el manejo de las enfermedades hereditarias (173).

RECOMENDACIONES

Idealmente se deberían de realizar estudios de seguimiento de cohorte durante toda la edad pediátrica para controlar las tasas de incidencia y prevalencia para otras sorderas de comienzo tardío (infancia, adolescencia), así mismo evaluar a largo plazo

la evolución de las mismas, sabiendo que un 10-20% de las sorderas no son detectadas en el momento del nacimiento con *screening*.



Bibliografía

7.- Bibliografía

- 1- Gil-Carcedo L. M, Vallejo L. A, Gil Carcedo E. La hipoacusia en el niño. Sordomudez. En su: Otolología. Madrid: Editorial Médica Panamericana, S.A; 2004. p. 263- 66.
- 2- Bixquert V, Jáudenes C, Patiño I. Incidencia y repercusiones de la hipoacusia en niños. En: Marco J, Matéu S, coordinadores. Libro blanco sobre hipoacusia. Madrid: CODEPEH Ministerio de Sanidad y Consumo; 2003. p.13-24.
- 3- Centro de recursos sordoceguera [sede Web]. Perú: Sense Internacional Latinoamérica; 2002 [acceso 2 de noviembre de 2012]. Oído interno. Disponible en: http://www.sordoceguera.org/vc3/sordoceguera/oido/oido_interno.php.
- 4- Monografías [sede Web]. Madrid: Fisiología - Escuela de Nutrición - FCM – UNC; 2005 [acceso 2 de noviembre de 2012]. De Martínez L. Fisiología de la audición. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos61/fisiologia/fisiologia2.shtml>.
- 5- Bess F, Humess L. Estructura y función del sistema auditivo. En su: Fundamentos de audiología. México: El Manual Moderno; 2005. p. 55-105.
- 6- Gil-Loызaga P; Pujol R: Fisiología del Receptor y la Vía Auditiva. En: Fisiología Humana 3ª Ed. J. A. F. Tresguerres. Edit. McGraw Hill- Interamericana, 2005. p. 217- 228.
- 7- Steel KP, Kros CJ. A genetic approach to understanding auditory function. Nature Genet. 2001; 27: 143-9.
- 8- López N, Govea N, Rabionet R, Arbonés Mª L, Estival X. Genética y genómica de la sordera no sindrómica. En: Tomás M, Bernal M. Tratado de otorrinolaringología pediátrica. Ponencia oficial de la SEORL. Girona: Gràfiques Alzadora; 2000. p. 227-244.
- 9- Nouvian R, Malinvaud D, Van den Abbeele T, Puel J-L, Bonfils P, Avan P. Fisiología de la audición. En: Enciclopedia Médico Clínica. Paris: Editorial Elsevier Masson SAS; Otorrinolaringología, 2012. P. 20-030-A10.
- 10- Wada H, Kimura R, Gomi T, Sugawara M, Katori Y, Kakehata S, Ikeda K, Koborashi T. Imaging of the cortical cytoskeleton of guinea pig outer hair cells using atomic force microscopy. Hearing Res. 2004; 187: 51- 62.
- 11- Robertson NG, Morton CC. Beginning of a molecular era in hearing and deafness. Clin Genet. 1999; 55: 149- 9.
- 12- Goodenough DA, Golinger JA, Paul DL. Connexins, connexions and intercellular communication. Annu. Rev. Biochem. 1996; 65: 475- 502.
- 13- Lee KJ. Audiología. En su: Otorrinolaringología cirugía de cabeza y cuello. México: McGRAW-Hill INTERAMERICANA. 2002; p. 25- 47.

-
- 14- Lavinsky L, Gimaraes U. Causas de sordera neurosensorial. En: Sih T. Otorrinolaringología pediátrica. Barcelona: Springer-Verlag Ibérica. 1999; p. 199- 207.
- 15- Clasificación audiométrica de las deficiencias auditivas [sede Web]. Bélgica: Bureau Internacional d'Audiophonologie; 1997 [acceso 2 de noviembre de 2012]. De BIAP. Recomendación biap Lisboa 02/1 1997. Disponible en: <http://www.biap.org>.
- 16- Poch Broto J, Gil Loyzaga P. Fisiología coclear. En: Vallejo Valdezate L. Hipoacusia neurosensorial. Barcelona: MASSON, SA; 2002. p. 1-9.
- 17- Alzina de Aguilar V. Detección precoz de la hipoacusia en el recién nacido. *An Pediatr*. 2005; 63: 193- 198.
- 18- Sordera y defectos de audición [sede Web]. Organización Mundial de la Salud; 2006 [acceso 2 de noviembre de 2012]. Temas de salud, sordera y deficiencia auditiva. Nota descriptiva N° 300. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs300/es/index.html>.
- 19- Moro M, Almenar A. Detección precoz de la hipoacusia en la infancia. ¿Es el momento del cambio?. *An Esp Pediatr*. 1999; 51: 329- 32.
- 20- Canale A, Favero E, Lacilla M, Recchia E, Schindler A, Roggero N, Albera R. Age at diagnosis of deaf babies: a retrospective analysis highlighting the advantage of newborn hearing screening. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2006; 70: 1283- 9.
- 21- Khairi M, Din S, Shahid H, Normastura AR. Hearing screening of infants in Neonatal Unit, Hospital Universiti Sains Malaysia using transient evoked otoacoustic emissions. *J Laryngol Otol*. 2005; 119: 678- 83.
- 22- Abelló P. Hipoacusia infantil. *ORL – Dips*. 2004; 31: 182-185.
- 23- Moreno F, San Millán JL, Hernández- Chico C, del Castillo I. Contribuciones científicas al conocimiento de las bases moleculares de cuatro enfermedades genéticas. Estudio de las hipoacusias hereditarias no sindrómicas. Premio Reina Sofía 2002 de prevención de deficiencias. 2003; 54: p. 5-14.
- 24- American Academy of Pediatrics, Joint Committee on Infant Hearing. Informe sobre la posición en 1982. *Pediatrics* (ed esp). 1982; 14: 244- 45.
- 25- GENDEAF [sede Web]: Boletín nº 1 de la Red europea de sordera genética; 2003 [acceso 2 de noviembre de 2012]. De Mazzoli M. Mecanismos patogénicos, diagnóstico clínico y molecular e impacto social. Cuándo existe correlación entre una deficiencia auditiva y un genotipo específico ?. Disponible en: www.gendeaf.org.
- 26- Comisión para la Detección Precoz de la Hipoacusia (CODEPEH). Protocolo para la detección precoz de la hipoacusia en recién nacidos con indicadores de riesgo. 1996.

- 27- Marco J, Almenar A, Alzina V, Bixquert V, Jaudenes MC, Ramos A, et al. Control de la calidad de un programa de detección, diagnóstico e intervención precoz de la hipoacusia en recién nacidos. Documento oficial de la comisión para la detección de la hipoacusia en recién nacidos (CODEPEH). *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2004; 55: 103- 6.
- 28- Joint Committee on Infant Hearing. Position Statement. *ASHA.* 1994; 36: 38- 41.
- 29- European Consensus Statement on Neonatal Hearing Screening. *European Journal of Pediatrics.* 1999; 158(2): 95- 96.
- 30- American Academy of Pediatrics. Task Force on Newborn and Infant Hearing. Newborn and infant hearing loss: detection and intervention. *Pediatrics.* 1999; 103: 527- 30.
- 31- Comisión para la detección precoz de la hipoacusia infantil (CODEPEH). Propuesta para la detección e intervención precoz de la hipoacusia infantil. *An Esp Pediatr.* 1999; 51: 336- 44.
- 32- J Urdiales Urdiales, E Álvaro Iglesias, I Lopez Fernández, G Vázquez Cáceres, J Piquero Fernández, M Conde Lopez, F Fernández Calvo, P González Lopez, JM García Vela. Revisión de métodos de screening en hipoacusias. *Bol Pediatr.* 2003; 43: 272- 280.
- 33- Manrique M, Morera C, Moro M. Grupo Multicéntrico de detección precoz de la hipoacusia infantil. Detección precoz de la hipoacusia en recién nacidos de alto riesgo. Estudio Multicéntrico. *An Esp Pediatr.* 1994; 40 supl 59: 11- 45.
- 34- Morales Angulo C, González de Aledo Linos A, Bonilla Miera C, Mazón Gutiérrez A, Santiuste Aja FJ, Barrasa Benito J, Gómez Ullate J, Gómez da Casa F, Pérez Vallés I, Mongil Ruiz I, Muñiz González A. Programa de detección precoz de la hipoacusia en neonatos en Cantabria. Resultados del primer año de funcionamiento. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2003; 54: 475-482.
- 35- Rivera T, Cobeta I. Screening auditivo en niños con factores de riesgo de hipoacusia en el Área 3 de Madrid. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2001; 52: 447-452.
- 36- Navarro Rivero B, González Díaz E, Marrero Santos L, Martínez Toledano I, Murillo Díaz MJ, Valiño Colás MJ. Estudio prospectivo con potenciales evocados auditivos de tronco cerebral en niños de riesgo. *An Esp Pediatr.* 1999; 50: 357- 60.
- 37- Plan de detección precoz de hipoacusia en la Comunidad de Madrid 2006-2007. Libro Blanco sobre hipoacusia. Detección precoz de la hipoacusia en recién nacidos. Madrid. Ministerio de Sanidad y Consumo, 2003. P. 13- 24.
- 38- Hereditary Hearing Loss Homepage [sede Web]. Estados Unidos [acceso el 3 de noviembre de 2012]. Disponible en: <http://hereditaryhearingloss.org>.
- 39- Smith RJH. Clinical Application of Genetic Testing for Deafness. *Am J Med Genet.* 2004; 130: 8- 12.
- 40- Slinger YS, Martinez A, Eisenberg L, Christensen E, Grimes A, Hu J. Newborn hearing screening speeds diagnosis and access to intervention by 20-25 months. *J Am Acad Audiol.* 2009; 20: 49- 57.

- 41- Ryugo DK, Baker CA, Montey KL, Chang LY, Coco A, Fallon JB, Shepherd RK. Synaptic plasticity after chemical deafening and electrical stimulation of the auditory nerve in cats. *J Comp Neurol*. 2010; 518: 1046- 63.
- 42- Regulación Jurídica de las Biotecnologías [sede Web]. Buenos Aires: Sitio Oficial de la Facultad de Derecho de la Universidad de Buenos Aires; 2002 [acceso 3 de noviembre de 2012]. De S Mels, Celeste C. AND en la prueba de filiación. Disponible en: <http://www.biotech.bioetica.org/i28.htm>.
- 43- Wikipedia. Friedrich Miescher [sede Web]. México: <http://es.wikipedia.org>; 2012 [actualizada 29 de junio de 2012; acceso 3 de noviembre de 2012]. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Friedrich_Miescher.
- 44- Marantz R. El monje en el huerto. La vida y el genio de Gregor Mendel, padre de la genética. 1ª ed. Barcelona: Editor Debate; 2001.
- 45- Fay EA. Marriages of the deaf in America. Washington: Volta Bureau, 1898.
- 46- Nobelprize.org. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1946 Hermann J. Muller [sede Web]. Ámsterdam: nobelprize.org; 2012 [actualizada el 3 de noviembre de 2012; acceso 3 de noviembre de 2012]. Disponible en: <http://nobelprize.org/medicine/laureates/1946/muller-bio.html>.
- 47- Wikipedia. Maurice Hugh Frederick Wilkins [sede Web]. México: <http://es.wikipedia.org>; 2012 [actualizada 29 de junio de 2012; acceso 3 de noviembre de 2012]. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Maurice_Wilkins.
- 48- Wikipedia. George_Wells_Beadle [sede Web]. México: <http://es.wikipedia.org>; 2012 [actualizada 29 de junio de 2012; acceso 3 de noviembre de 2012]. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/George_Wells_Beadle.
- 49- Wikipedia. Edward Laurie Tatum [sede Web]. México: <http://es.wikipedia.org>; 2012 [actualizada 29 de junio de 2012; acceso 3 de noviembre de 2012]. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Edward_Lawrie_Tatum.
- 50- Historiadelamedicina.org Blog Oswald-Theodore-Avery-1877-1955 [sede Web]. Valencia: Universidad de Valencia, España; 2006 [Actualizada el 12 de octubre de 2012; acceso 2 de noviembre de 2008]. Disponible en: <http://historiadelamedicina.org/blog/2006/02/20/oswald-theodore-avery-1877-1955>.
- 51- Watson JD, Crick FHC. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953; 171: 737.
- 52- Santesmases, MJ. Severo Ochoa. De músculos a proteínas. Madrid: Síntesis; 2005.
- 53- Gómez-Santos M. Severo Ochoa y España. Madrid: Editorial Trotta; 2005.

- 54- Nobelprize.org. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1968 Marshall Warren Nirenberg [sede Web]. Stockholm: Nobelprize.org; 2012 [actualizada el 3 de noviembre de 2012; acceso 3 de noviembre de 2012]. Disponible en: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1968/nirenberg-bio.html
- 55- Borek, E. La clave de la vida. 1ª ed. México: Limusa; 1979.
- 56- Keyko Kawaguchi P. Hipoacusia de causa genética. Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello. 2005; 65: 39- 44.
- 57- Cremers CWRJ. An approach to the causes of early childhood deafness. Clin Otolaryngol. 1978; 3: 21- 26.
- 58- Fraser GR. The causes of profound deafness in childhood. In: Sensorineural Hearing loss. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1970, 5- 40.
- 59- Holten A, Parving A. Aetiology of hearing disorders in children at the schools for the deaf. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 1985; 10: 229-236.
- 60- Marres Ham, Cremers CWRJ. Autosomal recessive nonsyndromal profound childhood deafness in a large pedigree. Audiometric features of the affected persons and the obligate carriers. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1989; 115: 591-5.
- 61- Newton VE. Aetiology of bilateral sensorineural hearing loss in young children. J. Laryngol Otol (Suppl). 1985; 10: 1- 57.
- 62- Fraser GR. Profound childhood deafness. J Med Genet. 1964; 38: 118-51.
- 63- Nass MM, Nass S. Intramitochondrial fibers with DNA characteristics: I. Fixation and electron staining reactions. J Cell Biol. 1963; 19: 593- 611.
- 64- Zelante L, Gasparini P, Estivill X, Melchionda S, D'Agruma L, Govea N, Milá M, Monica MD, Lutfi J, Shohat M, Mansfield E, Delgrosso K, Rappaport E, Surrey S, Fortina P. Connexin26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans. Hum Mol Genet. 1997; 6: 1605- 9.
- 65- Carrasquillo MM, Zlotogora J, Barges S, Chakravarti A. Two different connexin 26 mutations in an inbred kindred segregating non-syndromic recessive deafness: implications for genetic studies in isolated populations. Hum Mol Genet. 1997; 6: 2163- 72.
- 66- 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: 2173- 7.
- 67- Estivill X, Fortina P, Surrey S, Rabionet R, Melchionda S, D'Agruma L, et al. Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. Lancet. 1998; 351: 394- 8.
- 68- Kelley PM, Harris DJ, Comer BC, Askew JW, Fowler T, Smith SD, et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2)

that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss. *Am J Hum Genet.* 1998; 62: 792-9.

69- Gasparini P, Estivill X, Volpini V, Totaro A, Castellvi-Bel S, Govea N, Mila M, Della Monica M, Ventruto V, De Benedetto M, Stanziale P, Zelante L, Mansfield ES, Sandkuijl L, Surrey S, Fortina P. Linkage of DFNB1 to non-syndromic neurosensory autosomal-recessive deafness in Mediterranean families. *Eur J Hum Genet.* 1997; 5: 83- 8.

70- del Castillo I, Moreno-Pelayo MA, Moreno F. Bases genéticas de las hipoacusias. En: Suárez C, Gil-Carcedo LM, Marco J, Medina JE, Ortega P, Trinidad J (eds.). *Tratado de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello* 2ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2007. P. 1719- 41.

71- Estivill X, Gasparini P. Connexin and deafness [sede Web]. Estados Unidos: Hereditary Hearing Loss Homepage Hereditary Hearing Loss Homepage; 2012 [actualizada 3 de noviembre de 2012; acceso 3 de noviembre de 2012]. Disponible en: <http://davinci.org.es/deafness>.

72- Kenna MA, Rehm HL, Robson CD, Frangulov A, McCallum J, Yaeger D, Krantz ID. Additional clinical manifestations in children with sensorineural hearing loss and biallelic GJB2 mutations: who should be offered GJB2 testing? *Am J Med Genet A.* 2007; 143: 1560- 6.

73- Lucotte G. High prevalences of carriers of the 35delG mutation of connexin 26 in the Mediterranean area. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2007 ; 71: 741- 6.

74- del Castillo I, Villamar M, y Moreno F. Hipoacusias genéticas. En: Gil-Carcedo LM, Marco J, Medina J, Ortega P, Suárez C, y Trinidad J (eds). *Tratado de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello.* Madrid: Proyectos Médicos; 1999; 1461- 95.

75- MedlinePlus [sede Web]. Philadelphia: Enciclopedia médica en español; [actualizada 16 de mayo de 2012, acceso 3 de noviembre de 2012].

Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/002048.htm>

76- Guizar JJ, Zavala C, Arenas DJ, Rostenberg I, Mandujano M. Aspectos genéticos de los padecimientos otorrinolaringológicos. En Levy S, Mandujano M. *Otorrinolaringología pediátrica.* 4ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 1999. p. 49- 73.

77- Santos, M y Morizon, G. Cap. 14: Enfermedades genéticas en el RN: enfoque clínico. Tapia, J.L y P. Ventura. Eds. *Manual de Neonatología.* 2a ed. 2000. p.113- 120.

78- Williamms C. El genoma humano. *Rev Med Hond.* 2002; 70: 132- 7.

79- MeDe G, Londin E, Mui R, Brink PR, White TW. Altered gating properties of functional Cx 26 mutants associated with recessive non-syndromic hearing loss. *Hum Genet.* 2004; 115: 191- 9.

80- Gasparini P, Rabionet R, Barbujani G, Melchionda S, Petersen M, Brondum-Nielsen K, et al. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. Genetic Analysis Consortium of GJB2 35delG. *Eur J Hum Genet.* 2000;

8: 19- 23.

81- Hutchin T, Haworth I, Higashi K, Fischel-Ghodsian N, Stoneking M, Saha N, et al. A molecular basis for human hypersensitivity to aminoglycoside antibiotics. *Nucleic Acids Res.* 1993; 21: 4174- 9.

82- Pandya A, Xia X, Radnaabazar J, Batsuuri J, Dangaansuren B, Fischel-Ghodsian N, et al. Mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene in two families from Mongolia with matrilineal aminoglycoside ototoxicity. *J Med Genet.* 1997; 34: 169- 72.

83- Matthijs G, Claes S, Longo-Mbenza B, Cassiman JJ. Non-syndromic deafness associated with a mutation and a polymorphism in the mitochondrial 12S ribosomal RNA gene in a large Zairean pedigree. *Eur J Hum Genet.* 1996; 4: 46- 51.

84- Sarduy M, del Castillo I, Villamar M, et al. Genetic study of mitochondrially inherited sensorineural hearing impairment in eight large families from Spain and Cuba. En: Stephens D, Read A, Martin A. *Developments in genetic hearing impairment.* London: Whurr Publishers; 1998; 121- 5.

85- Finsterer J, Fellingner J. Nuclear and mitochondrial genes mutated in nonsyndromic impaired hearing. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2005; 69: 621-47.

86- Wang R, Martínez-Frías ML, Graham JM Jr. Infants of diabetic mothers are at increased risk for the oculo-auriculo-vertebral sequence: A case-based and case-control approach. *J Pediatr.* 2002; 141: 611- 7.

87- Sohmer H, Freeman S. The importance of thyroid hormone in auditory development in the fetus and neonate. *Audiol Neurootol.* 1996; 1: 137- 47.

88- Sohmer H, Freeman S. Functional development of auditory sensitivity in the fetus and neonate. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 1995; 6: 95- 108.

89- Bakhshae M, Boskabadi H, Hassanzadeh M, Nourizadeh N, Ghassemi MM, Khazaeni K, Moghiman T, Tale MR. Hearing impairment in the neonate of preeclamptic women. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008; 139: 846- 9.

90- Wells MD. Pregnancy-induced hypertension and congenital hearing loss. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1991; 22: 39- 47.

91- Rais-Bahrami K, Majd M, Veszelszky E, Short BL. Use of furosemide and hearing loss in neonatal intensive care survivors. *Am J Perinatol.* 2004; 21: 329- 32.

92- Roizen NJ. Etiology of hearing loss in children- Non genetic causes. *Pediatric Clinics of North America.* 1999; 46: 49- 64.

93- Rocha EB, Frasson de Azevedo M, Ximenes Filho JA. Study of the hearing in children born from pregnant women exposed to occupational noise: assessment by distortion product otoacoustic emissions. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2007; 73: 359- 69.

94- Toutain S, Simmat-Durand L, Crenn-Hébert C, Simonpoli AM, Vellut N, Genest L, Miossec E, Lejeune C. Consequences

- for the newborn of alcohol consumption during pregnancy]. *Arch Pediatr*. 2010; 17: 1273- 80.
- 95- Pereyra da Silva O. Factors influencing acquired upper airway obstruction in newborn infants receiving assisted ventilation because of respiratory failure: An overview. *Perinatol*. 1996; 16: 272- 5.
- 96- Edmond K, Clark A, Korczak VS, Sanderson C, Griffiths UK, Rudan I. Global and regional risk of disabling sequelae from bacterial meningitis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2010; 10: 317- 28.
- 97- Reprotox.org. Reproductive Toxicology Center [sede Web]. Washington DC: Reprotox.org; 2007 [actualizado enero de 2008; acceso 6 de noviembre de 2012]. Disponible en: <http://www.reprotox.org>.
- 98-Drugabuse.gov/publications/research-reports/marijuana-abuse. Estados Unidos. National Institute on Drug Abuse. Research Report Series – Marijuana Abuse. [actualizado septiembre de 2010; acceso 6 de noviembre de 2012], Disponible en: www.nida.nih.gov/ResearchReports/marijuana.
- 99- García-Algar O, Vall Combelles O, Puig Sola C, Mur Sierra A, Scaravelli G, Pacifici R, Monleón Getino T, Pichini S. Prenatal exposure to drugs of abuse using meconium analysis in a low socioeconomic population in Barcelona. *An Pediatr*. 2009; 70: 151- 8.
- 100- Palmer CG, Lueddeke JT, Zhou J. Factors influencing parental decision about genetics evaluation for their deaf or hard-of-hearing child. *Genet Med*. 2009; 11: 248- 55.
- 101- Tekin M, Arnos KS, Pandya A. Advances in hereditary deafness. *Lancet*. 2001; 358: 1082- 90.
- 102- Mani RS, Ganapathy A, Jalvi R, Srikumari Srisailapathy CR, Malhotra V, Chadha S, Agarwal A, Ramesh A, Rangasayee RR, Anand A. Functional consequences of novel connexin 26 mutations associated with hereditary hearing loss. *Eur J Hum Genet*. 2009; 17: 502- 9.
- 103- Rabionet R, Zelante L, López-Bigas N, D'Agruma L, Melchionda S, Restagno G, Arbonés ML, Gasparini P, Estivill X. Molecular basis of childhood deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene. *Hum Genet* 2000; 106: 40- 4.
- 104- del Castillo I, Villamar M, Moreno-Pelayo MA, del Castillo FJ, Alvarez A, Tellería D, et al. A deletion involving the connexin 30 gene in nonsyndromic hearing impairment. *N Engl J Med*. 2002; 346: 243- 9.
- 105- Lerer I, Sagi M, Ben-Neriah Z, Wang T, Levi H, Abeliovich D. A deletion mutation in GJB6 cooperating with a GJB2 mutation in trans in non-syndromic deafness: A novel founder mutation in Ashkenazi Jews. *Hum Mutat*. 2001; 18: 460.
- 106- Menéndez I, Carrillo B, del Castillo I, Villamar M, Romero L, Moreno F. Frecuencia de mutaciones en el gen de la conexina 26 en pacientes cubanos con sordera neurosensorial severo-profunda. *Rev Cubana Pediatr*. 2003; 75.
- 107- Pallares-Ruiz N, Blanchet P, Mondain M, Claustres M, Roux AF. A large deletion including most of GJB6 in recessive non

syndromic deafness: a digenic effect? *Eur J Hum Genet.* 2002; 10: 72- 76.

108- Lopez-Bigas N, Olive M, Rabionet R, Ben-David O, Martinez-Matos JA, Bravo O, et al. Connexin 31 (GJB3) is expressed in the peripheral and auditory nerves and causes neuropathy and hearing impairment. *Hum Mol Genet.* 2001; 10: 947- 52.

109- Denoyelle F, Marlin S. Hipoacusias neurosensoriales de origen genético. *EMQ (Elsevier SAS), Otorrinolaringología,* 20-191- A-10, 2006.

110- Gallo-Terán J, Morales-Angulo C, Rodríguez Ballesteros M, Moreno-Pelayo MA, del Castillo I, Moreno F. Prevalencia de las mutaciones 35delG en el gen GJB2, del (GJB6-D13S1830) en el gen GJB6, Q829X en el gen OTOF y A1555G en el gen ARNr 12S mitocondrial en sujetos con hipoacusia neurosensorial no sindrómica de inicio congénito o en la infancia. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2005; 56: 463- 468.

111- Migliosi V, Modamio-Hoybjor S, Moreno-Pelayo MA, Rodríguez Ballesteros M, Villamar M, Tellería D, et al. Q829X, a novel mutation in the gene encoding otoferlin (OTOF), is frequently found in Spanish patients with prelingual non-syndromic hearing loss. *J Med Genet.* 2002; 39: 502- 6.

112- Rodriguez-Ballesteros M, del Castillo FJ, Martin Y, Moreno-Pelayo MA, Morera C, Prieto F, Marco J, et al. Auditory neuropathy in patients carrying mutations in the otoferlin gene (OTOF). *Hum Mutat.* 2003; 22: 451- 6.

113- Gürtler N, Lalwani AK. Causas de las hipoacusias neurosensoriales sindrómicas y no sindrómicas. En: *Clínicas Otorrinolaringológicas de Norteamérica. Diagnóstico y tratamiento de la hipoacusia en lactantes y niños pequeños: Madrid, McGRAW-INTERAMERICANA.* 2002: 853- 65.

114- Robin NH. Genetic testing for deafness is here, but how do we do it? *Genet Med.* 2004. 6: 463-4.

115- Pappas D. *Diagnosis and treatment of hearing loss in children.* 1ª ed. singular publis, Estados Unidos; 1998.

116- Guilford P, Ayadi H, Blanchard S, Chaib H, Le Paslier D, Weissenbach J, Drira M, Petit C. A human gene responsible for neurosensory, non-syndromic recessive deafness is a candidate homologue of the mouse sh-1 gene. *Hum Mol Genet.* 1994; 3(6): 989- 93.

117- del Castillo FJ, Villamar M, Moreno-Pelayo MA, Almela JJ, Morera C, Adiego I, Moreno F, del Castillo I. Maternally inherited non-syndromic hearing impairment in a Spanish family with the 7510T> C mutation in the mitochondrial tRNA(Ser(UCN)) gene. *J Med Genet.* 2002; 39 (12): 82.

118- Prezant TR, Agopian JV, Bohlman MC, Bu X, Oztas S, Qiu WQ. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet.* 1993; 4: 289- 94.

119- Gallo-Terán J, Morales-Angulo C, I Del Castillo, Villamar M, Moreno-Pelayo M.A, García-Mantilla J, Moreno F. Incidencia de las mutaciones A1555G en el ADN mitocondrial y 35delG en el gen GJB2 (conexina 26) en familias con hipoacusia neuro-

sensorial postlocutiva no sindrómica en Cantabria. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2002; 53: 563- 571.

120- Estivill X, Govea N, Barcelo E, Badenas C, Romero E, Moral L, et al. Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA A1555G mutation and is enhanced by treatment with aminoglycosides. *Am J Hum Genet.* 1998; 62: 27-35.

121- Suárez, JE, Bravo A I. Conexinas y sistema cardiovascular. *Rev Argent. Cardiol.* 2006; 74; 149- 156.

122- Guilford P, Ben A, Blanchard S, Levilliers J, Weissenbach J, Belkahia A, Petit C. A non-syndromic form of neurosensory, recessive deafness maps to the pericentromeric region of chromosome 13 q. *Nat Genet.* 1994; 6:24- 28.

123- Denoyelle F, Marlin S, Weil D, et al. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: Implications for genetic counseling. *Lancet.* 1999; 353: 1298- 1303.

124- Brobby GW, Müller-Myhsok B, Horstmann RD. Connexin 26 R143W mutation associated with recessive nonsyndromic sensorineural deafness in Africa. *N Engl J Med.* 1998; 338: 548- 50.

125- Mammano F. Ca²⁺ homeostasis defects and hereditary hearing loss. *Biofactors.* 2011; 37: 182-8.

126- Mani RS, Ganapathy A, Jalvi R, Srikumari Srisailapathy CR, Malhotra V, Chadha S, Agarwal A, Ramesh A, Rangasayee RR, Anand A. Functional consequences of novel connexin 26 mutations associated with hereditary hearing loss. *Eur J Hum Genet.* 2009; 17: 502- 9.

128- Leon PE, Raventos H, Lynch E, Morrow J, King MC. The gene for an inherited form of deafness maps to chromosome 5q31. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Genetics* 1992; 89: 5181-5184.

127- Stella YK, Man YK, Trollove C, Tattersall D, Thomas A, Papakonstantinopoulou A, Patel D, et al. A deafness-associated mutant human connexin 26 improves the epithelial barrier in vitro. *J Membr Biol.* 2007; 218: 29- 37.

129- Kellsell DP, Dunlop J, Stevens HP, Lench NJ, Liang JN, Parry G, et al. Connexin-26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. *Nature.* 1997; 387: 80- 83.

130- del Castillo I, Moreno-Pelayo MA, Del Castillo FJ, Brownstein Z, Marlin S, Adina Q, Cockburn DJ, et al. Prevalence and evolutionary origins of the del(GJB6-D13S1830) mutation in the DFNB1 locus in hearing-impaired subjects: a multicenter study. *Am J Hum Genet;* 2003; 73: 1452- 8.

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

132- Menéndez I, Carrillo B, del Castillo I, Villamar M, Romero L, Moreno F. Frecuencia de mutaciones en el gen de la co-

- nexina 26 en pacientes cubanos con sordera neurosensorial severo-profunda. *Rev Cubana Pediatr.* 2003; 75.
- 133- Ramos A, Rodríguez C, Borkoski S, Cuyás JM, Falcón JC, Goenaga L y Masgoret E. Implante coclear en hipoacusias con alteración de la conexina 26. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2007; 58:198- 201.
- 134- Mahdieh N, Rabbani B. Statistical study of 35delG mutation of GJB2 gene: A meta-analysis of carrier frequency. *International Journal of Audiology* 2009, 48: 363-370.
- 135- Batissoco AC, Abreu-Silva RS, Braga MC, Lezirovitz K, Della-Rosa V, Alfredo T Jr, Otto PA, Mingroni-Netto RC. Prevalence of GJB2 (connexin-26) and GJB6 (connexin-30) mutations in a cohort of 300 Brazilian hearing-impaired individuals: implications for diagnosis and genetic counseling. *Ear Hear* 2009; 30: 1-7.
- 136- González de Dios J, Mollar J, Rebagliato M. Evaluación del programa de detección precoz universal de la hipoacusia en el recién nacido. *An Pediatr* 2005; 63: 230-7.
- 137- Manrique M, Huarte A, Molina M, Narbona J, Cervera-Paz FJ, Artieda J et al. Implantes cocleares en los niños. En: Suárez Nieto ed. Libro del año. Otorrinolaringología. Madrid: Saned, 1998; 49-66.
- 138- Sainz M, Skarzkynsky H, Allum JH, et al. Assessment of auditory skill in 140 cochlear implant children using the EARS protocol. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2003; 65:91-6.
- 139- Manrique M, Cervera-Paz FJ, Huarte A, Molina M. Advantages of cochlear implantation in prelingual deaf children before 2 years of age when compared with later implantation. *Laryngoscope.* 2004;114:1462-9.
- 140- Manrique MJ. Edad y momento de aparición de la sordera. En: Manrique M, Huarte A, editores. Implantes cocleares. Barcelona: Masson; 2002. p. 167-74.
- 141- Memoria anual de actividad 2008. Edita: Gerencia de Servicios Sanitarios del Área de Salud Fuerteventura.
- 142-http://www.gobiernodecanarias.org/sanidad/scs/ftv/mapa_sanitario.jsp
- 143- Eekhof JA, Burgers JS. Summary of the guideline 'Hearing impairment' from the Dutch College of General Practitioners. The Dutch College of General Practitioners. *Ned Tijdschr Geneesk.* 1998; 142: 1813- 6.
- 144- Joint Committee on Infant Hearing. Year 2007 Position Statement: Principles and Guidelines for Early Hearing Detection and Intervention Programs. *Pediatrics.* 2007; 120: 898- 921.
- 145- BOE [sede Web]. Madrid: Gobierno de España, Ministerio de la Presidencia; 1999 [acceso 7 de noviembre de 2012]. De Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado: Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal (BOE núm. 298, de 14-12-1999, pp. 43088-43099). Disponible en: www.boe.es/g/es/.

- 146- Huarte A, Molina M, Olleta I et al. Protocolo para la valoración de la audición y el lenguaje, en lengua española, en un programa de implantes cocleares. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 1996; 47 (Suppl 1): 1- 14.
- 147- Morant A, Marco J, Pérez B, Caballero J, Contreras A. Registro de otoemisiones provocadas en población adulta normooyente: percentiles de normalidad. *Anales ORL Iber-Amer.* 1995; 4: 363- 377.
- 148- P. Torrico P, Trinidad G, de Cáceres M^a C, Lozano S y J. López-Ríos J. Detección precoz de hipoacusias en recién nacidos mediante otoemisiones acústicas con Echocheck. *An Esp Pediatr.* 2001; 54:283- 289.
- 149- Jerger J, Anthony L, Jerger S, Mauldin L. Studies in impedance audiometry. 3. Middle ear disorders. *Arch Otolaryngol.* 1974; 99: 165- 71.
- 150- Audiología infantil. Perelló E, Salesa E, Fumarola F. En: Salesa E, Perelló E, Bonavida A. *Tratado de audiología.* Barcelona. Masson. 2005; 153-155.
- 151- Audiología liminar. Perelló E, Salesa E, Fumarola F. En: Salesa E. *Tratado de audiología.* Barcelona. Masson. 2005; 103-108.
- 152-Liu X y Xu L. Nonsyndromic hearing loss: an analysis of audiograms. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1994; 103: 428- 33.
- 153-Cárdenas MR, Marrereo V. *Cuadernos de Logaudiometría.* Madrid: Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED), 1994.
- 154- Geers AE, Moog JS. Evaluating speech perception skills: Tools for measuring benefits of cochlear implants, tactile aids, and hearing aids. En: Owens E, Kessler DK, eds. *Cochlear implants in young deaf children.* College: Hill Press, 1989; 227-256.
- 155- Cochlear Implants in adults and children. NIH Consensus Statement. 1995; 13 (2): 1- 30.
- 156- Rivera R. Screening auditivo. *Audito* [serie en Internet]. 2001 [acceso el 7 de noviembre de 2012];1(1):[aprox. 3.p.]. Disponible en: <http://www.auditio.com/revista/index.php3?articulo=3>.
- 157- Audiología infantil. Potenciales evocados auditivos cerebrales. Perelló E, Salesa E, Fumarola F. En: Salesa E, Bonavida A, Perelló E. *Tratado de Audiología.* Barcelona: Masson; 2005. p. 241.
- 158- Sambrook, J, E.F. Fritsch, E. F, T Maniatis. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual.* 2^a ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1989. p. 108-111.
- 159- Cochlear Implantation. U.S. Food and Drug Administration PMA P840024/S46 (21/10/96).
- 160- Ramos A, Cuyás JM, Goenaga A. Criterios audiométricos. En: Manrique M, Huarte A. *Implantes cocleares.* Barcelona:

Masson, S.A. 2002; 99- 104.

161- Instituto Canario de Estadística. Demografía [sede Web]. Gran Canaria y santa Cruz de Tenerife: gobiernodecanarias.org/istac; 2009 [actualizada el 27 de febrero de 2012, acceso 30 de septiembre 2009]. Disponible en: <http://www.gobiernodecanarias.org/istac>.

162- Instituto nacional de Estadística. Demografía y población [sede Web]. Madrid: ine.es; 2009 [actualizada 2012, acceso 30 de septiembre 2009]. Disponible en: <http://www.ine.es>.

163- Green GE, Scott DA, McDonald JM, Woodworth GG, Sheffield VC, Smith RJ. Carrier rates in the midwestern United States for GJB2 mutations causing inherited deafness. *Jama*. 1999; 281(23): 2211-6.

164- Morera C, Ibáñez I y Cavallé L. Resultados de implantados prelinguales. En Manrique Rodríguez M, Ramos Macías A, López Villareajo P, García-Ibáñez Ferrándiz E. Prótesis implantables en otocirugía. Barcelona: Sorpama, S.A.; 2003.p. 239-44.

165- Manrique Rodríguez M, Huarte Irujo A, Cervera-Paz FJ, Molina Hurtado M, Vázquez de la Iglesia F. Implantación coclear en el período crítico auditivo.

En: Prótesis implantables en otocirugía de Manrique Rodríguez, Ramos Macías A, López Villareajo, García Ibáñez Ferrándiz E. Barcelona: Sorpama, S.A.; 2003.p. 225-34.

166- McCormick B. Assessing audiological suitability of implants for children below 5 years. En: McCormick B, Archbold S, Sheppard R, eds. Cochlear implants for young children. London: Whurr Publishers; 1994.

167- Leversen KT, Sommerfelt K, Rønnestad A, Kaarsen PI, Farstad T, Skranes J, et al. Prediction of neurodevelopmental and sensory outcome at 5 years in Norwegian children born extremely preterm. *Pediatrics*. 127: 630- 8.

168- Rieger-Fackeldey E, Blank C, Dinger J, Steinmacher J, Bode H, Schulze A. Growth, neurological and cognitive development in infants with a birthweight <501 g at age 5 years. *Acta Paediatr*. 2010; 99: 1350- 5.

169- Goldsmith JP. Complications: Bronchopulmonary dysplasia, air leak syndromes, and retinopathy of prematurity. *Assisted Ventilation of the Neonate*. 1996; 327- 52.

170- Cleary J. Improved oxygenation during synchronized intermittent mandatory ventilation in neonates with respiratory distress syndrome: A randomized, crossover study. *J Pediatric*. 1995; 126: 407- 11.

171- McIntosh ED, Fritzell B, Fletcher MA. Burden of paediatric invasive pneumococcal disease in Europe 2005. *Epidemiol Infect*. 2007; 135: 644- 656.

172- Van de Beek D, Farrar J, de Gans J, Thi Hoang Mai N, Molyneux E, Peltola H, Pto T, Roine I, Scarborough M, Schultz C, Thwaites G, Quoc Tuan P and Zwinderman AH. Adjunctive dexamethasone in bacterial meningitis: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Neurol*. 2010; 9: 254- 263.

173- Roach JC, Glusman G, Smit AF, Huff CD, Hubley R, Shannon PT, et al. Analysis of genetic inheritance in a family quartet by whole-genome sequencing. *Science*. 2010; 328:636- 9.



Apéndices

APÉNDICE 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Apellidos:

Nombre

DNI

Informado del estudio “Incidencia de sordera genética en Fuerteventura en población de 3 a 6 años. Tratamiento y seguimiento”, a realizar en el Servicio de Otorrinolaringología del Hospital General de Fuerteventura en colaboración con la Unidad de Genética Molecular del Hospital Materno Infantil y la Unidad de Hipoacusia del Hospital Insular de Las Palmas de Gran Canaria, bajo la dirección de la Dra. Alina M^a García de Hombre, dono una muestra de sangre, con el fin de contribuir al descubrimiento de las causas que originan las sorderas hereditarias.

Entiendo que a partir de dicha muestra de sangre se extraerá el ADN que se utilizará en el estudio genético-molecular y que el uso de dicha muestra de ADN quedará restringido exclusivamente a los objetivos de la tesis: “Incidencia de sordera genética en Fuerteventura en población de 3 a 6 años. Tratamiento y seguimiento”,

Entiendo que mi participación en el estudio será mantenida anónima, y que tendré acceso en todo momento a los resultados obtenidos a partir de la muestra donada y a una información detallada sobre su significación (consejo genético). Así mismo, entiendo que dichos resultados serán confidenciales y no serán transmitidos a terceros.

Firma: _____

El investigador principal: _____

Parentesco:

(En caso de menores)

Lugar y fecha: _____

APÉNDICE 2

FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

DATOS GENERALES

1. CODIGO:

2.- NHC:

3.- Sexo:
 1=Hombre
 2=Mujer

4.- Fch. nacimiento:

NOMBRE:

Teléfono:

Domicilio:

5.- Fecha primera consulta ORL:

6.- Edad que comienza sospecha de hipoacusia:

7.- Lugar de procedencia:
 1=Fuerteventura
 2=Gran Canaria
 3=Otra isla canaria
 4=Norte peninsular
 5=Sur peninsular
 6=Europa
 7=África
 8=Sudamérica
 9=Otro

8.- Edad de diagnóstico de la sordera:

ANTECEDENTES PRENATALES

9.- Existe historia familiar de hipoacusia:
 0=No
 1=Si, materna
 2=Si, paterna
 3=Si, hermanos
 4=Si, abuelos paternos
 5=Si, abuelos maternos
 6=Si, Primo/a paterno
 7=Si, Primo/a materno
 8=No conoce

10.- Infecciones intrauterinas: (TORCH)
 1=Si
 2=No

11.- Uso de fármacos ototóxicos en embarazo:
 1=Si
 2=No

12.- Exposición a ruidos: 1=Si 2=No

13.- Consumo de alcohol: 1=Si 2=No

14.- Consumo de tabaco: 1=Si 2=No

15.- Consumo de drogas: 1=Si 2=No

16.- Exposición a radiaciones: 1=Si 2=No

17.- Consanguinidad: 1=Si 2=No

ANTECEDENTES PERINATALES

18.- Peso al Nacer: gramos

19.- Edad gestacional: semanas

20.- Puntos Apgar al minuto:

21.- Puntos Apgar 5 minutos:

22.- Hiperbilirrubinemia grave:
 1=Si 2=No

23.- Cifra de Hiperbilirrubinemia:

24.- Hipoacusia-isquemia perinatal:
 1=Si 2=No

25.- Trauma obstétrico:
 1=Si 2=No

ANTECEDENTES POST-NATALES

- 26.- Meningitis bacteriana:**
 0=No tuvo 1=Si Germen conocido 2=Si Germen no conocido
- 27.- Germen responsable de la M. bacteriana:**
 1=E.coli 2=Klebsiella 3=Listeria
 4=St Agaláctica grupo B 5=Gram positivo
 6=Otro 7=Desconocido
- 28.- Ventilación mecánica >= 5 días:**
 1=Si 2=No
- 29.- Uso de ototóxicos:** 1=Si 2=No

- 30.- Traumatismo Sonoro:**
 1=Si 2=No
- 31.- Exploración Fisica OD:**
 1=Normal 2=Patológico
- 32.- Exploración Fisica OI:**
 1=Normal 2=Patológico

PRUEBAS COMPLEMENTARIAS REALIZADAS

- 33.- Se hizo estudio EOA:**
 0=Pasa 1=No Pasa 3=No se realizó

34.- Audiometría binaural a campo libre:

	Con prótesis auditiva	Pre IC o sin prótesis auditiva	6 Meses post activación IC o con prótesis auditiva	12 Meses post activación o con prótesis auditiva	
250	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	dB
500	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	dB
1000	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	dB
2000	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	dB
4000	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	dB

35.-ATL con auriculares

	Al diagnostico		6 Meses		12 Meses		
	OD	OI	OD	OI	OD	OI	
250	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	dB
500	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	dB
1000	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	dB
2000	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	dB
4000	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	dB

36.-Prueba logaudiométrica:

	Con prótesis auditiva	Pre IC o sin prótesis auditiva	6 Meses post activación IC o con prótesis auditiva	12 Meses post activación o con prótesis auditiva	
Test verbal bisilábico (contexto abierto):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	%
Test de identificación temprana de la palabra (contexto cerrado)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	%

- 37.-Timpanometria:** **OD**
 1=Si normal 2=No Realizada **OI**
 3=Curva A 4=Curva B
 5=Curva AB 6=Curva C
 7=Curva D

Reflejo estapedial

- Ipsilateral:
 - Contralateral:

- 38.- PEATC:**
 0=No se realiza 1=Normal 2=Patológico
- Umbral Onda V** OD OI
Latencia Onda V OD OI

- 39.- Estudio radiológico de RMN:**

 RM1=Malformacion de OI RM2=Alteracion de la VA

- 40.- Estudio radiológico de TAC:**

 1=Normal 2=Patológico Unilateral 3=Patológico Bilateral

- 41.- Estudio genético realizado:** 1=Si 2=No

- 42.- Tipo de hipoacusia:**
 1=Genética 2=No Genética

- 43.- Resultado del estudio genético:**
 1=Mutación 35delG en homocigosis
 2=Mutación 35delG en heterocigosis
 3=Mutación del ADN mitocondrial
 4=Mutación R 143W Homocigosis
 5=Mutación R 143W Heterocigosis
 6=Probable causa no genética
 7=Mutación 1+4
 8=Mutación 1+5
 9=Mutación 2+4
 10=Mutación 2+5

TIPO DE AFECTACIÓN DE LA SORDERA**44.- Tipo de afectación de la sordera:**

1=Unilateral 2=Bilateral

CLASIFICACIÓN DE LA HIPOACUSIA PERCEPTIVA**45.- Clasificación de la hipoacusia:**

0=Normal 1=Leve 2=Moderada 3=Severa 4=Profunda 5=Cofosis

OD OI **TRATAMIENTO RECIBIDO****46.- Tratamiento recibido:**

1=Prótesis auditiva 2=Implante coclear 3=Ninguno 4=Protesis + Implante

