



**UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS**

**Programa de doctorado: NUEVAS PERSPECTIVAS EN CIRUGÍA**

**“HIPOACUSIA NEUROSENSORIAL PROFUNDA ASOCIADA A LA ALTERACIÓN DEL GEN QUE CODIFICA LA CONEXINA 26”**

**TESIS DOCTORAL**

**PRESENTADA POR:** D. José María Cuyás Lazarich

**DIRIGIDA POR :**

PROF. Ángel M. Ramos Macías

DR. José María Cuyás de Torres

DIRECTOR

CODIRECTOR

Ángel M. Ramos Macías

José María Cuyás de Torres

DOCTORANDO

José María Cuyás Lazarich





UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS  
DE GRAN CANARIA

Departamento de Ciencias Médicas y Quirúrgicas

Anexo I

**D. JUAN RAMÓN HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ, SECRETARIO  
DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y  
QUIRÚRGICAS DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE  
GRAN CANARIA,**

**CERTIFICA**

Que el Consejo Ordinario de Departamento de Doctores en su sesión de fecha 7 de octubre de 2015, tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación, a la tesis doctoral titulada "HIPOACUSIA NEUROSENSORIAL PROFUNDA ASOCIADA A LA ALTERACIÓN DEL GEN QUE CODIFICA LA CONEXINA 26", presentada por el/la doctorando/a, Don José María Cuyas Lazarich y dirigida por los doctores Don Ángel Ramos Macías, Don José María Cuyas de Torres.

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Artº 73.2 del Reglamento de Estudios de Doctorado de esta Universidad, firmo la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a siete de octubre de dos mil quince.





Profesor Don Ángel M. Ramos Macías, Doctor en Medicina, Profesor Titular Área Medicina - Otorrinolaringología y Jefe del Servicio de Otorrinolaringología del Complejo Hospitalario Materno - Insular.

Por medio de la presente certifica:

Que el presente trabajo del Licenciado D. José María Cuyás Lazarich, presentado para optar el grado de Doctor en Medicina y cirugía, bajo el título “ **HIPOACUSIA NEUROSENSORIAL PROFUNDA ASOCIADA A LA ALTERACIÓN DEL GEN QUE CODIFICA LA CONEXINA 26**”, desarrollado en el Servicio de Otorrinolaringología así como en la Unidad de Genética Médica del Complejo hospitalario Materno - Insular 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 firme el presente, en Las Palmas de Gran Canaria, a 07 de Octubre de 2015.



Don José María Cuyás de Torres, Doctor en Medicina, Ex Jefe de Servicio de Otorrinolaringología del Hospital General de Gran Canaria Dr Negrin, Ex Profesor asociado de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria en el área de otorrinolaringología.

Por medio de la presente certifica:

Que el presente trabajo del Licenciado D. José María Cuyás Lazarich, presentado para optar el grado de Doctor en Medicina y cirugía, bajo el título “ **HIPOACUSIA NEUROSENSORIAL PROFUNDA ASOCIADA A LA ALTERACIÓN DEL GEN QUE CODIFICA LA CONEXINA 26**”, desarrollado en el Servicio de Otorrinolaringología así como en la Unidad de Genética Médica del Complejo hospitalario Materno - Insular 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 firme el presente, en Las Palmas de Gran Canaria, a 07 de Octubre de 2015.







*A Julia, mi mujer por su amor, apoyo, comprensión, empatía y por ser mi gran compañera en la aventura de la vida.*

*A mis padres por su amor inquebrantable, por transmitirme los valores humanos y éticos que tanto aprecio.*

*A mis hermanas por estar siempre conmigo y apoyarme siempre. Las quiero mucho.*

*A mis abuelos maternos y paternos por sus consejos. A mi tío Aurelio que todavía está en mi corazón.*



## AGRADECIMIENTOS

A todos los que de cualquier forma han intervenido en la realización de esta tesis, desde los propios pacientes estudiados, a los compañeros de ilustración, al personal de la imprenta. Siempre tienes miedo que se pueda escapar alguien que se lo merezca mucho, así que si así pasa espero que me perdone.

Al Dr D. Ángel Ramos Macías, Jefe de Servicio del Servicio de Otorrinolaringología del complejo Hospitalario Materno Infantil. Primero por insistir en la realización de esta tesis doctoral desde que tan solo era un Residente de primer año, por apostar por mí e incorporarme a su servicio recién terminado, por enseñarme sus conocimientos, y por supuesto por la dirección, apoyo y corrección de esta tesis.

A Dr D. José María Cuyás de Torres ex Jefe de Servicio del Hospital General de Gran Canaria Dr Negrin, por los años en que fuiste mi jefe, por enseñarme todo en esta profesión. Mostrarme que detrás de la enfermedad está el paciente, y del paciente la persona. También gracias por la dirección, apoyo, y corrección de esta tesis. Te merecías este extra de agradecimiento porque a parte de ser mi padre has sido mi maestro.

A todo el servicio del Hospital Dr Negrin que fueron mis compañeros en los años de residente, a mis compañeros de residencia Ángel, Begoña, Miguel Angel, Araceli y Yaiza.

A mis compañeros del servicio, tanto a la vieja guardia como a los jóvenes y residentes. Gracias Angel, Daniel, Gloria, Isidoro, Magüi, Jorge, Tato, Pilar Bolaños, Aser, Jose Ramon, Susana, Pilar Camargo, Candido, Andres, Jaime, Ovidio, Constanze, Dario, Alejandra. Candido gracias por insistir en que lo hiciera y gracias por tus consejos a la hora de realizarla.

A Tani, Marta, Cristina y Juana por su apoyo, por aguantarme en los días malos. A Carmen Lopez nuestra enfermera durante años en el materno, por ser tan buena persona y buena profesional.

A Juan Carlos, Silvia, Cristo, Margarita e Isabel de la Unidad de Hipoacusia.

A Alfredo Santana por sus consejos, correcciones y guía en el mundo de la genética tan lejano de nuestras orejas y narices.

A mis amigos.



# ÍNDICE

## I-. Introducción

1.1 Anatomía	17
1.1.1 Anatomía oído externo	17
1.1.2 Anatomía oído medio	24
1.1.3 Anatomía oído interno	31
1.2 Fisiología	37
1.2.1 Fisiología oído externo y medio	37
1.2.2 Fisiología oído interno	40
1.2.2.1 Macromecánica coclear	41
1.2.2.2 Micromecánica coclear	43
1.2.2.3 Transducción mecano-eléctrica	44
1.2.3 Vías y centros de la audición	49
1.2.3.1 Vía ascendente	50
1.2.3.2 Vía descendente	53
1.3 Concepto de Hipoacusia	54
1.3.1 Concepto de Hipoacusia	54
1.3.2 Clasificación de las hipoacusias	55
1.3.3 Epidemiología de las hipoacusias	59
1.4 Genética	65
1.4.1 Conceptos básicos de genética	67
1.4.2 Técnicas de Reacción en cadena Polimerasa (PCR)	74
1.5 Conexina	74
1.5.1 Macroestructura de la conexina	76
1.5.2 Función de los canales de hendidura	79
1.5.3 Mutaciones de las conexinas	81
1.5.3.1 Mutación conexina 26	82
1.5.3.2 Mutación conexina 30	83
1.5.3.3 Mutación conexina 31	83
1.5.3.4 Mutación conexina 43	83

<b>II-. Justificación / Hipótesis de trabajo / Objetivos</b>	
2.1 Justificación	89
2.2 Hipótesis de trabajo	91
2.3 Objetivos	92
<b>III-. Material y métodos</b>	
3.1 Características de la muestra	95
3.2 Población a estudio	96
3.3 Historia clínica	97
3.4 Análisis genético - extracción de la muestra	103
3.4.1 Análisis genético de la mutación 35delG	106
3.4.2 Análisis genético de la mutación R143W	106
3.4.3 Análisis del resto de las mutaciones	107
<b>IV-. Resultados</b>	
4.1 Resultados	111
<b>V-. Discusión</b>	
5.1 Descubrir la causa	125
5.2 Conocer la herencia	126
5.3 Conocer portadores	136
5.4 Método PCR, futuro, coste/beneficio	143
<b>VI-. Conclusiones</b>	
Conclusiones	149
<b>VII-. Bibliografía</b>	
Bibliografía	153
<b>VIII-. Abreviaturas</b>	167
<b>XIX-. Anexos</b>	169

# I-. INTRODUCCIÓN





# I-. INTRODUCCIÓN

**ANATOMÍA**

**FISIOLOGÍA**

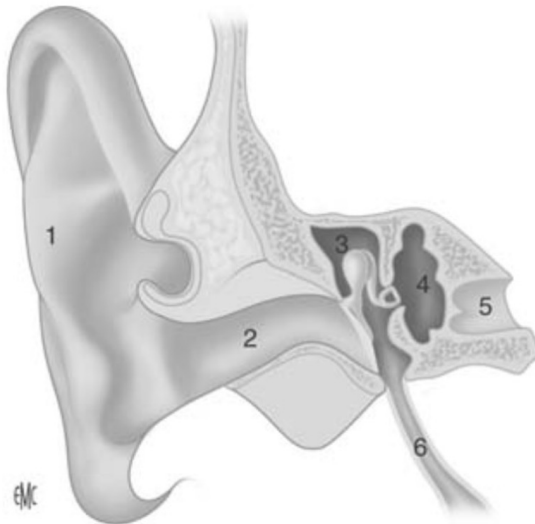
**CONCEPTO HIPOACUSIA**

**CONCEPTOS GENÉTICA**

**CONEXINA 26**

## 1.1-. ANATOMÍA

### 1.1.1-. ANATOMÍA OÍDO EXTERNO



---

Situación general del oído externo, vista frontal. 1. Pabellón;2. conducto auditivo externo;3. atrio y receso epitimpánico;4. cóclea; 5. conducto auditivo interno; 6. trompa de Eustaquio

---

Tomado: B Delas, D Dehesdin - EMC- Otorrinolaringología, 2008 - Elsevier

El oído externo está compuesto por el pabellón y el conducto auditivo externos y representa una doble entidad funcional y estética. Interviene en la localización espacial y la transmisión de la onda sonora, y participa en la amplificación de ciertas frecuencias. Además de participar de forma importante en la estética y armonía de la cara. Constituye el primer órgano auditivo lateral al oído medio y al oído interno.

## Pabellón auricular

Situado detrás de la articulación temporomandibular y de la región parotídea, por delante de la mastoidea y por debajo de la región temporal. Unido al cráneo por la parte media de su tercio anterior, de modo que los dos tercios anteriores forman la zona móvil del pabellón.

### Cara lateral

Constituida por las prominencias y depresiones del cartílago del pabellón, a las que se adapta el revestimiento cutáneo, y del lóbulo, que carece de esqueleto cartilaginoso. Estas prominencias circunscriben la depresión de la concha y del conducto auditivo externo. Las prominencias que se encuentran de forma constante son el hélix, el antihélix, el trago y el antitrago(1).

El hélix forma la periferia de las dos tercios superiores del pabellón. Nace en la parte anterior de la concha y por encima del conducto auditivo externo (CAE) mediante una raíz (rama del hélix). que se dirige hacia delante y hacia arriba para curvarse a continuación, formando un arco de concavidad inferior. Termina en la parte posteroinferior del lóbulo.

El antehélix es una prominencia bífida concéntrica al hélix, del que está separado por el surco escafoideo del hélix, nace en paralelo a la

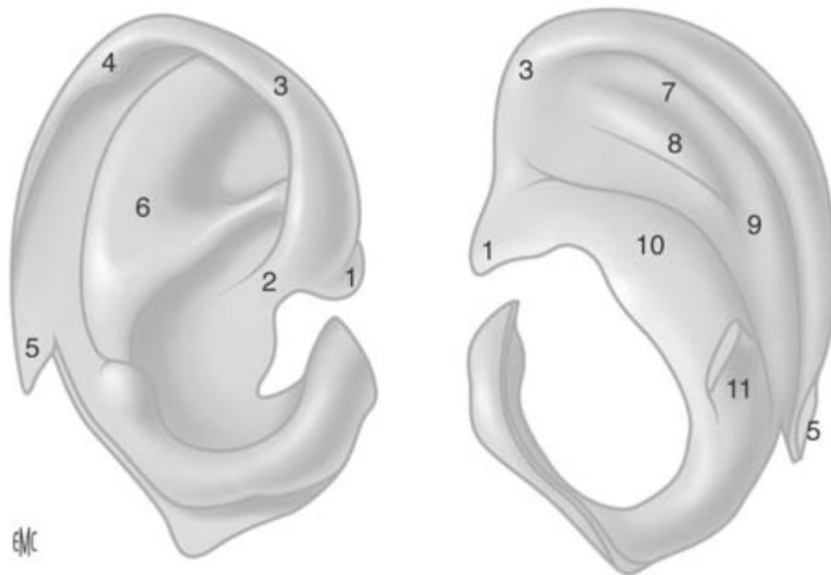


Anatomía pared lateral pabellón auricular.

cola del hélix y se inclina hacia delante y arriba para dividirse en dos prominencias: las raíces anterior y posterior del antehélix, la zona delimitada por las dos raíces se llama fosa navicular.

El trago es una prominencia de forma triangular, inclinada en sentido posterolateral, en la vertical del borde anterior del CAE. Su borde libre puede ser convexo o de aspecto ligeramente tuberculoso. Está separado de la raíz del hélix por un surco denominado escotadura anterior de la oreja.

El antitrago es una pequeña prominencia situada por delante del nacimiento del antehélix y se relaciona con el trago, del que se encuentra separado por una escotadura de concavidad posterosuperior denominada escotadura de la concha.



Vistas laterales y medial del cartílago del pabellón derecho; 1. Espina del hélix; 2. raíz del hélix; 3. hélix; 4. tubérculo auricular; 5. cola del hélix; 6. antihélix; 7. eminencia de la escafa; 8. fosa del antihélix; 9. surco posterior del antihélix; 10. eminencia de la concha; 11. pontículo.

Tomado: B Delas, D Dehesdin - EMC- Otorrinolaringología, 2008 - Elsevier

La concha es la depresión limitada por el antehélix por detrás y por arriba, la raíz del hélix y el trago por delante y el antitrago por debajo. El lóbulo de la oreja es un simple pliegue cutáneo continuación del trago y del hélix.

### Cara medial

Encontramos una parte anterior fija y una posterior libre. La posterior representa dos tercios de anchura del pabellón. Es el negativo de los relieves de la cara lateral. La depresión de la concha conforma la eminencia de la concha. La parte anterior se relaciona con el contorno del conducto auditivo externo, la zona fija sobresale hacia atrás sobre la región mastoidea alrededor de 10 mm y, hacia arriba, sobre la raíz del cigoma esta misma distancia(2).

El revestimiento cutáneo es muy fino y adherente al plano cartilaginoso en la cara lateral, y más grueso y menos adherente a la cara medial.

El esqueleto cartilaginoso es el responsable de los relieves y depresiones del pabellón. Es un cartílago reticulado, rodeado de un pericondrio grueso y anacarado. Su grosor es de 0,5-1 mm. Los ligamentos extrínsecos de Valsalva se encarga, junto a los músculos correspondientes a la fijación del pabellón. Estos ligamentos son ligamento anterior, ligamento posterior, y ligamento superior. Los ligamentos intrínsecos son muy rudimentarios en humanos(3). Los músculos extrínsecos son el auricular anterior, auricular superior, auricular posterior. Los músculos intrínsecos con funcionalidad casi nula.

### Conducto auditivo externo

El CAE mide alrededor de 25 mm y adopta una dirección ligeramente oblicua en sentido lateromedial y posteroanterior, formando un ángulo de 80° con el eje sagital del hueso temporal. Tiene una forma sigmoide de concavidad posteroinferior. El diámetro es variable pero mide unos 8mm de media, disminuyendo en la unión de los dos tercios laterales y el tercio medial. Este segmento se denomina istmo y se encuentra alrededor de 20 mm del orificio externo(2).

Se divide en tres segmentos, un segmento lateral, oblicuo en sentido medial y anterior, que sigue el eje del cartílago trago, un segmento medio, que forma el codo de concavidad posterior muy marcado, a nivel de la unión entre el segmento cartilaginosa y el óseo, y un segmento medial, que realiza la segunda inflexión anterior hasta el tímpano.

El conducto se divide en porción fibrocartilaginosa y porción ósea.

### **Porción Fibrocartilaginosa**

Esta porción continúa con el esqueleto cartilaginosa del pabellón, tiene una longitud de 8-9 mm y está formada por la unión entre un surco anteroinferior cartilaginosa y un surco posterosuperior fibroso. El surco cartilaginosa continúa lateralmente con el cartílago del trago, y medialmente con el surco del hueso timpánico. En su cara anterior se encuentran varias escotaduras, por lo general dos: la escotadura de Duverney o de Santorini rellenas por tejido fibroso para aumentar la flexibilidad del conducto. En su cara anterior existe solución de continuidad que lo separa de la concha: la escotadura terminal, descrita por Schwalbe. El surco fibroso cierra en la parte superoposterior la porción lateral del CAE. Se relaciona a nivel lateral con el cartílago del pabellón, y a nivel medial con el conducto óseo en la espina de Henle(4).

### **Porción ósea**

Mide una media de 16 mm de longitud y es aplanada en sentido anteroposterior. Constituye los dos tercios mediales del conducto. Está formado por el hueso timpánico y la porción subcigomática de la escama del hueso temporal. Se divide en pared anterior constituida por el borde anterior del hueso timpánico. Es una pared cóncava que se une en ángulo a la membrana timpánica. Es fina 2 mm, relacionándose anteriormente con la articulación temporomandibular y con la prolongación subcondílea de la glándula parótida. La pared inferior está formada por el surco del hueso timpánico, con una concavidad inferior en el sentido transversal. La pared posterior está formada en la cara lateral por la apófisis mastoideas del temporal, en la medial, por el surco del hueso timpánico, siendo la separación entre las cavidades mastoideas y el conducto auditivo externo(5). Sus principales relaciones son posteriormente las celdillas mastoideas, y la tercera porción del nervio facial,

en la zona anteroinferior la parte posterior del atrio. La pared superior se forma por la porción escamosa del hueso temporal, tiene una concavidad inferior en sentido sagital. En la parte medial, tiene una fuerte inclinación en sentido inferomedial para formar el muro del ático, el cual delimita el epitímpano. Su relación superior es la meninge temporal y lóbulo temporal. Encontramos dos orificios: el orificio medial que se relaciona con la inserción de la membrana timpánica en su surco. El hueso timpánico no es circunferencial en la inserción de la porción flácida, lo que da lugar a la escotadura timpánica de Rivinus. El otro orificio es el lateral que es el que corresponde a la unión de los componentes óseos y fibrocartilaginosos del conducto(2).

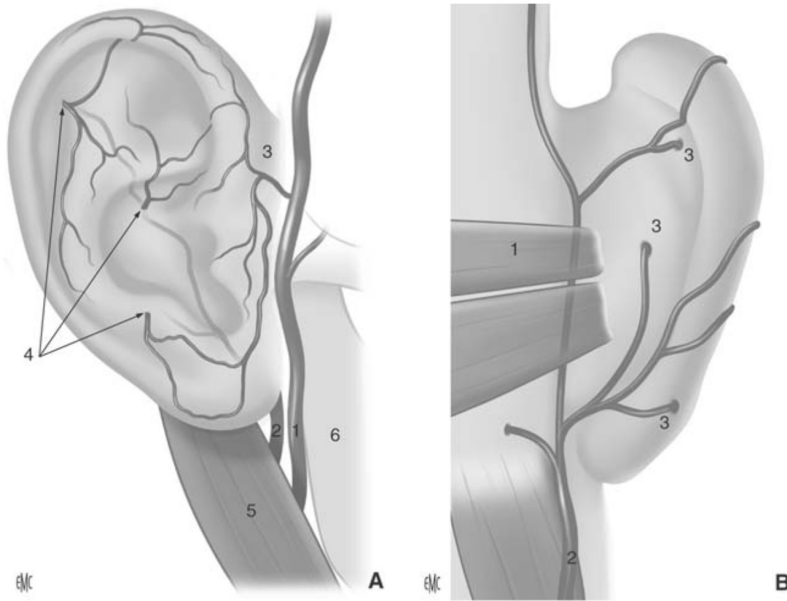
El revestimiento del CAE está en continuidad con el pabellón y se une firmemente al pericondrio y al periostio de sus dos porciones. El grosor cutáneo disminuye en sentido lateromedial, participando este revestimiento en la formación de la membrana timpánica.

### Vascularización del oído

La vascularización arterial se origina en la carótida externa, y se dividen en una red anterior procedente de la arteria temporal superficial y una red posterior dependiente de la arteria auricular posterior, y que nace en la carótida externa o en la occipital(6-8).

El sistema venoso del oído externo drena por al red anterior a la vena temporal superficial y después a la vena yugular externa. Y una red posterior que drena a través de las venas auriculares posterior y occipital superficial en la red yugular externa.

El drenaje linfático se realizar por una vía anterior que drena el tercio anterior del hélix, trago y parte anterior del conducto auditivo. La vía posterior drena antehélix y el lóbulo. Así como una parte de la concha. La vía inferior se ocupa el drenaje de la mayor parte del hélix y de la pared inferior del conducto.



**A.** Red arterial del pabellón auricular, vista lateral. 1. Arteria temporal superficial (ATS); 2. arteria auricular posterior; 3. rama auricular de la ATS; 4. ramas perforantes; 5. músculo digástrico; 6. ángulo de la mandíbula.  
**B.** Red arterial del pabellón, vista posterior. 1. Músculo auricular posterior; 2. arteria auricular posterior; 3. ramas perforantes.

Tomado: B Delas, D Dehesdin - EMC-Otorrinolaringología, 2008 - Elsevier

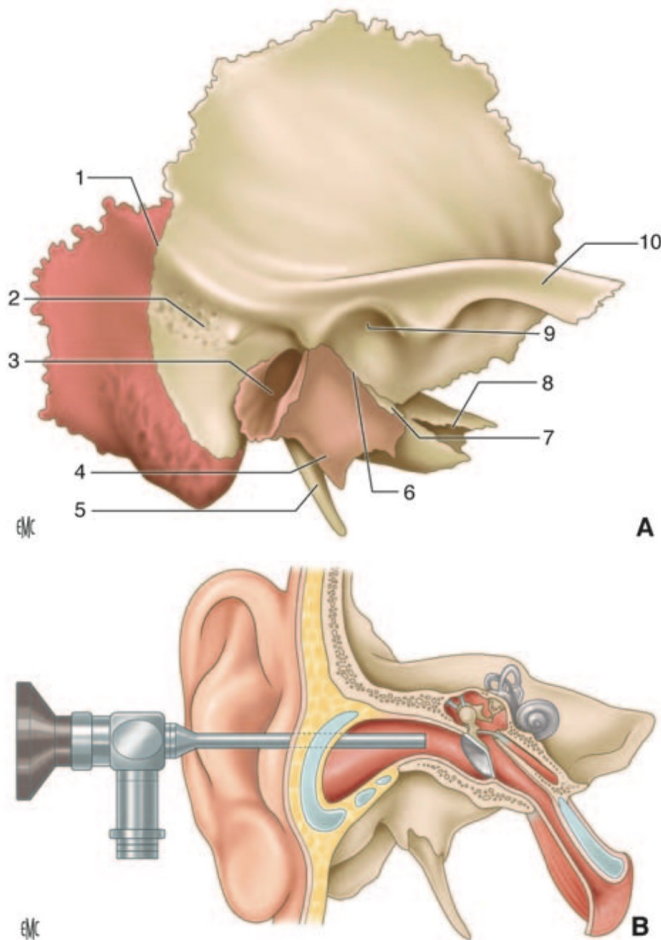
### Inervación del oído externo

Inervación sensitiva se lleva a cabo por nervio intermedio de Wrisberg, nervio auriculotemporal ramo del nervio mandibular, ramo posterior del nervio auricular mayor, y ramo auricular del nervio vago(9).

La inervación motora se realiza por el nervio facial.

## 1.1.2 ANATOMÍA OÍDO MEDIO-

### Hueso temporal



Vista lateral del hueso temporal derecho (A,B). Las tres porciones constitutivas del hueso temporal se representan con colores diferentes (la parte escamosa en beis, la parte timpánica en rojo claro y la petrosa en rojo oscuro). 1. Fisura petroescamosa; 2. espina suprameática y por detrás la zona cribosa retromeática; 3. conducto auditivo externo; 4. cresta vaginal; 5. apófisis estiloides; 6. fisura petro-tímpano-escamosa (fisura de Glaser); 7. prolongación inferior del temen tympani; 8. conducto carotídeo; 9. fosa manipular; 10 Apófisis cigomática.

Tomado de :Thomassin J-M, Dessi P, Danvin J-B, Forman C. Anatomía del oído medio. EMC-Otorrinolaringología. 2008;37(3):1-20.

#### - *Porción petrosa o peñasco*

Es compleja y tiene forma cuadrangular, cuyo eje mayor tiene una oblicuidad anteromedial. Tiene una parte central libre y excavada, perteneciente a la parte medial de las cavidad del oído medio. El fondo de esta cavidad corresponde a las caras internas de la caja del tímpano, de los anexos mastoideos y de la parte ósea de la trompa auditiva(2, 10) (11)



- *Porción escamosa o escama*

Situada anterior y superficial, respecto a la parte petrosa. Tiene forma de lámina ósea, con una porción superior vertical y otra inferior horizontal, separada por una apófisis larga (apófisis cigomática). Por detrás de la espina se reconoce a menudo una región excavada

por numerosos orificios vasculares, la zona retromeática, relacionada en profundidad con el antro mastoideo. El borde interno de la parte horizontal está adosado al tegmen tympani de la porción petrosa y participa en la formación del techo del antro y de la caja del tímpano(12).

- *Porción timpánica del hueso temporal*

Es el elemento más pequeño. Forma la pared anterior, inferior y una porción del conducto auditivo externo, en cuyo fondo se encuentra el surco timpánico, en el que se encastra el anillo timpánico.

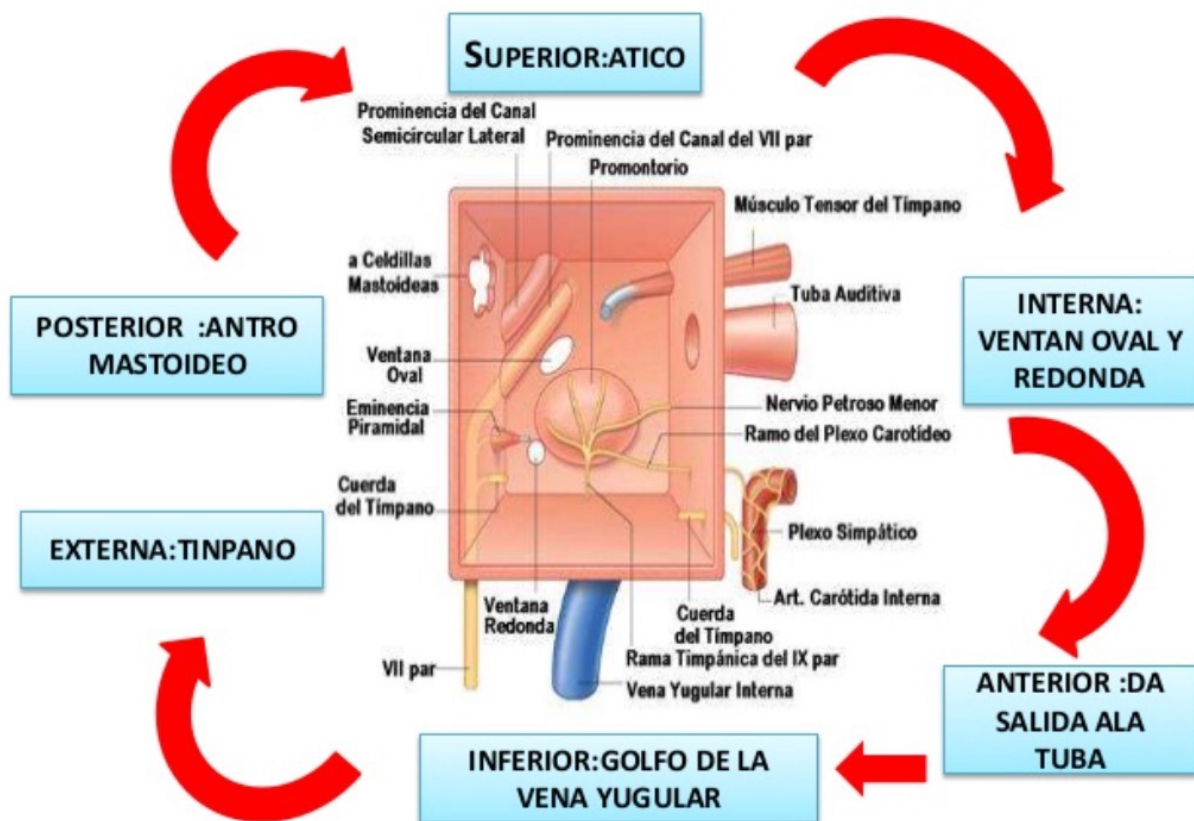
### **Caja del tímpano**

La dividimos en:

- pared lateral; pared membranosa; dos porciones la membrana timpánica y la parte ósea peritimpánica. Membrana del tímpano consta dos segmentos la pars tensa y la pars flaccida. La pars tensa es de naturaleza fibroelástica, poco móvil. El ombligo corresponde al extremo espatulado del mango del martillo y está retraído 2 mm respecto a la periferia. Sus dimensiones es 10 mm de altura y 9 mm de anchura, el grosor de 0,05-0,09 mm. Está formada por la unión de 3 capas: una externa cutánea, una interna mucosa y una capa intermedia fibrosa, donde se distinguen varios tipos de fibra: externa de fibras radiales, y una capa interna de fibras circulares constituidos por anillos concéntricos alrededor del lumbo y más denso en la periferia(13-15).
- pared medial: pared laberíntica; separa el oído medio del oído interno. Existe en ella una estructura anatómica central que es el promontorio, elevación ósea que

se corresponde con la proyección hacia el oído medio de la espira basal de la cóclea y recorrida por vasos y nervios. Por encima y detrás de ésta se encuentra una depresión denominada fosa oval, en cuyo fondo se encuentra la ventana oval, cerrada por la platina de estribo y es la apertura al oído medio del vestíbulo del laberinto.

Por debajo y detrás del promontorio se observa otra depresión, la fosa de la ventana redonda, en el fondo de la cual encontramos la ventana redonda, apertura de la rama timpánica de la cóclea en el oído medio y que se encuentra cerrada por una membrana denominada tímpano secundario o falso tímpano.



Gray H, Goss CM, Alvarado DM. Anatomy of the human body: Lea & Febiger Philadelphia; 1973.

Por encima y detrás de la ventana oval se encuentra un relieve óseo, denominado acueducto de Falopio o conducto del facial, en el discurre el VII par. Corresponde a la segunda porción y al segundo codo del facial.

- pared superior: pared tegmental; se denomina también techo del tímpano (tegmen tympani), delgada lámina ósea de entre 5 o 6 mm de espesor que separa la fosa craneal media de la caja del tímpano, puede presentar pequeñas cavidades que a veces forman celdillas completas. En algunos casos la pared superior es dehiscente, de tal manera, que la cara externa de la duramadre está adherida a la mucosa del oído medio.

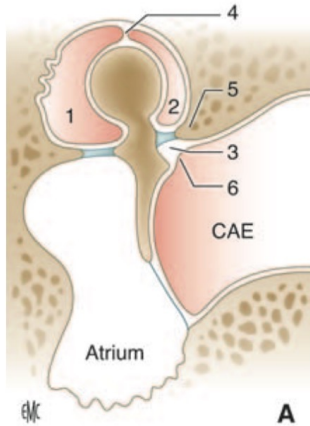
- pared inferior: pars yugular; denominada también suelo de la caja o pared hipotimpánica. Es irregular, su parte central es la más declive, proporcionando al hipotímpano unos 2 mm de profundidad por debajo del marco timpanal, presenta pequeñas celdillas excavadas en el espesor óseo. Limita con la fosa yugular y el golfo de la yugular, separadas de la caja del tímpano por un espesor de hueso de grosor variable y en ocasiones dehiscente.

- pared anterior: pared carotídea; es irregular, su mitad superior corresponde al orificio de la Trompa de Eustaquio. Por encima y por dentro del orificio tubárico está situado el canal del músculo de martillo separado de él por un delgado tabique óseo.

La mitad inferior denominada porción carotídea, es un fino tabique óseo que separa la porción vertical y el codo del conducto carotídeo de la mucosa de la caja.

- pared posterior: pared mastoidea. en la región superior de esta pared, detrás del ático y en continuación con él, encontramos el aditus ad antrum, pequeño canal que une el ático con el antro mastoideo. En la parte inferior del orificio del aditus, encontramos la fossa incudis, lugar en donde se acomoda la apófisis corta del yunque, sirve de referencia anatómica para localizar la tercera porción del facial y el bloque laberíntico. Por debajo de esta fosita se encuentra la pirámide, por donde asoma el tendón del músculo del estribo. La pared posterior tiene una relación estrecha con la tercera porción del VII par(14, 16).

Podemos distinguir tres pisos o niveles, de arriba de arriba hacia abajo son: ático o epitímpano, mesotímpano o atrio e hipotímpano o receso hipotimpánico.

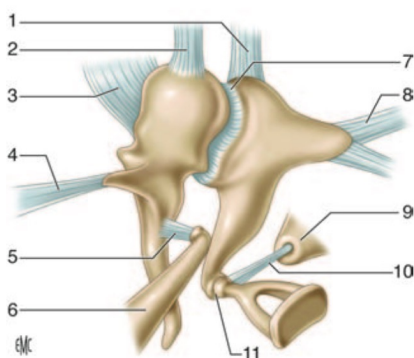


1. ático interno; 2. ático externo; 3. bolsa de Prussak; 4. tabique interatrical; 5. muro del ático; 6. membrana de Shrapnell o pars flaccida.

Tomado de :Thomassin J-M, Dessi P, Danvin J-B, Forman C. Anatomía del oído medio. EMC-Otorrinolaringología. 2008;37(3): 1-20.

El contenido de la caja está compuesto por tres osículos, que de lateral a medial son martillo, yunque y estribo anclados por ligamentos a las paredes de la caja y dinamizados por dos músculos el del martillo y el del estribo respectivamente. Son los primeros huesos que se osifican por completo durante el desarrollo y alcanzan su morfología adulta a las tres semanas de vida(17).

La cadena osicular conecta la membrana timpánica con la ventana oval. El martillo se inserta en la membrana timpánica y el estribo por medio de la platina cierra la ventana oval. El yunque esta situado entre ambos y se articula con ellos, esto lo convierte en el hueso más débil de la cadena, ya que no posee un músculo de sostén. Las superficies articulares de éstos huesecillos están cubiertas de cartílago y englobadas por una cápsula articular.



Articulaciones de los huesecillos, músculos y ligamentos. 1. ligamento superior del yunque; 2. ligamento superior del martillo; 4. ligamento anterior del martillo; 5. tensor del tímpano en el interior del conducto; 7. articulación incudomaleolar; 8. ligamento posterior del yunque; 9. eminencia piramidal; 10. tendón del músculo del estribo; 11. articulación incudoestapedial.

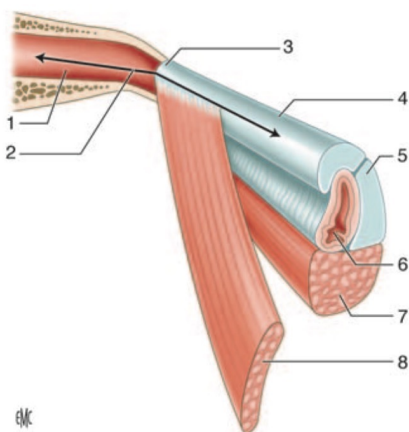
Tomado de :Thomassin J-M, Dessi P, Danvin J-B, Forman C. Anatomía del oído medio. EMC-Otorrinolaringología. 2008;37(3):

El sistema neumático de temporal, es un complejo de cavidades excavadas en el hueso temporal y que se desarrolla principalmente en la apófisis mastoidea. Constituido por un gran número de pequeñas celdas, de la que el antro mastoideo resalta por su tamaño mayor. El sistema neumático, inicia su desarrollo en el período embrionario, gracias a la capacidad lítica de la mucosa del intestino anterior, al momento del nacimiento ya está conformado el antro y algunas celdillas. El completo desarrollo del sistema neumático del temporal se alcanza en el período postnatal, hasta el cuarto o quinto año de vida(18).

El proceso de neumatización puede no detenerse en la apófisis mastoidea y seguir hacia el hueso occipital, peñasco, muro de ático, escama y apófisis cigomática

La Trompa de Eustaquio, es un conducto osteocondromembranoso, con su eje mayor que se dirige de forma oblicua desde la caja timpánica hacia abajo, adelante y hacia la línea media, comunica la pared lateral de la rinofaringe con la pared anterior de la caja timpánica. Formada por dos porciones, la más cercana a la caja es ósea, que sigue como lo hemos mencionado un eje oblicuo, formando un túnel en la cara inferoexterna del peñasco hasta la unión de éste con la escama, donde se hace más estrecho formando lo que se denomina istmo tubárico. La segunda porción es fibrocartilaginosa, posee una luz virtual que se abre en condiciones normales cuando los músculos de velo de paladar se contraen(19).

La apertura de la Trompa hace que la entrada de aire desde la rinofaringe hacia el oído medio equilibre las presiones endoexotimpánicas(17, 20).



Vista esquemática de la trompa de Eustaquio. 1. parte ósea de la trompa; 2 orificio timpánico de la trompa auditiva; 3. istmo de la trompa auditiva; 4. parte cartilaginosa de la trompa auditiva; 5. cartílago tubárico; 6. orificio faríngeo de la trompa auditiva; 7. músculo elevador del velo del paladar; 8. músculo tensor del velo del paladar

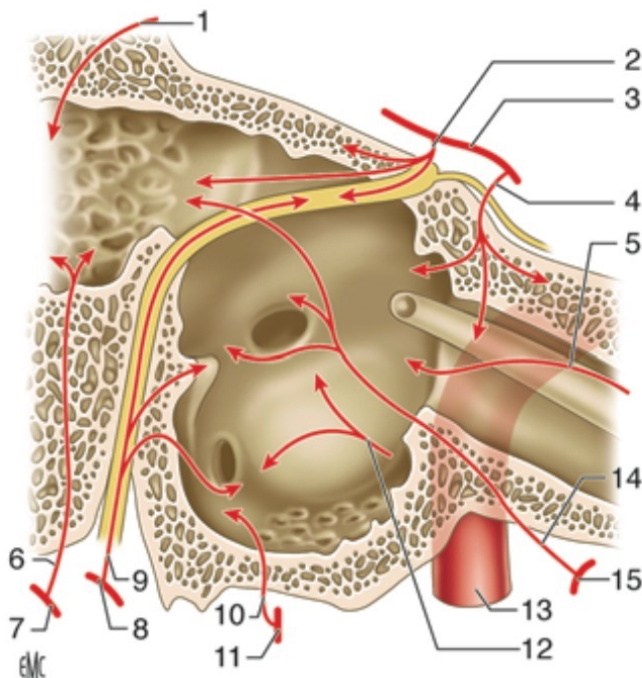
Tomado de :Thomassin J-M, Dessi P, Danvin J-B, Forman C. Anatomía del oído medio. EMC-Otorrinolaringología. 2008;37(3):

Todo el conducto está tapizado por un epitelio pseudoestratificado ciliado respiratorio, el número de cilios decrece desde el orificio faríngeo al timpánico y presenta un movimiento ciliar o “aclaramiento ciliar” dirigido hacia el orificio tubárico. El epitelio posee glándulas serosas y mucosas, que son más abundantes en la región fibrocartilaginosa <sup>(9)</sup>.

### Vascularización

La caja del tímpano y la apófisis mastoideas, reciben la irrigación de seis ramas arteriales: la arteria meníngea media, la arteria faríngea ascendente, la arteria estilomastoidea, arteria maxilar interna que da lugar la arteria timpánica anterior, la arteria carótida timpánica y la arteria subarcuata.

La Trompa está vascularizada en su porción fibrocartilaginosa por las arterias palatina y faríngea ascendente, mientras que en su porción ósea, está irrigada por la arteria meníngea media.



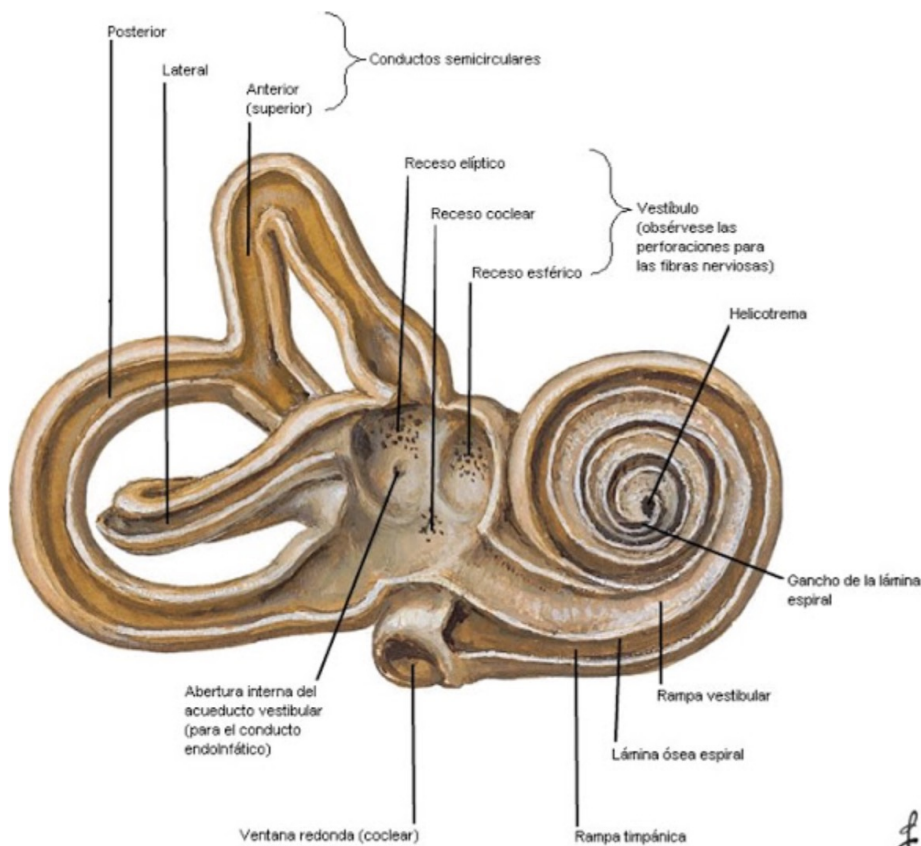
- 1.Artería de la fosa subarcuata;
- 2.arteria petrosa superficial;
3. arteria meníngea media;
4. arteria timpánica superior;
5. arteria de la trompa auditiva;
6. arteria mastoidea;
7. arteria occipital;
- 8.arteria auricular posterior;
- 9.arteria estilomastoidea;
10. arteria timpánica inferior;
- 11.arteria faríngea ascendente;
12. arteria caroticotimpánica;
13. arteria carótida interna;
14. arteria timpánica anterior;
15. arteria maxilar interna.

Tomado de :Thomassin J-M, Dessi P, Danvin J-B, Forman C. Anatomía del oído medio. EMC-Otorrinolaringología. 2008;37(3):1-20.

### 1.1.3.- ANATOMÍA OÍDO INTERNO

El oído interno, o laberinto, está situado en el centro de la pirámide petrosa del hueso temporal. Consiste en un conjunto de cavidades óseas, o laberinto óseo, que contiene estructuras tubulares que forman el laberinto membranoso. Dentro de este último se encuentran el órgano sensorial coclear destinado a la audición y los receptores sensoriales vestibulares especializados en la detección de las aceleraciones angulares y lineales de la cabeza.

Ambos laberintos se encuentran separados por un líquido denominado perilinfa, mientras que dentro de laberinto membranoso se encuentra la endolinfa(21).



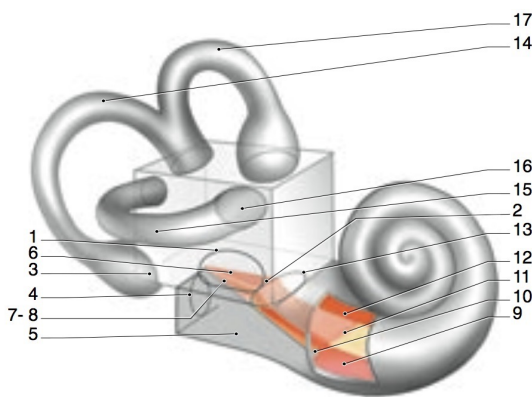
Tomado de: Netter FH, Summit C. Ciba collection of medical illustrations: [Ciba-Geigy][prod.]; 1969.

Laberinto óseo:

Es una cubierta de hueso duro y compacto que forma el vestíbulo, los canales semicirculares (CSC) y la cóclea.

El **vestíbulo** es un paralelepípedo muy irregular, en el que se distinguen seis paredes que contienen en su interior el utrículo y el sáculo.

Su **pared externa o lateral** está constituida por la ventana oval separa el oído



- 
- 1.Ventana oval;2. inflexión de la lámina espiral;3. orificio ampollar del canal semicircular posterior;4. Ventana redonda;5.cavidad subvestibular;6.parte de la lámina espiral que forma la base del vestíbulo; 8.hendidura vestibulotimpánica;9.rampa timpánica; 10.lámina espiral secundaria;11.lámina espiral; 12.rampa vestibular;13.orificio vestibular del caracol; 14.canal semicircular posterior;15.canal semicircular lateral;16.orificio ampollar del canal semicircular lateral;17. canal semicircular superior.
- 

medio del interno. Esta ventana está obturada por la platina del estribo unida por el ligamento anular. También encontramos el orificio anterior ampollar del CSC lateral, y por el orificio posterior no ampollar del CSC lateral.

La **pared interna** separa el oído interno del fondo del conducto auditivo interno (CAI), permitiendo el paso de los nervios auditivo y vestibular y del acueducto del vestíbulo. Está ocupada por varias fositas separadas por crestas: 1-*fosita hemisférica* donde asienta el sáculo. Su fondo está perforado por múltiples agujeros constituyendo la lámina cribosa media que deja pasar las fibras seculares del nervio vestibular inferior; 2- *Cresta del vestíbulo*; 3-*fosita ovoide* donde asienta el utrículo, también tiene una serie de agujeros que constituyen la lámina cribosa superior, por donde pasa fibras del nervio utriculoampollar (nervio vestibular superior) destinadas al utrículo y a los CSC lateral y



superior. 4- *fosita unciforme* relacionado con el acueducto del vestíbulo. 5- *fosita coclear* recibe la parte caudal del canal coclear.

En la **pared anterior**, se observa por arriba la primera porción del acueducto de Falopio o canal del facial y hacía abajo el orificio de la rampa vestibular de caracol óseo.

Su **pared superior**, posee en la región anterior el orificio ampular del CSC lateral y por detrás, el orificio no ampular común de los CSC posterior y superior.

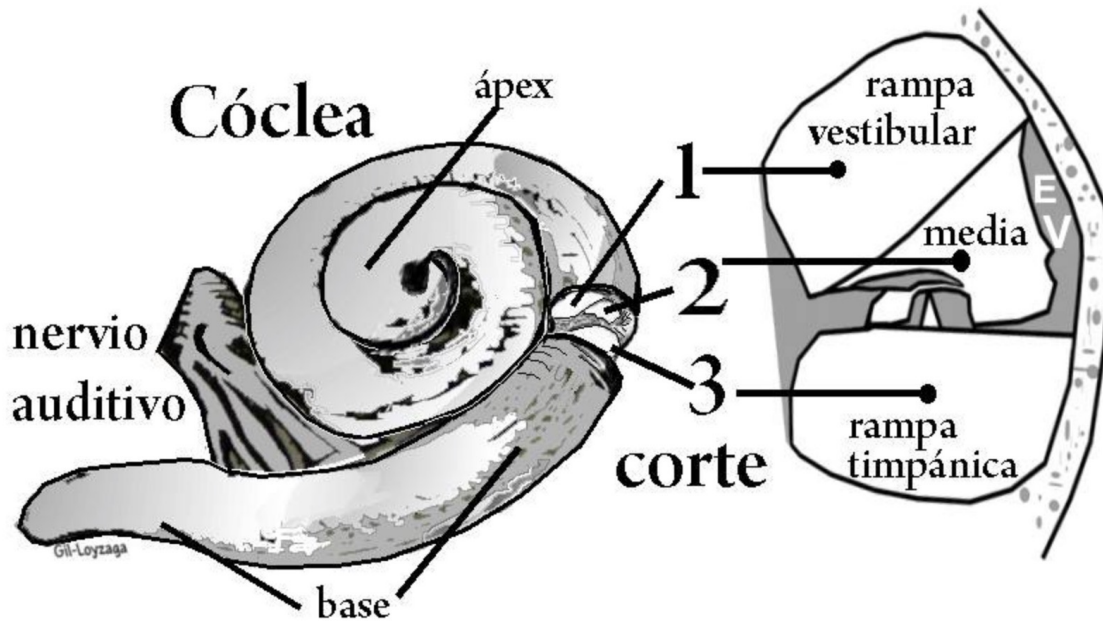
La **pared inferior** está constituida hacia adelante por el inicio de la lámina espiral ósea y hacia atrás por el borde de la fosita coclear.

Los **CSC** son formaciones tubulares arqueadas que abarcan un semicírculo cada uno, están situados en la parte posterosuperior del laberinto. Son dos tercios de una anillo hueco con una luz de 0,8mm, colocados según las tres dimensiones del espacio. Distribuidos en los tres planos ortogonales, en el parasagital se encuentra el canal semicircular superior, el horizontal se encuentra en el plano frontal y en el horizontal el canal semicircular externo.

Cada canal presenta dos extremos, uno dilatado llamado porción ampular o ampolla del canal y el otro extremo, presenta características propias en cada canal. En los canales lateral y superior, las ampollas se encuentran situada en su extremo anterior. Por el contrario, la ampolla del canal posterior está situada en el extremo posterior del canal. En la ampolla se encuentra el epitelio sensitivo vestibular. El CSC lateral es el más corto.

La cóclea está situada en el espesor del peñasco del hueso temporal, formado por un tubo arrollado en espiral, en torno a un eje óseo denominado modiollo o columela de Breschet, que es oblicuo en los tres planos anatómicos. En el ser humano describe 2 y  $\frac{1}{2}$  a 2 y  $\frac{3}{4}$  espiras.

La cóclea se describe como con dirección oblicua en dirección superoinferior, posteroanterior y lateromedial, entonces la porción más ancha o base se encuentra posterior y lateral con respecto al ápex o región más estrecha. No obstante, por convenio



Pablo Gil Loyzaga

internacional para el estudio anatómico e histológico de la cóclea, se considera que el ápex se sitúa superiormente y la base inferiormente(22).

El modiolo se encuentra horadado por fuera, conformando el canal de Rosenthal ,donde se aloja el ganglio auditivo o de Corti, y en el centro para permitir el paso de los filetes nerviosos que forman el nervio auditivo, que atraviesan la base de la cóclea por la lámina cribiforme de la fosita coclear y penetran en el CAI.

El **laberinto membranoso** se adapta al interior del laberinto óseo y por lo tanto, se considera la existencia de tres partes, el vestíbulo, los canales semicirculares y la cóclea o caracol membranoso. El vestíbulo membranoso está constituido por los receptores vestibulares: la mácula utricular, la mácula sacular y las crestas ampulares de cada canal, y el receptor auditivo. Ambos sistemas laberínticos del laberinto membranoso, se comunican entre sí mediante el canalis reuniens, que une el sáculo con la cóclea membranosa.

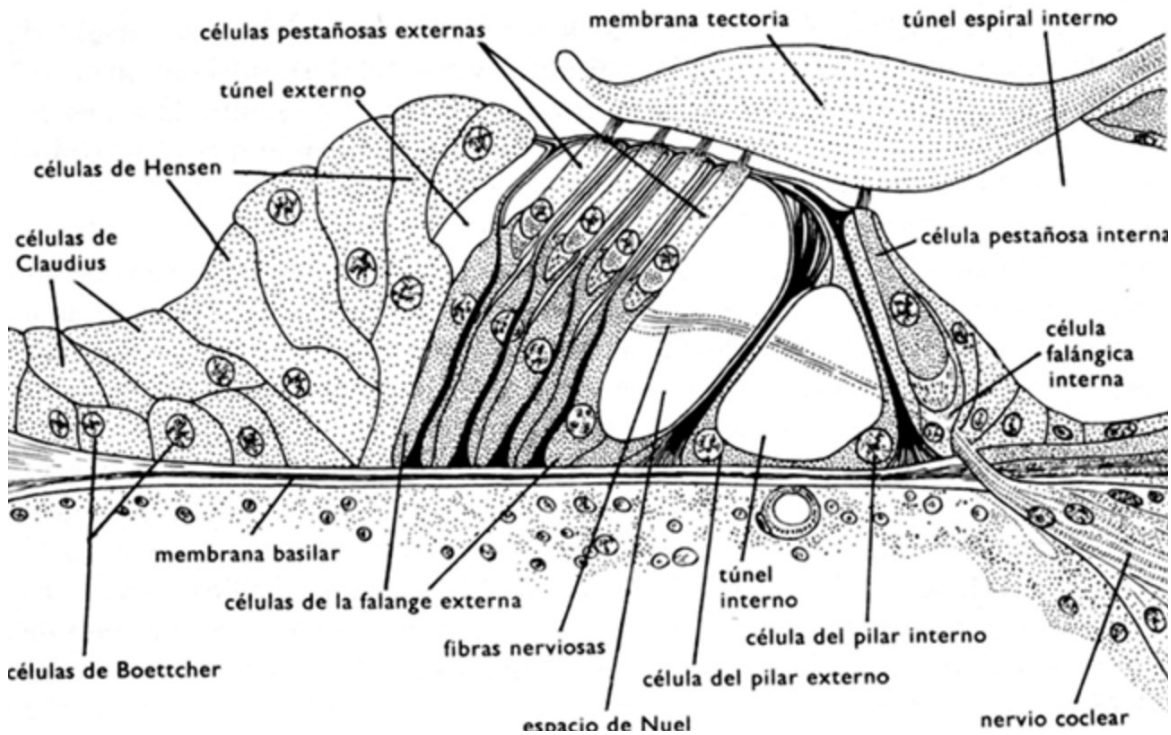
La cavidad de la cóclea está compartimentada en tres rampas: por un lado la estructura conjunta formada por la lámina espiral ósea y la membrana basilar y por otro, la membrana de Reissner. Entre ambas se encuentra el ductus cochlearis o rampa media, de sección triangular, y en que se encuentra el receptor auditivo u órgano de Corti. El lado externo del triángulo, está formada por el ligamento espiral, una estructura que fija la rampa al hueso y la estría vascular. Por encima de la membrana de Reissner estructura avascular con dos capas vasculares, se encuentra la rampa vestibular y bajo la membrana basilar se encuentra la rampa timpánica(23).

El sistema receptor auditivo u órgano de Corti donde se encuentran situados los receptores de la audición, está ubicado en la rampa media, sobre la membrana basilar y sobre ella se arrolla en espiral en torno del hueso del modíolo. Se pueden identificar dos tipos celulares: las células sensoriales (células ciliadas internas y externas) y las células de soporte.

Las células de Deiters y las células de los pilares del túnel de Corti son las células de soporte principales. Las células de Deiters se sitúan bajo las células ciliadas externas, las internas también tienen un elemento de soporte que no recibe denominación específica. Las células de los pilares son dos hileras de células (pilar interno y externo) unidas entre sí, delimitando un espacio denominado túnel de Corti, permiten el paso entre ellas de las fibras nerviosas que inervan las células ciliadas externas y a las que forman el plexo espiral del túnel de Corti. Existen otras células de soporte con menos relevancia funcional o estructural, como las de Hensen entre otras.

Las células de órgano de Corti se encuentran cubiertas por una membrana acelular, con glucoproteínas y glucosaminoglucanos, la membrana tectoria, cuyo extremo interno se fija al modíolo y el borde externo es libre. En su cara basal se anclan los esterocilios de las células ciliadas externas, que participa en la activación de éstas células, a través del cambio direccional de sus esterocilios(24).

En el órgano de Corti se identifican dos tipos de células sensoriales o receptoras, las células ciliadas internas (CCI) organizadas en una única hilera en el lado interno del túnel



de Corti y las células ciliadas externas (CCE) dispuestas como los tubos de un órgano y colocados según una W abierta. Ambos tipos celulares poseen esterocilios en su polo apical, un soma celular y en su polo basal reciben la inervación de las fibras aferentes y eferentes. Las CCI son las verdaderas células sensoriales, encargado de enviar el mensaje auditivo al sistema nervioso central, no tienen capacidad contráctil. Las CCE que muestran un cuerpo celular cilíndrico y participan en la mecánica coclear con contracciones a la estimulación auditiva. Ambos grupos celulares son transductores mecanobiológicos sensibles y capaces de transformar la energía mecánica de la onda sonora, en energía bioeléctrica, haciendo que la información sonora se transforme en un mensaje auditivo que alcanza la corteza cerebral, mediante la vía auditiva.

### Vascularización

La irrigación del laberinto óseo oído proviene de la arteria timpánica inferior, rama de la faríngea ascendente, de la arteria estilomastoidea, rama de la auricular posterior, y de la arteria subarcuata, que puede provenir de la arteria auditiva interna o directamente de la arteria cerebelosa inferior y anterior.

Las arterias del laberinto membranoso, provienen de la arteria laberíntica nacida de la arteria cerebelosa media o inferior o directamente del tronco basilar. Arteria vestibular anterior irriga CSC anterior y lateral, la arteria coclear da origen a las arterias radiales, la arteria vestibulococlear se divide en rama coclear que irriga parte del canal coclear y se anastomosa con la arteria coclear. Y la rama vestibular posterior, que irriga la mácula del sáculo, la ampolla y las paredes del CSC posterior, y las paredes del sáculo y del utrículo. La membrana basilar, de Reissner y tectoria son estructuras avasculares.

El sistema venoso tiene un recorrido semejante al arterial.

La cóclea de los mamíferos recibe fibras nerviosas aferentes, que van al tronco cerebral por el nervio auditivo, fibras eferentes que provienen de los núcleos olivares por el fascículo de Rasmussen y fibras simpáticas que llegan desde los ganglios cervicales(21, 23, 25).

## **1.2-. FISIOLÓGÍA**

La hipoacusia está producida por una alteración de la fisiología del oído interno. En el caso de las mutaciones de la conexina, su mutación supone una alteración de la fisiología de la audición. La mutación de la conexina va a suponer una alteración de la fisiología del oído interno, de tal manera que le daremos más importancia a esta.

De manera muy resumida, exponemos la fisiología del oído externo y el medio, haciendo una revisión más profunda de la fisiología del oído interno.

### **1.2.1-. FISIOLÓGÍA OÍDO EXTERNO - OÍDO MEDIO**

En el oído externo, el **pabellón auricular** donde las ondas sonoras van hacia el CAE, y participa en la localización espacial del sonido(26, 27). El **CAE** posee funciones defensivas y acústicas como elemento conductor de la onda sonora hasta la membrana timpánica. Máximo de ganancia (12-15 decibelios) (dB))(28).

El **oído medio** se encarga de:

1-transformar las ondas acústicas en vibraciones mecánicas

2-adapta las impedancias del medio aéreo en la que viaja la onda sonora y el medio líquido, en el que están inmersos los elementos sensoriales del oído interno.

3-de protección del oído interno ante sonidos de gran intensidad que, de ser transmitidos al oído interno, podrían causar lesiones irreversibles en el sistema auditivo.

4- mantiene el equilibrio de las presiones aéreas entre ambos lados de la membrana timpánica, facilitando el paso de las ondas sonoras desde el CAE a la cadena de huesecillos.

La **membrana timpánica** , en reposo, está en tensión constante debido al sistema de fibras radiales y circulares que la constituyen, lo que le permite captar ondas de baja intensidad(29) .

Las características vibrátiles de la membrana del tímpano son muy complejas, al vibrar no lo hace de forma homogénea. Ya Von Békésy en sus estudios observó que la membrana no vibraba de la misma forma para sonidos de diferentes tonos. Actualmente se acepta que, para la mayoría de los sonidos, su región central se desplaza más que las periféricas, próximas al anillo de Gerlach. Mientras que sonidos de frecuencias extremas parecen en cambio estimular áreas alejadas de la región central(30).

El sistema que adapta las impedancias del oído medio, se inicia entonces en la membrana timpánica, ya que por sus características físicas, permite un incremento de presión sobre la ventana oval. En el hombre, la diferencia de tamaño (20/1) entre el tímpano y la ventana oval, hace que al presión total final que actúa sobre la membrana oval se vea incrementada hasta 24 veces; lo que supone una ganancia de hasta 27 dB. La ganancia de presión no es constante y depende de la frecuencia de sonido(30, 31).

**Función de la cadena de huesecillos:** las vibraciones que se producen en la membrana timpánica al llegar la onda sonora, son transmitidas por continuidad con el hueso del martillo a la cadena de huesecillos. La cadena posee un sistema de fijación a la caja del tímpano mediante músculos y ligamentos, que participan en los movimientos, pero también lo limitan.

La articulación entre el martillo y el yunque está muy limitada por la fijación del primero a la membrana timpánica, por los ligamentos de ambos músculos y por el músculo de martillo. Por ello, ambos huesos suelen desplazarse como un conjunto. En cambio la articulación entre el yunque y el estribo es muy móvil y sólo se encuentra limitada por el músculo del estribo y la fijación de la platina del estribo a la membrana oval mediante el ligamento anular de la platina.

Son tres los ejes en torno de los cuales, se realizan los movimientos de la cadena de huesecillos del oído medio, resultando en un movimiento palanca(32).

Podemos considerar que la membrana del tímpano, el martillo y yunque conforman un conjunto funcional. Este conjunto, se mueve en torno a un eje horizontal, que permite movimientos de rotación a la articulación entre yunque y el estribo. Los movimientos de la platina, en cambio, dependen de la intensidad del sonido. Sonidos con intensidad inferiores a 120 dB el estribo se comporta como un pistón con respecto a ventana oval, en cambio, cuando el sonido es de intensidad superior, se produce un cambio de eje que tiende a proyectar el estribo hacia atrás(30, 31).

El sistema adaptador de impedancias del oído medio, tiene dos aspectos: un sistema de incremento de la presión, debido a las diferencias de tamaño entre la membrana timpánica y la ventana oval y un sistema de palanca constituido por los huesecillos, articulaciones y músculos del oído medio(29).

La contracción de los músculos del oído medio, se realiza en forma conjunta, teniendo como resultado: la restricción de los movimientos de la cadena osicular, tensan la membrana del tímpano y disminuyen la sensibilidad auditiva para algunas frecuencias. La latencia de la contracción de estos músculos, es relativamente alta, este hecho supone que los reflejos de

estos músculos no protegen al receptor auditivo ante sonidos bruscos, aunque sí lo hacen ante sonidos fuertes mantenidos. Pero en sonidos de muy larga duración, la fatiga auditiva provoca un relajamiento muscular progresivo, que lleva a la lesión final del sistema(31, 33)

Fisiología de la **Trompa de Eustaquio**: Su función es mantener el equilibrio de presiones, a ambos lados de la membrana timpánica mediante un proceso regular y rítmico de apertura-cierre de la trompa. Este equilibrio se realiza por la contracción de los músculos periestafilinos externos e internos, durante la deglución. Existen también otros procesos que permiten su apertura y son el bostezo, el estornudo, la fonación o las maniobras de Valsalva.

### 1.2.2.- FISIOLÓGÍA OÍDO INTERNO

Es en el oído interno y más concretamente en el **órgano de Corti**, dónde se realiza la transducción mecanoeléctrica, que permite la conversión de la onda sonora en mensaje neural, que será transmitido por las fibras nerviosas de la vía auditiva hasta la corteza cerebral. Con independencia de las características o la complejidad de la onda sonora que lo alcance, el receptor auditivo analiza la frecuencia (desde 20 a 20.000 Herzios (Hz)) y la intensidad (hasta 130 dB) del sonido, con una discriminación temporal de 1ms. Para estos procesos dispone de sistemas mecánicos y mecanoeléctrico, que como veremos a continuación, realizan su función en condiciones físico-químicas concretas que permiten los líquidos laberínticos(34).

Podríamos dividir la función coclear en tres partes:

1. La macromecánica coclear, que describe el movimiento de los líquidos y las membranas.
2. La micromecánica coclear, que se refiere en concreto al Órgano de Corti, las células ciliadas y la membrana tectoria.
3. La transducción, que es la respuesta electroquímica de la célula ciliada ante los movimientos de la membrana basilar.



### 1.2.2.1- Macromécanica coclear

Las ondas sonoras pasan a través del oído externo y medio, donde provocan vibraciones de la cadena de huesecillos, que llegan a la platina del estribo y a la membrana oval. Al vibrar ésta se produce una onda de presión que es transmitida al receptor auditivo a través de los medios líquidos cocleares, generándose un diferencial de presión a lo largo de las membranas cocleares. Esta onda utiliza la membrana basilar coclear como plano de avance desde la base al ápex, haciéndola vibrar de forma selectiva(20), los movimientos de la membrana basilar provocarán el desplazamiento del receptor auditivo y, por lo tanto, incidirán directamente en su actividad (1, 31).

La mecánica de la membrana basilar, que resume de alguna manera la actividad pasiva del oído interno, dio origen a dos teorías, la de la resonancia de Von Helmholtz y la teoría de la onda viajera de Von Békésy.

La membrana basilar varía de longitud y grosor de manera progresiva lo largo de su recorrido desde la base al ápex de la cóclea, por lo que es más gruesa y corta en la base y, progresivamente más fina y larga hacia el ápex. Este hecho apoya la hipótesis de la tonotopia coclear, cada zona de la membrana basilar tiene una frecuencia de resonancia propia. Las frecuencias agudas provocan el desplazamiento máximo de la membrana basilar en la espira basal, y las graves lo hacen en el ápex. Békésy(21, 34) en 1960 indica que la membrana basilar se comporta como un analizador del sonido que realizaría el papel de un filtro acústico considerándola como el verdadero “primer filtro” coclear del sonido(31).

Este sistema de cribado de frecuencias supone que aquellas que son agudas provocan el desplazamiento máximo de la membrana basilar en la espira basal coclear, mientras que las graves lo hacen en el ápex.

La distribución tonotópica de la cóclea, no sólo se debe a la membrana basilar, sino también a otras estructuras que existen en diferentes regiones de la espira coclear. Dentro

de estas estructuras, cabe destacar que la membrana tectoria se elonga y adelgaza cuanto más apical se encuentra, y que las CCE en mayor medida que las internas, son más pequeñas en la base coclear y se hacen progresivamente más largas en el ápex, como sucede también a sus esterocilios. La longitud de las CCE está íntimamente relacionada con la codificación de frecuencias por el órgano de Corti, también diferencias en la inervación de estas células contribuirían a dicha selectividad frecuencial. La distribución tonotópica de las frecuencias no es exclusiva de la cóclea, tiene su representación a todos los niveles de la vida auditiva hasta la corteza cerebral(24, 34).

Estos avances nos permiten aclarar, que cuando un sonido alcanza la membrana basilar, debido a su elasticidad se inicia una “onda viajera” en la base coclear que recorre toda la membrana hacia el ápex(31).

La amplitud de la onda va aumentando lentamente, hasta que en la región denominada “de resonancia”, alcanza el máximo desplazamiento de la membrana basilar, que luego disminuye de manera brusca hasta que la onda desaparece. Cuando se alcanza el máximo desplazamiento o máxima excursión en la membrana basilar, se produce un consumo rápido de la energía cinética de la onda y esto lleva al final de la oscilación de la misma(28, 35).

Existe una región característica de la membrana basilar para cada frecuencia y que responde de forma específica al estímulo, esto hace que la membrana basilar constituya el primer filtro acústico, comportándose como un analizador del sonido.

Sólo los sonidos de alta intensidad, corresponden a este modelo pasivo, la audición de sonidos de baja o media intensidad sólo puede ser explicada por la existencia de mecanismos activos(28, 36).

### 1.2.2.2-. Micromecánica coclear

Cuando se estimula la cóclea con frecuencias puras a intensidades medias y bajas, el estudio de la actividad eléctrica de las fibras del nervio auditivo, indica que sólo un grupo pequeño de fibras nerviosas aferentes del nervio auditivo presentan un potencial de acción, un número muy inferior al que correspondería a la zona correspondiente a la membrana basilar(31, 37).

Estos datos sugieren, que entre la membrana basilar y las fibras nerviosas (o las CCI) debe existir un “segundo filtro”, que ajuste las curvas de desplazamiento de la membrana basilar a las de las sintonía neural(28).

Un descubrimiento importante refleja que, mientras que una lesión o alteración de las CCI suponen una pérdida moderada de la selectividad frecuencial, la alteración o lesión de las CCE implicarían la desaparición total de dicha propiedad del receptor auditivo y de hecho, trae consigo además, un gran incremento del umbral auditivo de la región afectada. Debido a todo esto, se postula que las células ciliadas externas, son las verdaderas responsables de la alta selectividad frecuencial y por lo tanto, responsables del llamado “segundo filtro”. También son consideradas “amplificadores cocleares”, se encargan de reducir el umbral auditivo, en especial para sonidos de intensidad media o moderada. En la actualidad, se justifica la existencia de “otoemisiones cocleares”, mediante la actividad de las células ciliadas externas(28).

El órgano de Corti y la membrana tectoria, siguen los movimientos impuestos por la vibración de la membrana basilar, perpendicularmente a su superficie. Los cilios de las CCE, establecen contacto con la membrana tectoria, y durante el desplazamiento de la basilar, sufren un cizallamiento entre la lámina tectoria y la cuticular de la membrana basilar(22). Las CCE son las verdaderas responsables de la alta selectividad frecuencial y del denominado “segundo filtro”(12). Son elementos “amplificadores cocleares” mediante los mecanismos de contractibilidad activa y se encargan de reducir (adaptar) el umbral auditivo de las CCI, especialmente ante sonidos de intensidad media o moderada(23). Por tanto, la misión de las CCI es enviar al SNC, la información que previamente han filtrado los sistemas mecánicos (membrana basilar y CCE).

————— *Hipoacusia neurosensorial profunda asociada a la alteración del gen que codifica la conexina 26* —————

### 1.2.2.1-. Transducción mecano-eléctrica

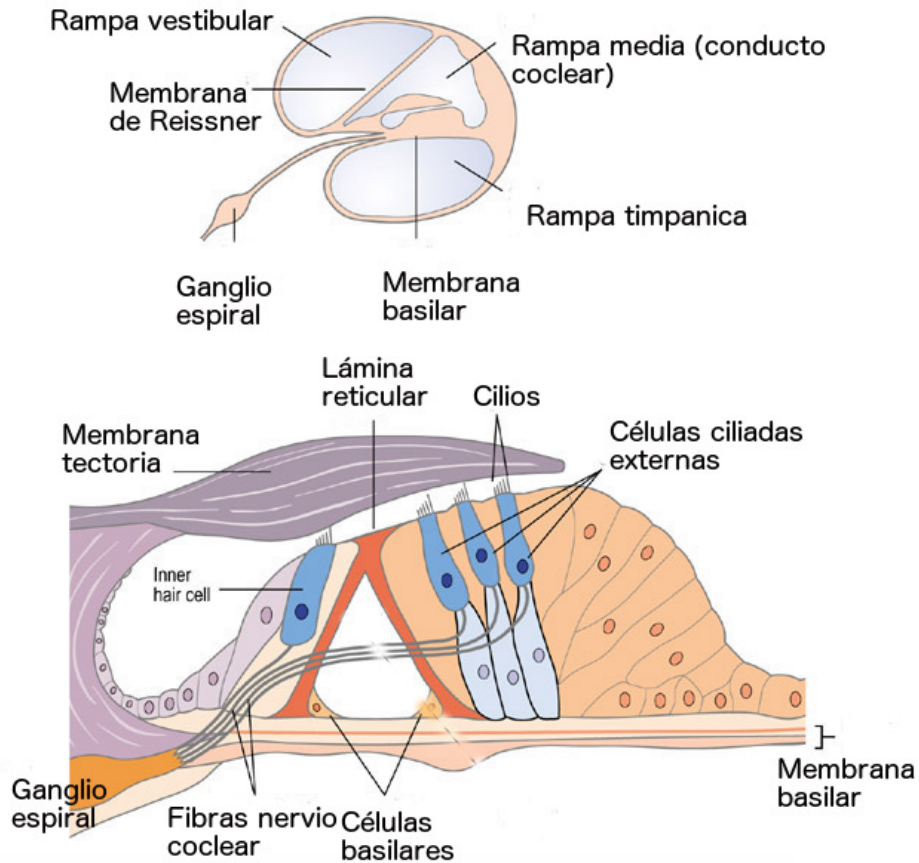
El estímulo sonoro cuando alcanza el oído interno, conlleva el desplazamiento de la membrana basilar, este desplazamiento provoca la elevación y proyección del receptor auditivo hacia la membrana tectoria. Este fenómeno provoca que los esterocilios de las células ciliadas, que se encuentran entre las células y la membrana tectoria, se muevan por la membrana adaptándose a su movimiento(35).

Los esterocilios en su superficie apical se encuentran generalmente polarizados, encontrándose unidos entre sí por puentes glicoproteícos. Se organizan en empalizada, tomando una disposición en “V” para las CCI y en “W” para las CCE.

Se desplazan cuando interaccionan con la membrana tectoria, al ser proyectados hacia ella por los desplazamiento de la membrana basilar. Esta interacción es relativamente simple con los esterocilios de las CCE, ya que los mismos se encuentran anclados en la célula. En cambio los de las CCI no se encuentran ancladas, por lo que se pueden desplazar, no sólo por los movimientos de la membrana tectoria, sino que también por los de la endolinfa(36).

La membrana tectoria, es un elemento insustituible en la transducción coclear, porque es imprescindible para desplazar los esterocilios isocrónicamente, con los movimientos de la basilar, es decir, con el sonido. Permite que los desplazamientos de los esterocilios, se realicen orientados con respecto a un eje muy preciso, dirigido de manera radial, desde el modiolo hacia la pared lateral, y además se ha planteado como hipótesis que puede participar como un reservorio iónico (especialmente de  $K^+$  y  $Ca^+$ ), gracias a que establece un equilibrio entre los iones capaces de atravesar la membrana y los que no con la endolinfa que la circunda(24, 28, 31).

La transducción mecanoeléctrica, es decir, el paso de la energía mecánica del sonido a energía bioeléctrica, tanto en las células ciliadas internas, como en las externas, se realiza en los esterocilios. ç



El desplazamiento de los esterocilios (38) se produce cuando son flexionados por la membrana tectoria, permite la apertura de canales iónicos, que se encuentran localizados en la región más apical de los mismos y que produce la entrada de cationes en las células ciliadas que se despolarizan(22).

Los canales poseen un alto grado de selectividad direccional, que se relaciona con los puentes existentes entre las regiones apicales de los esterocilios. La deflexión de los esterocilios más largos, hacia la pared lateral, se produce con la apertura de los canales iónicos, esto lleva a la despolarización de las células ciliadas. La apertura de los canales iónicos, poco selectivos para  $K^+$ , permite la entrada de  $K^+$ , que se encuentra en alta concentración en la endolinfa. Este tipo de despolarización sólo se produce en las células ciliadas, auditivas y vestibulares, ya que en el resto de las células de organismo, estas se activan sólo por la entrada de  $Na^+$ . Luego de la entrada de  $K^+$  por el polo apical de la célula, se produce una regulación iónica intracelular con apertura de canales de  $Ca^{2+}$  voltaje-dependientes y canales de  $K^+$  de las membranas basolaterales de las células

ciliadas. En cambio, la deflexión de los esterocilios hacia el modiolo, produce el cierre de los canales iónicos y la hiperpolarización celular(24, 28, 39).

Entonces, la transducción mecanoeléctrica, culmina con la despolarización celular, pero ésta produce efectos diferentes, en las células ciliadas internas y externas.

Las CCE consideradas en la actualidad, como los elementos activos moduladores fundamentales de la actividad mecánica periférica del receptor auditivo, son las primeras, que se activan por los movimientos de la membrana basilar. Las CCE poseen un potencial intracelular de reposo de -70 milivoltios (mV), su despolarización genera un potencial que depende del número de células estimuladas, por cada sonido concreto, es el potencial microfónico coclear. Este potencial es de muy baja latencia, que reproduce el estímulo sonoro, su amplitud, a intensidades medias a bajas, es proporcional a la intensidad del estímulo, no obstante, a estímulos de alta intensidad se satura. Se altera en condiciones de hipoxia y en las modificaciones de la composición iónica de la endolinfa(.39, 40).

Existe otro potencial que se genera en las primeras fases de activación del receptor, es el potencial de sumación, que aunque su origen biológico permanece incierto, se cabe que es un potencial muy complejo, de latencia muy baja, que puede deberse a algún tipo de actividad de las células ciliadas, que se presenta en coincidencia temporal con los potenciales microfónicos.

Las CCE cuando se despolarizan, inician una serie de movimientos contráctiles, que parecen deberse a la activación de una proteína contráctil recientemente descrita, llamada prestina. Los movimientos contráctiles en éstas células, pueden ser de dos tipos, rápidos y lentos, en función de la intensidad del sonido. Las contracciones rápidas producen aproximaciones pequeñas, pero funcionalmente importantes, ya que permiten amplificar los sonidos de muy baja intensidad, al aumentar el número de contactos por unidad de tiempo entre la superficie celular y la membrana tectoria, además de incrementar la selectividad frecuencial del receptor auditivo(41, 42).

Las CCE son capaces de “responder” a la estimulación sonora con contracciones ,que provocan la emisión de una onda en sentido inverso, desde la

membrana basilar hacia la membrana del tímpano, a esta actividad intrínseca coclear se denominó otoemisión acústica, identificadas por primera vez por Kemp(41, 43).

Las contracciones lentas, incrementan el contacto entre la superficie celular y la membrana tectoria, bloqueando la capacidad de excitación celular, es por ello que son consideradas como un sistema de defensa frente a sonidos que pudieran ser lesivos para el receptor.

Aún no se ha podido ser corroborar la contractilidad de las CCE en el ser vivo, ya que, los estudios se han realizado en condiciones experimentales in vitro. No obstante, existen datos que apoyan esta hipótesis, el más importante es que el receptor auditivo es capaz de responder a la estimulación sonora (envío de tono puro de corta duración) con la emisión de una onda de idénticas características a la estimulante. Ésta onda puede ser registrada en el CAE, mediante un micrófono muy sensible (otoemisiones provocadas)(44)

Las CCI o células sensoriales, son las encargadas de enviar al sistema nervioso central la información, que con anterioridad han filtrado la membrana basilar y las CCE. Se activan de forma similar que las células ciliadas externas, con un potencial de reposo de -30 a -45 mV. Esta activación podría estar mediada por el desplazamiento directo de los esterocilios, inducido por la membrana tectoria, aunque también podría deberse a un desplazamiento mediado, por los movimientos de la endolinfa que está por debajo de dicha membrana.

Como en las CCE, los movimientos de los esterocilios provocan la apertura de canales iónicos con entrada de  $K^+$  y la consiguiente activación celular. Esta activación ,también provoca la apertura de canales de  $Ca^+$ , que conllevan a la fusión de vesículas presinápticas a la membrana celular, por acción de proteínas dependientes de este ion, facilitando la liberación de glutamato por el polo basal de las CCI hacia la hendidura intersináptica. El glutamato es el principal neurotransmisor activador del receptor auditivo y también lo es de sistema nervioso central. Actúa sobre receptores específicos de las fibras aferentes de tipo I, que a su vez se despolarizan y generan un

potencial de acción denominado potencial de acción compuesto. Este potencial, es la suma de todas las respuestas unitarias de las fibras nerviosas aferentes del nervio auditivo, de una región delimitada de la cóclea activadas simultáneamente. Se registra mediante cocleografía a 5ms, después del estímulo sonoro. La latencia y amplitud de este potencial de acción compuesto indica la sincronización y el número de neuronas estimuladas. Las fibras aferentes así activadas remiten el mensaje auditivo que llega a las neuronas de los núcleos cocleares, que a su vez se encarga de remitirlo a la corteza cerebral(25).

La transducción mecano-eléctrica, provoca la despolarización celular de las CCI y de las CCE, aunque con efectos diferentes. Mientras que en las CCE se producen los movimientos contráctiles antes comentados, la despolarización de las CCI produce la liberación de neurotransmisores (glutamato) por su polo basal(23).

La mayoría de las fibras aferentes, forman sinápsis con las CCI, lo cual indica que éstas son las responsables de la mayor parte de la actividad del nervio coclear. Las internas son el receptor y las externas el modulador de la mecánica del oído interno, capaz de ajustar finamente la función coclear.

En cuanto a los **líquidos laberínticos, perilinfa y endolinfa** poseen gran importancia dentro de la fisiología coclear. La perilinfa, de composición iónica similar a otros líquidos extracelulares (y similar a la del líquido cefalorraquídeo), con una alta concentración de  $\text{Na}^+$  (140-150 miliequivalente mEq/litro l) y baja en  $\text{K}^+$  (3,5-7mEq/l), proteínas (1-1,5g/l) y  $\text{Cl}^-$  (110 mEq/l). La endolinfa, con una composición similar a la de los líquidos intracelulares, posee una alta concentración de  $\text{K}^+$  (110-145 mEq/l), baja en  $\text{Na}^+$  (1-5 mEq/l) y muy baja en proteínas (0,3-0,6 g/l), con una concentración de  $\text{Cl}^-$  (130 mEq/l). La endolinfa es hiperosmótica (330 mOsm/kg) con respecto a la perilinfa (290 mOsm/kg). Las uniones de hendiduras, son las responsables de mantener estos equilibrios e intercambios iónicos. Los líquidos cocleares participan en la macromecánica, en la transición mecanoeléctrica y en la micromecánica.



La producción de la perilinfa, parece relacionarse con la filtración simple desde el líquido cefalorraquídeo, mientras que datos experimentales indican que en la producción de la endolinfa se encuentra implicada la estria vascularis.

La diferente composición iónica y proteica entre los líquidos laberínticos, se traduce en una diferencia de potencial (100-120 microvoltio (mV)) entre ambos líquidos, que se denomina potencial endococlear. Éste potencial es importante en la despolarización de las células ciliadas, siendo registrable sólo en la cóclea, ya que entre la endolinfa y perilinfa del vestíbulo no existe(30)

### **1.2.3-. VÍA Y CENTROS DE LA AUDICIÓN**

El VIII par craneal o nervio vestíbulo coclear, está formado por dos partes diferenciadas en lo anatómico y funcional, en la parte coclear, relacionada con la audición y la parte vestibular que interviene en las funciones del equilibrio y de orientación espacial.

Desde el nervio auditivo y hasta el córtex cerebral, las vías auditivas ascendentes presentan una organización compleja, que se extiende a lo largo del tronco cerebral (núcleos cocleares y complejo olivar superior), el mesencéfalo (colículo inferior), el diencefalo (cuerpo geniculado medial) y la corteza cerebral (córtex auditivo). Pero existe una vía auditiva descendente, paralela a la vía ascendente y que va a determinar mecanismos de retroalimentación, que afectan no sólo a la mayoría de los núcleos de la vía, sino que también al receptor auditivo(45).

## Vía auditiva ascendente

### Nervio coclear y ganglio de Corti

Las neuronas del ganglio espiral o ganglio de Corti, representan la primer neurona de la vía auditiva ascendente. Situado en el modiolos de la cóclea, esta compuesto por unas 50.000 neuronas ganglionares en cada cóclea.

Estas neuronas son de dos tipos, no sólo por su morfología, sino por sus conexiones y su papel fisiológico: las neuronas tipo I y las tipo II (5%).

Las neuronas de tipo I, son las más numerosas, representan el 95% del total. Son de gran tamaño, bipolares y poseen un axón mielínico. Su prolongación distal se ramifica, cada fibra inerva una sola CCI, pero cada CCI es a su vez inervada por unas 20 fibras diferentes.

Las neuronas de tipo II constituyen sólo el 5%, son más pequeñas, pseudomonopolares y poseen un axón amielínico; contactan periféricamente con las células ciliadas externas. Cada neurona tipo II recibe sinápsis de entre 10 a 30 células ciliadas externas y cada CCE mantiene contacto con las prolongaciones distales de varias neuronas tipo II.

Las prolongaciones centrales del ganglio de Corti, constituyen el nervio auditivo. Hasta cierto punto, la tonotopía de la cóclea y la disposición espacial de las células del ganglio espiral se mantienen a lo largo del nervio auditivo. Las fibras nerviosas que constituyen el nervio auditivo, se encuentran ordenadas en espiral, las fibras que provienen de la parte apical de la cóclea se localizan en la parte central, mientras que las que provienen de la parte basal se localizan en la periferia del nervio(46).

### Núcleos cocleares

El nervio coclear tras recorrer el conducto auditivo interno, penetra en el bulbo terminando en dos núcleos celulares, el núcleo coclear dorsal y el núcleo coclear ventral.

Éste último, se subdivide en núcleo coclear anteroventral y posteroventral. Una vez que entra en los núcleos cocleares, las fibras del nervio auditivo se dividen de una manera ordenada en dos ramas. Una rama ascendente hacia el núcleo coclear anteroventral y una descendente que cruza e inerva el núcleo coclear posteroventral y termina en el núcleo coclear dorsal. Por lo tanto, cada subdivisión de los núcleos cocleares debe recibir la misma información procedente de la cóclea(45).

La cocleopatía originada en la cóclea, se mantiene en las fibras del nervio auditivo y es preservada, en cada una de las tres subdivisiones de los núcleos cocleares.

Los núcleos cocleares reciben proyecciones descendentes desde el córtex auditivo, el mesencéfalo y tronco del encéfalo; también reciben axones de estructuras no auditivas.

### Complejo olivar superior

En la porción ventrolateral de la protuberancia, se sitúa un conjunto de núcleos, que constituyen el complejo olivar superior, compuesto por tres núcleos principales bien definidos: oliva lateral superior, oliva medial superior y núcleo medial del cuerpo trapezoide. Estos núcleos principales, están rodeados por grupos neuronales cuyos límites son a veces difusos y forman los grupos neuronales periolivares(45).

El complejo olivar superior es el primer lugar de la vía auditiva, dónde las neuronas reciben proyecciones de ambos oídos. Después de completar numerosos circuitos locales, la información es enviada hacia el mesencéfalo a través del lemnisco lateral.

### Lemnisco lateral

El lemnisco lateral, es un tracto fibrilar localizado en la cara lateral del encéfalo que conecta el complejo olivar superior con el colículo inferior. Los núcleos del lemnisco lateral son un conjunto de islotes neuronales intercalados entre las fibras del lemnisco lateral,

que se pueden agrupar, en dos subdivisiones diferenciadas desde el punto de vista funcional en complejo ventral y núcleo dorsal.

Se cree que las neuronas del complejo ventral pueden detectar y analizar variaciones en las propiedades temporales del sonido, por lo que puede estar involucrado, en la codificación y percepción de vocalizaciones y lenguaje. También se ha demostrado que las neuronas de éste complejo ventral son necesarias para la detección de las duraciones de los sonidos que realizan las neuronas de colículo inferior(45).

A diferencia del complejo ventral, las neuronas del núcleo dorsal del lemnisco, se caracterizan por ser en su totalidad de naturaleza inhibitoria. Siendo su función principal mejorar y afinar el procesamiento binaural iniciado a nivel del complejo olivar superior así como ayudar a una mejor sintonización de las neuronas del colículo inferior a las que inerva de forma tonotópica. Es importante destacar, que el núcleo dorsal del lemnisco proporciona al colículo inferior una inhibición sostenida en el tiempo, que permite a sus neuronas determinar el origen del sonido(45).

### Colículo inferior

El colículo inferior, se localiza en la porción dorsal del mesencéfalo y en él, terminan los axones del lemnisco lateral. Está constituido por un núcleo central y unas cortezas o regiones pericentrales(45, 47).

El núcleo central es el punto de relevo obligatorio de los axones que ascienden desde el lemnisco lateral que transportan la información auditiva ascendente que procede de los núcleos cocleares, complejo olivar superior y núcleos del lemnisco. También recibe proyecciones de su homólogo contralateral y proyecciones descendentes desde la corteza auditiva. La característica típica de este núcleo es su organización laminar. Esta disposición está relacionada con la organización tonotópica del núcleo, ya que cada una de las láminas estaría constituida por neuronas que responden a una misma frecuencia.

Las cortezas pericentrales, son las cortezas dorsal y externa. La corteza dorsal recibe aferencias sobre todo de la corteza cerebral; la corteza externa recibe aferencias de la corteza cerebral, pero también posee una gran variedad de aferencias no auditivas. Sus neuronas responden a estímulos auditivos, como también a estímulos somatosensoriales, lo que implica que este núcleo podría tener como función integrar la información auditiva con otras sensoriales(46).

### Tálamo auditivo

El cuerpo geniculado medial representa la estación talámica de las vías auditivas ascendentes. Situado en el diencefalo, se distinguen tres porciones: ventral, dorsal y medial. Está involucrado en una gran variedad de funciones, además de las auditivas, como por ejemplo, el análisis de los cambios plásticos asociados al aprendizaje y la memoria y en procesamiento emocional de los sonidos(45).

### Córtex auditivo

La corteza cerebral auditiva está localizada en los lóbulos temporales y es la última estación de la vía auditiva. Se divide en un córtex primario y regiones auditivas asociadas, que reciben información auditiva y no auditiva. En el humano el córtex auditivo primario, se corresponde con el área 41 y42 de Brodman, se localiza en la superficie superior del lóbulo temporal, en concreto, en las circunvoluciones transversales de Heschl. Éste córtex primario se encuentra rodeado por áreas de asociación, tanto auditivas como inespecíficas. Estas áreas de asociación conectan el área auditiva primaria, con otras regiones corticales relacionadas con el lenguaje.

### **Vía auditiva descendente**

Al igual que existe una vía auditiva ascendente, existen unas vías auditivas eferentes o descendentes, proyecciones totalmente simétricas a las vías ascendentes, que se inician en la corteza cerebral proyectándose sobre los núcleos inferiores e incluso alcanzando el órgano de Corti (46, 47).

El mensaje se origina en la corteza auditiva, pasando por el cuerpo geniculado medial y de aquí al colículo inferior. Las neuronas del colículo inferior se proyectan de manera bilateral a los núcleos preriolivares del complejo olivar superior, en torno al origen del sistema eferente medial y a los núcleos cocleares. Por último las neuronas del complejo olivar superior se proyectan sobre el receptor auditivo.

Esta vía auditiva modula la actividad de centros auditivos inferiores y participa según recientes estudios, en funciones de regulación de la percepción del sonido y facilitando posibles procesos plásticos y/o de aprendizaje(45).

## **1.3-. CONCEPTO DE HIPOACUSIA**

### **1.3.1-. CONCEPTO**

Denominamos habitualmente hipoacusia “al defecto funcional que ocurre cuando un sujeto pierde capacidad auditiva, en mayor o menor grado”. El concepto de capacidad auditiva o agudeza auditiva, viene referido siempre a una característica cuantitativa: el umbral auditivo: “el estímulo sonoro más débil (de menor intensidad) que es capaz de percibir un determinado oído”. El umbral auditivo puede ser diferente en el oído derecho y en el oído izquierdo y cada persona tiene el suyo(48).

La Organización Mundial de Salud (OMS) define sordera como “aquella deficiencia auditiva tan severa, que no se puede beneficiar mediante la adaptación protésica”(49).

En el libro blanco de la hipoacusia (Comisión para la Detección Precoz de la Sordera CODEPEH 2003) (50) definen hipoacusia como, “La sordera en cuanto deficiencia, se refiere a la pérdida o anomalía de una función anatómica y/o fisiológica del sistema

auditivo, y tiene su consecuencia inmediata en una discapacidad para oír, lo que implica un déficit en el acceso al lenguaje oral.”

Según las características cuantitativas : “Deterioro auditivo permanente: es la disminución de la sensibilidad auditiva que queda fuera del rango normal.” “Deterioro auditivo permanente biaural: es la pérdida auditiva bilateral que interfiere en la capacidad del individuo para llevar a cabo las actividades de la vida diaria”(34).

### 1.3.2-. CLASIFICACIÓN DE LAS HIPOACUSIAS

**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 (51, 52).

**Por la localización o nivel lesional** (53) de la lesión causal, se pueden considerar:

Hipoacusias de transmisión o de conducción si la lesión se sitúa en el oído externo o medio

Hipoacusias neurosensorial o de percepción, cuando la lesión se sitúa en el oído interno o en el resto de la vía auditiva central.-

Hipoacusias mixtas, cuando tienen componentes de los dos tipos anteriores

Centrales, cuando la lesión se ubica en los centros auditivos del cerebro

**Por el grado de pérdida**, según criterios establecidos por el BIAP(54) (Bureau International d'Audiophonologie) pueden clasificarse en cuatro niveles:

Hipoacusias leves o de grado ligero: Existe una pérdida media entre 21 a 40 dB. El paciente presenta problemas de audición sólo en voz baja y en ambientes ruidosos. No existen repercusiones sobre el desarrollo del lenguaje ya que puede percibir la palabra. Sin embargo, algunos elementos fonéticos pueden pasar desapercibidos y llevar a confusiones fonéticas (p por b), por lo que no es raro observar en estos niños determinadas dislalias.

Hipoacusias moderadas o de grado medio: Existe una pérdida entre 41 a 70 dB. Presenta dificultades de audición a la voz normal, ya que el umbral vocal está al nivel de la intensidad de la palabra normal. Existen algunos problemas en la adquisición del lenguaje y en la producción de sonidos. A veces, la hipoacusia en estos niños pasa algo desapercibida, debido a que se ayudan de modo espontáneo con la labio lectura.

Hipoacusias severas: Pérdida de 71 a 90 dB en la percepción auditiva. Sólo oye cuando se le grita o mediante un amplificador. No se desarrolla lenguaje sin apoyo logopédico.

Hipoacusias profundas: Pérdida en la percepción auditiva superior a 90 dB. Audición prácticamente nula, incluso con el empleo de audífonos. No se produce desarrollo espontáneo del lenguaje

Cofosis: Pérdida media de 120 dB, no se percibe nada.



La organización mundial de salud (OMS - WHO) ( 55) clasifica las sorderas, así como la actitud que precisa en función de la pérdida.

Grado de Pérdida auditiva	Umbral auditivo en decibelios (DB)	Función auditiva esperada	Recomendaciones
0- No pérdida	25 Db o mejor (mejor oído)	No problemas auditivos o leves. Puede oír susurros	
1- Pérdida leve	26-40 Db (mejor oído)	Puede oír y repetir palabras a voz normal a 1 metro.	Audifonos pueden ser necesarios.
2- Pérdida Moderada	41-60 Db (mejor oído)	Puede oír y repetir palabras con voz alta a 1 metro.	Se recomiendan audifonos.
3- Pérdida severa	61-80 Db (mejor oído)	Puede oír algunas palabras cuando se grita en el mejor oído.	Necesita audifonos. Si no hay audifonos disponibles lectura labial
4- Pérdida profunda	81 Db (mejor oído)	Incapaz de oír y entender incluso a voz gritada.	Los audifonos pueden ayudar a entender palabras. Implantes cocleares. Si no existe posibilidad lectura labial.

Tomado de : Organization WHO. WHO global estimates on prevalence of hearing loss. Mortality and Burden of Diseases and Prevention of Blindness and Deafness WHO. 2012.



WHO global estimates on prevalence of hearing loss. Mortality and Burden of Diseases and Prevention of Blindness and Deafness WHO. 2012.

### Por la progresión en su evolución:

Hipoacusias estables: no modifican el umbral de audición con el paso del tiempo.

Hipoacusias progresivas: con le paso del tiempo aumenta el umbral de audición.

Hipoacusias fluctuantes: el umbral de audición fluctúa en el tiempo.

**Por su extensión en:**

Unilaterales.

Bilaterales: éstas van a tener repercusión sobre la adquisición del lenguaje en niños.

**Por su etiología(48, 53, 54, 56) podemos diferenciar las hipoacusias en:**

Hipoacusias Genéticas o Hereditarias, que representan un 50%-60% del total (57).

Las hipoacusias genéticas o hereditarias muestran todos los patrones de herencia, pueden transmitirse de manera autosómica dominante en un 10-20% de los casos, la transmisión autosómica recesiva es la más frecuente presentándose en un 70-80% (58) de los casos, herencia ligada al sexo en un 1-5%, o herencia por mutaciones en el ADN mitocondrial en un 3%.

Pueden ser precoces, cuando se manifiestan desde el nacimiento o tardías, cuando se desarrollan progresivamente a lo largo de la vida.

Hipoacusias Adquiridas, que suponen otro 25% de las hipoacusias.

Originadas por estímulos patogénicos sobrevenidos, pueden ser prenatales, el patógeno actúa en el período embrionario o fetal, perinatales cuando la lesión se produce en el momento del parto y postnatales cuando el daño se produce luego del nacimiento o a lo largo de la vida

Origen desconocido, que constituyen el 25% restante.

**Según la etapa (59-61)** en que se instaura el déficit auditivo, se clasifican las hipoacusias en tres categorías:

Hipoacusias Prelocutivas: Si la lesión se ha producido antes de la adquisición del lenguaje. Puede producirse entre el nacimiento y los dos años de edad. Estos niños tendrán grandes dificultades para estructurar el lenguaje, debido a la ausencia de información auditiva. Del mismo modo, este tipo de sordera dificultará la adquisición de todos los conceptos lingüísticos de aspecto temporal y espacial.

Hipoacusias Perilocutivas: Es cuando la lesión se produjo durante la fase de aprendizaje del lenguaje, entre los 3 y 5 años de edad. En estos casos, el niño aún no ha adquirido la lectura. En ausencia de una educación especializada, su lenguaje va a degradarse de modo muy rápido. Tienen una memoria auditiva, en contraposición a los hipoacúsicos prelocutivos, lo que facilitará la rehabilitación.

Hipoacusias Postlocutivas: La aparición de la hipoacusia es posterior a la adquisición del habla y la lectura. Gracias al sostén de la lectura, en estos casos no habrá regresión del lenguaje

### 1.3.3.- EPIDEMIOLOGÍA DE LA HIPOACUSIA

La hipoacusia es la alteración sensorial más frecuente(62). Según el Instituto Nacional de Estadística (INE) en España existe alrededor de un millón de personas afectadas por una discapacidad auditiva(.50). Entre ellas alrededor más de cien mil personas con sordera neurosensorial profunda.

- Cinco de cada mil recién nacidos padece una sordera de distinto grado, lo que en España supone la cifra de 1980 niños/año(50).
- Alrededor de dos mil familias, cada año, están afectadas por la presencia de una discapacidad auditiva en uno de sus hijos.

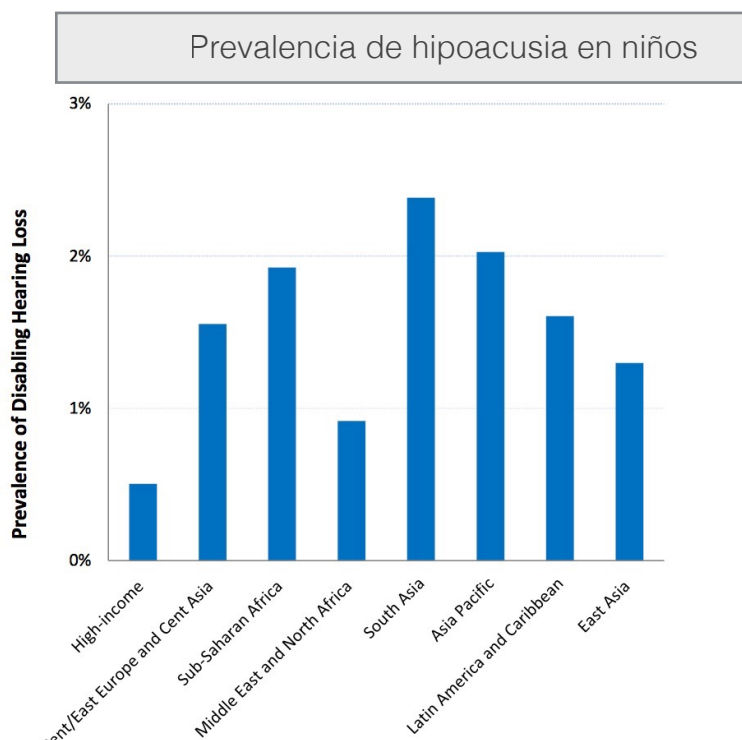
---

*Hipoacusia neurosensorial profunda asociada a la alteración del gen que codifica la conexina 26*

- Más del 80-90% de los niños sordos nacen en el seno de familias cuyos padres son oyentes (57, 63, 64).
- El 80% de las sorderas infantiles permanentes están presente en el momento de nacer.
- El 60% de las sorderas infantiles tienen origen genético(65).
- Sólo en el 50% de los recién nacidos con sordera se identifican indicadores de riesgo.

En 2012 la OMS (55) estimó que hay 360 millones de personas en el mundo con alteración en la audición, lo que corresponde a un 5,3% de la población mundial. De ellos 328 millones son adultos (91%) 183 millones hombres y 145 millones mujeres. Por tanto un 9% son sorderas en niños, lo que corresponde a 32 millones de niños.

La prevalencia de hipoacusia en niños es mayor en sudeste asiático, en la regiones Asia pacifico, y en el area Africa subsahariana.



WHO global estimates on prevalence of hearing loss. Mortality and Burden of Diseases and Prevention of Blindness and Deafness WHO. 2012.

Datos epidemiológicos de la WHO (55) en 2012.

REGIONES	AMBOS SEXO NIÑOS		ADULTOS HOMBRES		ADULTOS MUJERES	
	Millones	Prevalencia (%)	Millones	Prevalencia (%)	Millones	Prevalencia (%)
<b>Regiones altos ingresos</b>	0.8	0.5	19	4.9	18	4.4
<b>Europa del este y central/ Asia central</b>	1.1	1.6	14	9.0	16	8.8
<b>Africa subsahariana</b>	6.8	1.9	17	7.4	13	5.5
<b>Oeste medio y norte de Africa</b>	1.2	0.9	6	4.1	4	2.9
<b>Sureste asiático</b>	12.3	2.4	52	9.5	36	7.0
<b>Zona pacífica de Asia</b>	3.4	2.0	19	8.7	15	6.8
<b>Latinoamérica y caribe</b>	2.6	1.6	15	7.6	13	6.0
<b>Este asiático</b>	3.6	1.3	41	7.4	30	5.6
<b>Mundo</b>	<b>31.9</b>	<b>1.7</b>	<b>183</b>	<b>7.5</b>	<b>145</b>	<b>5.9</b>



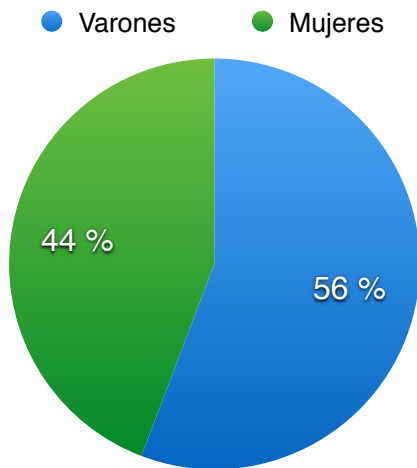
WHO global estimates on prevalence of hearing loss. Mortality and Burden of Diseases and Prevention of Blindness and Deafness WHO. 2012.

<b>ESTE ASIÁTICO</b>	China, Hong Kong SAR (China), Macao SAR (China), República democrática del pueblo de Corea, Taiwan
<b>SURESTE ASIÁTICO</b>	Camboya, Indonesia, Laos, Malasia, Maldivas, Myanmar, Filipinas, Sri Lanka, Tailandia, Timor-Leste, Vietnam.
<b>OCEANÍA</b>	Islas Cook, Fiji, Polinesia francesa, Kiribati, Islas Marshall, Micronesia (Federated States of), Nauru, Palau, Papua New Guinea, Samoa, Solomon Islands, Tonga, Vanuatu, Tuvalu and Niue.
<b>SUR DE ASIA</b>	Afghanistan, Bangladesh, Bhutan, India, Nepal, Pakistan
<b>ASIA CENTRAL</b>	Armenia, Azerbaijan, Georgia, Kazakhstan, Kyrgyzstan, Mongolia, Tajikistan, Turkmenistan, Uzbekistan.
<b>EUROPA CENTRAL</b>	Belarus, Estonia, Latvia, Lituania, Moldovía, Federación Rusa, Ucrania.
<b>NORTE DE AFRICA Y ORIENTE MEDIO</b>	Algeria, Bahrain, Egipto, Iran, Iraq, Jordania, Kuwait, Libano, Libia, Arab Jamahiriya, Marruecos, Palestina, Oman, Qatar, Arabia Saudi, Siria, Tunez, Turkia, Emiratos Arabes Unidos, Yemen.
<b>AFRICA SUBSAHARIANA</b>	Angola, Republica de Africa Central, Congo, Guinea Ecuatorial Gabon, Botswana, Lesotho, Namibia, Sudáfrica, Swaziland, Zimbabwe Benin, Burkina Faso, Camerun, Cabo Verde, Chad, Côte d'Ivoire, Gambia, Ghana, Guinea, Guinea-Bissau, Liberia, Mali, Mauritania, Niger, Nigeria, Senegal, Sierra Leona, São Tomé and Príncipe, Togo.
<b>LATINOAMÉRICA Y CARIBE</b>	Bolivia, Ecuador, Peru, Colombia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Mexico, Nicaragua, Panama, Venezuela, Brazil, Paraguay, Antigua and Barbuda, Bahamas, Barbados, Belize, Bermuda, British Virgin Islands, Cuba, Dominica, Republica Dominicana, Granada, Guyana, Haiti, Jamaica, Antillas Holandesas, Puerto Rico, Saint Kitts and Nevis, Saint Lucia, Saint Vincent and the Grenadines, Suriname, Trinidad and Tobago.
<b>REGIONES DE ALTOS INGRESOS</b>	Brunei Darussalam, Japón, Republic of Korea, Singapore, Australia, Nueva Zelanda, Canada, Estados Unidos de America, Andorra, Austria, Belgica, Chipre, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Greenland, Islandia, Irlanda, Israel, Italia, Luxemburgo, Malta, Holanda, Noruega, Portugal, España, Suecia, Suiza, Reino Unido, Monaco and San Marino.

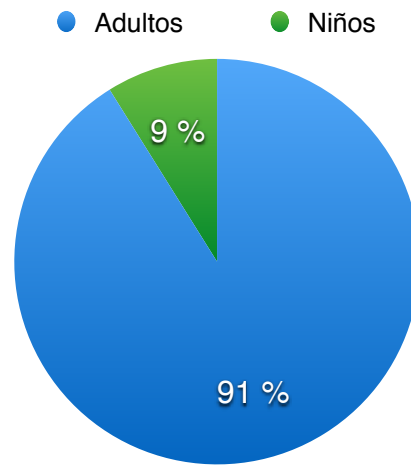


WHO global estimates on prevalence of hearing loss. Mortality and Burden of Diseases and Prevention of Blindness and Deafness WHO. 2012.

Distribución hipoacusia por sexo



Distribución hipoacusia por edad

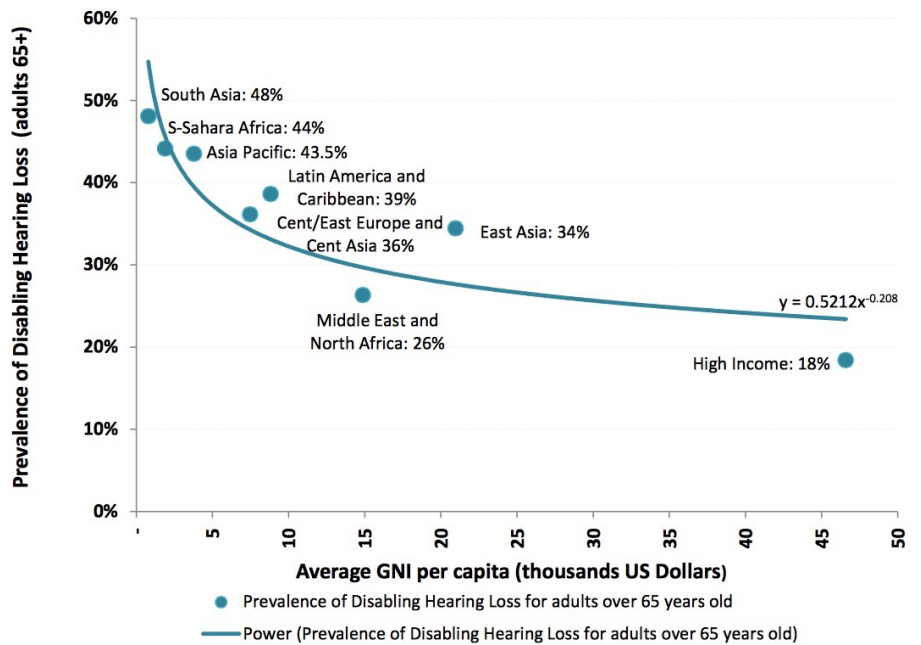


PREVALENCIA DE HIPOACUSIA EN ADULTOS (65 AÑOS O MAYORES)

En adultos de 65 años en adelante la prevalencia disminuye exponencialmente al aumento de



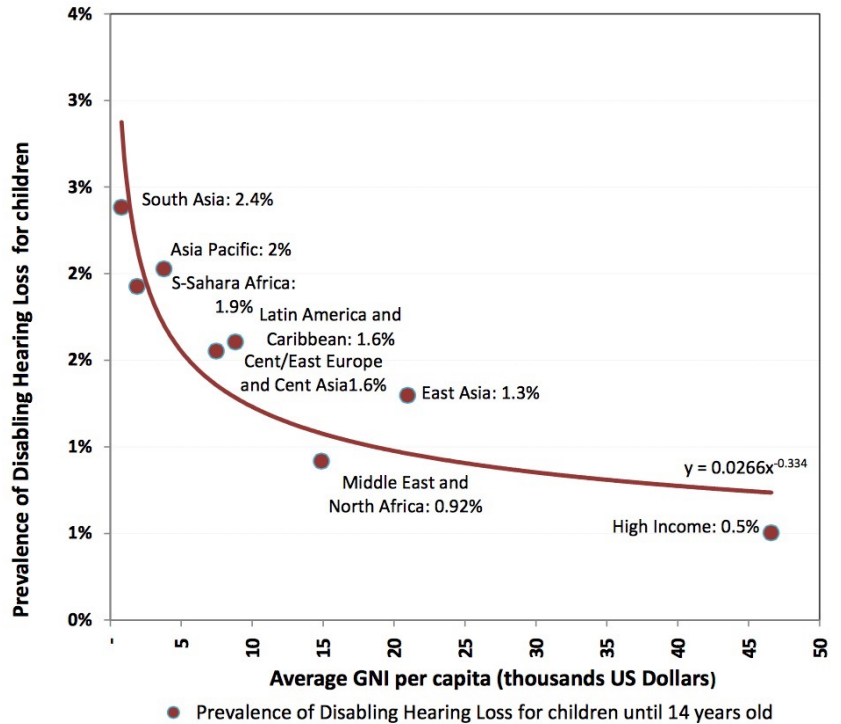
WHO global estimates on prevalence of hearing loss. Mortality and Burden of Diseases and Prevention of Blindness and Deafness WHO. 2012.



La prevalencia decrece exponencialmente al aumento de la renta per capita del país/zona.



WHO global estimates on prevalence of hearing loss. Mortality and Burden of Diseases and Prevention of Blindness and Deafness WHO. 2012.



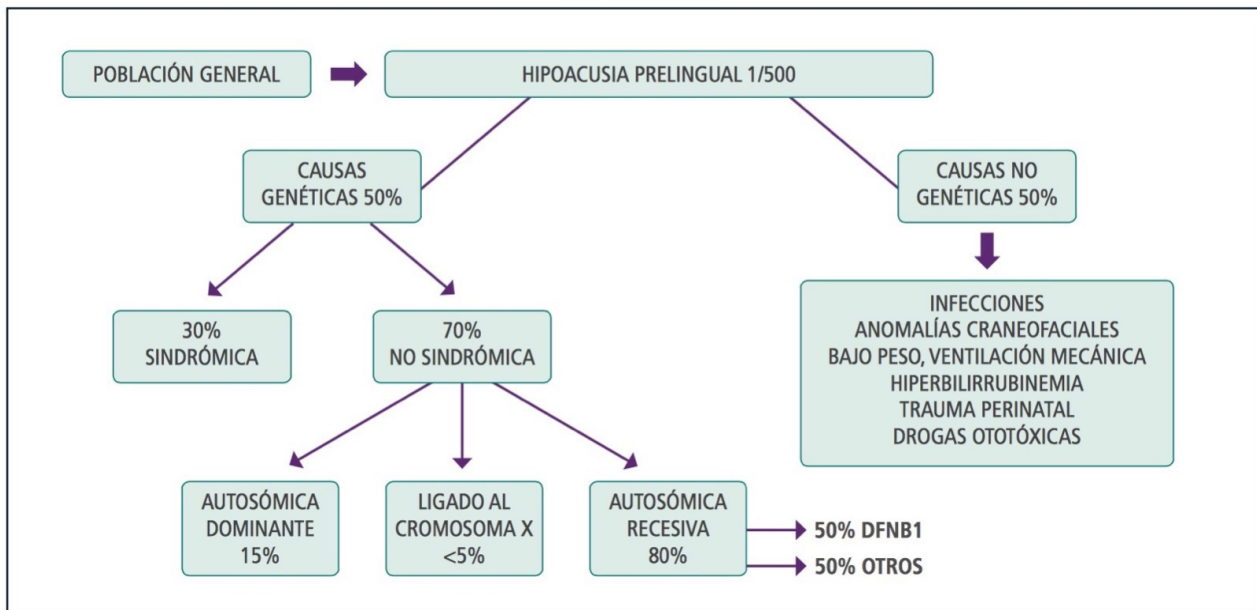
Los datos en España nos hablan de una incidencia de 2-5 niños con pérdida auditiva severa/profunda por cada 650-1000 recién nacidos (66, 67). En Castilla y León en 2003, se realiza una revisión de los datos obtenidos, tras los métodos de detección precoz, reflejando que los niños con factores de riesgo tienen un 7,6 % de hipoacusia neurosensorial y un 2,5% de hipoacusia neurosensorial profunda(68).

En países desarrollados el 60% de los casos de sordera es debido a la genética(69) .

El programa de detención precoz de la hipoacusia universal en el Hospital Materno Infantil, comenzó en 2006, obteniéndose una incidencia de 1.2/1000 recién nacidos (21.5/1000 en neonatos con factores de riesgo, y 076/1000 sin factores de riesgo).



### Cuadro resumen del diagnóstico de las hipoacusias, y su frecuencia de aparición.



## 1.4-. GENÉTICA



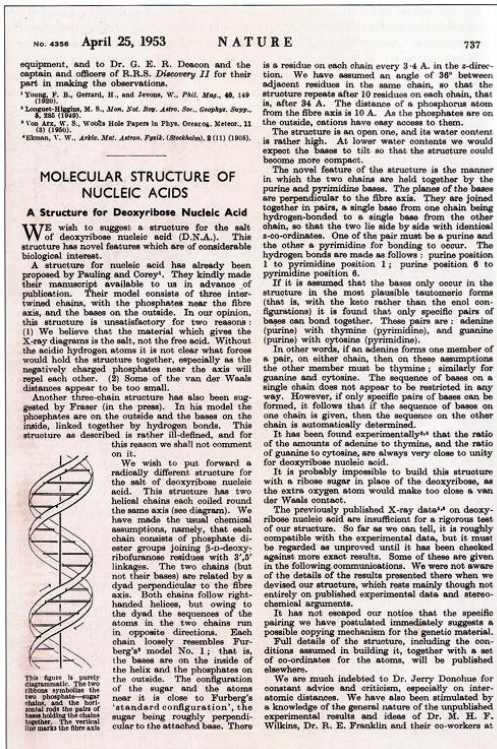
**Gregor Johann Mendel**

El inicio de la genética se lo debemos a un monje agustino en el siglo XIX, Gregor Johann Mendel, quién con sus trabajos con guisantes, postula las leyes de Mendel. En sus trabajos encontró caracteres como los dominantes, que se caracterizan por determinar el efecto de un gen y los recesivos por no tener efecto genético (dígase, expresión) sobre un fenotipo heterocigótico. (70, 71)

Es William Bateson quién acuña el término Genética o el termino Alelo. Wilhem Ludwig Johannsen sugiere el termino genes para los “elementos” y “caracteres” de Mendel.

El ácido desoxirribonucleico (ADN) fue aislado por primera vez de las células del pus y del espermatozoides del salmón, y estudiado por el suizo Friedrich Miescher en 1869.

En 1898, Edward Allen Fay, observando el comportamiento de los hijos de matrimonios sordos en Estados Unidos, describe la hipoacusia neurosensorial severa autosómica dominante (72). 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 (73-76).



**Artículo original de Watson Crick estructura ADN.**

Watson JD, Crick FH. Molecular structure of nucleic acids. Nature. 1953;171(4356):737-8.

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(77).

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(78, 79).

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)(76, 80).

En el año 1962 fueron galardonados junto a Maurice Hugh Frederick con el premio Nobel de Fisiología y Medicina (81).

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



**Severo Ochoa**

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 (76, 82-84).

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(85).

Desde el año 1963 comienzan a aparecer publicaciones en la que se describen pacientes afectados por hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva profunda (86-91).

El primer locus identificado como responsable de sordera genética recesiva, fue en el cromosoma 13q11 por Guilford en 1994, en familias de Túnez. A partir de ese año el número de mutaciones identificadas como responsable de sorderas genéticas tanto receptivas como dominantes sigue creciendo(92)(93).

### 1.4.1-. CONCEPTOS BASICOS DE GENÉTICA

En el ser humano la información genética está contenida en el Acido dexosirribonucleico (ADN) y eso hace que el ADN se convierta en la estructura básica de la herencia.

#### Componentes del ADN:

Una molécula de ADN consta de dos cadenas en hélice, complementarias y antiparalelas, formadas por unidades alternantes de ácido fosfórico y desoxirribosa, con uniones transversales de bases púricas y pirimidínicas, lo que constituye una estructura helicoidal dextrógira, y lleva la información genética codificada en la secuencia de las bases. En las células eucarióticas, la mayor parte del ADN se encuentra en el núcleo y se conoce como ADN cromosómico. Está separado del resto de la célula (citoplasma) por una membrana de dos capas (membrana nuclear). Por otra parte, puede haber ADN extracromosómico en las mitocondrias y cloroplastos(94, 95).

Los elementos estructurales del ADN, llamados nucleótidos, son los siguientes:

- dATP, desoxiadenosina-trifosfato;
- dGTP, desoxiguanosina-trifosfato;
- dTTP, desoxitimidina-trifosfato;
- dCTP, desoxicitidina-trifosfato.

Para mayor facilidad, estos cuatro nucleótidos se denominan dNTP (por las siglas en inglés de desoxinucleósido-trifosfato). Un nucleótido está formado por tres grandes partes: una base púrica (adenina, A, o guanina, G), o una base pirimidínica (citosina, C, o timina, T), un azúcar pentosa (desoxirribosa) y un grupo trifosfato. En el ácido ribonucleico, ARN, la timina está sustituida por el uracilo (U) y la molécula de desoxirribosa por la ribosa.

### Estructura:

El ADN se forma uniendo los nucleótidos entre el grupo fosfato de un nucleótido (que se sitúa en el átomo de carbono número 5 de la molécula de azúcar) y el hidroxilo del átomo de carbono número 3 de la molécula de azúcar del nucleótido anterior. Para efectuar este enlace, se separa un grupo difosfato, con liberación de energía. Los nuevos nucleótidos se añaden siempre en el extremo 3' de la cadena.

Cada base de una cadena se aparea con un solo tipo de base de la cadena contraria, formando un par de bases (pb): A siempre se une con T mediante dos puentes de hidrógeno, y C siempre se une con G mediante tres puentes de hidrógeno(94).

### Replicación

El ADN contiene toda la información genética que define la estructura y la función de un organismo. Hay tres procesos diferentes encargados de la transmisión de la información genética:

- replicación;
- transcripción;
- traducción.

Durante la replicación, un ácido nucleico bicatenario se duplica para formar copias idénticas. Con este proceso se perpetúa la información genética. Durante la transcripción, un segmento de ADN que constituye un gen se lee y se transcribe en una secuencia monocatenaria de ARN. El ARN pasa del núcleo al citoplasma. Finalmente, durante la traducción, la secuencia de ARN se traduce a una secuencia de aminoácidos que forman una proteína(96).

## ¿Qué es un cromosoma?

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.

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(96).

## ¿Qué es el gen?

En términos claros, el “gen” podría ser definido como una porción de ADN de diversa longitud, que codifica para la síntesis de una determinada proteína. Los genes están localizados en los cromosomas. Todos ser humano tiene dos copias de cada cromosoma, pues recibe un gen del padre y otro de la madre; entonces tiene dos copias de cada uno de los genes. Cada gen puede tener diferentes conformaciones y esto recibe el nombre de alelos.

## ¿Qué es homocigosidad y heterocigosidad?

Se dice que un individuo es “homocigoto” cuando tiene dos copias iguales del mismo gen, tanto en el cromosoma paterno como el materno. Por el contrario, si tiene dos copias distintas, entonces es “heterocigoto”.

## ¿Qué es dominancia y recesividad?

Si una característica o una enfermedad se manifiesta solamente cuando los genes están en estado homocigoto (las dos copias del mismo gen), se habla entonces de

recesividad. Pero si la característica o la enfermedad se manifiesta estando el gen en estado heterocigoto (teniendo una sola copia del gen), se habla entonces de dominancia.

### **¿Qué es autosómico y ligado al sexo?**

Cuando el gen heredado se encuentra localizado en un cromosoma autosómico, esa clase de herencia se denomina autosómica, mientras si el gen está localizado en uno de los cromosomas sexuales, se conoce esta clase de herencia ligada al sexo, puede ser ligado a X o ligado a Y(97).

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.

### **¿Cómo analizar los genes?**

El gran cambio en el estudio de las hipoacusias, ha sido fundamentalmente el conocer la causa. Este gran avance es consecuencia de los grandes avances en la genética. Para poder diagnosticar estas hipoacusias genéticas, era necesario una prueba que pusiera de manifiesto estas alteraciones genéticas. La secuenciación Sanger se uso para el estudio genético su especificidad/sensibilidad son muy altas, pero la complejidad del proceso y su coste son altos. Como consecuencia de lo anterior uno de los grandes impulsores de este avance ha sido la técnica de Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), esta técnica mantiene unos niveles de especificidad/sensibilidad altos, pero su complejidad y costo son mucho menores.

## PCR ¿Qué es?

PCR es una técnica de biología molecular desarrollada en 1986 por Kary Mullis. Su objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular(98). Kary Mullis como relata en su autobiografía, tuvo la genial idea cuando conducía de regreso a casa con un amigo en abril de 1983(99), época en que buscaba una modificación del procedimiento de secuenciación de Sanger-Coulson (100)(«didesoxi» o enzimático). Mullis dio a conocer la PCR en una reunión científica en 1984, y en 1993 recibió el Premio Nobel de Química por este descubrimiento.

Es una técnica para amplificar un fragmento de ADN, su utilidad es que tras la amplificación resulta más fácil identificar con una muy alta probabilidad, virus o bacterias causantes de una enfermedad, identificar personas (cadáveres) o hacer una investigación científica sobre el ADN amplificado(101).

La Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) reproduce in Vitro el proceso fisiológico de la duplicación del ADN en las células. La PCR multiplica («amplifica») exponencialmente una secuencia específica de ADN bicatenario, sintetizando grandes cantidades de un segmento específico de ADN a partir cantidades inferiores a 1 µg del ADN de muestra.

Comprende varios ciclos divididos en tres etapas (desnaturalización, hibridación o anillamiento y extensión del cebador) que se resumen de la siguiente manera: primero se desnaturaliza el ADN por calor (90- 94 oC), y luego se deja bajar la temperatura de modo que los extremos 3' de las hebras ahora separadas se puedan aparear con oligodesoxinucleótidos perfectamente complementarios (cebadores o primers), cuya longitud sea suficiente (20-30 nucleótidos), para formar híbridos estables con la molécula que sirve de plantilla. Una polimerasa resistente a la desnaturalización por calor, la polimerasa Taq — llamada así por la bacteria termófila *Thermus aquaticus*, de la que se había aislado, extiende los extremos 3' de ambos oligonucleótidos utilizando las hebras del ADN bicatenario como plantilla, proceso que se conoce como «extensión del cebador» (primer extension). Una



última desnaturalización pone fin a un ciclo y da comienzo al siguiente. Al cabo del primer ciclo se obtienen dos moléculas bicatenarias del ácido nucleico original. El ciclo anterior se repite muchas veces (el número óptimo es de 20 a 50 veces en una PCR típica), sin añadir más enzima y usando las moléculas obtenidas en el ciclo anterior como plantilla. De esta forma se produce un aumento exponencial del número de copias de la secuencia específica igual a  $2^n$ , donde  $n$  es el número de ciclos (102-104).

Es crítico en la PCR el diseño oligonucleótidos (cebadores o primers). Estos tienen una longitud de 18-24 nucleótidos. Es importante que ambos tengan “Melting temperatures” ( $T_m$ ) (formula rápida de cálculo: sumar  $G+C \times 4$  y  $A+T \times 2$ ) y “Annealing temperatures” ( $T_a$ ) similares ( $T_a = T_m - 2-4$ ), que sean no complementarios (evitar “primer dimer”), no secuencias palindrómicas y con una distancia óptima entre oligos: 150-500 bp (parafina preferiblemente menos de 300 si usamos material parafinado).

Una vez realizada la PCR debemos confirmar la amplificación. El método más habitual es la electroforesis en la que comprobamos si el tamaño del producto es adecuado. Esto no es suficiente si queremos por primera vez establecer una PCR como prueba clínica. Hay que confirmar la especificidad del producto mediante enzimas de restricción (al menos 2), PCR “nested”, secuenciación o hibridación (105-107).

## **1.4.2-. TÉCNICAS DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA**

La PCR se basa en el mecanismo de la replicación in vivo del ADN: el ADN bicatenario se desenrolla y pasa a ADN monocatenario, se duplica y se vuelve a enrollar.

Esta técnica consiste en ciclos repetitivos de:

- desnaturalización del ADN por fusión a temperatura elevada, a fin de convertir el ADN bicatenario en ADN monocatenario;
- unión (anillamiento) de dos oligonucleótidos, utilizados como cebadores, al ADN diana;
- extensión de la cadena de ADN por adición de nucleótidos a partir de los cebadores utilizando ADN polimerasa como catalizador, en presencia de iones  $Mg^{2+}$ .

Para el análisis genético podemos usar la PCR asociado a:

PCR + Electroforesis en gel de agarosa (PAGE).

PCR + Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción. Digestión enzimática. (RFLP)

PCR + Polimorfismos de cadena sencilla (SSCP).

PCR + alelo específico

## **1.5-. CONEXINAS**

La primera evidencia de la existencia de una vía directa de comunicación entre las células se obtuvo estudiando la transmisión sináptica entre las neuronas. Cuando ya se había establecido la naturaleza química de la transmisión nerviosa, se observó, que en algunas preparaciones el retraso en la transmisión del impulso nervioso entre la neurona pre- y postsináptica podía ser muy rápido, e incompatible con el mecanismo de liberación de los neurotransmisores, previamente descrito para las sinápsis químicas.

En consecuencia, se propuso la existencia de una vía de baja resistencia entre las neuronas, que dio lugar al concepto de las sinápsis de tipo eléctrico. Se describieron por microscopio electrónico las uniones comunicantes o uniones en hendidura (del inglés “gap junctions”)(108, 109).

Tuvieron que pasar aún unos años más hasta que se demostró que los canales intercelulares, además de permitir el paso de iones, que median la señalización eléctrica, también eran capaces de difundir metabolitos y segundos mensajeros, dando lugar al concepto de acoplamiento metabólico y cooperación celular(36, 108, 110, 111).

Llegó la revolución de la biología molecular y comienza una carrera frenética en la que se van identificando un gen tras otro de la familia de las conexinas, primero en los ratones y luego en humanos. La primera conexina (Cx) que se identificó fue la Cx32 hepática, luego la Cx43 cardíaca, a continuación la Cx26 también hepática y así sucesivamente hasta completar los 21 genes de conexina identificados en el hombre, los 20 del ratón y muchos de sus genes ortólogos en otras especies de vertebrados. En el año 1986 se realizó la primera clonación de una conexina, empezando un progreso importante en el conocimiento de los mecanismos que regulan la formación y la permeabilidad de los canales semicirculares. Y en consecuencia de las alteraciones de éstas conexinas y sus consecuencias(112).

Las conexinas se nombran con la abreviatura Cx seguida de su peso molecular en kDa, eg. Cx43. Suelen pesar entre 26 y 60 kDa, y poseen una longitud media de 380 aminoácidos.

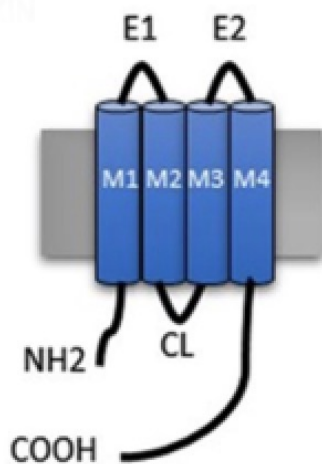
Algunas conexinas, como la Cx32 o la Cx43, se expresan en multitud de tipos celulares, mientras que otras muestran un patrón más restrictivo, como la Cx36 que se expresa casi exclusivamente en neuronas de tipo inhibitorio, neuronas simpáticas y las células beta de los islotes del páncreas.

En general cada tipo celular expresa más de una conexina. La combinación de varias conexinas, podría ser útil para poder desempeñar distintos requerimientos de comunicación intercelular, adecuados a las necesidades tisulares y celulares específicas(113, 114). A su vez, la expresión de varias conexinas, podría permitir la existencia de fenómenos compensadores, que permiten mantener la función cuando una de ellas deja de expresarse.

Las conexinas por tanto, participan en las señales intercelulares fundamentales en tareas complejas del organismo, como la transmisión neural, la reacción inmune o la función reproductiva.

El método principal de análisis de la estructura tridimensional de los puentes de unión ha sido el microscopio electrónico.

### 1.5.1-. MACROESTRUCTURA DE LA CONEXINA 26



Las conexinas son proteínas que tienen cuatro dominios transmembranales (TM) (TM1-TM4), dos bucles extracelulares (E1-E2), dos terminaciones Amino (-N) y carboxilo (-C) , y un bucle citoplásmico (CL) .

---

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 citoplásmico. N, C: terminales amino y carboxílico citoplasmáticos

---

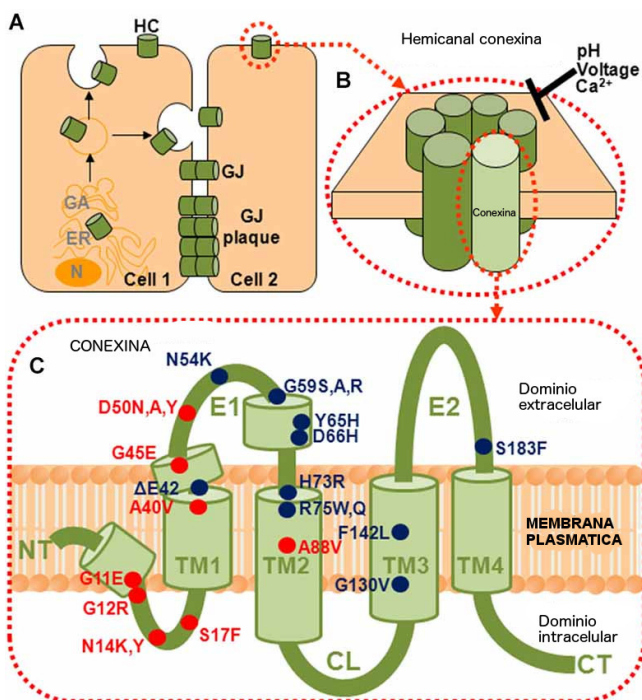
Cada proteína de conexina tiene tres puentes disulfuro tridimensional entre los dos bucles extracelulares, que son esenciales para la formación de los canales (109, 115). Los bucles extracelulares E1 y E2 son importantes en el anclaje de los hemicanales. A través de estas interacciones E1 y E2 hacen un buen sellado del espacio extracelular, separando el interior del canal del exterior. Los uniones de hendidura se superponen, existiendo una

————— *Hipoacusia neurosensorial profunda asociada a la alteración del gen que codifica la conexina 26* —————

región extracelular entre ambos, la diferencia de voltaje a ambos lados del poro acuoso es la que regula la apertura o cierre de estos canales. Se ha identificado a la región N-terminal como sensor de voltaje, por tanto implicado en la apertura de estas hendiduras de unión.

El canal intracelular está compuesto por las dominios transmembrana TM2 y TM3. Residuos con carga positiva están concentrados en esta región y alrededor de la entrada, creando un microambiente cargado positivamente. El poro acuoso está formado por seis N-terminal y es el sitio de constricción del poro. La parte extracelular del poro, está cargada negativamente, y está formada por el dominio transmembrana TM1 y el bucle extracelular E1. La cavidad extracelular está formada por doce porciones de E1 de cada una de las subunidades, creando una capa interna continua y sellada formada por la unión de ambos canales.

El poro acuoso está formado por seis formaciones terminales -N y una red de enlaces circulares de hidrógeno en la parte baja del canal del poro, se encargan de estabilizarlo. Las interacciones hidrofóbicas forman un embudo en la pared interna del poro, interviniendo en su apertura. Los canales de hendidura tienen un mecanismo de apertura de puerta dependiente de voltaje.

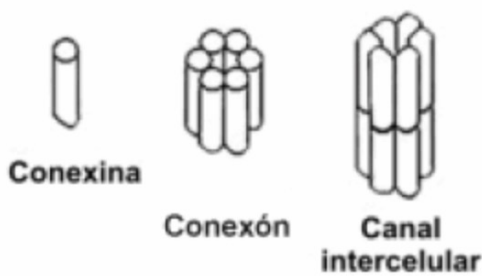


A) Zona de placa de canales de hendidura entre dos células, los canales y hemicanales de hendidura anclan ambas células. B) Conexón o hemicanal de hendidura pueden estar en la membrana en ausencia de anclaje. Están regulados por el pH, voltaje y cationes bivalentes, fundamentalmente el  $Ca^{2+}$ . C) Macroestructura de la conexina. Se muestran las alteraciones que están relacionadas con sordera síndromica.

Tomado de: Sanchez HA, Verselis VK. Aberrant Cx26 hemichannels and keratitis-ichthyosis-deafness syndrome: insights into syndromic hearing loss. *Frontiers in cellular neuroscience*. 2014;8.

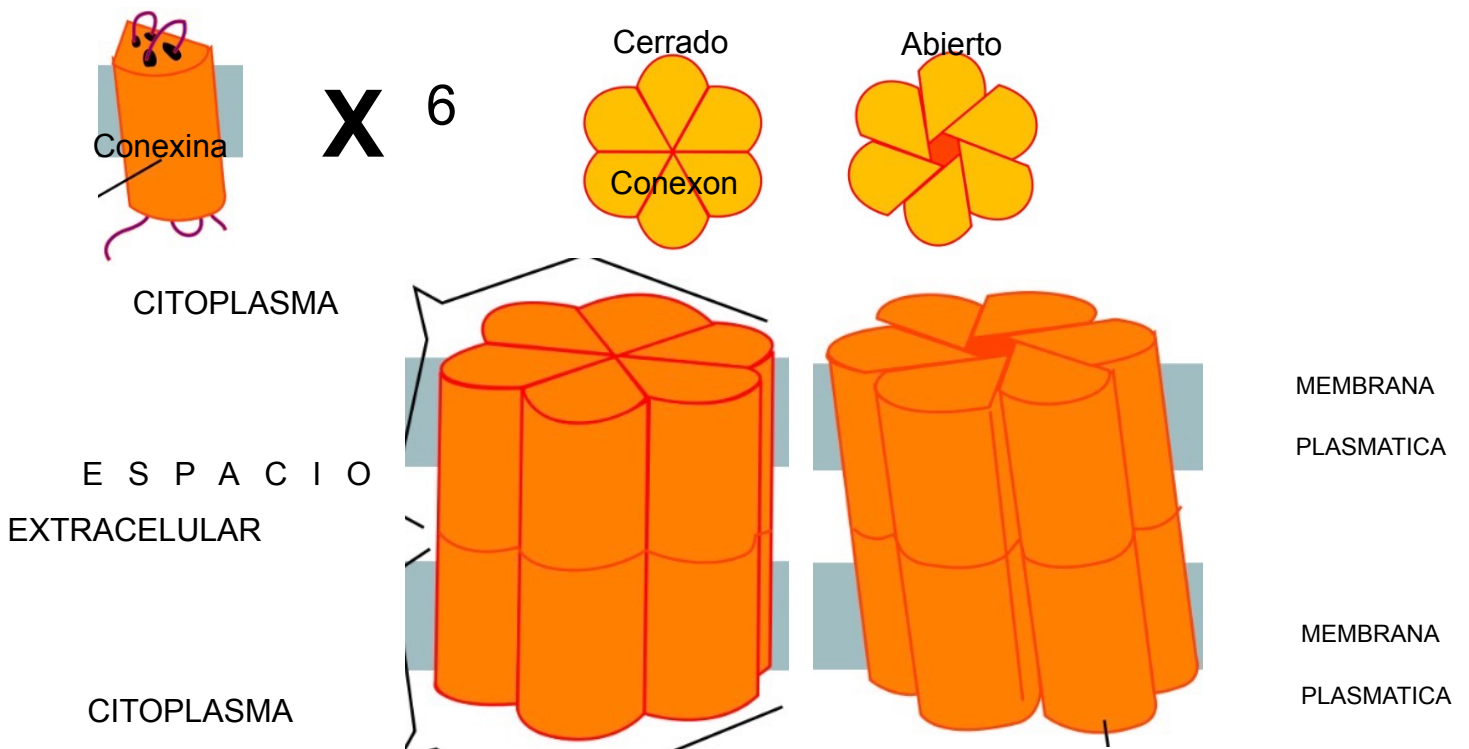
Las conexinas, también llamadas proteínas de enlace de hendidura, se unen para formar enlaces hendidura en los vertebrados

Cada canal de hendidura (108, 116) se compone de 2 hemicanales, o conexonas, compuestos cada uno de ellos por 6 moléculas conexina. Los enlaces de hendidura son esenciales para muchos procesos fisiológicos, como por ejemplo, la despolarización coordinada del músculo cardíaco y el correcto desarrollo embrionario. Por esta razón, las mutaciones en los genes encargados de la codificación de la conexina, pueden llevar a anomalías en la función y el desarrollo del organismo. Las conexinas se unen entre sí en grupos de 6 para formar hemicanales (conexones) y dos hemicanales pueden combinarse para formar un canal de hendidura.



La unión de 6 conexonas forma un conexón, y los conexones de dos células contiguas forman el canal de hendidura.

Tomado de: Suárez JE, Bravo AI. Conexinas y sistema cardiovascular. Revista argentina de cardiología. 2006;74(3):149-56.

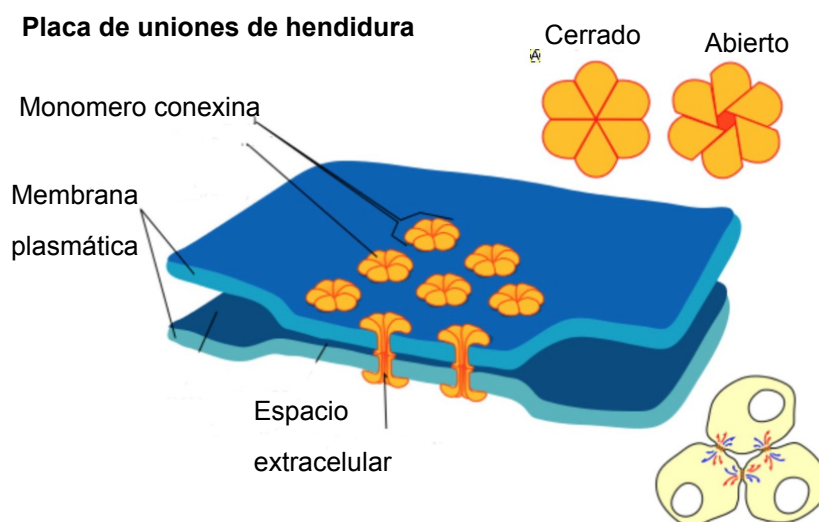


### 1.5.2-. FUNCIÓN DE LOS CANALES DE HENDIDURA

Los llamados canales de hendidura, son conexiones entre las células, a través de ellas, las células pueden interactuar por medio de la transmisión de moléculas utilizando canales en la superficie de la membrana celular. Los conexones atraviesan la membrana celular de un extremo al otro. El conexón individual de una célula se asocia con el correspondiente conexón de su célula vecina, para formar un canal de unión tipo hendidura. Los mismos se asocian entre sí, formando placas de unión tipo hendidura.

Tal y como se ve en la figura de la página anterior , los canales de conexiones pueden adoptar diferentes configuraciones, bien un canal de hendidura formado por el anclaje de dos hemicanales, o como hemicanal operando en la membrana plasmática.

El movimiento molecular (114, 117-120) a través de los canales ocurre por dilución pasiva. A través de las uniones tipo hendidura pueden pasar iones inorgánicos como Sodio (Na), Potasio (K), Calcio (Ca), metabolitos (como el ATP, el cAMP, el IP3 y el glutamato), y en general moléculas de hasta 1kDa. Participando en la homeostasis iónica y actuar como vías secretoras y de señalización autocrina y paracrina.

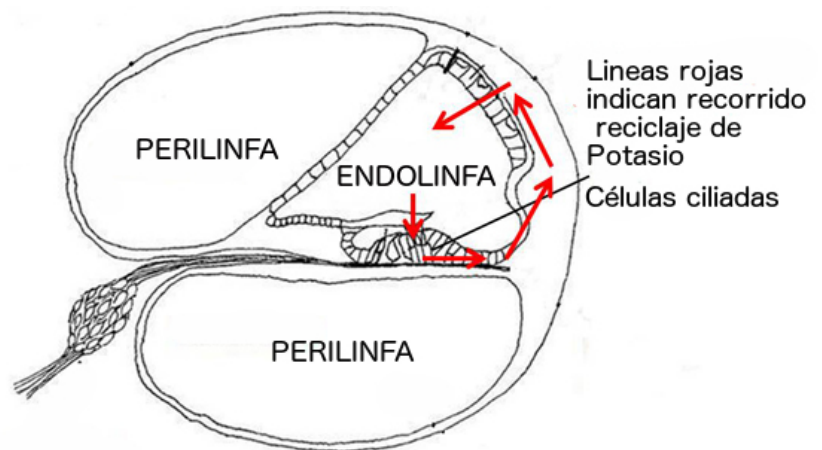


En cuanto a la función de las conexinas en el oído, está implicado con el intercambio de potasio. Las conexinas están ampliamente representados en el oído en el epitelio coclear (111, 121), pero también en el epitelio no neuronal de la cóclea, como la membrana basal, ligamento espiral o estria vascular (118, 122-126).

El Potasio sale de las células ciliadas, pasa a las células de soporte del órgano de Corti, sigue a la estria vascularis y regresa a la endolinfa.

El epitelio de la cóclea que recubre al espacio endolinfático está constituido por células ciliadas sensitivas, las células de soporte del órgano de Corti, la membrana de Reissner y

las células de la estria vascular. Estas últimas son las que producen la endolinfa, que es rica en potasio y pobre en calcio, generando el potencial endococlear.



El papel de las conexinas es importante para que el potasio se mantenga en los niveles adecuados dentro y fuera de las células del oído. Si la red de uniones hendidas es interrumpida, se rompe el reciclaje del potasio. La escala timpánica puede ser capaz de mantener los niveles de potasio disminuidos por medio de difusión, pero el potasio de las células ciliadas no es removido, se aumenta el nivel de potasio en el espacio extracelular y resultaría en una intoxicación del órgano de Corti, llevando a la pérdida de audición. (120, 127, 128)



### 1.5.3-. MUTACIONES EN LAS CONEXINAS

Las mutaciones en las cuatro conexinas que se expresan en el oído interno, la Cx26, Cx30, Cx30.3 y Cx31, pueden causar sordera neurosensorial, de forma aislada o asociada a alteraciones en la piel (ver mas adelante). A este respecto hay que destacar que las mutaciones recesivas en el gen de la Cx26 son la principal causa de sordera congénita en la población(129).

La gran mayoría de estas mutaciones, que causan una pérdida profunda de audición prelocutiva, no son capaces de formar canales o/y hemicanales funcionales. En el ratón deficiente en la Cx26 se observa una degeneración completa del órgano de Corti al verse interrumpida la vía de comunicación intercelular que participa en el reciclaje de los iones de potasio a la endolinfa. También se han descrito mutaciones de la Cx26 dominantes, aunque son menos frecuentes, que producen sordera, en general de aparición más tardía, o que causan sordera de tipo sindrómico con alteraciones de la piel y de los epitelios. En estos casos parece existir una buena correlación entre el efecto de inhibición dominante que causa la mutación sobre la Cx26 no mutada o de transdominancia sobre otras isoformas de conexina, interfiriendo con el tráfico a membrana o bien combinándose entre sí para formar canales no funcionales. Las mutaciones en las otras conexinas cocleares son mas raras.

Se han llegado a describir sorderas recesivas digénicas por una mutación en la Cx26 en un alelo y otra mutación en la Cx31 o la Cx30 en el otro, sugiriendo una interacción funcional entre ellas en la cóclea.

La distribución y conservación de las conexinas en las células de diversos organismos, indica su importancia fundamental para la función celular.

Las aberraciones en la expresión del conexón, se ha visto implicadas en diversos tipos de cáncer, isquemia e hipertrofia cardiaca. Su implicación en trastornos genéticos como la sordera esta ampliamente avalada por la literatura.

### 1.5.3.1- Mutaciones en la conexina 26

El GJB2 es el gen que codifica la producción de la proteína Conexina 26. Si se encuentra el gen mutado (algún cambio en la secuencia), lleva a la producción de una conexina 26 con alteraciones en la estructura lo que ocasiona un deficiente reciclaje del potasio, intoxicación del órgano de Corti en el oído interno y la consecuente pérdida de la audición.

El gen se encuentra localizado en el brazo corto del Cromosoma 13 (13q11-q12). Algunas mutaciones de este gen GJB2 han sido asociadas con sordera no sindrómica Autosómica Dominante (DFNA1) y unos pocos casos con queratodermia palmoplantar (endurecimiento de piel en manos en palmas de las manos y plantas de los pies). Sin embargo la mayoría de las mutaciones de este gen están relacionadas con sordera no sindrómica autosómica recesiva (DFNB1); de hecho se estima que un porcentaje del 50-60 % de las sorderas recesivas, son producidas por mutaciones en este gen.

Diferentes mutaciones recesivas en el gen GJB2 han sido identificadas en muchas poblaciones, pero la denominada del35delG es la más común. La terminología hace referencia a la pérdida de una base guanina en la posición 35.

La interacción de las mutaciones del gen, es aún más interesante, cuando presenta ambos alelos afectados (homocigoto) desarrollan sordera prelocutiva normalmente profunda, pero se ha visto que cuando es heterocigoto compuesto (dos copias del gen alterada combinación uno 35delG y otro 167delT) también se produce sordera.

La GJB2 es indispensable en el desarrollo postnatal del órgano de Corti y en el desarrollo auditivo normal, tal y como muestran los experimentos realizados por Inoshita(130).

### **1.5.3.2-. Mutaciones en la Conexina 30**

Forma parte del tejido de la cóclea, en el oído interno, aunque además puede verse en otros tejidos como la piel. Es producida por el gen GJB6, localizado en el brazo largo del cromosoma 13 (13q12), cuya ubicación es muy cercana a la del gen GJB2. Se ha asociado a sorderas no síndrómicas autosómicas dominantes, también se ha visto asociado a otras mutaciones en la conexina 26 produciendo sorderas no síndrómicas autosómicas recesivas, debido a la proximidad de ambos genes. Siendo la segunda causa de sordera no sincrónica autosómica recesiva.

### **1.5.3.3-. Mutaciones en la Conexina 31**

Se ha encontrado asociado con la producción de sorderas no síndrómicas autosómicas, tanto dominantes como recesivas. La produce el gen GJB3 que se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 1 (1p33-p35). Se ha detectado principalmente en población de origen asiático.

### **1.5.3.4-. Mutaciones en la Conexina 43**

Se ha encontrado asociado con producción de sordera no síndrómica autosómica recesiva, principalmente en población de origen afro-americano.

Es producida por el gen GJA1, y es la conexina más recientemente descubierta, el gen se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 6 (6q21-23.3).

Existe una base de datos actualizada regularmente en la que se pueden consultar las mutaciones encontradas en las conexinas. Esta base de datos se encuentra alojada en una dirección web <http://davinci.crg.es/deafness/index.php>, cuyos editores son Xavier Estivill and Paolo Gasparini.

Recogemos la última actualización que data del día 22 de agosto de 2015, nos centraremos en recoger las mutaciones halladas en el gen de la conexina 26 que es el objeto de esta tesis doctoral.

## CONEXINA 26 MUTACIONES

Dominant mutations				
Mutation Name	Description	Effect	Protein domain	Reference
delE42	del of AGG at 125	Del of Glu at 142	EC1	<b>Rouan et al 2001 other</b>
W44S	G to C at 131	Trp at 44 into Ser	EC1	Gasparini, PC
W44C	G to C at 132	Trp at 44 into Cys	EC1	<b>Denoyelle et al 1998 other</b>
R75Q	G to A at 224	Arg at 75 into Gln	EC1	Rabionet et al.
R143Q	G to A at 428	Arg into Gln at 143	TM3	<b>Loffler et al, 2001 other</b>
M163L	A to C at 487	Met at 163 into Leu	EC2	<b>Fialho et al 2003 other</b>
D179N	G to A at 535	Asp at 179 into Asn	EC2	Primignani et al, 2002 (PC)
R184Q	G to A at 551	Arg at 184 into Gln	EC2	<b>Hamelmann et al 2001 other</b>
C202F	G to T at 605	Cys at 202 into Phe	TM4	<b>Morle et al 2000 other</b>
Recessive mutations				
Mutation Name	Description	Effect	Protein domain	Reference
IVS1+1 G to A	G to A at -3172	Splice site	none	<b>Green et al 1999 other</b>
-3170G to A	G to A at -3170	Splice site	none	<b>Denoyelle et al 1999 other</b>
M1V (p.0)	A to G at 1	No protein production	IC1	<b>Estivill et al 1998 other</b>
T8M	C to T at 23	Tre at 8 into Met	IC1	<b>Kenna et al 2001 other</b>
31del38	del of 38 nt at 31	Frameshift	IC1	<b>Denoyelle et al 1997 other</b>
31del14	del of 14 nt at 31	Frameshift	IC1	<b>Murgia et al 1999 other</b>
G12V	G to T at 35	Gly at 12 into Val	IC1	<b>Rabionet et al 2000a other</b>
30delG	del of G at 30-35	Frameshift	IC1	<b>Denoyelle et al 1997 other</b>
35insG	ins of G at 30-35	Frameshift	IC1	<b>Estivill et al 1998 other</b>
35delG	del of G at 30-35	Frameshift	IC1	<b>Iliades et al. 2002 other</b>
35delIG	del of G at 30-35	Frameshift	IC1	<b>Zelante et al 1997 other</b>
K15T	A to C at 44	Lys at 15 into Thr	IC1	Bradshaw et al, 2002 (PC)
51del12insA	del of 12 nt and ins of A at 51	Frameshift	IC1	<b>Sobe et al 2000 other</b>
S19T	G to C at 56	Ser at 19 into Thr	IC1	<b>Rabionet et al 2000a other</b>
I20T	T to C at 59	Ile into Thr at 20	IC1	<b>Loffler et al, 2001 other</b>
W24X	G to A at 71	Trp at 24 into Stop	TM1	<b>Kelsell et al 1997 other</b>
V27I+E114G	G to A at 79 + A to G at 341	Val at 27 into Ile and Glu at 114 into Gly	TM1+IC2	Pandya et al 2001
R32C	C to T at 94	Arg at 32 into Cys	IC1	<b>Prasad et al 2000 other</b>
R32L	G to T at 95	Arg at 32 into Leu	IC1	Yamuna et al. 2003 (PC)
R32H	G to A at 95	Arg at 32 into His	IC1	<b>Mustapha et al 2001 other</b>
V37I	G to A at 109	Val at 37 into Ile	TM1	<b>Kelley et al 1998 other</b>
A40E	C to A at 119	Ala at 40 into Glu	EC1	L Perroni, PC
A40G	C to G at 119	Ala at 40 into Gly	EC1	Sironi F et al. (PC)
W44X	G to A at 132	Trp at 44 into Stop	EC1	<b>Green et al 1999 other</b>
G45E	G to A at 134	Gly at 45 into Glu	EC1	<b>Abe et al 2000 other</b>
E47X	G to T at 139	Glu at 47 into Stop	EC1	<b>Denoyelle et al 1997 other</b>
E47K	G to A at 139	Glu at 47 into Lys	EC1	<b>Prasad et al 2000 other</b>
167delT	del of T at 167	Frameshift	EC1	<b>Zelante et al 1997 other</b>
Q57X	C to T at 169	Gln at 57 into Stop	EC1	<b>Wilcox et al 1999 other</b>
176-191del16	del of 16 nt at 176	Frameshift	EC1	<b>Kudo et al 2000 other</b>
C64X	C to A at 192	Cys at 64 into Stop	EC1	AF Roux, PC
Y65X	C to A at 195	Tyr at 65 into Stop	EC1	Meyer CG et al., 2003 (PC)
Y65X	C to G at 195	Tyr at 65 into Stop	EC1	<b>Estivill et al 1998 other</b>
W77R	T to C at 229	Trp at 77 into Arg	TM2	<b>Carrasquillo et al 1997 other</b>
W77X	G to A at 231	Trp at 77 into Stop	TM2	<b>Kelsell et al 1997 other</b>
235delC	Del of C at 233-235	Frameshift	TM2	<b>Fuse et al 1999 other</b>
L79P	T to C at 236	Leu at 79 into Pro	TM2	<b>Hamelmann et al 2001 other</b>
Q80X	C to T at 238	Gln at 80 into Stop	TM2	Hutchin, PC
Q80P	A to C at 239	Gln at 80 into Pro	TM2	Hilbert, PC
Q80R	A to G at 239	Gln at 80 into Arg	TM2	<b>Uyguner et al 2003 other</b>
I82M	C to G at 246	Ile at 82 into Met	TM2	<b>Kupka et al 2002 other</b>
V84L	G to C at 250	Val at 84 into Leu	TM2	<b>Kelley et al 1998 other</b>
S85P	T to C at 253	Ser at 85 into Pro	TM2	<b>Park et al 2000 other</b>
A88S	G to T at 262	Ala at 88 into Ser	TM2	<b>Frei et al. 2002 other</b>

L90V	C to G at 268	Leu at 90 into Val	TM2	Lynne HY Lim et al (PC)
L90P	T to C at 269	Leu at 90 into Pro	TM2	<b>Murgia et al 1999 other</b>
269insT	ins of T at 269	Frameshift	TM2	<b>Denoyelle et al 1999 other</b>
M93I	G to A at 279	Met at 93 into Ile	TM2	Hutchin, PC
V95M	G to A at 283	Val at 95 into Met	IC2	<b>Kelley et al 1998 other</b>
Y97X	not described	Tyr at 97 into Stop	IC2	L Perroni, PC
290-291insA	frameshift	frameshift	IC2	<b>Mustapha et al 2001 other</b>
H100Y	C to T at 298	His at 100 into Tyr	IC2	<b>Green et al 1999 other</b>
H100L	A to T at 299	His at 100 into Leu	IC2	Primignani P. et al (PC)
299-300delAT	del of AT at 299	Frameshift	IC2	<b>Abe et al 2000 other</b>
302del3	del of AGA at 302	del of Lys at 102	IC2	<b>Mueller et al 1999 other</b>
E101G	A to G at 302	Glu at 101 into Gly	IC2	<b>Jun et al 2000 other</b>
310del14	del of 14 nt at 314	Frameshift	IC2	<b>Denoyelle et al 1997 other</b>
312del14	del of 14 nt at 312	Frameshift	IC2	<b>Denoyelle et al 1999 other</b>
314del14	del of 14 nt at 310	Frameshift	IC2	<b>Kelley et al 1998 other</b>
333-334delAA	del of AA at 333-335	Frameshift	IC2	<b>Kelley et al 1998 other</b>
S113R	T to G at 339	Ser at 113 into Arg	IC2	<b>Kelley et al 1998 other</b>
delE120	del of GAG at 360	del of Glu at 119-120	IC2	<b>Denoyelle et al 1999 other</b>
K122I	A to T at 365	Lys at 122 into Ile	IC2	<b>Green et al 1999 other</b>
Q124X	C to T at 370	Gln at 124 into Stop	IC2	<b>Scott et al 1998b other</b>
R127H	G to A at 380	Arg at 127 into His	IC2	Seeman et al. 2002, PC
W133X	G to A at 398	Trp at 133 into Stop	IC2	Primignani P et al (PC)
Y136X	C to A at 408	Tyr at 136 into Stop	IC2	<b>Fuse et al 1999 other</b>
S139N	G to A at 416	Ser at 139 into Gln	IC2	<b>Marlin et al 2001 other</b>
R143W	C to T at 427	Arg at 143 into Trp	TM3	<b>Brobby et al 1998 other</b>
E147K	G to A at 439	Glu at 147 into Lys	TM3	Murgia, PC
E147X	G to T at 439	Glu at 147 into Stop	TM3	Vijaya et al., 2003 (PC)
469delG	del of G at 469	frameshift	EC2	<b>Mueller et al 1999 other</b>
486insT	ins of T at 486	Frameshift	EC2	Antoniadi, Brondum-nielsen, petersen
R165W	C to T at 493	Arg at 165 into Trp	EC2	<b>Rickard et al 2001 other</b>
504insAAGG	ins of AAGG at 504	Frameshift	EC2	<b>Lin et al 2001 other</b>
509insA	ins of A at 509	Frameshift	EC2	<b>Denoyelle et al 1999 other</b>
509del14	del of 14 nt at 509	Frameshift	EC2	Antoniadi, Brondum-Nielsen, Petersen
515del17	del of 17 nt at 515	Frameshift	EC2	L Perroni, PC
W172X	G to A at 516	Trp at 172 into stop	EC2	Sartorato, EL et al.,
C174R	T to C at 520	Cys at 174 into Arg	EC2	Primignani P et al (PC)
P175T	C to T at 523	Pro at 175 into Thr	EC2	<b>Denoyelle et al 1999 other</b>
V178A	T to C at 533	Val at 178 into Ala	EC2	<b>Hamelmann et al 2001 other</b>
R184W	C to G at 550	Arg at 184 into Trp	EC2	<b>Wilcox et al 2000 other</b>
R184P	G to C at 551	Arg at 184 into Pro	EC2	<b>Denoyelle et al 1997 other</b>
572delT	del of T at 572	frameshift	EC2	<b>Murgia et al 1999 other</b>
S199F	C to T at 596	Ser at 199 into Phe	TM4	<b>Green et al 1999 other</b>
605ins46	ins of 46 nucleotides at 605	Stop at aa 202	TM4	<b>Yuge et al. 2002 other</b>
I203K	TC to AA at 608	Ile at 203 into Lys	TM4	<b>Hamelmann et al 2001 other</b>
N206S	A to G at 617	Gln at 206 into Ser	IC3	<b>Kenna et al 2001 other</b>
631delGT	del of GT at 631-632	Frameshift	IC3	<b>Kelley et al 1998 other</b>
L214P	T to C at 641	Leu at 214 into Pro	IC3	<b>Hamelmann et al 2001 other</b>
645-648delTAGA	del of TAGA at 645	frameshift	IC3	<b>Prasad et al 2000 other</b>
<b>Unknown mutations</b>				
Mutation Name	Description	Effect	Protein domain	Reference
IVS1-12C>T	C to T at -12 from exon 2	unknown	none	Roux AF, PC
N54I	A to T at 161	Asn at 54 into Ile	EC1	Feng et al. 2002
V84A	T to C at 251	Val at 84 into Ala	TM2	<b>Park et al 2000 other</b>
T123N	C to A at 368	Thr at 123 into Asn	IC2	<b>Park et al 2000 other</b>
E129K	G to A at 385	Glu at 129 into Lys	IC2	<b>Kenna et al 2001 other</b>
Y155X	T to A at 465	tyr at 155 into stop	TM3	<b>Loffler et al, 2001 other</b>
M163V	G to A at 487	Met at 163 into Val	EC2	<b>Marlin et al 2001 other</b>
A171T	G to A at 511	Arg at 171 into Tre	EC2	<b>Lin et al 2001 other</b>
F191L	T to C at 571	Phe at 191 into Leu	TM4	Feng et al. 2002
A197S	G to T at 589	Ala at 197 into Ser	TM4	<b>Hamelmann et al 2001 other</b>

Desde el punto de vista de la audición podemos ver como se preven comportar las diferentes mutaciones de la conexina 26(131).

**TABLA 2. MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y GENES CONOCIDOS QUE PRODUCEN HIPOACUSIA NO SINDRÓMICA DE HERENCIA AUTOSÓMICA RECESIVA.**

Locus	Gen	Localización	Edad de aparición	Audiograma
DFNB1	GJB2	13q11-q12	Prelingual	Generalmente estable
	GJB6	13q12		
DFNB2	MYO7A	11q13.5	Prelingual, postlingual	
DFNB3	MYO15	17p11.2	Prelingual	Severa a profunda; estable
DFNB4	SLC26A4	7q31	Prelingual, postlingual	Estable, progresiva
DFNB6	TMIE	3p21	Prelingual	Severa a profunda; estable
DFNB7/11	TMC1	9q13-q21		
DFNB8	TMPRSS3	21q22.3	Postlingual	Estable, progresiva
DFNB10			Prelingual	
DFNB9	OTOF	2p22-p23	Prelingual	Generalmente severa a profunda; estable
DFNB12	CDH23	10q21-q22	Prelingual	Severa a profunda; estable
DFNB16	STRC	15q15		
DFNB18	USH1C	11p15.1		
DFNB21	TECTA	11q22-q24		
DFNB22	OTOA	16p12.2		
DFNB23	PCDH15	10p11.2-q21		
DFNB24	RDX	11q23		
DFNB28	TRIOBP	22q13		
DFNB29	CLDN14	21q22.3		
DFNB30	MYO3A	10p11.1		
DFNB31	WHRN	9q32-q34		—
DFNB35	ESRRB	14q24.1-24.3		Moderada a profunda; estable
DFNB36	ESPN	1p36.31		
DFNB37	MYO6	6q13		Severa a profunda; estable
DFNB49	MARVELD2	5q12.3-q14.1		
DFNB53	COL11A2	6p21.3		
DFNB59	PJKK	2q31.1-q31.3		
DFNB66/67	LHFPL5	6p21.2-22.3		

Tomado de : Dalamón V, Elgoyhen AB. Hipoacusias de origen genético: Actualización. Rev Méd Clín Condes. 2009;20(4):408-17.

**JUSTIFICACIÓN**

**HIPOTESIS DE TRABAJO**

**OBJETIVOS**





## II-. JUSTIFICACIÓN//HIPÓTESIS DE TRABAJO// OBJETIVOS

### 2.1-. JUSTIFICACIÓN

Conocer los patrones de herencia más frecuentemente presentes en nuestra comunidad.

Uno de los objetivos del estudio genético, es poder establecer el origen de ciertos padecimientos. El hecho de tratarse de una enfermedad que pueden tener varios miembros de una familia, y que por tanto puede heredarse hace aún más interesante este tipo de pruebas.

Con el avance la genética, y de la biología molecular, podemos no solo suponer un origen genético, sino que además podemos saber que herencia tiene, que gen es el implicado, que defecto en la cadena de ADN es el responsable del fallo y que proteína defectuosa es la que en última instancia produce la enfermedad o defecto.

En medicina el poder facilitar al paciente, y en este caso mucho más importante a los padres, no sólo un diagnóstico precoz de la enfermedad sino también un porque, una noxa es muy interesante.

Por tanto uno de los objetivos del estudio, y por ende uno de los objetivos de la propia unidad de hipoacusia, es a parte de diagnóstico precoz, poder conocer porque se produce cierto problema.

En el mundo que vivimos y con los adelantos en Medicina en la sociedades del primer mundo. Ya no sólo es importante el diagnóstico sino también predecir e incluso prevenir ciertas enfermedades genéticas.

La prevalencia de una enfermedad cambia en función de las regiones, así se sabe que la conexina 26 afecta más frecuentemente a las poblaciones mediterráneas que a otras culturas. El poder conocer la prevalencia de la afectación en la alteración de la conexina 26 en nuestras islas es importante. Nos permite saber que tipo de herencia es más común, y también nos permitirá efectuar el consejo genético.

La herencia relacionada con la conexina 26 es autosómica recesiva, y como bien dijimos en la introducción es la causa de la mayoría de hipoacusia en nuestro medio. Conocer los datos de afectación de dicha conexina en nuestras islas, y ver las posibles implicaciones geográficas en dicha herencia es importante.

Tradicionalmente se ha relacionado a las poblaciones que viven en islas con índices más altos de consanguinidad. Por tanto, en teoría pueden implicar un aumento de cierta enfermedad o defecto genético. En el caso de la conexina está bastante presente en los países mediterráneos, pero en el caso en concreto de Canarias, debido al origen mayoritariamente caucásico europeo, se intuye que los resultados serán muy parecidos al resto del estado español. Pero también es interesante, el intercambio de culturas, la relación con África o el ser un punto que durante años estuvo entre el viejo y el nuevo mundo, como puede afectar en la herencia de las personas con hipoacusia.

En pacientes con alta sospecha que van a heredar una enfermedad genética, podemos realizar pruebas genéticas antes de que se manifieste la enfermedad. En un futuro podremos también manipular o “arreglar” el defecto genético para conseguir que no se produzca la enfermedad o defecto previsto. Si bien lo que es manipulación genética con el uso de adenovirus, está en las primeras fases, si está claro que será una importante arma para los médicos en un futuro.

Obviamente el conocer la herencia, nos va a permitir saber con qué probabilidad una persona puede heredar cierta enfermedad o defecto. Esto es importante que lo sepan las personas afectas, viendo qué probabilidades de padecer cierta enfermedad tienen. Pero también es importante en el caso de los portadores, que en el caso de enfermedades

autosómicas recesivas, implicaría que si ambos portan la alteración, nos indicaría las posibilidades de tener otro individuo afecto.

En el caso de la conexina 26, sabemos que es el defecto en el gen que produce esta proteína es el causante de una proteína anómala. Pero también sabemos que un individuo puede estar afecto por mutaciones que afectan a diferentes partes del gen, pero que en definitiva ambas traen como consecuencia una síntesis de una proteína anómala (mutación digénica).

Tenemos claro la importancia del diagnóstico genético, su clara importancia en el consejo genético e incluso las posibilidades en un futuro de poder reparar dicho defecto genético para evitar la causa. Pero también es importante conocer como se expondrá en el material y métodos las diferentes técnicas con las que podemos llegar a ese diagnóstico. Y podremos analizar la relación eficacia/coste de cada una de ellas.

## **2.2-. HIPÓTESIS**

- 1- La hipoacusia genética no sindrómica debida a la alteración de la conexina 26 es frecuente en nuestro medio.
- 2- Diagnóstico genético molecular de la hipoacusia, es herramienta útil para el consejo genético.
- 3- Si conocemos la alteración que produce el defecto de la conexina, podemos actuar para evitar su síntesis errónea.
- 4- El diagnóstico molecular de las alteraciones genéticas es un procedimiento costo/ efectivo.

## **2.3-. OBJETIVOS**

### 1- Descubrir la causa

Determinar origen genético e intentar filiarlo.

### 2- Conocer la herencia

Como se transmite el defecto genético.

### 3- Conocer los portadores

Posibilidad de consejo genético.

### 4- Análisis de los diferentes métodos de diagnóstico genético.

Relación coste / beneficio de los métodos.



## III-. MATERIAL Y MÉTODOS



## III-. MATERIAL Y MÉTODOS

### **CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA**

#### **POBLACIÓN A ESTUDIO**

#### **HISTORIA CLÍNICA**

#### **ANÁLISIS GENÉTICO - EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA**

### **3.1-. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA**

En el estudio se incluyen 154 individuos pertenecientes a 36 familias, en el que al menos hay un individuo con hipoacusia neurosensorial bilateral profunda. Los pacientes afectados de hipoacusia fueron historiados y estadiados en la Unidad de Hipoacusia del Hospital Universitario Materno Insular de Las Palmas de Gran Canaria. A todos ellos se les ha aplicado el protocolo habitual de estudio de hipoacusia de la unidad.

Los pacientes seleccionados, son aquellos que presentan una hipoacusia neurosensorial bilateral no sindrómica, descartándose aquellos pacientes asociados a un síndrome o aquellos con una sordera unilateral. Se ha incluido a los progenitores de los niños en busca de la alteración genética recesiva en los mismos. Así mismo, se ha incluido en el estudio a parientes con hipoacusia de las familias seleccionadas. El objetivo del estudio no es ni determinar la prevalencia, ni la incidencia, no se incluye grupo control alguno.

Todos los pacientes han sido informados de la inclusión en la tesis, además de firmar los correspondientes consentimientos informados para el análisis genético. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético del Complejo Hospitalario Materno-Insular con fecha de Febrero de 2015.

Se garantiza la protección de los datos de carácter personal, la autonomía y derecho a la información e intimidad del paciente, según la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de Diciembre y la Ley 41/2002 de 14 de Noviembre. Cada paciente tiene un código para la introducción en la base de datos y se utiliza el número de la historia clínica para la identificación del paciente de las citas hospitalarias.

Los datos identificativos son tratados confidencialmente, con la práctica habitual del centro hospitalario, por el servicio de admisión y por el investigador principal para la entrevista.

Los participantes firman un consentimiento informado que incluye la siguiente información: Título y finalidad del estudio, nombre del investigador principal, beneficios/riesgos del estudio, derecho a estar informado de cualquier dato de interés y de revocar la participación en el estudio en cualquier momento, fecha y firma del participante y del investigador principal (ANEXO 1).

### **3.2 POBLACIÓN A ESTUDIO**

Se ha realizado el estudio de forma retrospectiva, haciendo un análisis de los resultados genéticos realizados a los pacientes con sordera bilateral prelocutiva profunda no sindrómica, de la Unidad de Hipoacusia del hospital Materno Infantil. El período de estudio recoge los datos de 2007 a 2011.

<b>Criterios de inclusión en el estudio</b>
- Hipoacusia neurosensorial prelocutiva no sindrómica.
- Familiares con hipoacusia de los pacientes seleccionados.

<b>Criterios de exclusión en el estudio</b>
- Hipoacusias sindrómicas o con debida a una causa conocida.
- Hipoacusias unilaterales.



La estructura sanitaria del servicio Canario de Salud, con respecto a los pacientes que presentan hipoacusias profundas prelocutivas, es la siguiente, los pacientes una vez diagnosticados de la hipoacusia neurosensorial profunda y se considera que puedan ser candidatos a implante coclear, son derivados a la Unidad de Hipoacusia del Hospital Universitario Insular.

### **3.3-. HISTORIA CLINICA**

Una vez el paciente llega a nuestro hospital, se procede a realizar el protocolo de estudio de hipoacusia neurosensorial profunda.

Protocolo de Estudio genético de la Unidad de Hipoacusia:

<b>Historia clínica</b>	Componentes de la historia familiar para determinar la etiología de la hipoacusia congénita.
	<p>Etnia</p> <p>Consanguinidad</p> <p>Antecedentes familiares de pérdida auditiva</p> <p>Antecedentes familiares por sistemas (de tres a cuatro las generaciones)</p>

Antecedentes familiares de pérdida auditiva: En caso afirmativo, determinar el tipo, la gravedad, la edad de inicio, estabilidad frente a la progresión, la presencia o ausencia de síntomas vestibulares, otros hallazgos asociados, disponibilidad de registros.

Antecedentes familiares por sistemas (de tres a cuatro las generaciones):

- Tegumentario: copete blanco (puede repigmentar con el tiempo); otro color de pelo inusual, la textura o patrón (por ejemplo, escaso, inusualmente rizado); canas prematuras; adquirida o manchas congénitas, blanco o marrón (máculas) o léntigos; cejas, pestañas anormales o las uñas; la piel seca / queratodermia

- HEENT: forma anormal oído, tamaño, canales auditivos, apéndice preauricular; malformación ocular, heterocromía del iris, glaucoma congénito, catarata, miopía moderada-severa, desprendimiento de retina, atrofia óptica, o la retinitis pigmentosa; labio y / o paladar hendido; micrognatia, otra malformación o anomalía craneofacial u ocular.

- Cuello: seno, remanente cartilago, quiste, masa, bocio.

- Cardiovascular: malformación congénita; latido irregular del corazón; arritmia; desmayos; historia de síndrome de muerte súbita del lactante en un familiar cercano.

- Gastrointestinal: enfermedad de Hirschsprung; estreñimiento crónico severo que comienza en la primera infancia.

- Esquelético: inusualmente alta o baja estatura, hábito "marfanoide", escoliosis, laxitud articular, anomalía de cualquier miembro.

- Neurológico: niño o feto con defectos del tubo neural; cualquier pérdida progresiva de la visión, ptosis, nistagmus; convulsiones, especialmente asociadas a la muerte súbita; debilidad muscular, miopatía, distrofia muscular, miotonía; ataxia crónica o progresiva; otro trastorno neurológico progresivo o debilitante.

- Endocrinas: diabetes mellitus, diabetes insípida, bocio, otra enfermedad del tiroides, hipogonadismo e infertilidad.



Historia prenatal	
	<p>Fiebre materna</p> <p>Erupción materna</p> <p>Exposición materna conocida.</p> <p>Estado TORCH materno.</p> <p>Cultivos virales o estudios de reacción en cadena de la polimerasa en el nacimiento</p> <p>Otra evidencia de infección prenatal</p> <p>Exposición prenatal a drogas potencialmente ototóxicas incluido el alcohol y la cocaína.</p> <p>Hidropesía fetal</p>

Historia posnatal	
	Restricción del crecimiento intrauterino
	Bajo peso al nacer (<1.500 gramos)
	Baja puntuación de Apgar (s)
	Apgar al minuto uno: 0-4
	Apgar al minuto cinco: 0-6
	Admisión UCI neonatal
	Meningitis neonatal
	Hiperventilación mecánica (con alcalosis)
	Hipotonía persistente (al menos > 2
	horas)
	Convulsiones neonatales.
	La hiperbilirrubinemia que requiere
	transfusiones (o cumplir con los criterios para el
	intercambio).
	La hipertensión pulmonar persistente /
	circulación fetal; ECMO.
	Tratamiento con antibióticos
	aminoglucósidos.
	Fallar el cribado neonatal para hipotiroidismo.



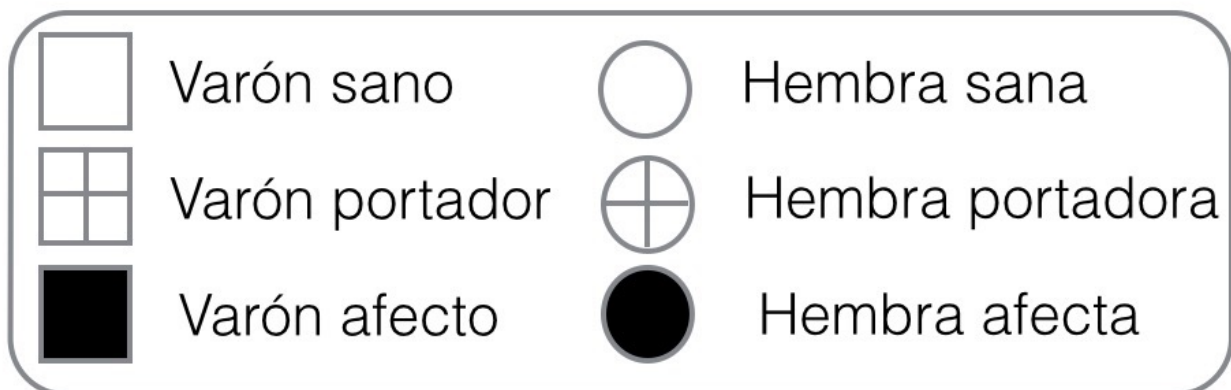
Exploración clínica	
	Otoscopia Exploración de dismorfismos Evaluación neurológica
Pruebas complementarias	
	Títulos de TORCH (IgM contra la rubéola y el CMV)  Electrocardiograma  Tomografía computarizada o resonancia magnética del hueso temporal  Pruebas de CMV por cultivo o ADN en el período neonata  Análisis de genético  Consulta oftalmológica  Audiometría infantil / condicionada.  Timpanometría  Otoemisiones acústicas  Potenciales evocados / Potenciales evocados de estado estable

En el estudio se recogió el árbol genealógico, de al menos 3 generaciones de cada uno de los pacientes incluidos en el estudio. En busca de antecedentes que nos hagan sospechar origen genético de la hipoacusia. A la hora de realizar los test genéticos, sólo fueron analizados los individuos pertenecientes al mismo nivel generacional y al inmediatamente superior. También se hizo análisis genéticos de aquellos familiares del afecto que presentaban hipoacusia.

### ¿Cómo hicimos el árbol genealógico?

En el estudio, incluimos a la primera y segunda generación, también se incluyó aquellos familiares de primer grado, que presentarán HNS no sindrómica ni atribuible a otras causas.

Para la construcción de los árboles genéticos usamos los siguientes gráficos.



### **3.4-. ANÁLISIS GENÉTICO - EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA**

Una vez hemos realizado árbol genealógico, procedemos a la extracción del material genético para su análisis.

<b>Extracción sangre</b>	
<p>- Consentimiento informado previa a la extracción se entrego el consentimiento informado para que el padre o tutor legal autorice la extracción de sangre.</p>	<p>- 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 .</p>

Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre, “Protección de Datos de Carácter Personal”(132).

#### **Metodología de la extracción:**

De los pacientes derivados de la Unidad de hipoacusia, y de los familiares seleccionados se tomó una muestra de 10 ml de sangre periférica anticoagulada con EDTA tripotásico, que se envía al laboratorio de Genética Médica del Hospital Materno Infantil en Las Palmas de Gran Canaria. A partir de esa sangre se procederá a la extracción y análisis del material genético tal y como se detalla a continuación.

Es importante recordar que en la zona de laboratorio es necesario tener la máxima esterilidad para evitar la contaminación en el área de trabajo por otro material génico (realizar la amplificación en un entorno libre de ADN).

## Procedimiento análisis genético:



Parte del laboratorio donde se procesa la muestra y se prepara para su posterior análisis.

El centrifugado es necesario para separar el plasma del hematocrito.





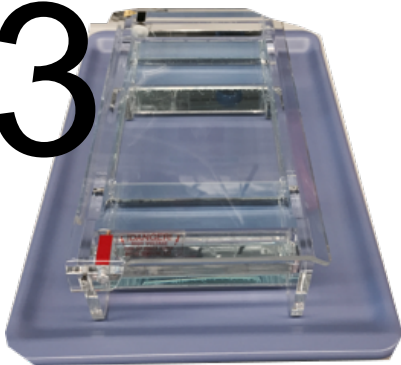
Centrifugado

2



PCR con los termocicladores (amplificación).

3



El material génico se coloca en geles de agarosa

4



Se realiza la electroforesis del material génico dispuestos en los geles de agarosa, mediante corriente

5



Fotodocumentación de la amplificación génica. Uso luz ultravioleta.

6



Usando enzimas de restricción, buscando la posición variante.

### 3.4.1-. 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 (95oC/1min; 61oC/30seg; 72oC/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.

### 3.4.2-. 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 37C. 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.

### **3.4.3-.ANÁLISIS DEL RESTO DE MUTACIONES (ALELO HETEROCIGOTO NO 35DELG)**

En el caso del resto de mutaciones se usó la secuenciación ideada por Sanger(100) que proporciona la resolución definida para detectar variantes genéticas de pequeño tamaño.

**Para la elaboración de la tesis se ha usado las bases de datos Pubmed, Medline, Embase, AMED, BNI, CINAHL, HMIC, PsychINFO, Cochrane Library Database, OVID, Science Direct, y Google Scholar.**

**Para la gestión de la bibliografía se ha utilizado el programa Endnote X7.**

**Para la realización de la tesis se ha usado el programa Pages 5.5.2.**

**El análisis estadístico se ha realizado con el programa IBM SPSS 22.0 para Windows , la representación gráfica de los datos estadísticos se ha usado el programa Pages 5.5.2.**



## IV-. RESULTADOS



# VI-. RESULTADOS

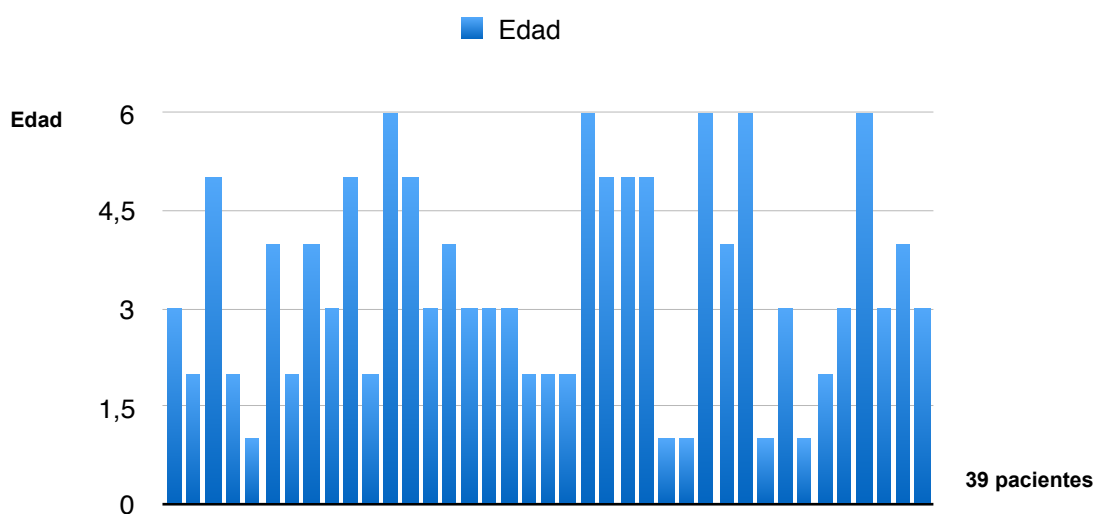
En este capítulo vamos a analizar los datos recogidos de esta revisión retrospectiva.

Como se comentó en material y métodos el número de familias analizadas fue de 36 familias. El número de pacientes que se realizó las pruebas genéticas es de 154 pacientes.

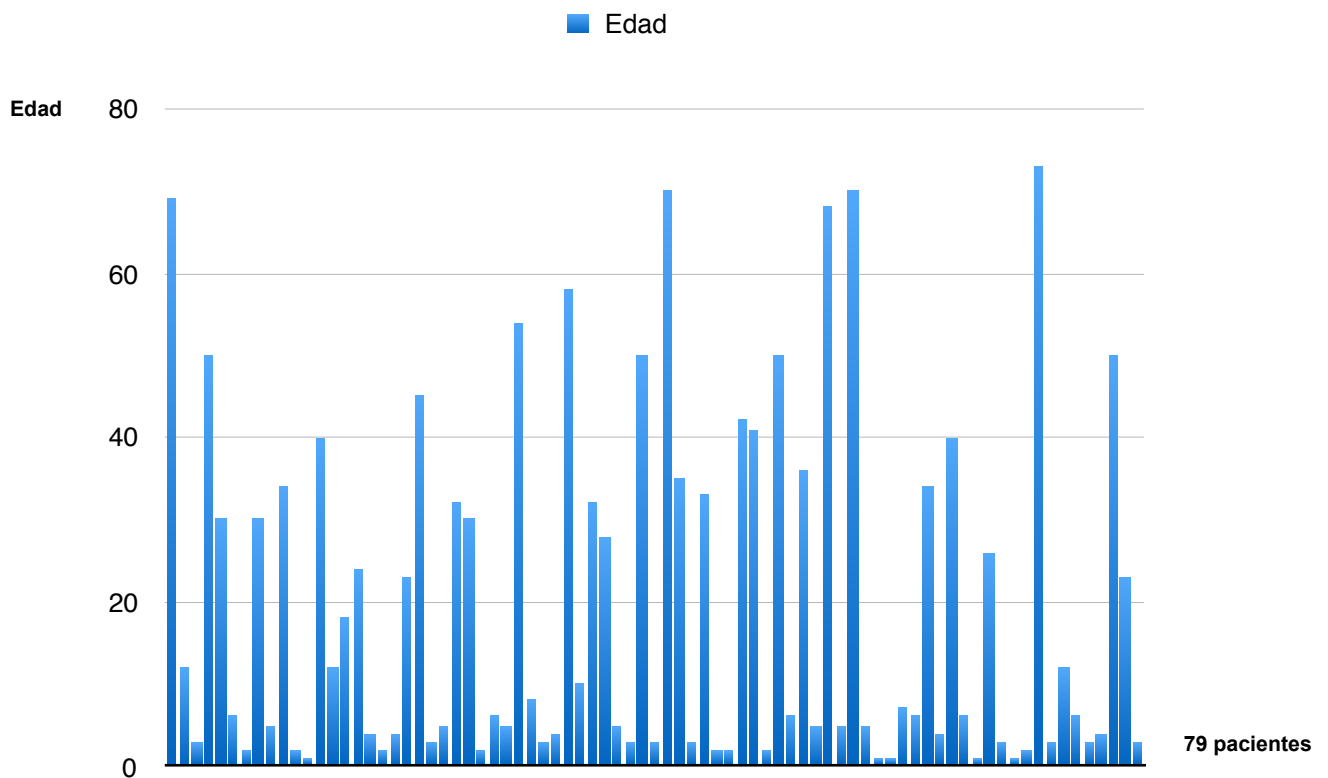
La Unidad de Hipoacusia del complejo Hospitalario Insular es el centro de referencia de la comunidad autónoma de Canarias para el diagnóstico y tratamiento de las hipoacusias neurosensoriales profundas.

Para la obtención de los datos, se parte de los pacientes infantiles diagnosticados de hipoacusia neurosensorial profunda, que fueron programados para cirugía de implante coclear.

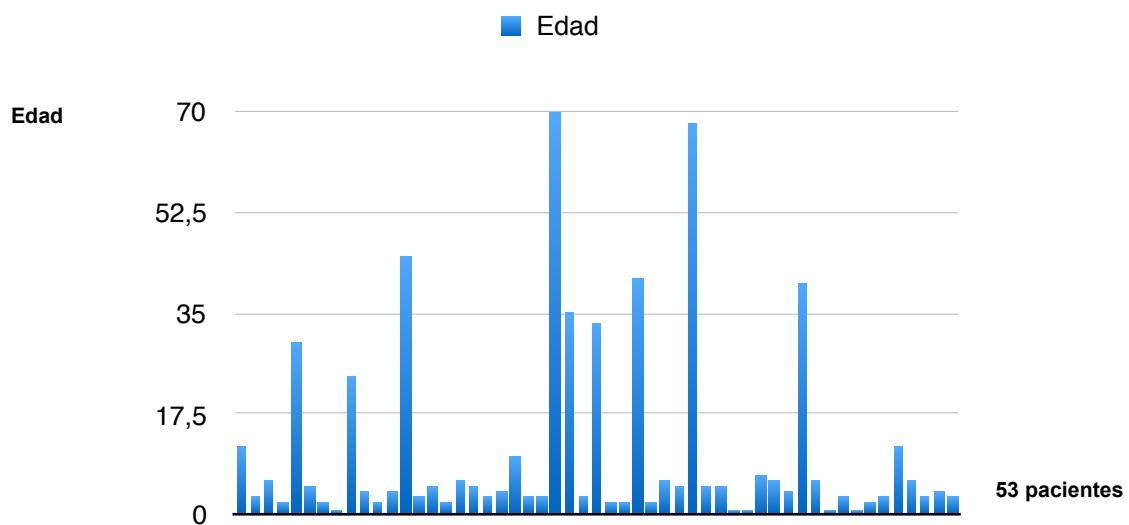
De tal forma que partimos de 39 pacientes intervenidos de implante coclear con una hipoacusia profunda, pertenecientes a 36 familias. La edad media del grupo a estudio es de 3,358 años.



Después de la revisión de las historias, viendo los árboles genealógicos de los pacientes seleccionados, el número de pacientes que presentan hipoacusia neurosensorial es de 79 pacientes. En estos 79 pacientes la media de edad es de 19,506 años.

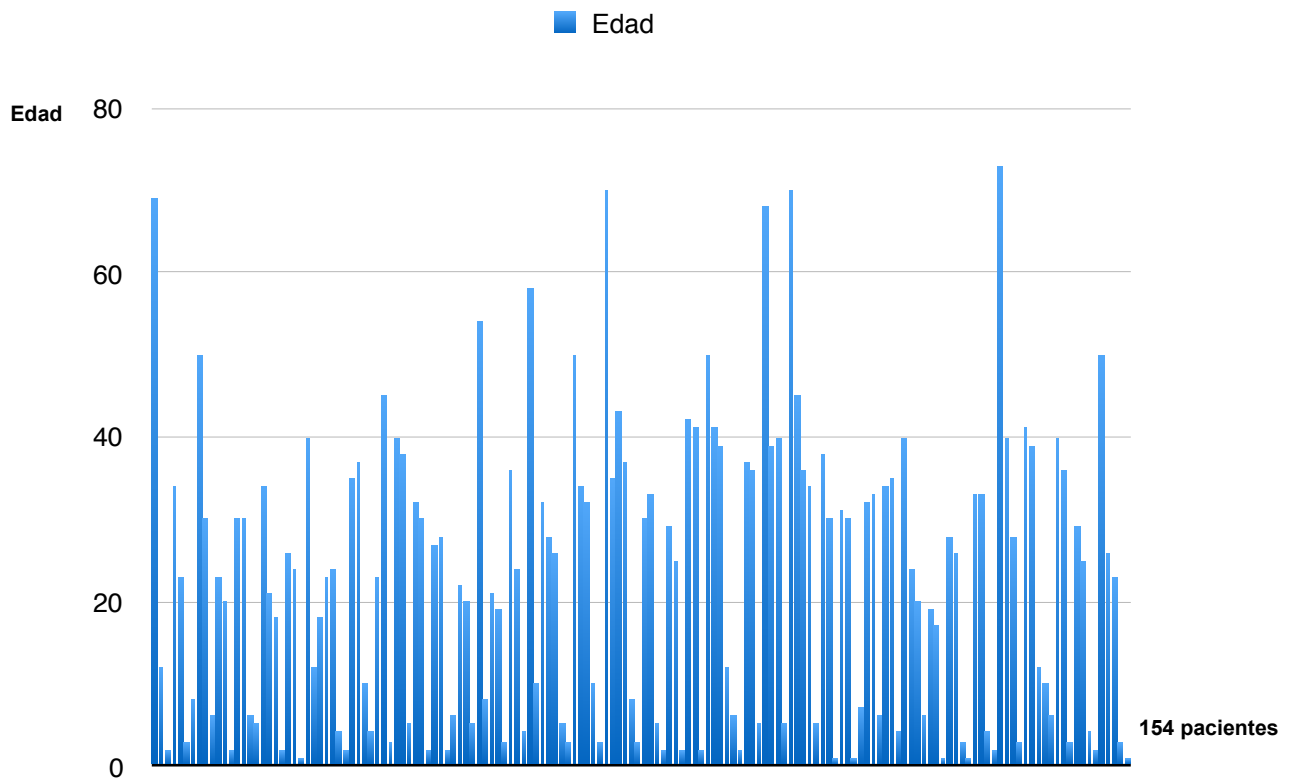


Los pacientes que presentan una hipoacusia neurosensorial profunda es de 53 pacientes, su media de edad es 10,641 años.



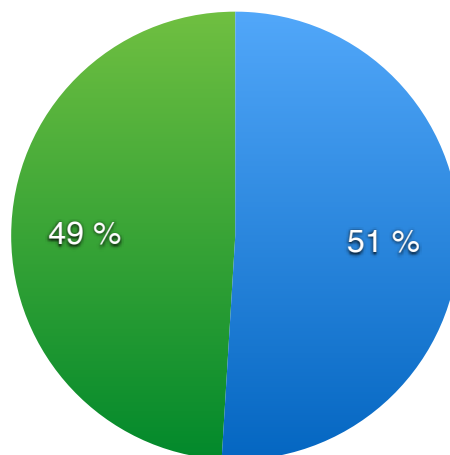


El total de pacientes 154 incluidos en el estudio tiene una edad media de 22,512 años.



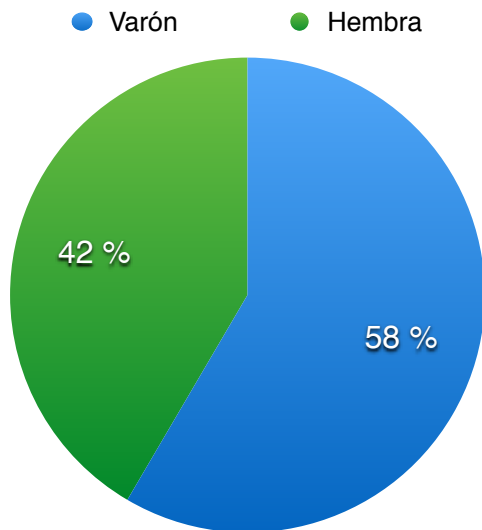
En cuanto a la muestra analizada nos encontramos que de los 154 pacientes, 79 presentan hipoacusia neurosensorial, lo que equivale a un 51% de la muestra.

● Hipoacusia neurosensorial ● Normoyente

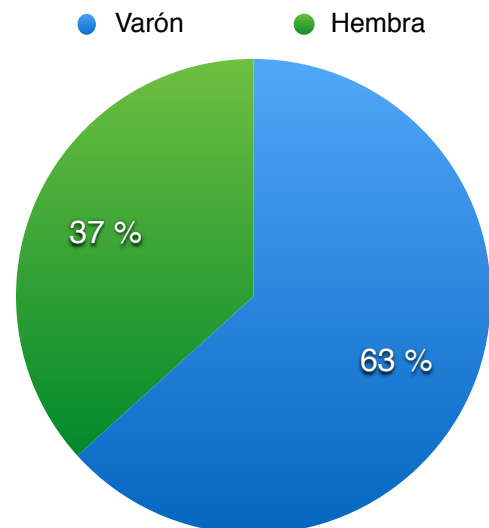


**Gráfica porcentaje de pacientes afectados de hipoacusia de la muestra.**

En cuanto al sexo de la muestra nos encontramos que del total de pacientes nos encontramos.

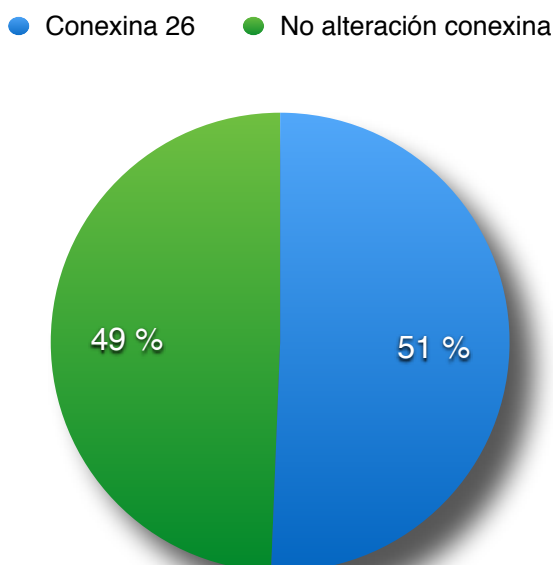


**Distribución por sexos de la totalidad de la muestra.**



**Distribución por sexos de los pacientes afectos de hipoacusia neurosensorial.**

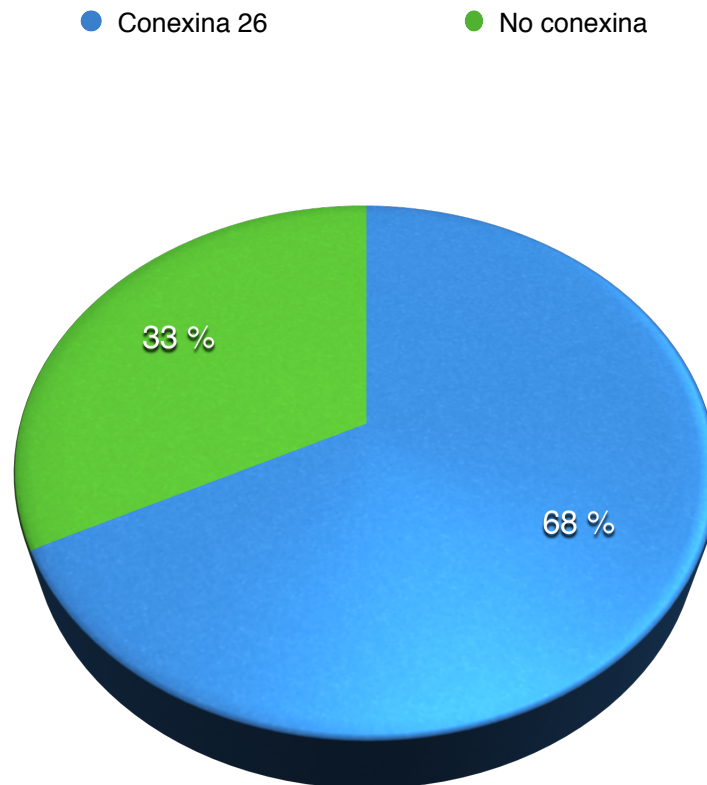
Cuando analizamos los datos obtenidos en la realización del análisis genético nos encontramos que de los 79 pacientes el número de pacientes que tenía una alteración en el gen de la conexina fue de 40. Con lo cual significa que de la muestra 51% de los pacientes con sordera no sindrómica están relacionados con la alteración del gen dicha conexina.



**De la muestra analizada el 51% de los pacientes tiene una alteración del gen de la conexina, como responsable de la hipoacusia neurosensorial.**

Como se ha dicho en la introducción la mutación más frecuente de la conexina 26 es la 35delG, sobre todo en países mediterráneos.

Así encontramos que la alteración de la conexina 26 se encuentra agrupada en 27 familias.



---

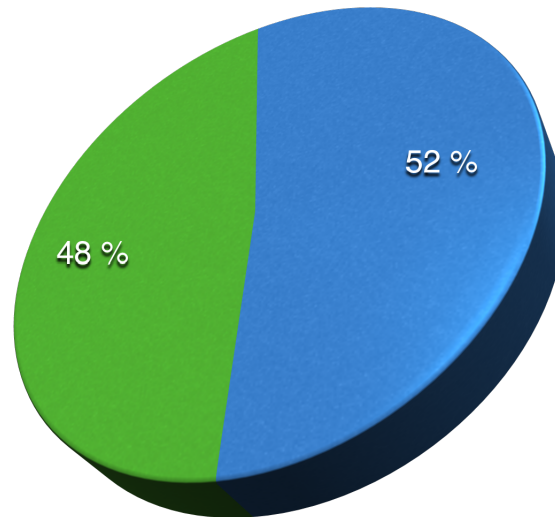
**Porcentaje de familias afectas por al menos un miembro afecto de alteración de la conexina 26.**

---

En 14 familias con mutación de la conexina 26, encontramos un sólo miembro afecto.

● 1 solo miembro afecto ● Más de 1 miembro afecto

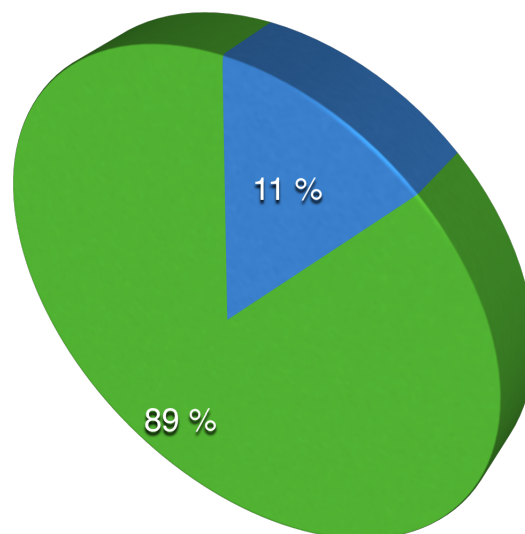
Familias con mutación de la conexina 26.



En 48 % de las familias la alteración de la conexina 26 será en un miembro sólo, y el árbol genealógico no reflejará la posibilidad de hipoacusia asociado a la herencia.

Dentro de las familias con HNS no debida a mutación de la conexina 26, sólo encontramos una familia, dónde hay únicamente un miembro afecto.

● 1 miembro afecto ● Más de 1 miembro afecto



Familias con HNS no debidas a alteración de la conexina

**% de mutaciones observadas**

● 35delG    ● R143W    ● E47X6    ● W44X    ● NS206  
● Otros

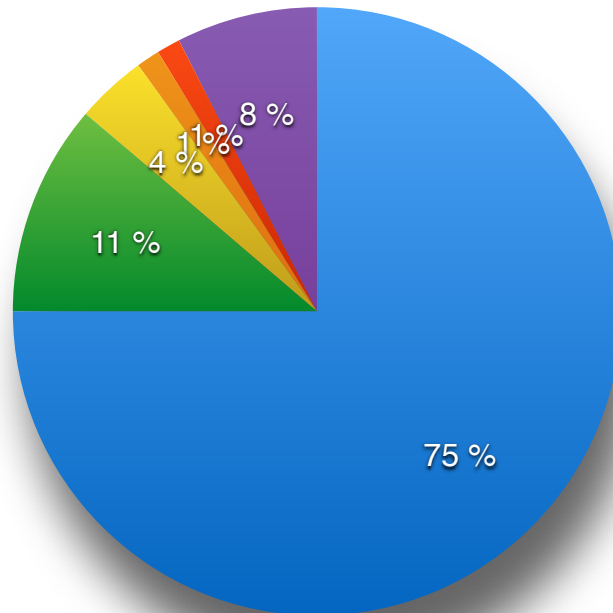
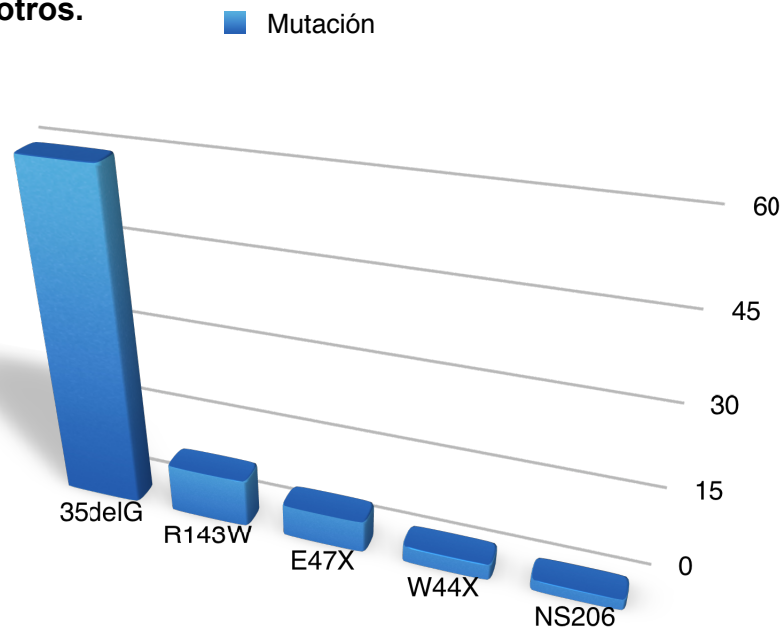


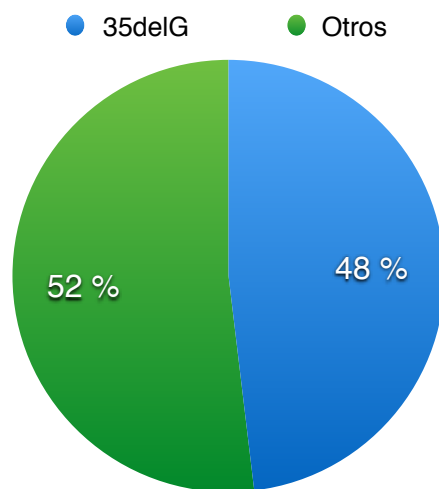
Gráfico donde se muestra en tantos por cientos las mutaciones en contadas en los alelo analizados. La mutación 35delG afecta al 75 % de los alelos, la R143W afecta al 11%, la E47X6 al 8%, la W44X en un 3%, la N206S en un 3%, y un 8 % otros.



Como bien hemos dicho, las hipoacusias debidas a mutación de la conexina 26 pueden afectar a diferentes alteraciones del gen. A la hora del diseño en el análisis genético tenemos que ver que mutación queremos descartar. En este caso se buscaron en los 79 pacientes las mutaciones de la conexina 26, 35delG y la R143W. Como habíamos dicho anteriormente la mutación de la conexina se encontró en 40 pacientes.

La mutación 35delG fue la que se encontró con más frecuencia, como en otras series estudiadas.

Así en nuestra muestra cuando nos encontramos con una sordera neurosensorial no sindrómica bilateral y en la que no hay una causa conocida la posibilidad de que el origen de la misma sea una mutación de la conexina 26 es del 51%. En el caso de la mutación 35delG afecta al 48% de los pacientes con HNS no sindrómica de nuestra muestra.




---

**48% de los pacientes con HNS no sindrómica de nuestra muestra tiene una mutación GJB2 en 35delG.**

---

Así en nuestra muestra la mutación 35delG afecta a 38 pacientes, también tenemos que tener en cuenta, como hemos dicho, que las mutaciones puede afectar a la conexina de forma homocigota (la misma mutación en los dos alelos), o heterocigota en el que ambas conexinas tienen mutaciones, pero la mutación es diferente

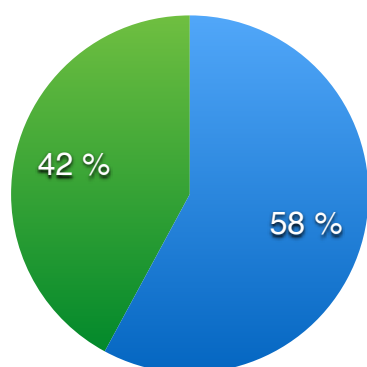
De tal forma que al hacer el análisis genético, y encontrar mutaciones heterocigotas en algunas mutaciones 35delG, hemos tenido que buscar cual es la mutación que afecta al otro alelo.

Tipo de sordera	Número de Familias	%
DFNB1	27	68
No DFNB1	8	36
Total	36	100

Mutaciones detectadas en las familias DNFB1		
35delG	60/80	Delección
R143W	9/80	Sentido erróneo
E47X	3/80	Sin sentido
W44X	1/80	Sentido erróneo
NS206	1/80	Sentido erróneo

Mutación del 35G de la conexina y su comportamiento		
Comportamiento	Número de cromosomas	Otra mutación
Homocigotas	22	
Heterocigotas	16	R143W, E47X, W44X, NS206, otros

- 35delg homocigoto
- 35delg heterocigoto



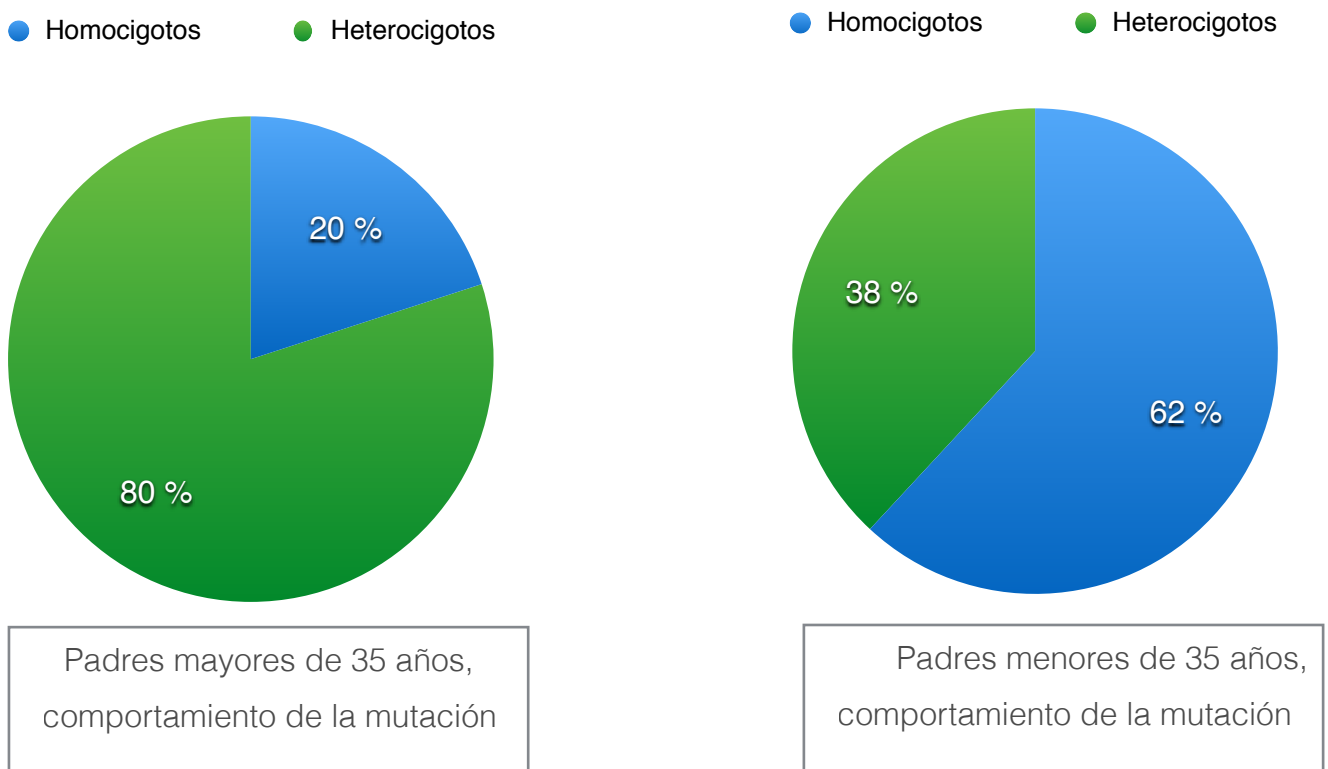

---

**58 % de los pacientes la mutación 35delG se encuentra en ambos alelo (homocigota).**

---

Un factor que clásicamente está relacionado con las mutaciones es la edad de los padres. De nuestra muestra se ha cogido a todos los niños afectados de mutación de conexina 26, y hemos relacionado la edad de los padres con la aparición de la mutación.

El número niños afectados con padres mayores de 35 años de la mutación 35delG es de 8, la edad media de los niños es de 3,6 años.



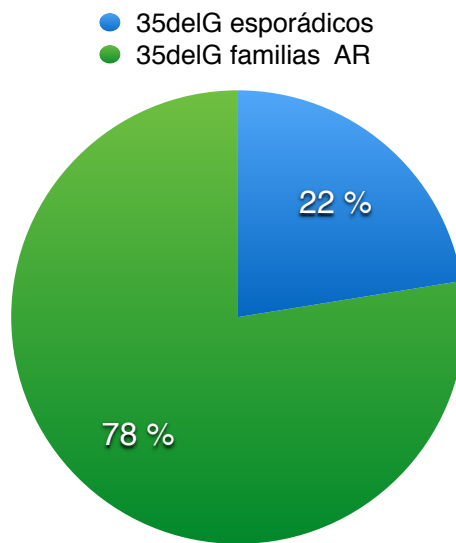
Podemos observar como cuando se trata de padres mayores, en nuestra muestra el porcentaje de mutaciones heterocigotas, aumentan con respecto a cuando los padres son menores de 35 años.

Se realizó una revisión de las audimetrías de los pacientes de la muestra, en el caso de las mutaciones de la conexina 26 homocigotica, en todos los casos nos encontramos con una HNS profunda prelingual.



La mutación 35delG podemos encontrarla en familias autosómicas recesivas o como casos esporádicos.

Nos encontramos que 11 pacientes de los 38 que tenían la mutación 35delG, eran casos únicos en la familia. Así encontramos un 22% de casos esporádicos.



## AUDIOMETRÍA

Audiometría expresada en medias del grupo de pacientes.

Valores medios en Decibelios (Db)					
	250 Hz	500 Hz	1000 Hz	2000 Hz	4000 Hz
Homocigotos.	86,136	90,909	98,636	101,363	104,545
Heterocigotos	82,812	86,875	92,5	90	94,062



## V-. DISCUSIÓN



## V-. DISCUSIÓN

### **DESCUBRIR LA CAUSA**

### **CONOCER LA HERENCIA**

### **CONOCER LOS PORTADORES**

### **MÉTODOS PCR Y FUTURO**

## **5.1-. DESCUBRIR LA CAUSA**

La etiología es la ciencia centrada en el estudio de la causalidad, en medicina se usa patogénesis para referirse al origen de la enfermedad.

Desde Hipócrates (133) a los médicos se les enseña a comenzar las historias clínicas preguntando al paciente: ¿Qué le pasa?, ¿Desde cuándo? ¿A qué lo atribuye?, desde siempre hemos querido saber la causa de las enfermedades.

Pasteur (134) (1822-1895) centró sus esfuerzos en esclarecer el papel desempeñado por las bacterias en la aparición de una enfermedad, relacionando diferentes enfermedades con determinados microbios. Demostró la correlación que existe entre las bacterias y determinadas enfermedades, y por ello sus teorías tuvieron un impacto decisivo.

Es Koch (1843-1910) ( 135)el que formuló el concepto de etiología científica, enumerando sus postulados.

Los médicos, siempre hemos querido saber el porqué de ciertos procesos que afectan a nuestros pacientes. Con el avance en la genética y en la biología molecular, hemos podido dar una explicación a nuestros pacientes de sus padecimientos.

Hace 40 años al encontramos con estas sorderas, si se trataba de algo familiar podíamos decirle a la familia que probablemente fuera genética. Hoy sabemos que el 95% de los niños identificados en los programas de detección precoz neonatal, son hijos de padres normooyentes, en cambio la mayoría tendrán una causa hereditaria en su hipoacusia (136). El gran paso a día de hoy es que podemos decirle que es genética, y que además esta producido por la síntesis errónea de una proteína. Si bien, queda mucho por mejorar e incluso lo más importante como veremos más adelante, está por venir y es la terapia génica.

## **5.2-. CONOCER LA HERENCIA**

El gran desarrollo de la genética nos ha permitido diagnosticar el origen de muchas hipoacusias, que hasta hace unos años eran clasificadas como idiopáticas.

Como consecuencia de esta necesidad de saber, de darle al paciente un diagnóstico, en el año 2004 desde la Unidad de Hipoacusia del Hospital Universitario Materno Insular, mediante una beca de la Fundación Canaria de Investigación (FUNCIS), se pone en marcha los estudios genéticos dentro del protocolo de estudio de la hipoacusia.

La hipoacusia neurosensorial no sindrómica (HNS) es el defecto sensorial más frecuente, y en más del 80% de los casos su transmisión es autosómica recesiva (137) . Afecta a 1 de cada 1000 recién nacidos (63)(138). La mutación del gen de la conexina 26

es en muchas poblaciones al menos responsable de la mitad de las hipoacusia profundas prelinguales (62) .

Aunque se estima que el 60% de los casos de HNS no sindrómica son debidos a un origen genético(57), solo un 20 % de los casos muestran una historia familiar positiva, viéndose que la mutación en el GJB2 es la responsable de una importante proporción de HNSP no sindrómicas, hecho que nos hace pensar que tiene que haber un cambio en el manejo diagnóstico de estos pacientes(139, 140). En nuestro caso el número de pacientes con historia familiar positiva en los pacientes con mutación 35delG es del 78%. Esto se explica por las características de la muestra, y la prevalencia de la mutación en el medio.

Para ello debemos incluir los estudios genéticos en la batería de pruebas en los pacientes con HNSP no sindrómica. La inclusión de los estudios genéticos dentro de los protocolos de estudio de la hipoacusia, está ampliamente avalada por la literatura, y son múltiples las guías terapéuticas que lo han incluido.

Para Martin(141) una vez realizado el examen clínico y los estudios de laboratorios para descartar causas extrínsecas o síndrome asociado responsable de la sordera. Los estudios moleculares en busca de mutaciones se deberían de realizar en los pacientes con HNS congénita no asociada a anormalidad radiológica en el oído interno y que no tengan asociados síntomas vestibulares (caminar antes de los 18 meses, no episodio de vértigo)(65).

La Sociedad Americana de Genética (American College of Medical Genetics and Genomics) edita en 2014 (136) una guía para la evaluación clínica y el diagnóstico etiológico de la hipoacusia. La importancia del diagnóstico genético a parte de darnos un diagnóstico etiológico y avisarnos de otros posibles trastornos del síndrome que padece, también nos servirá para el consejo genético. En el protocolo de actuación después la anamnesis, exploración, pruebas audiológicas, historial médico y árbol genealógico de tres generaciones nos preguntamos ¿sospechamos una hipoacusia adquirida?. En caso afirmativo hacer prueba para CMV, radiología o otros test basadas en la etiología

sospechada (ejemplo rubeola, meningitis). En el caso de no sospechar causa adquirida debemos realizar pruebas genéticas, si sospechamos un síndrome, la prueba genética que confirme el diagnóstico sospechado, si no sospechamos un síndrome hacer la prueba para GJB2 y GJB6. A parte de las pruebas o imágenes radiológicas que se precisen para el diagnóstico. Si la etiología fuera genética el consejo genético es preciso.

La Asociación Británica de Médicos audiovestibulares (BAAP) (142) dentro su guía de abril de 2015, clasifican las pruebas a pedir en la HNS no sindrómica basados en la medicina basada en la evidencia. Así para ellos la prueba de la conexina 26 es aconsejable en todas las hipoacusias bilaterales congénitas y que su etiología no haya sido determinada. Algunos laboratorios también realizan test en la conexina 30. La BAAP dentro de su protocolo clasifica las pruebas a realizar en función de criterios de medicina basada en la evidencia. El nivel de recomendación de la medicina basada en la evidencia es C (2++).

En el caso de la Comunidad de Madrid, en el protocolo de detección precoz de Hipoacusia en recién nacidos de 2006, deja las pruebas genéticas a elección del médico.

En España, el consenso en el manejo integral de las hipoacusias, se hace a través de la Comisión para la detección precoz de la hipoacusia (CODEPEH). En el año 2014, hacen una recomendación sobre la realización de estudios genéticos con secuenciación que permite el estudio simultáneo de mucho genes involucrados en la sordera (143).

Kenna (144) debido a la alta incidencia de la mutación 35delG, recomienda que los estudios genéticos para detectar mutación de la conexina 26, se realicen una vez sea diagnosticada la HNS no sindrómica.

En la muestra reflejada y en el árbol genealógico se registraron tres generaciones al igual que en las recomendaciones de la Sociedad Americana de Genética (136), las guías de la Asociación Británica de médicos audiovestibulares (BAAP) (142).



En nuestros resultados la mutación más frecuentemente encontrada es la que afecta al GJB2, concretamente a la mutación 35delG. Así en nuestra muestra encontramos que el 48% de los pacientes afectados de hipoacusia neurosensorial presentan dicha mutación.

Todo comienza en el año 1994, cuando Guilford P investigaba el origen genético de un grupo de familias consanguíneas de Túnez que padecían sordera. Los pacientes afectados padecían una sordera prelingual y profunda (92). Identificando el locus DFN1 en el cromosoma 13 (13q12).

Zelante (145) en 1997 publica que las mutaciones de la conexina 26 son la causa más frecuente de sordera no sindrómica autosómica recesiva en el mediterráneo. En el análisis mediante PCR del ADN de los pacientes afectados encontró la mutación en el gen de la conexina 26. La delección de una Guanina (G) dentro de un tramo de seis G en la posición 35 de GJB2 (mutación 35delG), haciendo que la cadena termine prematuramente. El estima que esa delección es el origen del 63% de las HNS no sindrómicas en el área mediterránea. Este dato es comparable al 48% de casos con alteración 35delG de la conexina 26 de nuestra muestra.

En 1998 Estivill (146) encontró que la mutación de la conexina afectaba al 49% de los participantes con HNS recesiva y el 37% de los casos esporádicos tenían una mutación en el gen GJB2.

Wilcox (147) en 1999 estudia un grupo de familias que se casaron entre sordos, contando con más de 30 pacientes con hipoacusia en 4 generaciones. Demostró que muchos casos eran debidos a alteración homocigota del 35delG o alteraciones heterocigotas 35delG/Q57X. Así determina que 3/4 o más de todas las mutaciones de la conexina 26 son debidas a la mutación 35delG, en nuestra muestra esto ocurría exactamente en el 75% de los casos o lo que es lo mismo en 3/4 de los pacientes con alteración de la conexina 26. El realiza el siguiente planteamiento la frecuencia de HNS congénita es de 1/1000 recién nacidos, la proporción de que estas NHS sean de origen

genético es dos tercios (64). De estos 2/3 los que tienen una herencia autosómica recesiva es el 80%, y más o menos la mitad de este 80% son debidos a la mutación de la conexina 26 (58). Así el estima que una HNS no sindrómica recesiva por mutación de la conexina 26 ocurrirá en 1/3750 recién nacidos.

Así que si vemos los datos del gobierno de Canarias, <http://www.gobiernodecanarias.org/istac/>, nos encontramos con los siguientes datos de natalidad 2007: 20249, 2008:20672, 2009 : 18952, 2010: 18305,2011: 17423.

	2011	2010	2009	2008	2007
	AMBOS SEXOS	AMBOS SEXOS	AMBOS SEXOS	AMBOS SEXOS	AMBOS SEXOS
CANARIAS	17.423	18.305	18.952	20.672	(e) 20.249

Si extrapolamos esto a los datos de frecuencia que se estiman, nos deberíamos de encontrar que el número de recién nacidos con HNS no sindrómica sería la siguiente:

	2011	2010	2009	2008	2007
Estimación de recién nacido con HNS recesiva por conexina	4,6	4,8	5	5,5	5,3
HNS no sindrómica congénita (muestra) (conexina + no conexina)	5	8	9	5	6
HNS mutación conexina (muestra)	4	5	5	5	5

En nuestra muestra se cumple prácticamente que 1 de cada 3750 recién nacidos tiene una HNSP no sindrómica por mutación de la conexina 26.

En España en un estudio de población gitana (148) se observó que la mutación más frecuente de la GJB2 era la W24X (79% de los alelos con HNS no sindrómica), y en segundo lugar la mutación 35delG (17%). La mutación W24X es frecuente en la India (149, 150), también es frecuente la mutación W77X. Es raro, igual que en Asia encontrar la mutación 35delG, y la mutación 167delT, mutaciones frecuentes en población Europea, y Judía. Esta mutación W24X también es frecuente en población gitana rumana, húngara, francesa, checa, griega, y austriaca (151-155). Dato que nos habla del origen étnico de la población gitana europea.

En Cantabria (156) hacen un estudio en 2005 de prevalencia de HNSP no sindrómica en el que se observa una prevalencia de la mutación 35delG 7,9%, más baja que en el resto del territorio nacional, y una mayor prevalencia de la mutación mitocondrial A 1555 G. Relacionan el hecho de la baja prevalencia de la mutación 35delG, a que el estudio se centró fundamentalmente en población post-locutiva.

En la población griega (151) hallaron la mutación 35delG como la responsable de la mutación en 42,2% de los cromosomas en familias con HNS no sindrómica prelingual, y en un 30,06% de los cromosomas de los casos esporádicos. En Grecia e Italia es donde la prevalencia de la mutación 35delG es mayor (157), de hecho señalan a Grecia como el origen de la mutación (158).

En Francia la mutación 35delG (153) se considera responsable del 58.3% de las HNSP no sindrómicas. En el estudio encuentran diferencias por regiones, siendo más prevalentes en el sur que en el norte del país.

Menéndez (159) en el año 2001 publica una serie de 15 familias cubanas con HNS no sindrómica, de ellas en 10 aparecieron mutación de la conexina 26, siendo más frecuente la mutación 35delG. Así según su estudio se observó que la mutación afectaba al 66% de la muestra estudiada. En las familias con DFNB1, 25 de 32 cromosomas afectados contenían la mutación 35delG, para una frecuencia de 0,781. En 18

cromosomas la mutación apareció en homocigosis, mientras en 7 cromosomas se observó heterocigosis. Los datos se asemejan a los que se encuentran en las poblaciones de origen caucásicos (62)(160), esto es debido a que la mayoría de la población cubana está formada por los hijos de emigrantes españoles y por el tráfico de esclavos africanos en los siglos XVI, XVII, XVIII y parte del XIX. En el estudio de Menéndez se encontró que de las 10 familias afectadas por la mutación, en 4 se presentó un solo individuo afecto (casos esporádicos) 4/10, en nuestra muestra el número de casos esporádicos fue de 14/40.

En Estados Unidos (161, 162) se establece cálculos mostrando que el 60% de las personas con HNS no sindrómica con afectación de la GJB2 son homocigotos para la mutación 35delG. La prevalencia de HNS no sindrómica asociada a GJB2 es 22,7 en cada 100.000 nacimientos, y la presencia de HNS no sindrómica asociada a GJB2 con mutación 35delG es de 20 por 100.000. En un estudio realizado en Boston (144) encuentra de una muestra de 99 niños que el 30% tenían una mutación de la conexina 26, siendo la alteración más frecuente entre los blancos 81%, después los hispanos un 13%, un 3% Americanos africanos y otro 3 % entre los asiáticos.

Debido a la cercanía con Africa del archipiélago tenemos que tener los datos que conocemos de Africa. Tenemos estudios de Ghana (163), donde se estudió un pueblo del este de Ghana, con unas familias con alta prevalencia de HNS no sindrómica. Se hizo una secuenciación del gen de la conexina 26, en 21 pacientes con sordera de 11 familias, revelando una mutación homocigota en la cual la Timina (T) fue sustituida por una Citosina en la primera posición del codón 143. También encontraron 12 familias con una alteración heterocigota, con una audición normal. La mutación R143W tiene mayor prevalencia en Africa. En un Estudio posterior de Ghana de 2001 en este caso una muestra de 365 individuos de todo el país, se vuelve a ver que la mutación más frecuente es la R143W.

En Marruecos (164) la HNS no sindrómica está relacionada con la mutación de la conexina 26, más concretamente la afectación 35delG como en otros países mediterráneos. Esta mutación es la responsable de 48% de casos de niños con HNS no sindrómica

En Japón en el año 2000 (165) se realiza un estudio buscando las mutaciones responsables de la hipoacusia. La mutación más frecuentemente encontrada afectaba al GJB2, pero a diferencia de Europa o Estados Unidos, la mutación que más frecuentemente afectada era la 235delG. Siendo esta mutación la más prevalente 73%, también se detectó la mutación Y136X y la R143W. En 2010 (166) publican un estudio multicéntrico realizado en Japón sobre 1000 familias con hipoacusia. Usan el método "Invader array", encontrando en un 25.2% de los pacientes afectados de hipoacusia presentan mutación de la conexina 26, además la mutación más frecuentemente encontrada fue la 235delG (afecta 49,8% de los alelos). También encuentran la mutación V371 (16,5%). Esta V371 que al principio se consideraba un polimorfismo, ahora se ha visto que está implicada en casos de sordera neurosensorial de leve a moderada (167).

La prevalencia de la mutación 35delG en Asia ha sido estudiada en muchos estudios, en China (168-171). Siendo la mutación más frecuente encontrada en Asia la 235delG, de la misma forma que en Japón.(172)

En cuanto al comportamiento auditivo, en los casos de HNS no sindrómica, como consecuencia de alteración de la conexina 26, Dylan K Chan (129) en un artículo del 2009, en el que analiza una muestra de 52 niños con mutaciones en GJB2 tanto homocigótica como heterocigótica y su correspondiente seguimiento audiométrico. En este caso el estudio se realiza en California, encontramos una distribución étnica diferente, a la de España o Europa. Es interesante porque el cambio en este caso es por la población asiática, que tiene una mayor frecuencia de mutaciones p.V271 y p.371. A parte de en California, Japón o China se ha encontrado alta frecuencia de portadores de la mutación p.371 en Tailandia hasta del 8,5% de la población y en Taiwan hasta el 11,6%

de la población(173)(167, 174). La v271 es considerada un polimorfismo siendo una proteína funcional. La p.371 no es funcionante in vitro, y en vivo es responsable de una HNS progresiva. En este caso la proteína es ligeramente funcional, y falla con el tiempo. Los fallos en la homeostasis celular, debidos al fallo en la conexina, hacen que con el tiempo se vaya produciendo una HNS progresiva y una predisposición a la presbiacusia. La mutación v371 que es frecuente en poblaciones asiáticas, está relacionada con hipoacusia leve a moderada (67, 167).

En el caso de las mutaciones homocigotas o heterocigotas asociadas a mutación R143W se ha visto que están implicadas en hipoacusias más profundas (166), que en otras mutaciones de la GJB2 en poblaciones asiáticas.

Con estos estudios queda claro que el tipo de mutación encontrada con más frecuencia depende de la etnia estudiada. En el caso de Canarias, debido a su situación geográfica, y a la gran movilidad poblacional que ha sufrido, esperaríamos encontrar una influencia sobre todo europea, menos influencia del norte de Africa, y aún menos del Africa subsahariana.

También debemos pensar en las mutaciones más frecuentes en Asia, debido al aumento de la población asiática en las Islas y por tanto se ha de tener en cuenta en un futuro.

En la tesis doctoral de la Dra Garcia de Hombre, que se refiere a los datos de la isla de Fuerteventura, se encuentra 2 mutaciones de la conexina 26 entre 6983 recién nacidos. En su muestra se encontró la mutación en el 25% de la población estudiada. En 6983 niños esperamos encontrar 7 niños con HNS profunda, en su caso hubo 8 niños con HNS moderada/severa bilateral, dato ligeramente por encima 1/1000 recién nacidos.

Así vemos que la composición genética de Canarias es el resultado de su historia(175) . La población de origen de las islas era Berber del norte de Africa (176), después se ve afectada por la colonización europea del siglo XV (177), y también está influenciada por la introducción hasta el siglo XVIII de esclavos del Africa subsahariana y del norte de Africa (178). En un estudio donde se analizó el cromosoma Y de 652 varones (179) se vio como el 90% se correspondían a una herencia europea, existiendo menos de un 10% que tenían ascendencia africana preconquista.

Nuestros datos por tanto están en concordancia con el origen de la población de las islas, que fundamentalmente es de origen Europeo. Encontramos que la conexina 26 es la responsable del 51% de los casos de HNSP no sindrómica. En cuanto al porcentaje de afectación de la conexina por mutación 35delG es del 48% (146, 180, 181), dato equivalente al de España y al de Marruecos.

En cuanto a la cantidad de mutaciones en familias autosómicas recesivas y mutaciones esporádicas, en nuestro estudio nos encontramos que los casos esporádicos fueron del 22% y los casos pertenecientes a familias con HNSP no sindrómica con herencia autosómica recesiva 78%. Estos datos se asemejan a los encontrados en Cuba por Álvarez Gavilán (182, 183) (80% con árbol genealógico característico de HNSP no sindrómica autosómicas recesiva, 20 % sin antecedentes). En datos obtenidos en Italia y España por Estivill (146) muestran que el 49% de los pacientes con sordera recesiva y el 37% de los casos esporádicos son debidos a la mutación del gen GJB2, y que el 85% de estas mutaciones corresponden a la 35delG. Datos parecidos son obtenidos por R mole(184) en España e Italia donde las mutaciones de la GJB2 se encuentran en 46% de las familias con HNSP no sindrómicas y en un 33% de las sorderas esporádicas.

En los estudios de Murgia (140) en cambio el número de casos esporádicos es del 60%, alto comparando con otros estudios, y ellos lo justifican porque en su estudio el 67% de las familias de la muestra, tienen un único hijo.

En cuanto a la audición en los pacientes afectados de la mutación 35delG, es una hipoacusia de leve a profunda y normalmente no progresiva (65) (140). También se ha visto que las mutaciones homocigotas 35delG tienen una hipoacusia más severa que las heterocigotas 35delG/no mutación 35deG. Las personas que no tienen la mutación 35delG tiene una hipoacusia menos severa (67). Hay una correlación con el genotipo y el fenotipo siempre que la mutación sea homocigota esperaremos una mayor pérdida auditiva, en los casos de una mutación heterocigota en la que esté implicada la mutación 35delG y otra mutación la hipoacusia es menos profunda (185).

En nuestro estudio se compara las audiometrías en los paciente homocigotos con la audiometría en los pacientes heterocigotos, viéndose que los valores medios de hipoacusias en pacientes con 35delG homocigoto es mayor que en los heterocigotos.

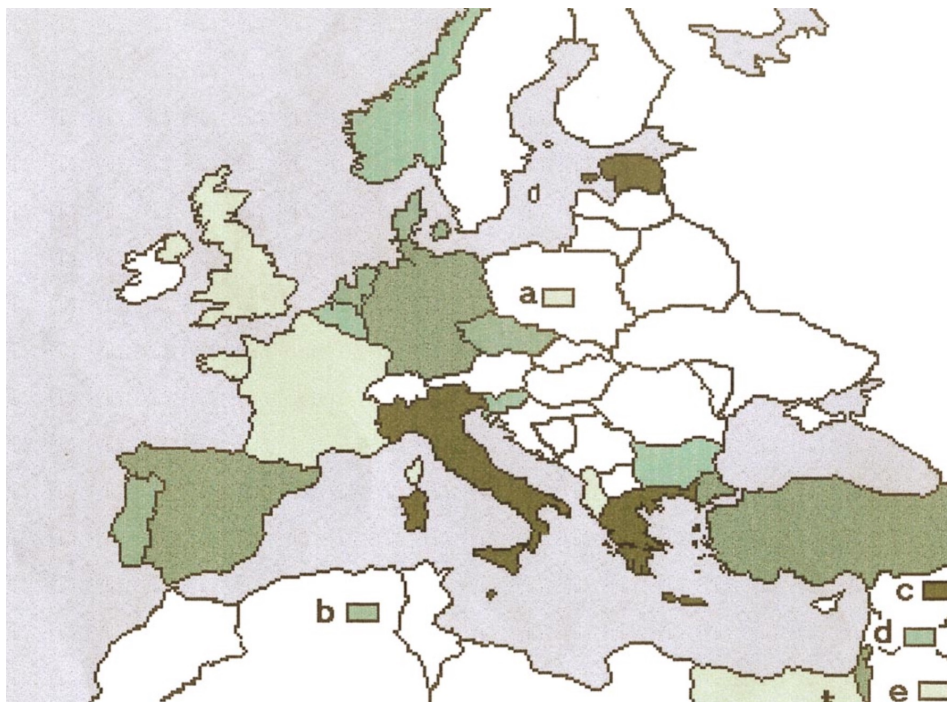
### **5.3-. CONOCER PORTADORES**

Cerca del 60% de todos los casos de HNS tienen origen genético, fundamentalmente como bien hemos dicho, a una herencia autosómica recesiva. La mayoría de éstas son no sindrómicas y su diagnóstico está basado exclusivamente en criterios clínicos, no diferenciando entre las de origen genético o adquiridas (57). El conocer el origen de las hipoacusias, tiene una gran importancia en el cuidado ofrecido a los pacientes y a las familias, tanto en términos de diagnóstico temprano, como en el consejo genético(186). La búsqueda de mutaciones de GJB2 es importante en el consejo genético, los estudios moleculares permiten la determinación del origen de al menos un tercio de los casos de HNS esporádica prelingual(65).



Dentro de nuestros objetivos, está conocer los portadores para poder realizar el consejo genético.

Mapa de frecuencia de portadores 35delG (172).




---

High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. Paolo Gasparini<sup>1</sup>, Raquel Rabionet<sup>2</sup>, Guido Barbujani<sup>3</sup>, Salvatore Melchionda<sup>1</sup>, Michael Petersen<sup>8</sup>, Karen Brøndum-Nielsen<sup>4</sup>, Andres Metspalu<sup>5</sup>, Eneli Oitmaa<sup>5</sup>, Marina Pisano<sup>6</sup>, Paolo Fortina<sup>7</sup>, Leopoldo Zelante<sup>1</sup>, Xavier Estivill<sup>2</sup> and the Genetic Analysis Consortium of GJB2 35delG.

Frecuencias estimadas de portadores de 35delG, mayor frecuencia cuando el color es más fuerte. Las zonas cuadradas representan a la población Judía.

---

Estivill en 1998 hace un estudio de la conexina 26, en el que hacen un test genético buscando mutaciones de la conexina a 280 personas de la población general en Italia y España. Vieron que en la población general encontraban 1/25 en Italia y 1/43 en España con un alelo de la conexina 26 mutado.

- .— Hipoacusia neurosensorial profunda asociada a la alteración del gen que codifica la conexina 26 —

En un estudio multicéntrico publicado en 2007 (187), que incluía pacientes de España, Argelia, Italia, Libia, y Marruecos. Se ha detectado una menor frecuencia de la mutación en el norte de Europa con respecto al sur (180). En el estudio recoge 886 adultos sanos de ambos sexos que se prestan a participar voluntariamente en el estudio. Los resultados obtenidos para la prevalencia de portadores de la mutación 35delG en España varía del 1/149 (Andalucía), difiriendo del 1/43 obtenido en Barcelona por Estivill (1/43). En Marruecos (zona de Tanger) la prevalencia de portadores es menos de 1/123. Es en Grecia, Italia (Napoles, Sicilia), Francia (Corcega) donde la prevalencia de portadores es mayores 1/30.

La prevalencia de portadores en Estados Unidos ha sido cifrada de 3.01% (rango probable de 2.54%-3.56%) (161).

No ha sido el objeto de la tesis ver la prevalencia en nuestra comunidad autónoma por el tipo de muestra obtenida.

En 2004 dentro del proyecto de investigación FUNCIS de la comunidad autónoma de Canarias, desde la Unidad de Hipoacusia del Complejo Hospitalario Materno-Insular, se pone en marcha un subproyecto para determinar la prevalencia de portadores en nuestra comunidad. Para ello se diseña un estudio en el que se incluyen paciente de las 7 islas en proporción a la población de cada isla. Se seleccionan 500 muestras de todas las islas con la siguiente proporción (7:7:3:3:2:2:1) para Tenerife, Gran Canaria, La Palma, Lanzarote, Fuerteventura, La Gomera y el Hierro respectivamente. En estas muestras se busca las mutaciones 35delG y la R142W del gen GJB2. Las muestras son recogidas de la genoteca del Hospital Universitario Insular y del Departamento de Genética Forense de la Universidad de Las Palmas, previo consentimiento informado por parte de los pacientes. En este estudio se estimó que la prevalencia de portadores en las islas en el caso de 35delG del 1,25% y en la mutación R143W 0,2%. Valores de prevalencia bajos comparados con los vistos en Estados Unidos 2,54% (161), en España en el área de Barcelona 2,31% (187), Bélgica 2,50%(172, 188) o más altos que el área de Andalucía que no se encontraron portadores en una muestra de 149 personas (187).

En muchos estudios se ve que existe un gradiente (norte-sur) en Europa en cuanto al número de portadores de la mutación 35delG (187, 189).

Frecuencia de portadores de 35delG en diferentes poblaciones.			
Población	Individuos examinados	Portadores 35delG	Frecuencia portadores
Americanos judíos Ashkenazi	551	4	0,73
Afro-americanos	173	0	0
Americanos origen asiático	53	0	0
Americanos Caucasianos	173	1	0,58
Europeos Mediterráneos	280	9	2,31
Belgas	360	9	2,50

Frecuencia de portadores 35delG Determination of the carrier frequency of the common GJB2 (connexin-26) 35delG mutation in the Belgian population using an easy and reliable screening method. Storm, Katrien, Willocx, Sandra, Flothmann, Kris, Van Camp, Guy Human Mutation

Conociendo la frecuencia de portadores, y en la presencia de pacientes con NHS no Síndromica con la mutación 35delG, tenemos que realizar el consejo genético. El consejo genético se define como un proceso de comunicación, en el cual los pacientes y/o sus familiares son informados de la probabilidad de presentar una determinada enfermedad condicionada genéticamente, del riesgo de transmitirla, de las medidas de prevención, diagnóstico precoz y tratamientos disponibles. También de la posibilidad de llevar un estudio genético, el cual no es siempre factible o necesario.

Los estudios genéticos en España están regulados por la Ley de Investigación Biosanitaria 14/2007. Esta ley establece la necesidad de que exista un proceso de consejo genético antes y después de la realización de cualquier prueba genética, así como la necesidad de un consentimiento informado específico. Por lo tanto, los resultados

de un estudio genético siempre han de ser presentados en el ámbito de la consulta de consejo genético. En esta consulta, los pacientes y sus familiares han de ser informados sobre los aspectos éticos y sociales vinculados con los estudios genéticos (confidencialidad, implicaciones para los familiares, riesgos de discriminación sociolaboral, posibilidad de descubrir falsas paternidades, actitud ante resultados con significado incierto, implicaciones psicológicas, etc.).

Se han realizado estudios en los que mediante encuesta, se ha visto que la aceptación de los padres en realizar estudios genéticos, es considerada útil en el 96% de los casos para el diagnóstico/tratamiento de sus hijos (190), en otra encuesta hecha por Middleton(191) en una comunidad de sordos, que no veían beneficioso la realización de estos estudios genéticos. En el estudio de Brunger (190) la mayoría quería hacer los estudios genéticos para saber la causa de la sordera. Otra razón común es saber el riesgo de recurrencia y para definir que manejo médico y/o tratamiento le podemos ofrecer a sus hijos. En cambio solo un 54% de los padres que estaban interesados en hacer las pruebas genéticas a sus hijos, están interesados en realizarlas a ellos mismos y un 92% quieren saber el riesgo de tener otro niño con sordera(190, 192).

Por lo tanto, tras el adecuado diagnóstico clínico, si se sospecha que la hipoacusia puede tener un origen hereditario, es preciso remitir al paciente a una consulta de consejo genético. Esta consulta especializada ha de formar parte del equipo multidisciplinario encargado del manejo del paciente sordo, donde han de estar integrados otorrinolaringólogos, foniatras, pediatras, logopedas, especialistas en genética clínica y, eventualmente, oftalmólogos y neurólogos(193). Es muy importante tener en cuenta que la información que diferentes familias e individuos esperan obtener del asesoramiento genético es distinta. Para el consejo genético es útil tanto para los individuos sanos, como para los que han presentado la enfermedad (194).

Entre los beneficios para los familiares, se puede citar la posibilidad de detectar portadores aún asintomáticos, evaluar el riesgo de transmisión a la descendencia y evitar la incertidumbre, la ansiedad y la realización de pruebas innecesarias en los no portadores(192).

Los beneficios para el paciente se pueden clasificar en 5 áreas: prevención, diagnóstico, pronóstico, tratamiento y reproducción.

- – Prevención: las medidas preventivas son eficaces en las hipoacusias hereditarias condicionadas por factores ambientales, como las mutaciones que confieren sensibilidad a los aminoglucósicos (195) o toxicidad por cisplatino (196). En no pocas ocasiones, la sordera puede ser la primera manifestación de un síndrome más complejo. Por lo tanto, cuando la mutación identificada pueda causar manifestaciones sindrómicas, es fundamental prestar atención a la potencial afectación de otros órganos, aunque no esté presente en el momento del diagnóstico (pérdida de visión, defectos en la conducción cardíaca, insuficiencia renal, etc.).
- – Diagnóstico: el conocer la causa de la sordera con frecuencia ayuda al paciente o a sus padres a asimilar emocionalmente el diagnóstico, acelerando el inicio de su implicación en el tratamiento rehabilitador. Por otro lado, un diagnóstico genético puede evitar la realización de pruebas innecesarias (TC, RM, estudios neurofisiológicos, etc.).
- – Pronóstico: en ocasiones es posible predecir cuál será la evolución de la sordera, estableciendo un pronóstico en función del genotipo del paciente (67, 197). En este caso, el estudio genético condicionaría el protocolo de seguimiento, el plan de rehabilitación auditiva y las decisiones educacionales (hipoacusias rápidamente progresivas, con afectación de todas las frecuencias versus hipoacusias estables, con afectación de un rango de frecuencias concreto).
- – Tratamiento: el conocer la causa de la sordera puede resultar útil en la toma de decisiones terapéuticas. Así, por ejemplo, los pacientes con hipoacusias secundarias a mutaciones en los genes *GJB2* o *GJB6* se benefician más de los implantes cocleares que los pacientes con hipoacusias hereditarias sin mutaciones en estos genes, siendo los resultados de la implantación habitualmente excelentes(198-200). Precisamente se hizo un estudio dentro de la Unidad Hipoacusia de nuestro centro que avalaba, dicho resultado(200).
- – Reproducción: una vez identificado un gen y su patrón de herencia, es posible determinar con precisión la probabilidad de tener hijos sordos. Así por ejemplo, 2 padres afectados por una hipoacusia de herencia autosómica recesiva tendrán



descendientes sordos en el 100% de los casos si las mutaciones están en el mismo gen. Por el contrario, si las mutaciones afectan a genes diferentes, ninguno de sus hijos heredará el trastorno. La identificación de la mutación responsable permite discutir las diferentes opciones reproductivas disponibles, con sus consiguientes consideraciones éticas y legales (diagnóstico genético preimplantacional, diagnóstico genético prenatal). También es factible determinar la presencia o ausencia de la mutación en el recién nacido, agilizando de este modo el proceso diagnóstico y terapéutico. Cuando no es posible identificar el gen responsable, ni establecer un patrón de herencia, se pueden utilizar porcentajes empíricos en el proceso de asesoramiento. Así por ejemplo, *a priori*, cuando una pareja normoyente sin antecedentes familiares de hipoacusia tiene un hijo sordo, su probabilidad de tener otro descendiente sordo es del 18%. La probabilidad de que una pareja formada por un sordo y un normoyente tenga un hijo sordo es del 10%. Si se ha realizado el estudio genético y no se han encontrado mutaciones patogénicas, dependiendo de los genes analizados, estas cifras pueden ser matizadas(161).

Los estudios mutaciones de la conexina 26 han mejorado sustancialmente el consejo genético en las hipoacusias, permitiendo establecer el diagnóstico en muchos casos esporádicos, algo que era impensable antes(141). La identificación de la conexina 26 en la etiología permite que podamos controlar progresión de la hipoacusia con el consejo genético.

El consejo genético es más fácil en los casos en que encontramos a un paciente con los dos alelos afectos. Podemos establecer el riesgo de recurrencia, saber si el defecto es aislado, o detectar posibles heterocigosis en la familia. En cambio es más dificultoso en los casos en los que solo encontremos un alelo afecto o sea en ambos alelos, pero que en uno de ellos haya un polimorfismo que no se haya demostrado su patogenicidad(65).

El consejo genético debe incluir una parte pre-prueba y una parte post-prueba. En la parte pre-prueba debemos informar los tipos de sorderas, las formas de herencia, diferentes causas de sorderas, los diferentes tests genéticos disponibles entendiendo sus riesgos, beneficios y limitaciones. En la parte post-prueba el consejo debe incluir una explicación de los resultados de las pruebas realizadas al alcance de personas no familiarizadas con la medicina, y poder prestar un apoyo psicológico ante los resultados(201).

Un paso más adelante es el diagnóstico prenatal, Brunger(190) en su trabajo donde hizo unas encuestas a padres de niños con HNS, encontró que el 87% estaría de acuerdo en hacer test prenatales, y que esto les sería de utilidad para esperar un hijo con HNS (aprender lenguaje de signos, buscar un pediatra especialista en niños con HNS). En otros estudios también se constata el interés de los padres en las pruebas prenatales(202) o como el estudio de Ryan en mujeres embarazadas (203). En Grecia debido a la alta incidencia de presentación de mutación 35delG, han hecho un estudio de análisis prenatal de la mutación 35delG (204), dentro del consejo genético de 29 parejas.

En nuestro hospital se ha realizado consejo genético, por parte del servicio de genética del complejo hospitalario.

#### **5.4-. METODOS PCR, FUTURO,COSTE/BENEFICIO**

Los primeros estudios que se hicieron en nuestro centro usaron la técnica PCR-amplificación y electroforesis en gel de agarosa.(205, 206).

En el caso de los resultados obtenidos fueron realizados una técnica de PCR con alelo específico en el caso de la detección de la conexina 26, 35del G. Para la mutación R143W se eligió la técnica (RFLP).

En un estudio de prevalencia en Bélgica (207), en vez de usar la secuenciación de PCR de forma directa, que es más cara y laboriosa o métodos de PCR alelo específicos. El PCR alelo específico requiere dos reacciones PCR (para amplificar el material genético a estudio y el alelo mutado separado) y aumenta la probabilidad de pérdida de la mutación, debido a que no exista amplificación. Ellos proponen un método más simple que es PCR mediada por sitio-directo de mutagénesis (PSDM), aunque también puede haber una pérdida de la mutación debido a la no digestión de la enzima de restricción. Por lo que ellos modificaron la técnica incluyendo un fragmento de ADN de control que contiene BsiYL en el sitio de restricción de la reacción de digestión.

En 2007 Satoko Abe (208) afirma en un artículo que la heterogeneidad de la hipoacusia condiciona un retraso de las aplicaciones clínicas de la genética en las hipoacusias. De tal manera que diseñan una estrategia diagnóstica simple y comprensiva para detectar simultáneamente las mutaciones responsables de las hipoacusias. Se realiza un screening “Intruder assay” de 41 mutaciones conocidas, pertenecientes a nueve genes responsables de hipoacusia. En su estudio de 380 niños de hasta 10 años que participaron en este estudio, al menos 100 (29.6%) tuvieron una mutación en GJB2, SLC26A4 o mitocondrial 12s-rRNA. Estas tres mutaciones son las más frecuentes encontradas en Japón. Con este estudio se ve que el test “Invader assay” tiene una excelente especificidad y sensibilidad como test de screening de las mutaciones responsables de las sorderas, lo cual nos ayuda a mejorar el manejo médico y establecer el consejo genético.

El método usado en Japón “Intruder Assad” (209), utiliza una solapa de endonucleasa con una estructura específica (FEN ). Para escindir un complejo tridimensional formado por la hibridación de oligonucleótidos solapantes específicos de alelo con el ADN diana que contiene un polimorfismo de nucleótido único ( SNP). Este método es fiable y con una tasa baja de fallos.



También están los análisis de secuenciación masiva (MPS) o Next generation sequencing (NGS) que sus ventajas son el análisis simultáneo de un grupo amplio de genes relacionados con la patología. Son más rápido que las técnicas clásicas de secuenciación Sanger para un mismo número de genes. Es más eficaz, mayor probabilidad de encontrar la causa de la enfermedad, el coste es menor en relación al número de genes secuenciados(210, 211). La técnica ideada por Sanger nos proporcionaba una buena resolución para detectar variantes genéticas de pequeño tamaño, pero tiene la limitación de solo poder realizar 96 o 384 reacciones en paralelo (100). Además de una mejora en el coste como hemos dicho, tiene la ventaja de poder detectar todos los tipos de variación genómica en un único experimento.

Una parte muy importante en el esquema de trabajo de un experimento de NGS es el análisis computacional. Las ciencias informáticas han tomado una relevancia crítica en la NGS en el sentido de que sus capacidades son esenciales para manejar y analizar datos biológicos(212). La NGS produce una cantidad de datos sin precedentes que un ordenador común no puede manejar(213). Aunque para algunas plataformas existen herramientas de manejo de datos y análisis en un único programa, cualquier tarea no trivial a realizar con los datos requerirá al menos de una persona con conocimientos en bioinformática. En el futuro las compañías de *software* y los proveedores de equipos de NGS desarrollarán programas, con los que no será imprescindible tener conocimientos en bioinformática para analizar datos de secuenciación masiva, aunque este hecho podría limitar al usuario a sólo aprovechar las funciones predefinidas en ese hipotético *software* (214).

Los laboratorios de investigación de Otorrinolaringología y de Nefrología de la Universidad de Iowa, crean la plataforma OtosCOPE R, en ella mediante tecnología MPS, se pueden detectar la gran mayoría de los casos de HNS sindrómicas y no sindrómicas(215). Como consecuencia de los resultados hallados recomiendan restringir las pruebas genéticas a pacientes con historia familiar y en casos esporádicos a personas con pérdida de audición simétrica.

Ya en las guías Británica y Americana recomiendan tras un primer análisis en buscar del la mutación 35delG, seguir con las técnicas MPS o NGS.

En el presente se empieza a considerar el test genético, como uno elemento más diagnóstico en el caso de hipoacusia. También encontramos artículos que nos hablan del estudio prenatal (141, 204).

En el futuro será la manipulación genética de los genes mutados (216), pero también habrá que atender a los criterios éticos, y leyes pertinentes. Empezamos a encontrar en la literatura múltiples investigaciones, en las que se ha manipulado los genes de ratones con sordera. Primero se centraron en anular la conexina 26 de los ratones(217) (218), después en buscar el vehículo para llevar el gen Cx a la cóclea (219, 220) como los de Miwa (221) en el que en ratones carentes del Cx30, se le realiza una transferencia transuterina del gen de la Cx30, viéndose como recuperan la expresión de la Cx30 y restauran la audición normal.

Takashi (222) en 2015 parte de ratones con hipoacusia debido a la GJB2, realizando una transferencia génica en las primera etapas postnatales, antes de que ocurra la degeneración de las células ciliadas, previniendo la aparición de la sordera. De este último estudio sabemos que los canales pueden ser solo de Cx26 o CX30 o mixtos, y que estos mixtos pueden mantener el K, no produciendo la degeneración de las células ciliadas.

En las pruebas genéticas, la realización de un protocolo diagnóstico paso a paso, es más eficiente y coste-efectivo, que efectuar todas las pruebas simultáneas (193). Métodos como el Otoscope R parece que pueden mejorar el coste-beneficio de las pruebas de detección de las sorderas genéticas (209). Los métodos de secuenciación masiva no son rentables ni en tiempo, ni en costo por el momento (215). Las pruebas genéticas son rentables coste beneficio (211) permiten el desarrollo de terapias específicas, no solamente dirigidas hacia el defecto genético, sino también a corregir los efectos fisiológicos de la alteración. También la detección de una mutación, elimina innecesarias exploraciones realizadas con fines diagnósticos.

- .— *Hipoacusia neurosensorial profunda asociada a la alteración del gen que codifica la conexina 26* —

## VI-. CONCLUSIONES



## VI-. CONCLUSIONES

La mutación 35delG es la responsable del 48% de los casos de sordera, y del 75% de las mutaciones de la conexina 26. Es por tanto la causa más frecuente de hipoacusia neurosensorial no sindrómica en nuestro medio.

Los protocolos de diagnóstico de hipoacusia el diagnóstico genético empieza a ser una prueba más a realizar, y es recomendado por diferentes guías de manejo de hipoacusia. En la Unidad de hipoacusia las pruebas genéticas están incluidas en el protocolo de estudio. Conocer el responsable de la hipoacusia es la base del consejo genético realizado en el Servicio de Genética.

Las terapias génicas, en las cuales podemos restaurar un gen defectuoso y por tanto evitar el defecto, están en pleno de desarrollo en animales de experimentación.

Las técnicas, dirigidas a la búsqueda de la mutación 35delG mediante PCR alelo específico son coste/efectivo, debido a la frecuencia de la mutación, y los beneficios obtenidos desde el punto de vista de la prevención. Las técnicas de secuenciación masiva (MPS o NGS) tienen aún un coste elevado.



## VII-. BIBLIOGRAFIA





## VII-. BIBLIOGRAFÍA

1. Rouviere H. Anatomie Humaine, éd. 4, Paris, 1940. Masson & Cie.
2. Testut L, Jacob O, Billet H. Précis-atlas de dissection des régions: Doin; 1921.
3. Ladreit de Lacharrière J. Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales. Oreille. Paris: édition Dechambre; 1882.
4. Tortora GJ, Derrickson BH. Principles of anatomy and physiology: Wiley; 2011.
5. Kelly KE, Mohs DC. The external auditory canal. Anatomy and physiology. Otolaryngologic clinics of North America. 1996;29(5):725-39.
6. Park C, Lineaweaver WC, Rumly TO, Buncke HJ. Arterial supply of the anterior ear. Plastic and reconstructive surgery. 1992;90(1):38-44.
7. Pinar YA, Ikiz ZAA, Bilge O. Arterial anatomy of the auricle: its importance for reconstructive surgery. Surgical and Radiologic Anatomy. 2003;25(3-4):175-9.
8. Pinar YA, Govsa F. Anatomy of the superficial temporal artery and its branches: its importance for surgery. Surgical and Radiologic Anatomy. 2006;28(3):248-53.
9. Lazorthes G. Le système nerveux périphérique: Masson; 1955.
10. Netter FH. Atlas of human anatomy: Elsevier España; 2006.
11. Sobotta J, Figge FHJ. Atlas of human anatomy: Hafner Press; 1974.
12. Thomassin J-M, Dessi P, Danvin J-B, Forman C. Anatomía del oído medio. EMC-Otorrinolaringología. 2008;37(3):1-20.
13. Schuknecht HF, Gulya AJ. Anatomy of the temporal bone with surgical implications: Lea & Febiger; 1986.
14. Proctor B. Surgical anatomy of the ear and temporal bone: Thieme Medical Pub; 1989.
15. Gulya AJ. Anatomy of the temporal bone with surgical implications. Otolaryngology-Head and Neck Surgery. 1995;112(5):P165.
16. Gray H, Goss CM, Alvarado DM. Anatomy of the human body: Lea & Febiger Philadelphia; 1973.
17. Vallejo L, Gil-Carcedo S, Gil-Carcedo L, Sánchez C. Anatomía aplicada del oído externo y medio. La Trompa de Eustaquio. Tratado de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello Editorial Médica Panamericana SA. 1999;2:845-66.
18. Gil-Carcedo L. Patología General de las otitis. Gil-Carcedo LM Otología, 2ªed Ed Médica Panamericana. 2005.



19. Marquet J. Controversy about the eustachian tube function. *Acta oto-rhino-laryngologica Belgica*. 1988;43(5):412-6.
20. Eden AR, Gannon PJ, Laitman JT. Mechanisms of middle ear aeration: anatomic and physiologic evidence in primates. *The Laryngoscope*. 1990;100(1):67-75.
21. Gil-Loyzaga P PBJ. Anatomía e histología de la cóclea. *Tratado de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello* Editorial Médica Panamericana SA. 2007;Tomoll, *Otología*.:Capítulo 69: 867-78.
22. Gil-Loyzaga P, Merchan M, Collía F. The ultrastructure of the spiral ligament of the rodent cochlea. *Acta Microscópica*. 1987;10(3):399-409.
23. Spoendlin H. Primary neurons and synapses. *Ultrastructural atlas of the inner ear* Butterworths, London. 1984:133-64.
24. Gil-Loyzaga P. Histochemistry of glycoconjugates of the auditory receptor-functional implications. *Progress in histochemistry and cytochemistry*. 1997;32(1):iii-78.
25. Gil-Loyzaga PE. Neurotransmitters of the olivocochlear lateral efferent system: with an emphasis on dopamine. *Acta oto-laryngologica*. 1995;115(2):222-6.
26. Jahn AF, Santos-Sacchi J. *Physiology of the Ear*: Taylor & Francis US; 2001.
27. Pickles JO. *An introduction to the physiology of hearing*: BRILL; 2012.
28. Durrant J, Lovrinic J. *Bases of Hearing Science*, Williams and Wilkins. Baltimore; 1995.
29. Tonndorf J, Khanna SM. Tympanic–Membrane Vibrations in Human Cadaver Ears Studied by Time–Averaged Holography. *The Journal of the Acoustical Society of America*. 1972;52(4B):1221-33.
30. Uziel A. El oído externo y el oído medio. *Fisiología Neurosensorial en ORL* Ed Masson SA París Pag. 1985:66-74.
31. Gil-Loyzaga P, Poch Broto J. Fisiología del sistema auditivo periférico. *Tratado de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello* Editorial Médica Panamericana SA. 2000;2:953-67.
32. Gil-Carcedo LM, Valdezate LAV, Sañudo EG-C. *Otología*: Editorial Médica Panamericana; 2004.
33. Palomar V. Fisiología del oído externo y medio. Abelló P, Traserra (eds) *Otorrinolaringología*. 1992:49-53.
34. Gil-Loyzaga P, Pujol R. Fisiología del receptor y la vía auditiva. *Fisiología Humana*, 2ª ed Nueva York: McGraw Hill-Interamericana. 2005:232-45.
35. Zwislocki JJ. Analysis of cochlear mechanics. *Hearing research*. 1986;22(1):155-69.
36. Aran J, Harrison R. Fisiología de la cóclea. *Fisiología Neurosensorial en ORL* París: Masson SA. 1985:75-102.
37. Russell I, Sellick P. Intracellular studies of hair cells in the mammalian cochlea. *The Journal of Physiology*. 1978;284(1):261-90.



38. Hudspeth A. The cellular basis of hearing: the biophysics of hair cells. *Science*. 1985;230(4727):745-52.
39. Gitter A, Preyer S. Eine kurze Geschichte der Hörforschung-Teil 4: Physiologie. *Laryngo-Rhino-Otologie*.71(02):110-5.
40. Weber E, Bray C. Action currents in the auditory nerve in response to acoustic stimulation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1930;10:344-50.
41. Brownell WE, Bader CR, Bertrand D, De Ribaupierre Y. Evoked mechanical responses of isolated cochlear outer hair cells. *Science*. 1985;227(4683):194-6.
42. Zheng J, Shen W, He DZ, Long KB, Madison LD, Dallos P. Prestin is the motor protein of cochlear outer hair cells. *Nature*. 2000;405(6783):149-55.
43. Kemp DT. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *The Journal of the Acoustical Society of America*. 1978;64(5):1386-91.
44. Poch Broto J G-LP. Fisiología coclear. *Hipoacusia Neurosensorial Madrid*. 2003:Capítulo 1: -9.
45. Sánchez M, Merchán M. Estructura y función del cerebro auditivo. *Tratado de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello* Editorial Médica Panamericana SA.2:969-96.
46. Gómez J, Suárez C. Vías y centros de la audición. *Hipoacusia Neurosensorial Madrid*: Masson. 2003:11-9.
47. Oliver DL. Neuronal organization in the inferior colliculus. *The inferior colliculus*: Springer; 2005. p. 69-114.
48. Gil-Carcedo Sañudo E, Vallejo Valdezate L, Gil Carcedo L, Menéndez Argüelles M, Vallejo Valdezate L, Vallejo Valdezate L, et al. Clasificación de las hipoacusias. *Hipoacusia neurosensorial*. Vallejo Valdezate L, Vallejo Valdezate L, Gil Carcedo García LM *Hipoacusia neurosensorial España*: Elsevier. 2003:21-32.
49. Arellano B. Caracterización genética de sorderas neurosensoriales [tesis doctoral]. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid. 2000.
50. Marco J, Sanchís SM. Libro blanco sobre hipoacusia: detección precoz de la hipoacusia en recién nacidos: Ministerio de Sanidad y Consumo, Secretaría General Técnica; 2003.
51. Lee K. *Principios de Otorrinolaringología*: McGraw Hill Brasil.
52. López N GN, Rabionet R, Arboles Mº L Estival X. Genética y genómica de la sordera no sindrómica. *Tratado de Otorrinolaringología Pediátrica Ponencia oficial de la SEORL*. 2000:227-44.
53. Lalwani A, Lynch E, Mhatre A. Molecular Genetics. A brief overview. *Pediatric Otology and Neurotology* Ed AK Lalwani and KM Grundfast Lippincott-Raven. 1998:49-86.
54. Español S. BUREAU INTERNATIONAL D'AUDIOPHONOLOGIE.



55. Organization WH. WHO global estimates on prevalence of hearing loss. Mortality and Burden of Diseases and Prevention of Blindness and Deafness WHO. 2012.
56. Moreno Herrero F, Moreno-Pelayo M, del Castillo Fernández del Pino F, del Castillo Fernández del Pino I. Genética de la hipoacusia neurosensorial. Gil-Carcedo Garcia LM" Hipoacusia neurosensorial" Formación continuada de la SEORL Masson. 2003:33-44.
57. Cohen MM, Gorlin RJ. Epidemiology, etiology and genetic patterns. Hereditary hearing loss and its syndromes. 1995;28:9-21.
58. Van Camp G, Willems PJ, Smith R. Nonsyndromic hearing impairment: unparalleled heterogeneity. American journal of human genetics. 1997;60(4):758.
59. Peña Casanova J. Introducción a la patología y terapéutica del lenguaje. Manual de Logopedia J Peña Casanova, 2ª ed Masson. 1994.
60. Manrique M, Cervera-Paz FJ, Huarte A, Perez N, Molina M, García-Tapia R. Cerebral auditory plasticity and cochlear implants. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. 1999;49:S193-S7.
61. del Castillo Fernández del Pino I, Moreno Pelayo M, Moreno Herrero F. Bases genéticas de las hipoacusias. Hipoacusia Neurosensorial Madrid: Masson, Capítulo. 2003;117:1719-41.
62. Kelsell D, Dunlop J, Stevens H, Lench N, Liang J, Parry G, et al. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. Nature. 1997;387(6628):80-3.
63. Morton N. Genetic epidemiology of hearing impairment. Annals of the New York Academy of Sciences. 1991;630(1):16-31.
64. Marazita ML, Ploughman LM, Rawlings B, Remington E, Arnos KS, Nance WE. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the US school-age population. American journal of medical genetics. 1993;46(5):486-91.
65. Denoyelle F, Marlin S, Weil D, Moatti L, Chauvin P, Garabédian É-N, et al. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counselling. The Lancet. 1999;353(9161):1298-303.
66. Lavinsky L CU. Casuas de sordera neurosensorial. Sih T Otorrinolaringología pediátrica. 1999:199-207.
67. Snoeckx RL, Huygen PL, Feldmann D, Marlin S, Denoyelle F, Waligora J, et al. GJB2 mutations and degree of hearing loss: a multicenter study. The American Journal of Human Genetics. 2005;77(6):945-57.
68. Manrique M, Morera C, Moro M. Detección precoz de la hipoacusia infantil en recién nacidos de alto riesgo. Estudio multicéntrico. An Esp Pediatr. 1994;40(suppl 59):11-45.
69. Petit C, Levilliers J, Hardelin J-P. Molecular genetics of hearing loss. Annual review of genetics. 2001;35(1):589-645.



70. Weiling F. Historical study: Johann Gregor Mendel 1822–1884. *American journal of medical genetics*. 1991;40(1):1-25.
71. Mendel G, Corcos AF, Monaghan FV. *Gregor Mendel's Experiments on plant hybrids: a guided study*: Rutgers University Press; 1993.
72. Fay EA. *Marriages of the Deaf in America*: Volta Bureau; 1898.
73. Sturtevant AH, Beadle GW. *An introduction to genetics*. An introduction to genetics. 1939.
74. Beadle GW. *The genes of men and molds*1948.
75. Beadle GW. *Gene structure and gene action*: Springer; 1955.
76. Morange M. *History of molecular biology*: Wiley Online Library; 1998.
77. Wilkins MHF, Stokes AR, Wilson HR. *Molecular structure of nucleic acids: molecular structure of deoxyribose nucleic acids*. *Nature*. 1953;171(4356):738-40.
78. Avery Jr O. Oswald Theodore Avery.
79. Coburn AF. Oswald Theodore Avery and DNA. *Perspectives in biology and medicine*. 1969;12(4):623-30.
80. Watson JD, Crick FH. *Molecular structure of nucleic acids*. *Nature*. 1953;171(4356):737-8.
81. López Espinosa JA. Retrospectiva de los premios Nobel de Medicina y Fisiología. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 1997;16(1):16-29.
82. Ochoa S, Stern JR, Schneider MC. Enzymatic synthesis of citric acid II. Crystalline condensing enzyme. *Journal of Biological Chemistry*. 1951;193(2):691-702.
83. Kornberg A. Remembering Our Teachers. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(1):3-11.
84. Kornberg A, Horecker BL, Cornudella L. *Reflections on biochemistry: in honour of Severo Ochoa*: Elsevier; 2014.
85. Nirenberg M, Leder P. Rna Codewords and protein synthesis the effect of trinucleotides upon the binding of sRNA to ribosomes. *Science*. 1964;145(3639):1399-407.
86. Fraser G, editor *The causes of profound deafness in childhood*. Ciba Foundation Symposium-Sensorineural Hearing Loss; 1970: Wiley Online Library.
87. Cremers C. An approach to the causes of early childhood deafness. *Clinical Otolaryngology & Allied Sciences*. 1978;3(1):21-6.
88. Holten A, Parving A. Aetiology of hearing disorders in children at the schools for the deaf. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 1985;10(3):229-36.
89. Marres HA, Cremers W. Autosomal recessive nonsyndromal profound childhood deafness in a large pedigree: audiometric features of the affected persons and the obligate carriers. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 1989;115(5):591-5.
90. Reardon W. Genetic deafness. *Journal of medical genetics*. 1992;29(8):521.
- .— *Hipoacusia neurosensorial profunda asociada a la alteración del gen que codifica la conexina 26*—



91. Kawaguchi K. Hipoacusia de causa genética. Rev Otorrinolaringol Cir Cabeza Cuello [Artículo en Línea]. 2005;65:39-44.
92. Guilford P1 BAS, Blanchard S, Levilliers J, Weissenbach J, Belkahia A, Petit C. A non-syndrome form of neurosensory, recessive deafness maps to the pericentromeric region of chromosome 13q. Nature Genet. 1994(6):24-8.
93. Newton VE. Aetiology of bilateral sensori-neural hearing loss in young children. The Journal of laryngology and otology Supplement. 1985;10:1.
94. Subirana J. Estructura del ADN. Alhambra, Madrid. 1985:2281-3.
95. Mange EJ, Mange AP. Basic human genetics: Sinauer Associates, Incorporated; 1999.
96. Calero JRL. Genética general: conceptos fundamentales: Síntesis; 1999.
97. Paz y Miño Cepeda C. Genética humana: conceptos básicos e investigaciones en el Ecuador: Fundación Científica Cultural y Educativa Simon Bolivar; 1994.
98. Mullis KB, Erlich HA, Arnheim N, Horn GT, Saiki RK, Scharf SJ. One of the first Polymerase Chain Reaction (PCR) patents. Google Patents; 1987.
99. Mullis KB. The unusual origin of the polymerase chain reaction. Scientific American. 1990;262(4):56-61.
100. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1977;74(12):5463-7.
101. Watson JD, Mullis KB, Ferre F, Gibbs RA. The polymerase chain reaction: Springer Science & Business Media; 2012.
102. Innis MA, Myambo KB, Gelfand DH, Brow M. DNA sequencing with *Thermus aquaticus* DNA polymerase and direct sequencing of polymerase chain reaction-amplified DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1988;85(24):9436-40.
103. Innis M. Optimization of PCRs. In 'PCR protocols: a guide to methods and applications'. (Eds MA Innis, DH Gelfand, JJ Sninsky, TJ White) pp. 3-12. Academic Press Inc.: San Diego, California, USA) <http://www.publish.csiro.au/journals/app>; 1990.
104. Dieffenbach C, Lowe T, Dveksler G. General concepts for PCR primer design. PCR Methods Appl. 1993;3(3):S30-S7.
105. Niederhauser C, Höfelein C, Wegmüller B, Lüthy J, Candrian U. Reliability of PCR decontamination systems. Genome Research. 1994;4(2):117-23.
106. Wilding P, Kricka LJ. Polymerase chain reaction. Google Patents; 1996.
107. Lodish HF, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Molecular cell biology: Citeseer; 2000.
108. Bruzzone R, White TW, Paul DL. Connections with connexins: the molecular basis of direct intercellular signaling. Ejb Reviews 1996: Springer; 1997. p. 135-61.



109. Meşe G, Richard G, White TW. Gap junctions: basic structure and function. *Journal of Investigative Dermatology*. 2007;127(11):2516-24.
110. Goodenough DA, Goliger JA, Paul DL. Connexins, connexons, and intercellular communication. *Annual review of biochemistry*. 1996;65(1):475-502.
111. Sanchez HA, Verselis VK. Aberrant Cx26 hemichannels and keratitis-ichthyosis-deafness syndrome: insights into syndromic hearing loss. *Frontiers in cellular neuroscience*. 2014;8.
112. Beyer EC, Paul DL, Goodenough DA. Connexin family of gap junction proteins. *Journal of Membrane Biology*. 1990;116(3):187-94.
113. Nadol JB, Mulroy MJ, Goodenough DA, Weiss TF. Tight and gap junctions in a vertebrate inner ear. *American Journal of Anatomy*. 1976;147(3):281-301.
114. Kumar NM, Gilula NB. The gap junction communication channel. *Cell*. 1996;84(3):381-8.
115. Maeda S, Nakagawa S, Suga M, Yamashita E, Oshima A, Fujiyoshi Y, et al. Structure of the connexin 26 gap junction channel at 3.5 Å resolution. *Nature*. 2009;458(7238):597-602.
116. Suárez JE, Bravo AI. Conexinas y sistema cardiovascular. *Revista argentina de cardiología*. 2006;74(3):149-56.
117. Harris AL, Bevans CG. Exploring hemichannel permeability in vitro. *Connexin Methods and Protocols*: Springer; 2001. p. 357-77.
118. Ahmad S, Chen S, Sun J, Lin X. Connexins 26 and 30 are co-assembled to form gap junctions in the cochlea of mice. *Biochemical and biophysical research communications*. 2003;307(2):362-8.
119. Scemes E, Suadicani SO, Dahl G, Spray DC. Connexin and pannexin mediated cell-cell communication. *Neuron glia biology*. 2007;3(03):199-208.
120. Adachi N, Yoshida T, Nin F, Ogata G, Yamaguchi S, Suzuki T, et al. The mechanism underlying maintenance of the endocochlear potential by the K<sup>+</sup> transport system in fibrocytes of the inner ear. *The Journal of physiology*. 2013;591(18):4459-72.
121. Kikuchi T, Kimura RS, Paul DL, Adams JC. Gap junctions in the rat cochlea: immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Anatomy and embryology*. 1995;191(2):101-18.
122. Lautermann J, Wouter-Jan F, Altenhoff P, Grümmer R, Traub O, Frank H-G, et al. Expression of the gap-junction connexins 26 and 30 in the rat cochlea. *Cell and tissue research*. 1998;294(3):415-20.
123. Forge A, Becker D, Casalotti S, Edwards J, Marziano N, Nevill G. Gap junctions in the inner ear: comparison of distribution patterns in different vertebrates and assesment of connexin composition in mammals. *Journal of Comparative Neurology*. 2003;467(2):207-31.
124. Zhao HB, Yu N. Distinct and gradient distributions of connexin26 and connexin30 in the cochlear sensory epithelium of guinea pigs. *Journal of Comparative Neurology*. 2006;499(3):506-18.
125. Liu Y-P, Zhao H-B. Cellular characterization of Connexin26 and Connexin30 expression in the cochlear lateral wall. *Cell and tissue research*. 2008;333(3):395-403.



126. Duman D, Tekin M. Autosomal recessive nonsyndromic deafness genes: a review. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*. 2012;17:2213.
127. Lang F, Vallon V, Knipper M, Wangemann P. Functional significance of channels and transporters expressed in the inner ear and kidney. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2007;293(4):C1187-C208.
128. Zdebik AA, Wangemann P, Jentsch TJ. Potassium ion movement in the inner ear: insights from genetic disease and mouse models. *Physiology*. 2009;24(5):307-16.
129. Chan DK, Schrijver I, Chang KW. Connexin-26-associated deafness: Phenotypic variability and progression of hearing loss. *Genetics in Medicine*. 2010;12(3):174-81.
130. Inoshita A, Iizuka T, Okamura H-O, Minekawa A, Kojima K, Furukawa M, et al. Postnatal development of the organ of Corti in dominant-negative Gjb2 transgenic mice. *Neuroscience*. 2008;156(4):1039-47.
131. Dalamón V, Elgoyhen AB. Hipoacusias de origen genético: Actualización. *Rev Méd Clín Condes*. 2009;20(4):408-17.
132. Orgánica L. Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal. BOE de [Internet]. 1999;14.
133. Vintró E. Hipócrates y la nosología hipocrática: Instituto de estudios helénicos, Universidad de Barcelona; 1973.
134. Pasteur L. On the extension of the germ theory to the etiology of certain common diseases. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences Paris*. 1880;60:1033-44.
135. Castillo CF. Los postulados de Koch: revisión histórica y perspectiva actual. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 2007(2):262-6.
136. Practice P, Committee G. American College of Medical Genetics and Genomics guideline for the clinical evaluation and etiologic diagnosis of hearing loss. *Genetics in Medicine*. 2014;16(4):347-55.
137. 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. *Human molecular genetics*. 1997;6(12):2173-7.
138. Mason JA, Herrmann KR. Universal infant hearing screening by automated auditory brainstem response measurement. *Pediatrics*. 1998;101(2):221-8.
139. Reardon W. Connexin 26 gene mutation and autosomal recessive deafness. *The Lancet*. 1998;351(9100):383-4.
140. Murgia A, Orzan E, Polli R, Martella M, Vinanzi C, Leonardi E, et al. Cx26 deafness: mutation analysis and clinical variability. *Journal of medical genetics*. 1999;36(11):829-32.
141. Marlin S, Garabedian E-N, Roger G, Moatti L, Matha N, Lewin P, et al. Connexin 26 gene mutations in congenitally deaf children: pitfalls for genetic counseling. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 2001;127(8):927-33.





142. BAAP. Guidelines for aetiological investigation into severe to profound bilateral permanent childhood hearing impairment. 2015.
143. Batalla FN, Casaubón CJ, Canet JMS, Allende AV, Ugarteche JZ. Recomendaciones CODEPEH 2014: Comisión para la Detección Precoz de la Hipoacusia-CODEPEH. FIAPAS: Federación Ibérica de Asociaciones de Padres y Amigos de los Sordos. 2014(151):1-24.
144. Kenna MA, Wu B-L, Cotanche DA, Korf BR, Rehm HL. Connexin 26 studies in patients with sensorineural hearing loss. Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery. 2001;127(9):1037-42.
145. Zelante L, Gasparini P, Estivill X, Melchionda S, D'Agruma L, Govea N, et al. Connexin26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans. Human molecular genetics. 1997;6(9):1605-9.
146. Estivill X, Fortina P, Surrey S, Rabionet R, Melchionda S, D'Agruma L, et al. Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. The Lancet. 1998;351(9100):394-8.
147. Wilcox SA, Osborn AH, Allen-Powell DR, Maw MA, Dahl H-HM, Gardner RM. Connexin26 deafness in several interconnected families. Journal of medical genetics. 1999;36(5):383-5.
148. Álvarez A, del Castillo I, Villamar M, Aguirre LA, González-Neira A, López-Nevot A, et al. High prevalence of the W24X mutation in the gene encoding connexin-26 (GJB2) in Spanish Romani (gypsies) with autosomal recessive non-syndromic hearing loss. American Journal of Medical Genetics Part A. 2005;137(3):255-8.
149. Maheshwari M, Vijaya R, Ghosh M, Shastri S, Kabra M, Menon P. Screening of families with autosomal recessive non-syndromic hearing impairment (ARNSHI) for mutations in GJB2 gene: Indian scenario. American Journal of Medical Genetics Part A. 2003;120(2):180-4.
150. RamShankar M, Girirajan S, Dagan O, Shankar HR, Jalvi R, Rangasayee R, et al. Contribution of connexin26 (GJB2) mutations and founder effect to non-syndromic hearing loss in India. Journal of medical genetics. 2003;40(5):e68-e.
151. Pampanos A, Economides J, Iliadou V, Neou P, Leotsakos P, Voyiatzis N, et al. Prevalence of GJB2 mutations in prelingual deafness in the Greek population. International journal of pediatric otorhinolaryngology. 2002;65(2):101-8.
152. Uyguner O, Emiroglu M, Uzumcu A, Hafiz G, Ghanbari A, Baserer N, et al. Frequencies of gap-and tight-junction mutations in Turkish families with autosomal-recessive non-syndromic hearing loss. Clinical genetics. 2003;64(1):65-9.
153. Roux A-F, Pallares-Ruiz N, Vielle A, Faugère V, Templin C, Leprevost D, et al. Molecular epidemiology of DFNB1 deafness in France. BMC medical genetics. 2004;5(1):5.
154. Seeman P, Malikova M, Rašková D, Bendova O, Groh D, Kubalkova M, et al. Spectrum and frequencies of mutations in the GJB2 (Cx26) gene among 156 Czech patients with pre-lingual deafness. Clinical genetics. 2004;66(2):152-7.



155. Tóth T, Kupka S, Haack B, Riemann K, Braun S, Fazakas F, et al. GJB2 mutations in patients with non-syndromic hearing loss from Northeastern Hungary. *Human mutation*. 2004;23(6):631-2.
156. Gallo-Terán J, Morales-Angulo C, Rodríguez-Ballesteros M, Moreno-Pelayo M, 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 del ARNr 12S mitocondrial en sujetos con hipoacusia neurosensorial no sindrómica de inicio congénito o en la infancia. *Acta Otorrinolaringologica Espanola*. 2005;56(10):463-8.
157. Antoniadi T, Rabionet R, Kroupis C, Aperis G, Economides J, Petmezakis J, et al. High prevalence in the Greek population of the 35delG mutation in the connexin 26 gene causing prelingual deafness. *Clinical genetics*. 1999;55(5):381-2.
158. Lucotte G, Diéterlen F. The 35delG mutation in the connexin 26 gene (GJB2) associated with congenital deafness: European carrier frequencies and evidence for its origin in ancient Greece. *Genetic testing*. 2005;9(1):20-5.
159. Menéndez I, del Castillo I, Carrillo B, Villamar M, Ponce de León M, Uriarte A, et al. Mutaciones del gen de la conexina 26 (GJB2) en familias cubanas con sorderas no sindrómicas autosómicas recesivas. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 2001;20(3):167-72.
160. Gasmelseed NM, Schmidt M, Magzoub MM, Macharia M, Elmustafa OM, Ototo B, et al. Low frequency of deafness-associated GJB2 variants in Kenya and Sudan and novel GJB2 variants. *Human mutation*. 2004;23(2):206-7.
161. 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.
162. Van Laer L, Coucke P, Mueller R, Caethoven G, Flothmann K, Prasad S, et al. A common founder for the 35delG GJB2 gene mutation in connexin 26 hearing impairment. *Journal of medical genetics*. 2001;38(8):515-8.
163. Brobby GW, Müller-Myhsok B, Horstmann RD. Connexin 26 R143W mutation associated with recessive nonsyndromic sensorineural deafness in Africa. *New England Journal of Medicine*. 1998;338(8):548-50.
164. Sefiani A. Genetic disorders in Morocco. *Genetic disorders Among Arab populations*: Springer; 2010. p. 455-72.
165. Abe S, Usami S-i, Shinkawa H, Kelley PM, Kimberling WJ. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese. *Journal of medical genetics*. 2000;37(1):41-3.
166. Tsukada K, Nishio S, Usami S. A large cohort study of GJB2 mutations in Japanese hearing loss patients. *Clinical genetics*. 2010;78(5):464-70.
167. Huculak C, Bruyere H, Nelson T, Kozak F, Langlois S. V37I connexin 26 allele in patients with sensorineural hearing loss: evidence of its pathogenicity. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2006;140(22):2394-400.



168. Liu X, Xia X, Ke X, Ouyang X, Du L, Liu Y, et al. The prevalence of connexin 26 (GJB2) mutations in the Chinese population. *Human genetics*. 2002;111(4-5):394-7.
169. Yan D, Park H-J, Ouyang XM, Pandya A, Doi K, Erdenetungalag R, et al. Evidence of a founder effect for the 235delC mutation of GJB2 (connexin 26) in east Asians. *Human genetics*. 2003;114(1):44-50.
170. Qi L, Pu D, De-liang H, Jin Z, Guo-jian W, Qing-wen Z, et al. Prevalence of the GJB2 Mutations in Deafness Patients of Different Ethnic Origins in Xinjiang. *Journal of Otology*. 2007;2(1):23-9.
171. Chang KW. Genetics of Hearing Loss—Nonsyndromic. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 2015.
172. Gasparini P, Rabionet R, Barbujani G, Melchionda S, Petersen M, Brøndum-Nielsen K, et al. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. Genetic Analysis Consortium of GJB2 35delG. *European journal of human genetics: EJHG*. 2000;8(1):19-23.
173. Wattanasirichaigoon D, Limwongse C, Jariengprasert C, Yenchitsomanus P, Tocharoenthanaphol C, Thongnoppakhun W, et al. High prevalence of V37I genetic variant in the connexin-26 (GJB2) gene among non-syndromic hearing-impaired and control Thai individuals. *Clinical genetics*. 2004;66(5):452-60.
174. Hwa H-L, Ko T-M, Hsu C-J, Huang C-H, Chiang Y-L, Oong J-L, et al. Mutation spectrum of the connexin 26 (GJB2) gene in Taiwanese patients with prelingual deafness. *Genetics in Medicine*. 2003;5(3):161-5.
175. Pinto F, Gonzalez A, Hernandez M, Larruga J, Cabrera V. Sub-Saharan influence on the Canary Islands population deduced from G6PD gene sequence analysis. *Human biology*. 1996:517-22.
176. Schwidetzky I, de Investigaciones Arqueológicas TS. La población prehispánica de las Islas Canarias: investigaciones antropológicas: Museo arqueológico; 1963.
177. de Abreu Galindo J, Cioranescu A. Historia de la conquista de las siete islas de Canaria 1977.
178. Lobo Cabrera M. La población esclava de Telde en el siglo XVI. *Hispania Revista Española de Historia*. 1982;42(150):41-89.
179. Flores C, Maca-Meyer N, Perez J, González AM, Larruga JM, Cabrera VM. A predominant European ancestry of paternal lineages from Canary Islanders. *Annals of human genetics*. 2003;67(2):138-52.
180. Lucotte G, Mercier G. Meta-analysis of GJB2 mutation 35delG frequencies in Europe. *Genetic testing*. 2001;5(2):149-52.
181. Ratbi I, Hajji S, Ouldin K, Aboussair N, Feldmann D, Sefiani A. [The mutation 35delG of the gene of the connexin 26 is a frequent cause of autosomal-recessive non-syndromic hearing loss in Morocco]. *Archives de pediatrie: organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*. 2007;14(5):450-3.



182. Peralta EM, Rodríguez YT, Quesada YG, Torres IJ, Espinosa TC. Frecuencia de la mutación 35delG en pacientes con hipoacusia prelingual no sindrómica de herencia autosómica recesiva. 2007.
183. Gavilán YÁ, Peralta EM, Quesada YG, Guas HR, Pantoja CD. Detección de las mutaciones 35delG y A1555G en discapacitados auditivos de provincia La Habana. *Panorama Cuba y Salud*. 2014;4(3):16-21.
184. Rabionet R, Zelante L, López-Bigas N, D'Agruma L, Melchionda S, Restagno G, et al. Molecular basis of childhood deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene. *Human genetics*. 2000;106(1):40-4.
185. Cryns K, Orzan E, Murgia A, Huygen P, Moreno F, Del Castillo I, et al. A genotype-phenotype correlation for GJB2 (connexin 26) deafness. *Journal of medical genetics*. 2004;41(3):147-54.
186. Arslan E, Orzan E, Mardni A, Read A, Stephens D. The audiological approach to genetic hearing impairment in children. *Genetics and hearing impairment London: Whurr*. 1996:82-91.
187. Lucotte G. High prevalences of carriers of the 35delG mutation of connexin 26 in the Mediterranean area. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2007;71(5):741-6.
188. Neocleous V, Portides G, Anastasiadou V, Phylactou LA. Determination of the carrier frequency of the common GJB2 (connexin-26) 35delG mutation in the Greek Cypriot population. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2006;70(8):1473-7.
189. Mahdiah N, Rabhani B. Statistical study of 35delG mutation of GJB2 gene: a meta-analysis of carrier frequency. *International journal of audiology*. 2009;48(6):363-70.
190. Brunger JW, Murray GS, O'Riordan M, Matthews AL, Smith RJ, Robin NH. Parental attitudes toward genetic testing for pediatric deafness. *The American Journal of Human Genetics*. 2000;67(6):1621-5.
191. Middleton A, Hewison J, Mueller RF. Attitudes of deaf adults toward genetic testing for hereditary deafness. *The American Journal of Human Genetics*. 1998;63(4):1175-80.
192. Brunger JW, Matthews AL, Smith RH, Robin NH. Genetic testing and genetic counseling for deafness: the future is here. *The Laryngoscope*. 2001;111(4):715-8.
193. Trinidad-Ramos G, de Aguilar VA, Jaudenes-Casaubón C, Núñez-Batalla F, Sequí-Canet JM. Recomendaciones de la Comisión para la Detección Precoz de la Hipoacusia (CODEPEH) para 2010. *Acta Otorrinolaringológica Española*. 2010;61(1):69-77.
194. Farpón RC, Bañales JC. Hipoacusias hereditarias: asesoramiento genético. *Acta Otorrinolaringológica Española*. 2012;63(3):218-29.
195. Estivill X, Govea N, Barceló A, Perelló E, Badenas C, Romero E, et al. Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA A1555G mutation and is enhanced by treatment with aminoglycosides. *The American Journal of Human Genetics*. 1998;62(1):27-35.
196. Ross CJ, Katzov-Eckert H, Dubé M-P, Brooks B, Rassekh SR, Barhdadi A, et al. Genetic variants in TPMT and COMT are associated with hearing loss in children receiving cisplatin chemotherapy. *Nature genetics*. 2009;41(12):1345-9.



197. Oguchi T, Ohtsuka A, Hashimoto S, Oshima A, Abe S, Kobayashi Y, et al. Clinical features of patients with GJB2 (connexin 26) mutations: severity of hearing loss is correlated with genotypes and protein expression patterns. *Journal of human genetics*. 2005;50(2):76-83.
198. Green GE, Scott DA, McDonald JM, Teagle HF, Tomblin BJ, Spencer LJ, et al. Performance of cochlear implant recipients with GJB2-related deafness. *American journal of medical genetics*. 2002;109(3):167-70.
199. Bauer PW, Geers AE, Brenner C, Moog JS, Smith H, Richard J. The effect of GJB2 allele variants on performance after cochlear implantation. *The Laryngoscope*. 2003;113(12):2135-40.
200. Ramos Á, Rodríguez C, Borkoski S, Cuyás JM, Falcón JC, Goenaga L, et al. Implante coclear en hipoacusias con alteración de la conexina 26. *Acta Otorrinolaringológica Española*. 2007;58(5):198-201.
201. Yin A, Liu C, Zhang Y, Wu J, Mai M, Ding H, et al. Genetic counseling and prenatal diagnosis for hereditary hearing loss in high-risk families. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2014;78(8):1356-9.
202. Palmer CG, Martinez A, Fox M, Zhou J, Shapiro N, Sininger Y, et al. A prospective, longitudinal study of the impact of GJB2/GJB6 genetic testing on the beliefs and attitudes of parents of deaf and hard-of-hearing infants. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2009;149(6):1169-82.
203. Ryan M, Miedzybrodzka Z, Fraser L, Hall M. Genetic information but not termination: pregnant women's attitudes and willingness to pay for carrier screening for deafness genes. *Journal of medical genetics*. 2003;40(6):e80-e.
204. Antoniadis T, Pampanos A, Petersen MB. Prenatal diagnosis of prelingual deafness: carrier testing and prenatal diagnosis of the common GJB2 35delG mutation. *Prenatal diagnosis*. 2001;21(1):10-3.
205. Kelley P, Harris D, Comer B, Askew J, Fowler T, Smith S, et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss. *The American Journal of Human Genetics*. 1998;62(4):792-9.
206. Pavia P, Cuervo C, Montilla M, Nicholls S, Puerta C. Diseño y estandarización de una prueba de PCR para la detección específica de *Trypanosoma Cruzi*. *Infectio*. 2011;7(3).
207. Storm K, Wilcox S, Flothmann K, Van Camp G. Determination of the carrier frequency of the common GJB2 (connexin-26) 35delG mutation in the Belgian population using an easy and reliable screening method. *Human mutation*. 1999;14(3):263.
208. Abe S, Yamaguchi T, Usami S-I. Application of deafness diagnostic screening panel based on deafness mutation/gene database using invader assay. *Genetic testing*. 2007;11(3):333-40.
209. Shearer AE, DeLuca AP, Hildebrand MS, Taylor KR, Gurrola J, Scherer S, et al. Comprehensive genetic testing for hereditary hearing loss using massively parallel sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(49):21104-9.
210. Rodríguez-Santiago B, Armengol L. Tecnologías de secuenciación de nueva generación en diagnóstico genético pre-y postnatal. *Diagnóstico Prenatal*. 2012;23(2):56-66.

- .— *Hipoacusia neurosensorial profunda asociada a la alteración del gen que codifica la conexina 26* —



211. Benito-Orejas JI, Benito-González F, Tellería-Oriols JJ. Importancia de las pruebas genéticas en la hipoacusia infantil. 2015.
212. Horner DS, Pavesi G, Castrignanò T, De Meo PDO, Liuni S, Sammeth M, et al. Bioinformatics approaches for genomics and post genomics applications of next-generation sequencing. *Briefings in bioinformatics*. 2009;bbp046.
213. Stein LD. The case for cloud computing in genome informatics. *Genome Biol*. 2010;11(5):207.
214. Richter BG, Sexton DP. Managing and analyzing next-generation sequence data. *PLoS Comput Biol*. 2009;5(6):e1000369.
215. Shearer AE, Black-Ziegelbein EA, Hildebrand MS, Eppsteiner RW, Ravi H, Joshi S, et al. Advancing genetic testing for deafness with genomic technology. *Journal of medical genetics*. 2013;50(9):627-34.
216. Jin Z, Duan M. Genetic deafness and gene therapy approaches for treatment. *Drug discovery today: Disease mechanisms*. 2006;3(1):143-50.
217. Sarma JD, Wang F, Koval M. Targeted gap junction protein constructs reveal connexin-specific differences in oligomerization. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(23):20911-8.
218. Maeda Y, Fukushima K, Nishizaki K, Smith RJ. In vitro and in vivo suppression of GJB2 expression by RNA interference. *Human molecular genetics*. 2005;14(12):1641-50.
219. Iizuka T, Kanzaki S, Mochizuki H, Inoshita A, Narui Y, Furukawa M, et al. Noninvasive in vivo delivery of transgene via adeno-associated virus into supporting cells of the neonatal mouse cochlea. *Human gene therapy*. 2008;19(4):384-90.
220. Sacheli R, Delacroix L, Vandenaekerveken P, Nguyen L, Malgrange B. Gene transfer in inner ear cells: a challenging race. *Gene therapy*. 2013;20(3):237-47.
221. Miwa T, Minoda R, Ise M, Yamada T, Yumoto E. Mouse otocyst transuterine gene transfer restores hearing in mice with connexin 30 deletion-associated hearing loss. *Molecular Therapy*. 2013;21(6):1142-50.
222. Iizuka T, Kamiya K, Gotoh S, Sugitani Y, Suzuki M, Noda T, et al. Perinatal Gjb2 gene transfer rescues hearing in a mouse model of hereditary deafness. *Human molecular genetics*. 2015:ddv109.

## VIII-. ABREVIATURAS

**ADN** ácido desoxirribonucleico

**ARN** ácido ribonucleico

**A** Adenina

**BAAP** Asociación Británica de Médicos audiovestibulares

**CAE** Conducto auditivo externo

**CAI** Conducto auditivo interno

**CCI** Células ciliadas internas

**CCE** Células ciliadas externas

**C** Citosina

**CODEPEH** Comisión para la detección precoz de la hipoacusia

**CSC** Canale Semicirculares

**Cx** conexina

**DFNA** sordera no sindrómica Autosómica Dominante

**DFNB** sordera no sindrómica Autosómica Recesiva

**dNTP** desoxinucleósido-trifosfato

**FEN** endonucleasa con una estructura específica

**FUNCIS** Fundación Canaria de Investigación

**G** Guanina

**mEq** Miliequivalente

**HNS** Hipoacusia neurosensorial

**MPS** análisis de secuenciación masiva

**l** litro

**mEq** Miliequivalente

**mS** Milisegundo

**mV** Microvoltios

**NGS** Next generation sequencing

**OMS/ WHO** Organización mundial de salud

**PAGE** electroforesis en gel de acarosa

**pb** Par de bases

**PCR** Reacción en cadena de la plemirasa

**SNP** polimorfismo de nucleótido único

**PSDM** PCR mediada por sitio-directo de mutagenesis

**SSCP** polimorfismo de cadena sencilla

**RFLP** Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción. Digestión enzimática

**T** timina

**U** Uracilo





## XIX-. ANEXOS

### ANEXO 1

Vicente Olmo Quintana, Presidente del Comité Ético de Investigación Clínica del Complejo Hospitalario Universitario Insular-Materno Infantil,

#### CERTIFICA:

Que este Comité, en la sesión celebrada el 26 de febrero de 2015, ha evaluado la propuesta del **Dr. José María Cuyás Lazarich, Servicio de Otorrinolaringología, Cabeza y Cuello del CHUIMI**, para que se realice el estudio abajo señalado, dando por concluidas las alegaciones y estudiadas las mismas, se decide aceptarlas como válidas y emitir informe favorable.

**“Hipoacusia neurosensorial profunda asociada a la alteración del gen que codifica la conexina 26”.**

**Protocolo:** Versión febrero 2015.

**Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado:** Versión febrero 2015.

1. Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
2. La capacidad del investigador principal, **Dr. José María Cuyás Lazarich, Servicio de Otorrinolaringología, Cabeza y Cuello del CHUIMI**.
3. Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el Consentimiento Informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
4. El alcance de las compensaciones previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
5. El CEIC del Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil, tanto en su composición, como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95).
6. Que se cumplen los preceptos éticos formulados en la orden SAS 3470/2009 y la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial sobre principios éticos para las investigaciones medicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones, así como aquellos exigidos por la normativa aplicable para este tipo de estudios.
7. La composición actual del CEIC del Complejo Hospitalario Universitario Insular-Materno Infantil es la siguiente:

#### PRESIDENTE:

D. Vicente Olmo Quintana                      Farmacéutico de Atención Primaria

#### SECRETARIA:

D<sup>a</sup>. Alicia Díez Del Pino                      Farmacéutica Hospitalaria CHUIMI

**VOCALES:**

D. José L Alonso Bilbao	Epidemiólogo, Área Técnica, Atención Primaria
D <sup>a</sup> Eva Elisa Álvarez León	Subdirectora Médica CHUIMI
D. Mauro Boronat Cortés	Endocrinólogo, Servicio Endocrinología CHUIMI
D <sup>a</sup> . Elisabeth Cheneau	Enfermera, Docencia Salud Mental
D. José María Limiñana Cañal	Bioestadístico, ULPGC
D. Félix López Blanco	Farmacólogo Clínico, Dpto. Farmacología ULPGC
D. Jordi López García	Neumólogo, Servicio de Neumología CHUIMI
D. José Juan Morales Castro	Enfermero, Área de Quirófano CHUIMI
D <sup>a</sup> Beatriz Sánchez Lerma	Farmacéutica Hospitalaria CHUIMI
D. Julio Ángel de Santiago Angulo	Asesor Jurídico CHUIMI
D. Antonio Tugores Cester	Unidad de Investigación, CHUIMI
D <sup>a</sup> . Blanca Valenciano Fuente	Pediatra, Servicio de Pediatría HUMIC
D <sup>a</sup> Teresa Tavío Mendoza	Secretaria Administrativa CEIC

8. Este CEIC emite un **INFORME FAVORABLE**.
9. Y que este CEIC acepta que dicho estudio sea realizado por el investigador en el Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil.

Lo que firmo en Las Palmas de Gran Canaria, a 16 de marzo de 2015

PRESIDENTE DEL COMITÉ

Dr. D. Vicente J. Olmo Quintana

Id:CEIC-CHUIMI-2015/755

## ANEXO 2

### HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

#### **TÍTULO DEL ESTUDIO: Hipoacusia neurosensorial profunda asociada a la alteración del gen que codifica la conexina 26.**

Estimado padre, madre/tutor legal, o paciente, le invitamos a tomar parte en un estudio que permite conocer la incidencia de hipoacusia genética asociada a alteración de la conexina 26 en los pacientes con hipoacusia.

Antes de decidir si desea tomar parte, es importante que entienda por qué se realiza este estudio y qué es lo que implica si acepta participar.

Por favor, lea con detenimiento la siguiente información y, si hay algo que no está claro o desea más información, no deje de consultarlo, puede solicitar la ampliación de información al investigador principal o sus colaboradores, o bien a su médico responsable. Le concederemos todo el tiempo que necesite para decidirse o no a participar.

#### **IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO**

El estudio consiste en hacer una revisión de las historias clínicas, con el fin de clasificar e identificar las alteraciones genéticas atribuidas a la alteración de la proteína conexina 26.

#### **OBJETIVO Y BENEFICIOS QUE SE ESPERAN ALCANZAR**

El propósito de este estudio es la revisión de la historia clínica de 68 pacientes con hipoacusia neurosensorial severa/profunda pertenecientes a 36 familias.

La participación es totalmente voluntaria. De ningún modo está obligado a participar y, si decide hacerlo, puede cambiar de opinión en todo momento. Todos los aspectos de este estudio, incluidos los resultados, serán tratados de manera estrictamente confidencial.

Los beneficios son clasificar las hipoacusias, para ver las causas, ver la herencia dentro de nuestro grupo de pacientes, establecer un diagnóstico precoz, y conocer a los portadores de la alteración genética.

#### **¿POR QUÉ HA SIDO ELEGIDO?**

Usted ha sido elegido debido a que cumple los requisitos del estudio.

#### **CONFIDENCIALIDAD:**

Se garantiza el derecho a la intimidad y a la confidencialidad de todos los datos relativos a su salud, tanto de los obtenidos durante la investigación, como de los que constan en su historia clínica, en los términos establecidos en la Ley 15/1999 de protección de datos de carácter personal y en la Ley 41/2002, reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.

Para la finalidad expuesta, a Ud. se le identificará con un código y la información personal de sus archivos no será distribuida o cedida a terceras personas sin su consentimiento previo por escrito. En este sentido, no se le identificará personalmente en las publicaciones escritas o seminarios en los que se pudieran exponer los resultados de este estudio.

### **CONSIDERACIONES ÉTICAS:**

Este estudio se llevará a cabo siguiendo las reglas de buena práctica clínica, y tienen como exclusiva finalidad el conocimiento de los beneficios de este tratamiento. Esto quiere decir que, al participar en este estudio, a Ud no se le someterá a ningún procedimiento innecesario, y tampoco dejará de recibir las atenciones necesarias para tratar su enfermedad si decide no participar.

### **DURACIÓN PREVISTA DE SU INCLUSIÓN EN EL ESTUDIO:**

El estudio durará 2 meses.

### **NÚMERO APROXIMADO Y CARACTERÍSTICAS DE PARTICIPANTES QUE SE PREVE INCLUIR EN EL ESTUDIO:**

Serán seleccionados 68 pacientes.





### **PREGUNTAS QUE PUDIERAN SURGIRLE DURANTE Y DESPUÉS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO:**

Si alguna vez necesita respuesta a alguna pregunta sobre este estudio, puede contactar con: Dr. José María Cuyás Lazarich (Drcuyas@gmail.com).

### **COMPENSACIÓN ECONÓMICA:**

Este estudio no tiene ánimo de lucro. Las personas que voluntariamente acepten ser incluidas en este estudio, así como los investigadores que intervienen en el mismo, no recibirán compensación económica alguna por ello.

ANEXO 3

		
<b>Servicio Canario de la Salud</b> Complejo Hospitalario Universitario Insular-Materno Infantil	<b>Certificados</b>	Estado Versión: Definitiva
<p>CONFORMIDAD DE LA DIRECCIÓN GERENCIA</p> <p>VICTOR NARANJO SINTES, DIRECTOR GERENTE DEL COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO INSULAR- MATERNO INFANTIL</p> <p>Vista la autorización del Comité Ético de Investigación Clínica</p> <p>CERTIFICA:</p> <p>Que conoce la propuesta realizada por el <b>Dr. José María Cuyás Lazarich, Servicio de Otorrinolaringología, Cabeza y Cuello del CHUIMI</b>, para que se pueda desarrollar en este Centro el protocolo titulado:</p> <p><b>“Hipoacusia neurosensorial profunda asociada a la alteración del gen que codifica la conexina 26”.</b></p> <p><b>Protocolo:</b> Versión febrero 2015.  <b>Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado:</b> Versión febrero 2015.</p> <p>Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad de protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.</p> <p>La capacidad del investigador principal, <b>Dr. José María Cuyás Lazarich, Servicio de Otorrinolaringología, Cabeza y Cuello del CHUIMI.</b></p> <p style="text-align: center;">                     LA DIRECCIÓN GERENCIA                      P.s. LA DIRECCIÓN MÉDICA CHUIMI                      (Resol. 1189/2015, de 21 de mayo,                      de la Directora del SCS)                 </p> <p style="text-align: center;">Juan Carlos Martín González</p> <p>Id: CEIC-CHUIMI-2015/775</p>		
CEIC Complejo Hospitalario Universitario Insular-Materno Infantil © 2015		
Este documento ha sido firmado electrónicamente por: JUAN CARLOS MARTIN GONZALEZ - DIRECTOR MEDICO AT.ESP.CAT.2		
		Fecha: 27/05/2015 - 17:50:23
En la dirección <a href="https://sede.gobcan.es/sede/verifica_doc">https://sede.gobcan.es/sede/verifica_doc</a> puede ser comprobada la autenticidad de este documento, mediante el número de documento electrónico siguiente: 02rkzu8bckz86d24Jo_7I5rDekFbW3j2-		
		
El presente documento ha sido descargado el 28/05/2015 - 08:16:02		