



UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA
DEPARTAMENT DE CIRURGIA
Programa de Doctorado: 040-992 G
Cirugía en Otoneuroftalmología

TESIS DOCTORAL
MUTACIONES DE LAS CONEXINAS 26 Y 30. CORRELACIÓN AUDIOLÓGICA

Presentada por:
VERÓNICA RODRÍGUEZ RIVERA
Otorrinolaringóloga

Dirigida por:
DR. CONSTANTINO MORERA PÉREZ

Valencia, 2013

DEPARTAMENT DE CIRURGIA
UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA

Programa de Doctorado: 040-992 G

Cirurgia en Otoneuroftalmologia

TESIS DOCTORAL
**MUTACIONES DE LAS CONEXINAS 26 Y 30. CORRELACIÓN
AUDIOLÓGICA**

Presentada por:

VERÓNICA RODRÍGUEZ RIVERA

Otorrinolaringóloga

Dirigida por:

DR. CONSTANTINO MORERA PÉREZ

Valencia, 2013

D. CONSTANTINO MORERA PÉREZ, Profesor Titular de Otorrinolaringología del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia y Jefe de Servicio del Hospital Universitario y Politécnico La Fe.

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado: **“MUTACIONES DE LAS CONEXINAS 26 Y 30. CORRELACIÓN AUDIOLÓGICA”**, realizado bajo mi dirección en este departamento, por la **D. VERÓNICA RODRÍGUEZ RIVERA**, reúne los requisitos necesarios para su presentación y defensa para poder optar al título de doctor en Medicina.

Y para que así conste y obre a los efectos oportunos, expido el presente certificado a 18 de septiembre de 2013.

Fdo. Prof. Dr. Constantino Morera Pérez

AGRADECIMIENTOS

Al doctor Morera por su paciencia y dedicación como persona y como docente.

Al doctor Pérez Garrigues por sus consejos y apoyo incondicional.

Al doctor Fenollosa por una gestación estadística completa y sus enseñanzas de vida.

Al doctor Millán por su trato cordial y su aporte con la genética.

A la doctora Cavallé por su conocimiento y su paciencia para enseñarme.

Al doctor De Paula por las oportunidades y su paciencia.

A mi familia, que desde la distancia me acompañaron en todo este proceso.

A César por darme los mejores momentos de paz y tranquilidad para escribir.

Al Sr. Faus por transmitirme su experiencia personal y técnica.

A Mayte y Mati por su disposición para ayudarme con los pacientes.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN

1. Hipoacusias.....	25
1.1. Aspectos generales.	
1.2. Anatomía y fisiología coclear.	
1.3. Epidemiología y clasificación de la hipoacusia.	
2. Genes implicados en las hipoacusias.....	39
2.1. Genes que codifican proteínas de membrana o que participan en el equilibrio iónico de la endolinfa.	
2.2. Genes implicados en la función de los estereocilios.	
2.3. Genes que codifican componentes de la matriz extracelular.	
2.4. Genes que codifican factores de transcripción.	
2.5. Genes que afectan a la función sináptica.	
2.6. Genes mitocondriales.	
3. Genes de las conexinas.....	46
3.1. Generalidades de las conexinas.	
3.2. Gen <i>GJB2</i> .	
3.3. Gen <i>GJB6</i> .	
3.4. Gen <i>GJB3</i> .	
3.5. Gen <i>GJB1</i> .	
4. Hipoacusias producidas por las mutaciones de las conexinas 26 y 30.....	52
4.1. Mutación del gen <i>GJB2</i> .	
4.2. Mutación del gen <i>GJB6</i> .	
4.3. Mutación del gen <i>GJB3</i> .	
5. Detección, Diagnóstico y Tratamiento de la hipoacusia.....	56
5.1. Primera Fase: Detección precoz.	
5.2. Segunda Fase: Diagnóstico.	
5.3- Tercera Fase: Tratamiento.	
OBJETIVOS.....	73
1. Objetivo principal.	
2. Objetivos secundarios.	
MATERIAL Y MÉTODOS	
1. Pacientes.....	77
2. Cronograma.....	78
3. Tipo de estudio.....	79
4. Cualificación y cuantificación del del fenotipo audiológico.....	79
5. Determinación del genotipo.....	85
5.1. Pruebas genéticas.	

5.2. Locus DFNB1.	
5.3. Detección de la mutación m.1555G>A en el gen <i>MTRMRI</i> .	
5.4. Detección de la mutación p.Q829X del gen <i>OTOF</i> .	
6. Clasificación de las mutaciones.....	89
7. Metodología estadística.....	90
7.1. Recogida y tabulación de datos.	
7.2. Procesamiento estadístico de los datos.	
RESULTADOS	
1. Estudio descriptivo.....	95
1.1. Estudio epidemiológico.	
1.2. Estudio genético.	
1.3. Estudio audiológico.	
1.4. Tratamiento.	
2. Estudio analítico.....	106
2.1. Análisis de los antecedentes familiares.	
2.2. Análisis de las mutaciones.	
2.3. Análisis del tratamiento.	
2.4. Análisis diferencial audiológico inicial y postratamiento.	
2.5. Análisis de bisílabos postratamiento.	
2.6. Correlación entre el estudio audiológico inicial y el postratamiento.	
3. Análisis multivariado.....	142
DISCUSIÓN	
1. Epidemiología genética.....	153
2. Edad de diagnóstico e inicio de la hipoacusia en relación con las mutaciones del gen <i>GJB2</i> y <i>GJB6</i>	155
3. Correlación entre el fenotipo-genotipo audiológico.....	159
3.1. Grado de hipoacusia.	
3.2. Lateralidad.	
3.3. Análisis de las curvas audiométricas.	
4. Relación de la hipoacusia con los factores no genéticos.....	171
5. Tratamiento.....	173
CONCLUSIONES.....	183
BIBLIOGRAFÍA.....	187

ABREVIATURAS

- **CCI: Células Ciliadas Internas.**
- **CCE: Células Ciliadas Externas.**
- **OMS: Organización Mundial de la Salud.**
- **RN: Recién Nacidos.**
- **INE: Instituto Nacional de Estadística.**
- **CODEPEH: Comisión para la Detección Precoz de la Hipoacusia.**
- **HNS: Hipoacusia Neurosensorial.**
- **BIAP: Bureau International d'Audiophonologie.**
- **TORCH: Toxoplasma, Rubeola, Citomegalovirus, Herpes.**
- **DFNA: Locus de la Hipoacusia autosómica dominante.**
- **DFNB: Locus de la Hipoacusia autosómica recesiva.**
- **DFN: Locus de la Hipoacusia ligada a los cromosomas sexuales.**
- **DFNNM: Locus de la Hipoacusia ligada a genes modificadores.**
- **AUNA: Neuropatía Auditiva Autosómica Dominante.**
- ***GJB2*: Gen Gap Junction Beta 2 protein.**
- ***GJB6*: Gen Gap Junction Beta 6 protein.**
- ***GJB3*: Gen Gap Junction Beta 3 protein.**
- **Cx26: Conexina 26.**
- **Cx30: Conexina 30.**
- **Cx 31: Conexina 31.**
- **GJA: Gap Junction Alfa.**
- **GJB: Gap Junction Beta.**
- **GJC: Gap Junction Gamma.**

- **del: Delección.**
- **kb: Kilobases.**
- **PEATC: Potenciales Evocados Auditivos del Tronco Cerebral.**
- **OEAt: Otoemisiones Acústicas transitorias.**
- **RM: Resonancia Magnética.**
- **TC: Tomografía Computarizada.**
- **IC: Implantes Cocleares.**
- **PA: Prótesis Auditivas.**
- **SP: Sin prótesis.**
- **ATL: Audiometría Tonal Liminar.**
- **AV y ACL: Audiometría vocal y Audiometría en Campo Libre.**
- **AEDA: Asociación Española de Audiología.**
- **ASHA: American Speech-Language Hearing Association.**
- **PCR: Polymerase Chain Reaction. (Reacción en Cadena de Polimerasa).**
- **OD: Oído Derecho.**
- **OI: Oído Izquierdo.**
- **Hz: Hercios.**
- **dB: Decibelios.**

LISTA DE TABLAS

1. Tabla 1: Clasificación de las Hipoacusias.
2. Tabla 2: Factores de riesgo adaptados por la CODEPEH (2010).
3. Tabla 3: Genes relacionados con las hipoacusias no sindrómicas.
4. Tabla 4: Algoritmo para el diagnóstico precoz de la hipoacusia.
5. Tabla 5: Cronograma de visitas y procedimientos realizados
6. Tabla 6: Secuencia de los cebadores utilizados en el ensayo para la detección de las mutaciones **del (GJB6-D13S1830 y del (GJB6-D13S1854).**
7. Tabla 7: Clasificación de las mutaciones según el gen afectado y sus respectivos alelos.
8. Tabla 8: Agrupación de mutaciones *GJB2* en homocigosis y heterocigosis.
9. Tabla 9: Agrupación de mutaciones *GJB2* en heterocigosis *c.35delG*, no *c.35delG* y en heterocigosis *GJB6*.
10. Tabla 10: Grado de hipoacusia en ambos oídos según PEATC.
11. Tabla 11: Edad de adaptación de los audífonos (meses).
12. Tabla 12: Grupo de edades y edad al momento del tratamiento.
13. Tabla 13: Relación entre los grupos de edades y la edad desde el diagnóstico de la hipoacusia hasta el tratamiento.
14. Tabla 14: Tratamiento realizado en ambos oídos.
15. Tabla 15: Grado de hipoacusia postratamiento en dB para ambos oídos.
16. Tabla 16: Relación entre los diferentes grados de antecedentes familiares y la audiometría promedio inicial.
17. Tabla 17: Relación entre la presencia o ausencia de antecedentes familiares y la audiometría promedio inicial.
18. Tabla 18: Relación entre los diferentes grados de antecedentes familiares y la audiometría promedio postratamiento.

- 19.Tabla 19:Relación entre la presencia o ausencia de antecedentes familiares y la audiometría promedio postratamiento.
- 20.Tabla 20:Relación entre el sexo y las mutaciones de *GJB2* y *GJB6*.
- 21.Tabla 21:Relación entre el sexo y las mutaciones *GJB2 c.35delG* y no *c.35delG*.
- 22.Tabla 22:Relación entre el sexo y las mutaciones en heterocigosis *GJB2 c.35delG*, no *c.35delG* y *GJB6*.
- 23.Tabla 23:Relación entre las mutaciones *c.35delG*, No *c.35delG* y *GJB2/GJB6* con respecto a la edad entre 0 y 24 meses
- 24.Tabla 24:Relación entre mutaciones *c.35delG* en homocigosis, *c.35delG* en heterocigosis y otras mutaciones, con los grupos de edades entre 0 y 24 meses.
- 25.Tabla 25: Relación entre las mutaciones *c.35delG*, No *c.35delG* y *GJB2/GJB6*, con respecto a la edad menor y mayor de 7 años
- 26.Tabla 26:Relación entre las mutaciones *c.35delG* en homocigosis, *c.35delG* en heterocigosis y otras mutaciones, con respecto a la edad menor y mayor de 7 años
- 27.Tabla 27:Relación entre los diferentes grados de antecedentes familiares y las mutaciones de *GJB2 c.35delG* y no *c.35delG*.
- 28.Tabla 28:Relación entre los diferentes grados de antecedentes familiares y las mutaciones de *GJB2* y *GJB6* tanto en homocigosis como en heterocigosis.
- 29.Tabla 29:Relación entre los diferentes grados de antecedentes familiares y las mutaciones en heterocigosis del gen *GJB2 c.35delG* y no *c.35delG*, así como del gen *GJB6*.
- 30.Tabla 30:Mutaciones de *GJB2* y *GJB6* en relación con el grado cuantitativo de hipoacusia determinado por los PEATC.
- 31.Tabla 31:Mutaciones de *GJB2* y *GJB6* en relación con el grado cualitativo de hipoacusia determinado por los PEATC

- 32.Tabla 32:Mutaciones de *GJB2* y *GJB6* en relación con el grado cuantitativo de hipoacusia determinado por audiometría tonal liminar.
- 33.Tabla 33:Mutaciones de *GJB2* y *GJB6* en relación con el grado cualitativo y cuantitativo de hipoacusia determinado por audiometría tonal liminar inicial.
- 34.Tabla 34:Mutaciones de *GJB2 c.35delG* y no *c.35delG* en relación con el grado cualitativo y cuantitativo de hipoacusia determinado por audiometría inicial promedio.
- 35.Tabla 35:Mutaciones con hipoacusia leve y moderada determinada por PEATC y audiometría tonal liminar.
- 36.Tabla 36:Mutaciones de *GJB2 c.35delG* y no *c.35delG*, en relación con la hipoacusia inicial para cada una de las frecuencias audiométricas en ambos oídos.
- 37.Tabla 37:Mutaciones de *GJB2* en homocigosis y heterocigosis, en relación con la hipoacusia inicial, para cada una de las frecuencias audiométricas en ambos oídos.
- 38.Tabla 38:Mutaciones de *GJB2* en heterocigosis *c.35delG* y no *c.35delG*, *GJB6* en heterocigosis, en relación con la hipoacusia inicial para cada una de las frecuencias audiométricas en ambos oídos.
- 39.Tabla 39:Opciones de tratamiento realizadas para cada oído.
- 40.Tabla 40:Tratamiento en OD en relación con el grado de hipoacusia inicial.
- 41.Tabla 41:Tratamiento en OI en relación con el grado de hipoacusia inicial.
- 42.Tabla 42:Relación entre el tratamiento realizado para cada oído y los promedios de las audiometrías iniciales.
- 43.Tabla 43:Relación entre el grado de hipoacusia en dB para ambos oídos y el tratamiento aplicado.
- 44.Tabla 44:Relación entre el tratamiento realizado para cada oído y los promedios de las audiometrías posteriores al mismo.

45.Tabla 45:Relación entre el tratamiento realizado en el OD y las audiometrías posteriores al mismo para todas las frecuencias, así como las frecuencias agudas, graves, conversacionales y frecuencia a frecuencia.

46.Tabla 46:Relación entre el tratamiento realizado en el OI y las audiometrías posteriores al mismo para todas las frecuencias, así como las frecuencias agudas, graves, conversacionales y frecuencia a frecuencia.

47.Tabla 47:Relación entre los tratamientos realizados en el OD y las diferenciales entre las audiometrías inicial y postratamiento para las diferentes frecuencias.

48.Tabla 48:Relación entre los tratamientos realizados en el OI y las diferenciales entre las audiometrías inicial y postratamiento para las diferentes frecuencias.

49.Tabla 49:Relación entre los tratamientos realizados en el OD con las diferenciales entre los PEATC iniciales y las frecuencias 2000 y 4000 Hz de las audiometrías postratamiento.

50.Tabla 50:Relación entre los tratamientos realizados en el OD con las diferenciales de los PEATC iniciales y las frecuencias 2000 y 4000 Hz de las audiometrías postratamiento, así como los diferenciales de las audiometrías pre y postratamiento para las frecuencias 2000 y 4000 Hz.

51.Tabla 51:Relación entre los tratamientos realizados en el OI con las diferenciales entre los PEATC iniciales y las frecuencias 2000 y 4000 Hz de las audiometrías postratamiento.

52.Tabla 52:Relación entre los tratamientos realizados en el OI con las diferenciales entre los PEATC iniciales y las frecuencias 2000 y 4000 Hz de las audiometrías postratamiento, así como los diferenciales de las audiometrías pre y postratamiento para las frecuencias 2000 y 4000 Hz.

- 53.-Tabla 53:Resultados del test de bisílabos en ambos oídos en relación con el tratamiento aplicado.
- 54.Tabla 54:Resultados del test de bisílabos en implante coclear unilateral y bilateral.
- 55.Tabla 55:Resultados del análisis discriminante para los resultados audiométricos postratamiento.
- 56.Tabla 56:Resultados del análisis discriminante para las variables predictoras.
- 57.Tabla 57:Ejemplos de casos bien clasificados tras el análisis discriminante, utilizando las variable a predecir y las variables predictoras.
- 58.Tabla 58:Ejemplos de casos mal clasificados tras el análisis discriminante, utilizando la variable a predecir y las variables predictoras.
- 59.Frecuencia de mutaciones en distintas poblaciones.

LISTA DE FIGURAS Y GRÁFICOS.

1. Figura 1: Sección transversal de la cóclea con las tres rampas, membranas, lámina y ganglio espiral.
2. Figura 2: Representación esquemática de las células del oído interno.
3. Figura 3: Representación esquemática de la cóclea con sus componentes celulares, membranas y rampas.
4. Figura 4: Esquema de la cóclea y localización de los diferentes genes.
5. Figura 5: Topología de una conexina tipo alfa o beta en la membrana plasmática.
6. Figura 6: Tipos de canales comunicantes de las conexinas.
7. Figura 7: Representación de los poros celulares conformados por conexones.
8. Gráfico 1: Media de pérdida auditiva por frecuencias para ambos oídos.
9. Gráfico 2: Comportamiento de la hipoacusia inicial en OD según el tipo de mutaciones *c.35delG* en homocigosis, *c.35delG* en heterocigosis compuesta, *c.35delG/Cx30*, *c.35delG* en heterocigosis, y no *c.35delG* en heterocigosis, con respecto al promedio de las frecuencias y para las frecuencias agudas, graves y conversacionales.
10. Gráfico 3: Comportamiento de la hipoacusia inicial en OI según el tipo de mutaciones *c.35delG* en homocigosis, *c.35delG* en heterocigosis compuesta, *c.35delG/Cx30*, *c.35delG* en heterocigosis y no *c.35delG* en heterocigosis, con respecto al promedio de las frecuencias y para las frecuencias agudas, graves y conversacionales.
11. Gráfico 4: Comportamiento de la hipoacusia inicial en OD según el tipo de mutaciones *c.35delG* en homocigosis, *c.35delG* en heterocigosis compuesta y *c.35delG/Cx30*, con respecto a cada una de las frecuencias.
12. Gráfico 5: Comportamiento de la hipoacusia inicial en OI según el tipo de mutaciones *c.35delG* en homocigosis, *c.35delG* en heterocigosis compuesta y *c.35delG/Cx30*, con respecto a cada una de las frecuencias.

13. Gráfico 6: Grado de hipoacusia inicial para cada una de las frecuencias, en relación con las mutaciones *c.35deG* y *no 35delG*.
14. Gráfico 7: Grado de hipoacusia inicial para cada una de las frecuencias, en relación con las mutaciones de *GJB2* en homocigosis y heterocigosis.
15. Gráfico 8: Relación entre los tratamientos y los promedios de las audiometrías iniciales en todas las frecuencias, así como en frecuencias agudas, graves y conversacionales y frecuencia a frecuencia.
16. Gráfico 9: Relación entre el tratamiento realizado para ambos oídos y las audiometrías posteriores al mismo, para las diferentes frecuencias.
17. Gráfico 10: Relación entre los tratamientos aplicados en OD y las audiometrías previas y posteriores al mismo.
18. Gráfico 10: Relación entre los tratamientos aplicados en OI y las audiometrías previas y posteriores al mismo.

INTRODUCCIÓN

1. HIPOACUSIAS

1.1. ASPECTOS GENERALES.

El desarrollo del lenguaje ocurre en un período crítico de plasticidad neuronal donde la información auditiva es esencial para el desarrollo normal del córtex cerebral y permite a su vez, la apropiación del lenguaje y del habla.^{1,2,3,4.}

La audición, junto con el resto de los sentidos, permite interactuar con el entorno y establecer relaciones sociales entre los individuos.^{1,3,4.} Así mismo, es uno de los procesos fisiológicos más importantes, que permite el aprendizaje y el desarrollo del pensamiento en el niño.^{5,6,7.} Por este motivo, la pérdida o la anormalidad de la función anatómica y/o fisiológica de la audición, tiene como consecuencia inmediata la discapacidad para escuchar, lo que implica una limitación para la adquisición del lenguaje oral y repercute de forma directa en el desarrollo social de un individuo.^{1,2.}

La hipoacusia puede ser clasificada en función de múltiples aspectos, siendo de particular interés para este estudio, la clasificación etiológica y más específicamente, la hipoacusia hereditaria o de origen genético.^{8,9,10.} Anteriormente la hipoacusia hereditaria, se consideraba como posibilidad diagnóstica en el contexto de antecedentes familiares positivos para esta patología. Sin embargo, en la actualidad y gracias a los avances de biología molecular y genética, se han identificado diversos tipos de mutaciones. Esto ha permitido la confirmación del diagnóstico de hipoacusia hereditaria, demostrando que es una enfermedad heterogénea con un gran número de genes involucrados, que pueden producir fenotipos audiológicos variables.^{11,12,13,14,15,16.}

1.2 ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA COCLEAR.

En los últimos años, se han descrito con mayor detalle los mecanismos genéticos y moleculares en lo que respecta a la fisiología de la audición, y mas concretamente al oído interno. Por ello, la anatomía y la configuración de la cóclea son necesarios para entender la fisiología auditiva y el papel de las mutaciones genéticas en las alteraciones de la audición.^{17.}

- ANATOMÍA COCLEAR

La cóclea esta dividida en tres rampas: vestibular (superior), timpánica (inferior) y media (central o cóclea). La rampa vestibular termina en la ventana oval sobre la que reposa la platina del estribo. La rampa timpánica termina en la ventana redonda, cubierta por una membrana o tímpano secundario. Ambas escalas se comunican por el helicotrema en la región apical de la cóclea y contienen perilinfa, compuesta por concentraciones altas de sodio y bajas de potasio, similares a las del plasma. (Figura 1).^{17,18}

La endolinfa, que se encuentra en la rampa central, se produce en la estría vascular, que se sitúa en la pared lateral de la rampa. Su composición difiere de la perilinfa, ya que contiene bajas concentraciones de sodio y altas concentraciones de potasio. En esta zona se encuentra alojado el órgano de Corti, que constituye el órgano receptor auditivo y donde se produce la transformación del estímulo mecánico en impulsos eléctricos.^{15-18.}

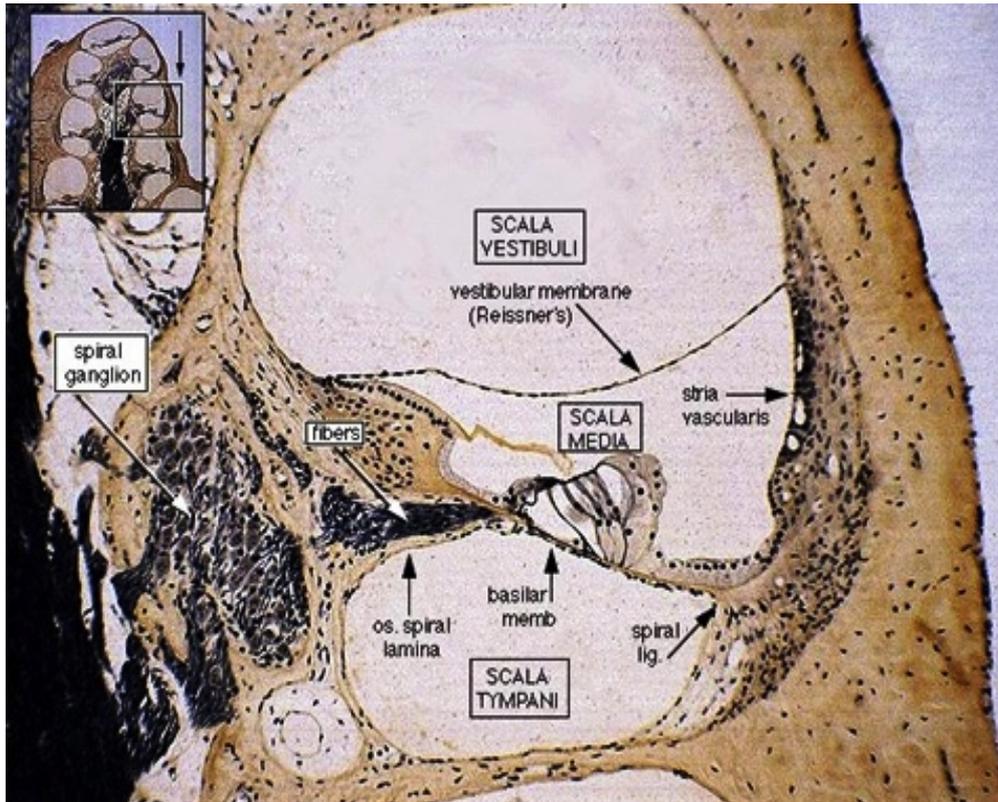


Fig. 1. Sección transversal de la cóclea en la cual se representa las tres rampas: timpánica, vestibular y media; la lámina espiral, la estría vascular, las membranas basilar y de Reissner el ligamento, el ganglio y la lámina espiral. <http://audiology.wordpress.com/la-coclea/anatomy/> ¹⁸

- ÓRGANO DE CORTI.

Es el elemento sensorial donde están situados los receptores de la audición. Se encuentra sobre la membrana basilar y cubierto por la membrana tectoria.^{17,18} En su estructura se distinguen dos tipos de células sensoriales, las células ciliadas internas, las células ciliadas externas (CCI y CCE respectivamente) y además, las células de sostén. (Figura 2).^{19,20,21,22,23,24.}

Las CCI se disponen en una sola capa, tienen la mayoría de las terminaciones nerviosas aferentes que llegan al órgano de Corti y su función principal es sensorial. Las CCE están organizadas en tres capas y tienen inervación tanto aferente como eferente. La función principal de estas últimas, es la de contribuir a la sensibilidad de la audición y a

la selectividad de frecuencias, gracias a su actividad motora.¹⁶⁻¹⁸ Tanto las CCE como las CCI, tienen en su borde apical alrededor de 100 estereocilios que se encuentran ordenados en tres filas de altura creciente según nos desplazamos radialmente desde el modiolo coclear. De esta manera, el estereocilio más alto se encuentra situado en la parte más alejada del modiolo.²⁰⁻²⁴

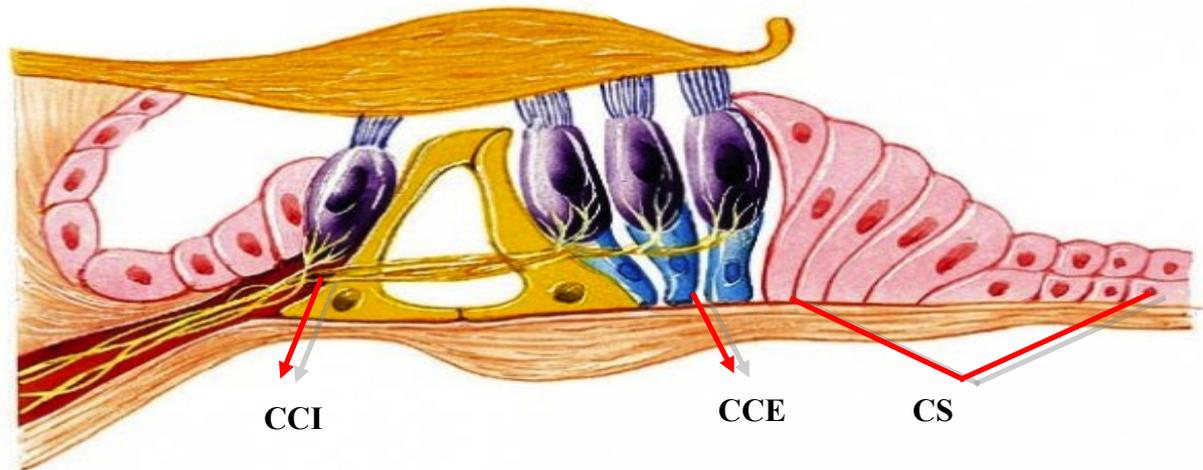


Fig. 2. Representación esquemática de las células del oído interno. CCE : células ciliadas externas, CCI: células ciliadas internas, CS: células de sostén. <http://audiology.wordpress.com/la-coclea/anatomy/>¹⁸

Los estereocilios están conformados por filamentos de actina y de miosina, que les permite el movimiento al desplazarse uno a lo largo del otro, gracias a la disposición de los filamentos. Presentan varios tipos de uniones que les permite actuar como unidad funcional. En su borde apical se unen al citoesqueleto de las células ciliadas mediante la placa cuticular, rica en filamentos de actina. En su porción terminal están insertados en la membrana tectoria y se encuentran unidos entre sí, por puentes conocidos como **cross links** y **tip links**.^{17,18,20-24}

La disposición de los cross links es horizontal y mantienen la rigidez del conjunto de los cilios. Los tip links tienen una disposición vertical, se encargan de conectar el extremo de cada estereocilio de una fila con el extremo del estereocilio más alto de la fila contigua, y facilitan el fenómeno de transducción mediante la apertura de canales para el paso de iones potasio.^{18,20,22}

Existen además un grupo de células de sostén, dentro de las cuales se encuentran las células de Deiter que reposan sobre la membrana basilar y su polo superior recibe y ancla la base de las CCE. Su ápex emite una prolongación cuyo extremo superior se agranda en meseta y rellena los espacios que separan las células ciliadas.^{18,20-24} Las células de Hensen, están ubicadas por fuera de las células de Deiters y cubren el labio interno del surco espiral externo. Las células de Claudius son células de sostén del órgano de Corti que están situadas entre las células de Hensen y las del surco espiral externo, haciendo de transición entre ambos tipos de células.^{25,26,27,28,29.} (Figura 3).

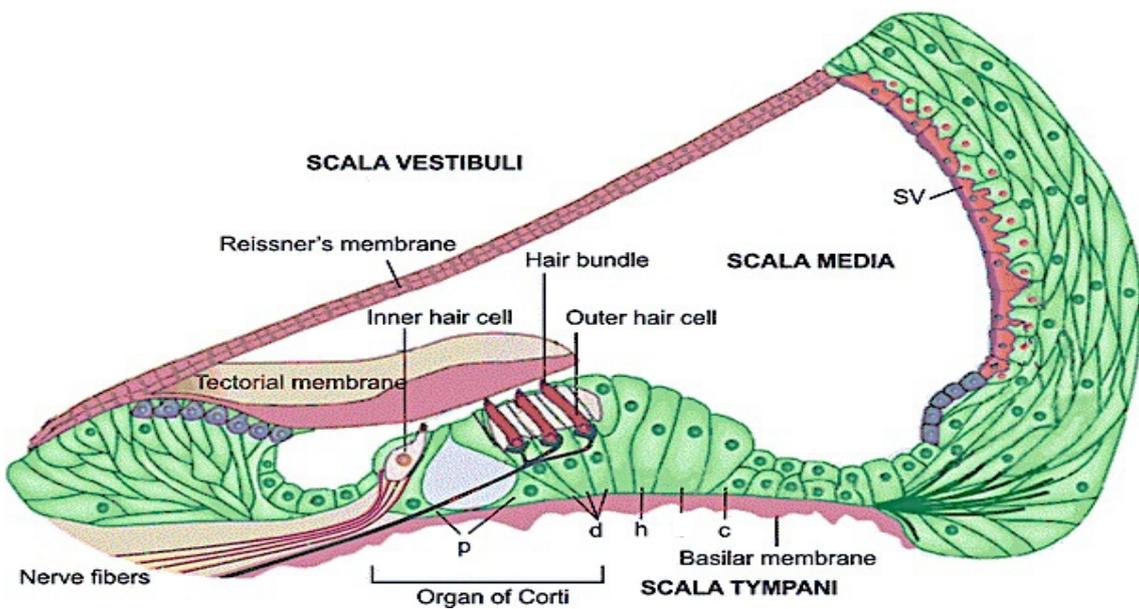


Fig. 3. Sección transversal de la cóclea en la cual se representa los diversos componentes celulares, las membranas, el órgano de Corti y la división coclear mediante las tres rampas. SV: Estria vascular. p: células pilares. d: células de Deiter. h: células de Hensen. c: células de Claudius (Vrijens et al., 2008)²⁴.

- FISIOLÓGÍA COCLEAR.

El desplazamiento de la membrana timpánica en respuesta a un sonido se transmite y se amplifica por la cadena osicular, lo que genera unas ondas de presión en la perilinfa de la escala vestibular de la cóclea.^{18,20,22,26} Este desplazamiento estimula la membrana tectoria, produciendo un movimiento de cizalla con la subsecuente deflexión de los cilios, lo que conlleva a la apertura de canales mecanotransductores que permiten la entrada de iones potasio de la endolinfa al interior de la célula ciliada externa, iniciándose de esta forma la despolarización.^{27-29,30,31,32.}

Las CCE se contraen al despolarizarse por la entrada de potasio y esta contracción modifica el acoplamiento entre la membrana basilar y la membrana tectoria. De esta forma se amplifica a nivel local las vibraciones de la membrana basilar gracias a los mecanismos activos de contracción celular.^{18-22.} De igual forma, la CCI responde a la estimulación con la deflexión de sus estereocilios, los cuales no se encuentran anclados a la membrana tectoria pero que se ve favorecida por el contacto directo con la banda de Hensen de dicha membrana.^{26,27-30.}

La apertura de los canales mecanosensibles produce la entrada de potasio y por consiguiente la despolarización de la CCI. Con la apertura de canales de K^+ y el flujo de éstos hacia el interior de la célula se provoca la apertura de los canales de Ca^{+2} voltaje-dependientes.^{16,18,20.} La entrada de Ca^{+2} provoca la fusión de las vesículas sinápticas con la membrana plasmática, generando la liberación de neurotransmisores en las zonas sinápticas activas (glutamato para la CCI), este a su vez, se une a sus receptores en los extremos dendríticos de las neuronas auditivas primarias. El impulso es transmitido entonces a través del nervio acústico, a los núcleos y las vías auditivas centrales.^{27-32.}

Tras el potencial de acción, comienza el restablecimiento del potencial endococlear (-80mV), con la repolarización de las células ciliadas, que ocurre cuando los iones K^+ , salen de las mismas a través de los canales correspondientes, para pasar a las células de sostén adyacentes y finalmente a la estría vascular.^{18,20} Esta última, corresponde a un epitelio altamente vascularizado que garantiza tanto la producción del potencial de acción, como la secreción de K^+ a la endolinfa, mediante el aporte de O_2 y glucosa.^{30,31,32}

Los canales para el paso del potasio y otros iones, están situados en la región basal y lateral de la membrana de las células. Desde aquí los iones difunden de célula en célula a través de uniones en hendidura o *gap junctions*.^{18,20,28-32} La localización de diversas conexinas en la cóclea de los mamíferos ha permitido establecer **dos sistemas de gap junctions** independientes, el sistema epitelial y el sistema conectivo.²¹⁻²⁴ El sistema epitelial, compuesto por las células interdentes del limbo espiral, las células de soporte del órgano de Corti y las células de las raíces de la región más inferior del ligamento espiral, está involucrado en la recirculación de K^+ a través de las células ciliadas durante el proceso de transducción mecanosensorial. Sin embargo, el sistema conectivo, compuesto por varios fibrocitos del ligamento espiral y la región supraestrial, células basales e intermedias de la estría vascular, células mesenquimales que delimitan la escala vestibular, las células oscuras supralímbicas y los fibrocitos del limbo espiral, participaría en el mantenimiento del potencial endolinfático.^{27,32} La presencia de Na-K-ATPasa y de un cotransportador Na-K-Cl (NKCC1) en la membrana basolateral de las células marginales de la estría vascular y en los fibrocitos tipo II del ligamento espiral y fibrocitos de la región supraestrial respalda la hipótesis de que la producción de la endolinfa, la generación del potencial endococlear y la recirculación de K^+ se localiza en estas células de la pared lateral coclear.^{33,34,35,36}

El papel de la Na-K-ATPasa consiste en la captación de K^+ desde el espacio intraestrial y en mantener baja la concentración intracelular de Na^+ . El transporte de Na^+ desde la perilinfa hacia el espacio intraestrial, vía células marginales de la estría vascular o fibrocitos del ligamento espiral, podría alterarse por la acción de algunos fármacos, que permitirían que este ión se acumule en el espacio intraestrial, lo que desencadena una reducción del potencial endococlear y un mayor flujo de Na^+ desde la perilinfa hacia la endolinfa.^{34,35} Otras enzimas que intervienen en el transporte de iones (anhidrasa carbónica y creatincinasa) también han sido descritas en los fibrocitos de la pared lateral coclear. Los iones K^+ , de localización perilinfática, captados por los fibrocitos tipo II del ligamento espiral, se mueven a través de la estrecha barrera tipo *tight junction* de las células basales de la estría vascular hacia el espacio intraestrial vía *gap junctions* que interconectan los fibrocitos tipo II y las células intermedias de la estría vascular.^{32,35} La captación activa de K^+ por las células marginales desde el espacio intraestrial puede crear un fuerte gradiente de concentración de los iones K^+ entre el espacio intraestrial y el espacio intracelular de los fibrocitos tipo II, que arrastra dichos iones hacia las células intermedias, desde donde son expulsados hacia el espacio intraestrial. Una vez captados activamente por las células marginales, éstas los expelen hacia la endolinfa, donde se encuentran disponibles para las células ciliadas del órgano de Corti.³⁶

Como se ha descrito anteriormente, las principales funciones del sistema auditivo periférico son complejas e involucra diversos procesos moleculares y genéticos, por lo que son de gran importancia para su investigación y relación con las causas de hipoacusia.^{16,17} Cualquier trastorno en las propiedades mecanoeléctricas del órgano de Corti, la transducción mediada por los estereocilios de las células ciliadas, el efecto amplificador de las CCE, la liberación de neurotransmisores por las CCI y el mantenimiento de la homeostasis iónica coclear; podría originar trastornos auditivos.²⁴

1.3. EPIDEMIOLOGÍA Y CLASIFICACIÓN DE LAS HIPOACUSIAS

*** EPIDEMIOLOGÍA**

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la incidencia para hipoacusias severas a profundas mayores a 50 dB, se estima en 1:1.000 recién nacidos (RN) y sobre 4:1.000 RN, si se incluyen las formas leves a moderadas. Este organismo ha sugerido que hasta el 2004, mas de 275 millones de personas en el mundo padecían hipoacusia moderada a profunda, y se distribuye de forma variable en las distintas regiones. Se estima que en África, existen mas de 8 millones de personas con esta discapacidad, 20 millones en América, 25 millones en Asia, 8 millones en el Mediterráneo y 32 millones en el Pacífico Occidental. Se considera que dos tercios de este tipo de población viven en países en vías de desarrollo y que en el 50% de los casos, el problema es evitable.³⁷

De acuerdo a los datos proporcionados por el Instituto Nacional de Estadística (INE 2000), en España, existen alrededor de un millón de personas afectadas por discapacidad auditiva, y de ellos, el 10% presentan hipoacusia profunda.³⁸

Según datos de la Comisión para la Detección Precoz de la Hipoacusia (CODEPEH 1999), se estimó que:³⁹

- 5:1.000 RN padece de algún grado de hipoacusia, lo que en España corresponde a 1890 niños/año.
- La incidencia de hipoacusia profunda en España se estima en 1:1.000 RN.
- El 80% de las hipoacusias son congénitas, 60% son de origen genético y el 50% de los RN con hipoacusia, presentan factores de riesgo asociados.

- Cada año, alrededor de dos mil familias están afectadas por la presencia de una discapacidad auditiva en uno de sus hijos.
- Más del 90% de los niños con hipoacusia nacen en el seno de familias cuyos padres son oyentes.

Con estos datos podemos concluir que la hipoacusia en niños es una patología relativamente frecuente, y que puede ser comparada con la incidencia del síndrome de Down (1:600 - 800 RN), fisura labio-palatina (1:750 RN) y fibrosis quística (1:3.500 RN blancos) ^{10,14,16}.

* CLASIFICACIÓN

Basados en diferentes criterios clínicos, existen diversas clasificaciones de la hipoacusia: (Tabla 1) ^{1,2,10}.

- Topográfica: Según la localización anatómica y/o funcional del defecto en el oído externo, medio o interno, se habla de hipoacusia neurosensorial (HNS), de transmisión o mixta.
- Cuantitativa: Se basa en el grado de pérdida auditiva, teniendo en cuenta para ello, la clasificación propuesta por El Bureau International d' Audiophonologie (www.biap.org)¹³ en su recomendación 02/1, que determina el grado de hipoacusia según la pérdida tonal media y la clasifica en 5 grupos: leve, moderada, severa, profunda y cofosis.
- Evolutiva: Según el grado de progresión de la hipoacusia en el tiempo.
- Cronológica: De acuerdo con el momento de aparición de la hipoacusia, tomando como referencia el momento del parto.
 - Prenatales.
 - Perinatales.

- Postnatales.
- Etiológica:
 - **Genética:** Sindrónica y no sindrónica
 - Adquirida o por factores ambientales.
- En relación con la edad de adquisición del lenguaje: Prelingual y Postlingual.

Como se mencionó anteriormente, dentro de la clasificación etiológica, se encuentran las hipoacusias adquiridas. Su etiología es variada y teniendo en cuenta los indicadores de riesgo establecidos CODEPEH en el 2010,⁴ se pueden destacar algunas causas como los traumas acústicos, las infecciones bacterianas o víricas, las complicaciones perinatales y la ototoxicidad por fármacos, entre otros. (Tabla 2).

En lo que respecta a las hipoacusias genéticas, las podemos subdividir en sindrónicas y no sindrónicas.

- Hipoacusias genéticas sindrónicas

Corresponden al 30% de las hipoacusias genéticas y se asocian a otras alteraciones clínicas además de la hipoacusia. Son más comunes las hipoacusias de tipo recesivo como los síndromes de Usher, Pendred, braquio-oto-renal y Jervell y Lange-Nielsen. Entre los síndromes con herencia dominante son comunes los de Waardenburg, Alport, Treacher-Collins y Stickler.^{9,10,14,16.}

- Hipoacusias genéticas no sindrónicas.

Representan el 70 % de las hipoacusias genéticas y se caracterizan por debutar con hipoacusia sin otras manifestaciones clínicas asociadas. Según el tipo de herencia pueden ser divididas en autosómica dominante, autosómica recesiva, ligada al

cromosoma X y de herencia mitocondrial.^{9-11,20,30.}

La forma más común de hipoacusia hereditaria infantil es la forma no sindrómica con herencia autosómica recesiva (80%), es decir, ambos padres poseen alguna alteración genética que transmiten a su descendencia (aún cuando ellos no necesariamente presenten síntomas).

El 20% restante se distribuye entre las formas autosómica dominante (12-15%), aquellas ligadas al cromosoma X (1-5%) y las de herencia materna por mutaciones en el ADN mitocondrial (1-5%).^{20,30,40,41.}

En 1997 se descubrió el primer gen nuclear implicado en HNS no sindrómica de herencia recesiva, y que corresponde al gen gap junction beta-2 (**GJB2**).⁴²

Es el responsable del 20% al 50% de HNS en niños y de un 40% de las HNS severas a profundas. Se han descrito más de 60 mutaciones para el gen de la Cx26 las cuales varían según diferentes poblaciones: entre 2,5% y 3%^{43,44,45,46.} en Europa, 0,5% y 2,5% en caucásicos de Norteamérica, entre 3% y 4% en judíos Asquenazí; y 1% en Japón.^{47,48.}

Es por esta alta prevalencia de mutaciones **c.35delG**, que se considera el screening de la hipoacusia para DFNB1, como un elemento interesante para el diagnóstico de hipoacusias congénitas.^{10,14.}

La herencia mitocondrial es poco frecuente en la población anglosajona, siendo la mutación más frecuente la A1555G, relacionada a la exposición con aminoglucósidos. En la población china y de origen hispánico es responsable de más de un tercio de la hipoacusia inducida por estreptomina.^{49.}

Tabla 1. Clasificación de las Hipoacusias.

CRITERIO	CATEGORÍA	DESCRIPCIÓN			
TOPOGRÁFICA	De Transmisión	Defectos en oído externo y/o medio.			
	Neurosensorial	Defectos en el oído interno, VIII par o en corteza auditiva cerebral.			
	Mixta	Combinación de hipoacusia conductiva y neurosensorial			
CUANTITATIVA (BIAP 2002)¹³	Leve	21 – 40 dB			
	Moderada	41 - 70 dB.			
	Severa	71 - 90 dB.			
	Profunda	91 - 119 dB (> 90 dB).			
	Cofosis	>120 dB (no se percibe nada).			
EVOLUTIVA	Estable	No modifican el umbral auditivo en el tiempo.			
	Progresiva	Va aumentando a lo largo de los años.			
	Rápidamente progresiva	Evolucionan con gran prontitud, profundizándose en el plazo de algunas semanas o pocos meses			
	Brusca	De instauración súbita, en un breve plazo de minutos u horas.			
	Fluctuante	Audición cambiante			
EDAD DE ADQUISIÓN LENGUAJE	Prelingual	Se produce antes del desarrollo del lenguaje hablado.			
	Postlingual	La hipoacusia aparece cuando el lenguaje está bien desarrollado.			
ETIOLÓGICA	Origen genético o adquirido (causas ambientales)	Genética	Según Fenotipo	Sindrómicas 30%	Existen más de 400 síndromes descritos que cursan con hipoacusia de tipo variable.
				No sindrómicas (70%)	
		Según tipo de herencia	Autosómica dominante	12-15%	
			Autosómica recesiva	70-80%	
			Ligada al sexo	1-3%	
			Mitocondrial	Menor del 2% según el grupo étnico.	
	Adquirida	Causas ambientales: traumas acústicos, infecciones bacterianas o víricas, complicaciones perinatales, ototoxicidad de fármacos, (CODEPEH 2010)			
CRONOLÓGICA	De acuerdo al momento de aparición tomando como referente el parto	Prenatal	Antes del nacimiento pueden ser genéticas o adquiridas.		
		Perinatal	Aparecen durante el parto o en las primeras horas del periodo neonatal. También es útil recurrir a los indicadores de riesgo.		
		Postnatal	Aparecen con posterioridad al nacimiento.		

Tabla 2. Factores de riesgo adaptados por la CODEPEH (2010).⁴

1. Sospecha por parte del cuidador acerca de retrasos en el habla, desarrollo y audición anormal.
2. Historia familiar de hipoacusia permanente en la infancia.
3. Estancia en Cuidados Intensivos Neonatales durante más de 5 días, incluidos los reingresos en la Unidad dentro del primer mes de vida
4. Haber sido sometido a oxigenación por membrana extracorpórea, ventilación asistida, antibióticos ototóxicos, diuréticos del asa (furosemida). Hiperbilirrubinemia que precisó exanguinotransfusión.
5. Infecciones intrauterinas grupo TORCHS (Toxoplasma, Rubeola, Citomegalovirus, Herpes y Sífilis).
6. Anomalías craneofaciales incluyendo las del pabellón auricular, conducto auditivo, apéndices o fositas preauriculares, labio leporino o paladar hendido y anomalías del hueso temporal y asimetría o hipoplasia de las estructuras faciales.
7. Hallazgos físicos relacionados con síndromes asociados a pérdida auditiva neurosensorial o de conducción como un mechón de pelo blanco, heterocromía del iris, hipertelorismo, telecantus o pigmentación anormal de la piel.
8. Síndromes asociados con pérdida auditiva o pérdida auditiva progresiva o de comienzo tardío como neurofibromatosis, osteopetrosis y los síndromes de Usher, Waardenburg, Alport, Pendred, Jervell and Lange-Nielson entre otros.
9. Enfermedades neurodegenerativas como el síndrome de Hunter y neuropatías sensorio-motrices como la ataxia de Friedrich y el síndrome de Charcot-Marie-Tooth.
10. Infecciones posnatales con cultivos positivos asociadas a pérdida auditiva, entre las que se incluyen las meningitis víricas (especialmente varicela y herpes) y bacterianas (especialmente <i>H. influenzae</i> y <i>S. pneumoniae</i>).
11. Traumatismo craneoencefálico, especialmente fracturas del hueso temporal y base de cráneo que requiera hospitalización.
12. Quimioterapia.
13. Enfermedades endocrinas. Hipotiroidismo.

2. GENES IMPLICADOS EN LAS HIPOACUSIAS

La evolución de la genética molecular y el conocimiento de los genes que causan hipoacusia, ha tenido un gran desarrollo en los últimos 10 años. Esto nos ha permitido comprender la genética básica de la hipoacusia y la probable función de las proteínas codificadas por estos genes, las cuales están involucradas en el desarrollo, estructura y función del oído interno.^{9,20-23} Actualmente, existen 108 *loci* involucrados en hipoacusias no sindrómicas. Estos se nombran con las siglas **DFN** (del inglés **DeaFN**ness) seguidas de un número que indica el orden en que han sido cartografiados. De ellos, 44 corresponden a herencia dominante (**DFNA**), 59 a herencia recesiva (**DFNB**) y 5 a herencia ligada a los cromosomas sexuales (**DFN**; 4 de ellos ligados al cromosoma X y uno, al cromosoma Y). Además, se han descrito dos *loci* (**DFNM**) de genes modificadores de la expresión de otras formas genéticas de sordera y un *locus* (**AUNA1**) de neuropatía auditiva autosómica dominante.⁴¹ Cada uno de estos loci contiene genes que codifican proteínas, que contribuyen a la formación de las estructuras cocleares y que hasta la fecha, se han identificado 69 genes implicados en la hipoacusia. El loci DFNB1 está localizado en el brazo largo del cromosoma 13 (13q12) y contiene los genes **GJB2** (Gap Junction Beta 2 protein) y **GJB6** (Gap Junction Beta 6 protein), que codifican las Cx 26 y 30 respectivamente, las cuales desempeñan un papel fundamental en la homeostasis del potasio intracelular y que están asociadas con hipoacusia genética no sindrómica.^{19,40-42}

Se clasifican según las proteínas que codifican y el papel que desempeñan en la fisiología celular en: Genes que codifican los componentes de membrana, genes implicados en la función de los estereocilios (componentes del citoesqueleto), genes que codifican componentes de la matriz extracelular, genes que codifican factores de transcripción y genes que afectan la función sináptica. (Tabla 3 y Figura 4).^{19,29}

Tabla 3. Genes más frecuentemente relacionados con las hipoacusias no sindrómicas.^{19,40.}

CATEGORÍA		GEN	PROTEÍNA CODIFICADA	LOCUS
COMPONENTES DE MEMBRANA	GAP JUNCTION	<i>GJB2</i>	CONEXINA 26	DFNB1 Y DFNA3
	GAP JUNCTION	<i>GJB6</i>	CONEXINA 30	DFNA3
	GAP JUNCTION	<i>GJB3</i>	CONEXINA 31	DFNA2
	CANAL DE POTASIO	<i>KCNQ4</i>	KCNQ4	DFNA2
	TRANSP. DE IONES TIGHT	<i>SLC26A4</i>	PENDRINA	DFNB4
	JUNCTION	<i>CLDN14</i>	CLAUDINA	DFNB29
	CANAL DE CALCIO	<i>WFS1</i>	WOLFRAMINA	DFNB6,14,38
COMPONENTES DEL CITOESQUELETO	MOLÉCULA MOTORA	<i>MYO7A</i>	MIOSINA VIIA	DFNA11
	MOLÉCULA MOTORA	<i>MYO15</i>	MIOSINA XV	DFNB2
	MOLÉCULA MOTORA	<i>MYO6</i>	MIOSINA VI	DFNA22
	MOLÉCULA MOTORA	<i>MYO3A</i>	MIOSINA IIIA	DFNB37
	MOLÉCULA MOTORA	<i>MYH9</i>	MIOSINA IX	DFNB30
	MOLÉCULA MOTORA	<i>DIAPH1</i>	DIAPHANOUS 1	DFNA17
	CROSS LINKS	<i>CDH23</i>	CADHERINA 23	DFNA1
	ESTEREOCILIOS	<i>STRC</i>	ESTEREOCILINA	DFNB12
COMPONENTES DE LA MATRIZ EXTRACELULAR	MEMBRANA TECTORIA	<i>TECTA</i>	TECTORINA	DFNB16
		<i>COCH</i>	COCHLINA	DFNA8,12
		<i>OTOA</i>	OTOANCORINA	DFNB21
FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN	FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN	<i>POU3F4</i>	POU3F4	DFNB22
		<i>POU4F3</i>	POU4F3	DFN3 (DFNX1)
		<i>EYA4</i>	EYA4	DFNA15
		<i>TFCP2L3</i>		DFNA10
FUNCIÓN SINÁPTICA	VESÍCULAS SINÁPTICAS	<i>OTOF</i>	OTOFERLINA	DFNA28
MITOCONDRIAL	RIBOSOMA SUBUNIDAD 12S	<i>MTRNR1</i>	1555A->G	DFNB9
				TRMU

2.1 GENES QUE CODIFICAN PROTEÍNAS DE MEMBRANA O QUE PARTICIPAN EN EL EQUILIBRIO IÓNICO DE LA ENDOLINFA.

La función de los genes que codifican los componentes de membrana, permiten el mantenimiento de la homeostasis iónica, y fundamentalmente la regulación del potasio.^{9,17} Así mismo se encargan de mantener el equilibrio metabólico de los líquidos cocleares, lo que permite a su vez la normofunción auditiva. (Figura 4).^{20,24}

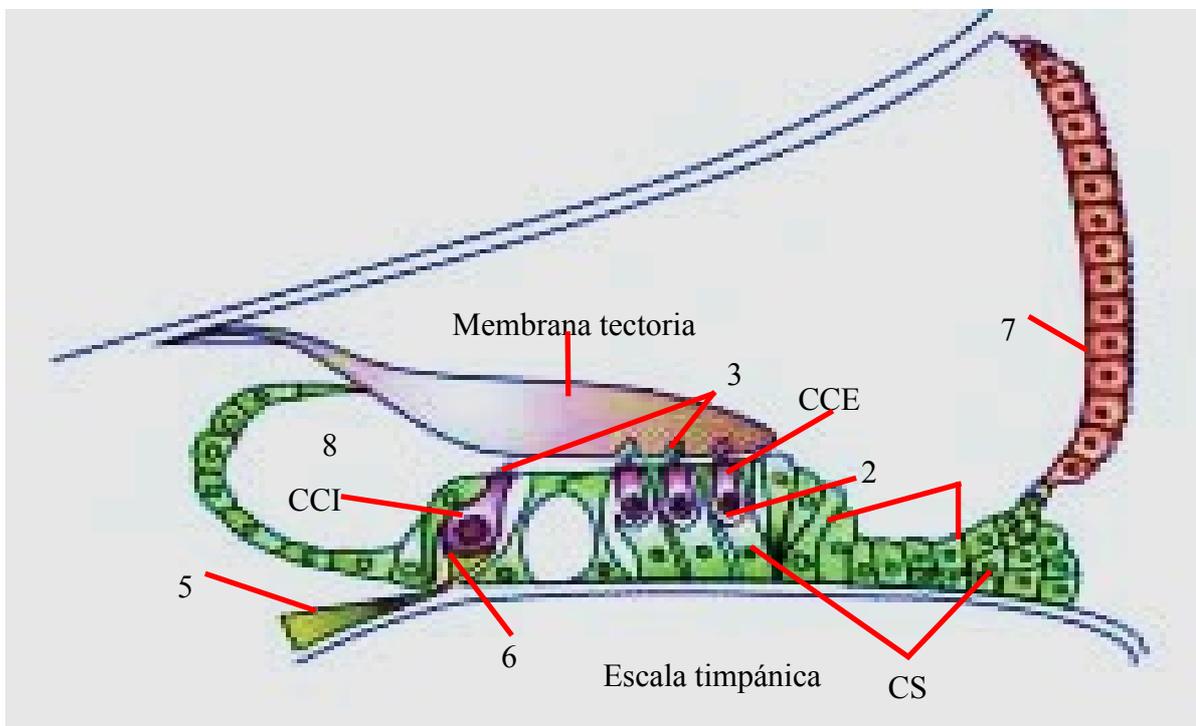


Figura 4 . Esquema de la cóclea. Se señalan las CCE células ciliadas externas, CCI células ciliadas internas, CS células de sostén, las áreas donde se expresan los diferentes genes. 1: GJB2, GJB3, GJB6. 2: KCNQ4, CLDN14. 3: MYO7A, MYO15, MYO6, MYO3A, DIAPH1, CDH23, STRC. 4: TECTA, COL11A2. 5: COCH. 6: OTOF. 7: PDS. 8: OTOA. (Gómez J. 2003)

Los genes que son responsables de la hipoacusia pueden agruparse en categorías funcionales dentro de la biología de la audición y son:

- Genes de las Conexinas

Dentro del grupo de genes de la conexinas, se encuentran los genes Gap Junction Beta que se numeran de acuerdo al orden de mapeo y son: ***GJB2***, ***GJB6***, ***GJB3***, entre otros.^{19,29,30} Estos genes, son encargados de la codificación de las Cx 26, Cx 30 y Cx 31 respectivamente, que forman canales intercelulares y que desempeñan un papel fundamental en la homeostasis del potasio, durante la repolarización celular.^{40,41,42}

- Genes *KCNQ4*.

Codifican proteínas que forman canales de potasio y se localizan en la porción basolateral de las CCE. Contribuyen al reciclaje del potasio permitiendo su paso desde las células ciliadas a las células de sostén, hasta llegar a la estría vascular. (Figura 4).⁵⁰

- Gen de la Pendrina (*SLC26A4*).

Codifica la Pendrina que es una proteína que transporta iones cloro y yodo. Se expresa tanto en el tiroides como en la cóclea. Su mutación origina el síndrome de Pendred (hipoacusia autosómica recesiva asociada a bocio y posibles anomalías en el oído interno). De otro lado puede producir una hipoacusia no sindrómica e inclusive, afectación del oído interno sin llegar a tener alteraciones tiroideas. (Figura 4).⁵¹

- Genes de las Claudinas (*CLDN*).

Codifican las claudinas o tight junctions (CLD), que permiten mantener el gradiente electroquímico de la cóclea modulando la permeabilidad paracelular entre las células ciliadas y las células de sostén. La CLD 14 esta involucrada en la hipoacusia no sindrómica de herencia autosómica recesiva que se localiza en el locus DFNB29. (Figura 4).⁵²

- Gen de la Wolframina (*WFS1*)

Este gen se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 4 (4p16) y codifica la Wolframina, que se encuentra en el retículo endoplásmico de las células, y que se encarga de la homeostasis del calcio. En el oído interno, se encuentra en las células del vestíbulo y de la cóclea, células del surco interno y externo, células pilares, de Deiters, de Hensen, de Claudius e interdentes, células marginales de la estría vascular, ligamento y ganglio espiral, y la membrana de Reissner.⁵³

Su mutación ocasiona tanto hipoacusia sindrómica como no sindrómica. El Síndrome de Wolfram tipo 1, de herencia autosómica recesiva, se manifiesta con hipoacusia que afecta frecuencias agudas, asociado a diabetes mellitus juvenil y atrofia óptica. De otro lado, la hipoacusia no sindrómica de herencia autosómica dominante (DFNA6,14 o 38), produce hipoacusia leve con afectación de las frecuencias graves y curvas en “S”, y posteriormente progresa a moderada-severa, afectando las frecuencias agudas.⁵³

2.2 GENES IMPLICADOS EN LA FUNCIÓN DE LOS ESTEREOCILIOS.

- Genes de la miosina.

Codifican las miosinas que mantienen la integridad estructural de los estereocilios y la organización citoesquelética de la célula ciliada. (Figura 4). ^{54,55,56,57,58,59,60.}

- Gen *DIAPH1*.

Codifica la proteína DIAPH1 la cual forma parte del sistema de reparación y mantenimiento del citoesqueleto (actinas) de las células ciliadas y las células pilares del órgano de Corti. (Figura 4). ^{61.}

- Gen *CDH23*.

Codifica la cadherina 23 que esta involucrada en procesos de adhesión celular. En el oído interno forma parte de los cross links manteniendo una adecuada tensión entre los estereocilios. (Figura 4). ^{62.}

- Gen *STRC*.

Codifica una proteína conocida como estereocilina, que se expresa en las células ciliadas del oído interno y que está asociada con los estereocilios. (Figura 4). ^{63.}

- Gen *USHC1*.

Codifica la proteína harmonina, que sólo se expresa en las células ciliadas de la cóclea y que probablemente interactúa con la miosina VIIA para formar un complejo que regula la tensión en los puentes entre los estereocilios. ^{64,65.}

2.3 GENES QUE CODIFICAN COMPONENTES DE LA MATRIZ EXTRACELULAR

- Gen *TECTA* a-tectorina.

Codifica alfa-tectorina, que interactúa con la beta-tectorina formando una matriz no colágena indispensable para la transducción del órgano de Corti al deformar los cilios de las células neurosensoriales. (Figura 4).⁶⁶

- Gen *COCH*.

Produce una proteína extracelular de función desconocida expresada en el laberinto vestibular y en la cóclea, fundamentalmente en los canales para las fibras nerviosas del oído interno. (Figura 4).⁶⁷

- Gen *OTOA*.

Codifica la otoancorina, que se localiza en la interfase entre la superficie apical de las células ciliadas y los geles que la cubren. Su función es desconocida. (Figura 4).⁶⁸

2.4 GENES QUE CODIFICAN FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN

2.4.1 Genes *POU*.

Los miembros de la familia del gen *POU* son genes reguladores, pues codifican factores de transcripción, es decir, proteínas que se unen al ADN y regulan la expresión de otros genes. (Tabla 3).^{69,70}

- Gen *EYA4*.

Las proteínas EYA4 regulan el desarrollo embriológico del oído interno y participan en el mantenimiento del órgano de Corti maduro. (Tabla 3).⁷¹

2.5 GENES QUE AFECTAN A LA FUNCIÓN SINÁPTICA

- Gen *OTOF*.

Codifica la otoferlina, que se expresa en la base de las células ciliadas internas. Está implicada en el transporte de las vesículas sinápticas y en su fusión con la membrana de la célula, provocando la liberación de neurotransmisores. Recientemente la mutación de la otoferlina ha sido vinculada a la neuropatía auditiva (Tabla 3).^{72,73}

2.6. GENES MITOCONDRIALES.

- Gen *MTRNR1*

La mutación A1555G en el gen del rRNA 12S del genoma mitocondrial es responsable de hipoacusia no sindrómica, así como de un incremento en la susceptibilidad a la acción ototóxica de los aminoglucósidos. Estos antibióticos bactericidas, actúan produciendo errores en la síntesis de proteínas al unirse selectivamente al RNA ribosómico (rRNA) 16S bacteriano. Parece que la mutación A1555G aumenta la similitud del rRNA 12S humano con su homólogo 16S bacteriano, produciendo un incremento en la unión del antibiótico, lo que provocaría un mayor daño en las células del oído interno.⁴⁰

3. GENES DE LAS CONEXINAS

Actualmente se conocen 15 conexinas diferentes en mamíferos. Los genes *GJB2* y *GJB6* se expresan en los mismos tipos celulares de la cóclea, codifican la Conexina 26 y 30 respectivamente, las cuales se encuentran ampliamente distribuidas en el oído interno.^{9,16,17,19.}

3.1. Generalidades de las conexinas.

Las Cx son proteínas de membrana que se clasifican según su peso molecular (de 26 a 59 kDa) y a la similitud de su secuencia, en tres clases principales: α (genes *GJA*), β (genes *GJB*) y γ (genes *GJC*). Su estructura esta conformada por cuatro dominios transmembrana, con dos porciones extracelulares con una secuencia de aminoácidos altamente conservada, y una porción intracelular variable.^{14,17,18,19} Ambos extremos, amino y carboxilo, son citoplasmáticos. La Cx26 y la Cx30 comparten un 76% de identidad en su secuencia de aminoácidos, pero la Cx30 tiene 37 aminoácidos adicionales en su extremo carboxilo. (Figura 5)^{25,29,32,74}.

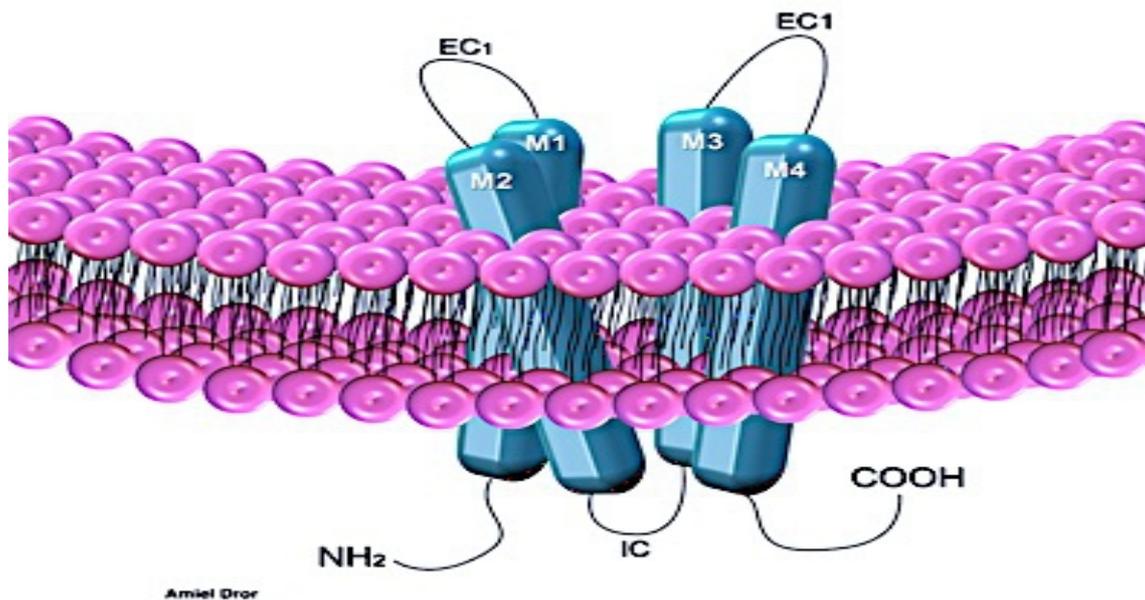


Fig. 5 . Topología de una conexina tipo α ó β en la membrana plasmática. IC: lazo intracelular. EC1 y EC2: dominios extracelulares. M1-4: dominios transmembranares . (Rabionet 2002)⁷⁴.

Las conexinas se unen entre sí formando los conexones, para lo cual es necesario seis subunidades de éstas, que pueden ser de igual o de diferente tipo, de manera que los conexones pueden ser homoméricos (formados por un único tipo de conexina) o heteroméricos (formados por subunidades de conexinas diferentes).^{10,14,16,17,19} La alineación de un conexón de una célula con el conexón de otra adyacente, permite la formación de un canal. Los dos conexones que unen las dos células pueden ser idénticos (canales homotípicos) o no (canales heterotípicos).^{29,30,47,74} (Figura 6)

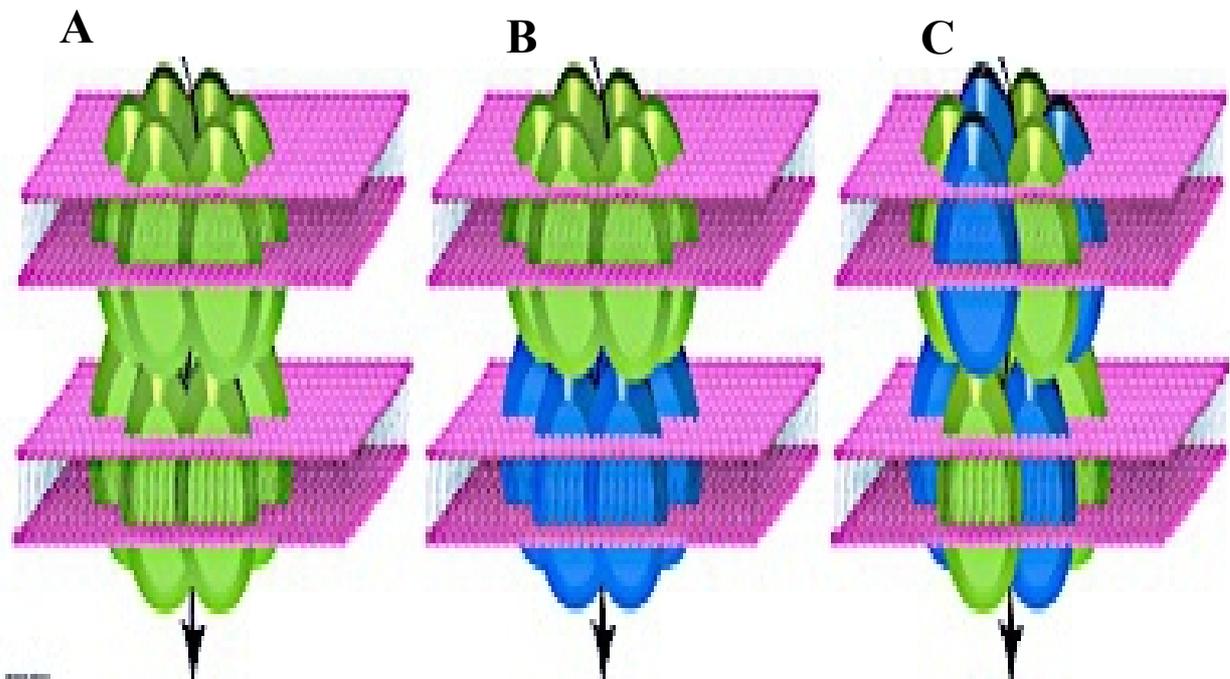


Fig. 6. Tipos de canales comunicantes de conexinas, esquematizando las combinaciones de las mismas que componen los dos hemiconales o conexones (Rabionet 2002).⁷⁴

El agrupamiento de varios de estos canales forma una *gap junction*, o unión de tipo hendidura, permitiendo el intercambio molecular y la comunicación intercelular.^{10,17,19,29,30} Las *gap junction* tienen una selectividad por el tamaño y carga de las moléculas que pueden pasar por los canales. Esta selectividad la determinan las subunidades de conexina que forman el conexón. Así mismo, la apertura de los canales de las uniones comunicantes puede ser reguladas por fosforilación, voltaje o pH. (Figura 6)^{75,76,77,78,79,80,81}.

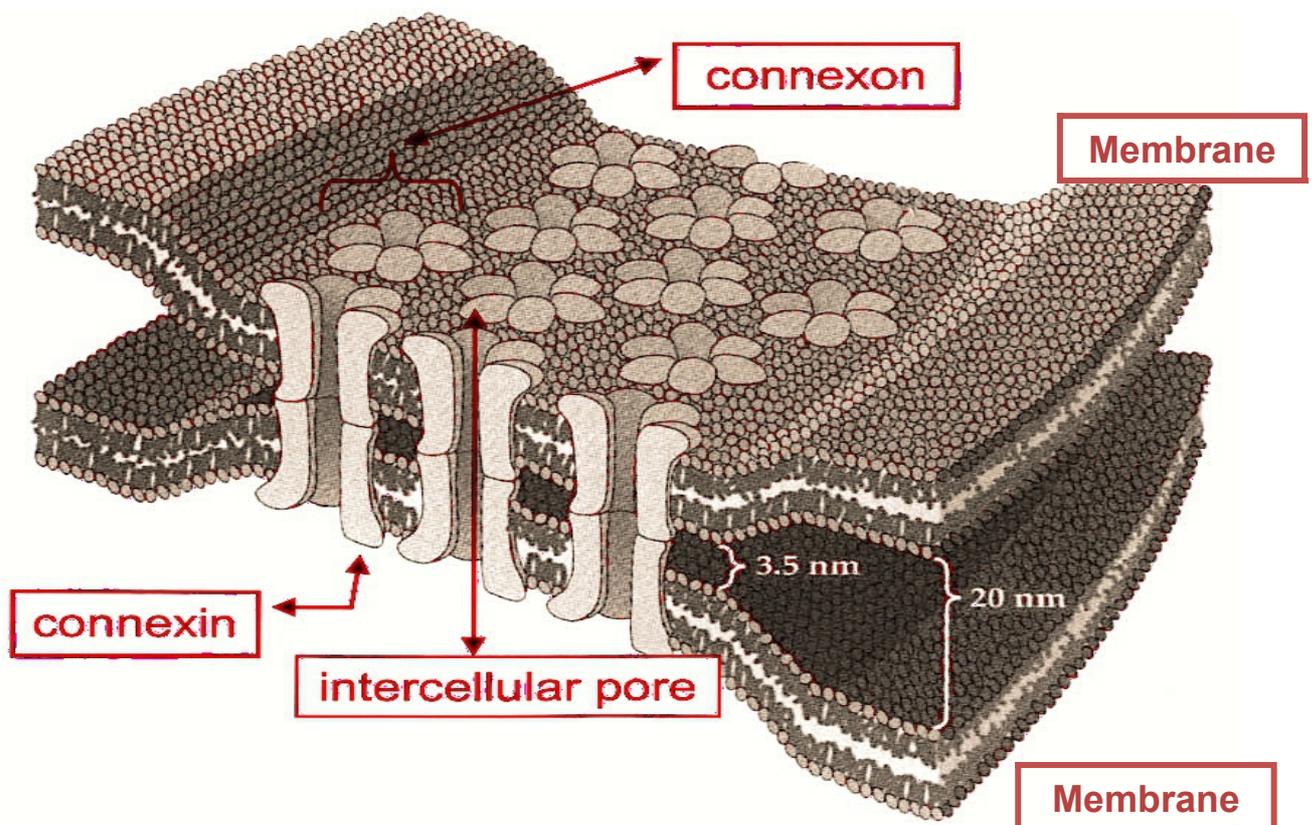


Fig 7. Representación de los poros intercelulares conformados por conexones, constituidos a su vez, por seis subunidades de conexinas. (Furshpan E.J. 2001).⁷⁵

3.2 El gen *GJB2*.

Ha sido el primer gen relacionado con las hipoacusias no sindrómicas y se localiza en el brazo largo del cromosoma 13 (13q12-13). Estudios inmunohistoquímicos han demostrado que *GJB2* se expresa en la estría vascular, en las células de sostén y en el limbo espiral de la cóclea. Las mutaciones tanto en DFNB como en DFNA, se asocian con dos formas de hipoacusia, la primera, corresponde a la DFNB1, que representa la forma más común de hipoacusia recesiva no sindrómica, (80 % de todas las hipoacusias recesivas).^{16,19,24,29} Su mutación más frecuente, consiste en la delección de uno de los nucleótidos guanina de un grupo de seis guaninas consecutivas en las posiciones 30-35 del gen, a menudo abreviada como *c.35delG*, siendo responsable de dos de cada tres casos de DFNB1.^{30,40-42}

Se ha demostrado que DFNB1 es un locus complejo que incluye al menos dos genes, *GJB2* y *GJB6*, este último es un gen que codifica la conexina 30 funcionalmente relacionada con la Cx 26.^{19,40,41,45,48}

Hay otras tres mutaciones de la conexina 26 que son muy frecuentes en determinados grupos étnicos: la mutación *c.167delT* entre los judíos Ashkenazi, siendo el 4 % de su población, portadora de la misma; la mutación *c.235delC*, que es mas frecuente en la población japonesa y la mutación *p.W24X* que afecta a la población gitana española.^{82,83,84}

El 50% de los pacientes con hipoacusias prelinguales no sindrómicas de herencia autosómica recesiva poseen mutaciones en el gen *GJB2*. Sin embargo, un porcentaje importante de los pacientes (10-42%) con mutaciones en *GJB2*, poseen sólo una mutación identificada. Esto llevó a descubrir una gran delección de 309 Kb la cual involucra la región 5' del gen *GJB6*.⁴⁰⁻⁴⁸

3.3. Gen *GJB6*

Se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 13 (13q12). Su mutación representa la segunda causa más frecuente de hipoacusia hereditaria autosómica dominante no sindrómica en España, Francia, Israel, Gran Bretaña, Brasil, Estados Unidos, Bélgica y Austria.^{41,45-46} Fue descrita inicialmente por el grupo del *Castillo y cols*,⁴⁶ quienes encontraron dos tipos de deleciones, siendo la más frecuente la *del (GJB6-D13S1830)*, seguida de otra más pequeña de 232 Kb en la misma región, que corresponde a la *del (GJB6-D13S1854)*. Más recientemente, en una familia estadounidense de origen alemán, se describió un nuevo alelo DFNB1, en *trans* con el alelo mutante *c.35delG* en *GJB2*, en el cual la expresión de los genes *GJB2* y *GJB6* estaba extraordinariamente reducida.⁸⁵ Este alelo DFNB1 era en realidad una deleción de 131 kb localizada a distancia de los genes *GJB2* y *GJB6*.⁸⁶ La deleción *del(DFNB1-200kb)* descrita por *Aguirre y cols*,¹⁶ se localiza también a distancia de los dos genes mencionados, en la misma zona que la deleción de 131 kb descrita anteriormente; las cuales apoyan la hipótesis de la existencia de un elemento regulador en los segmentos de ADN eliminados por las deleciones.

3.4. El gen *GJB3*.

Se encuentra localizado en el locus DFNA del brazo corto del cromosoma 1 (1p34), codifica la Cx31 y su mutación se relaciona con una hipoacusia no sindrómica autosómica dominante.^{87,88,89.}

3.5. El gen *GJB1*.

Se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma X (Xq13.1). Codifica la Cx 32 y su mutación produce una forma de síndrome de Charcot-Marie-Tooth, en la que puede existir hipoacusia.^{90,91.}

4. HIPOACUSIAS POR MUTACIONES EN LAS CONEXINAS 26 Y 30.

Las conclusiones de los distintos estudios publicados son diversas en lo que se refiere a los hallazgos audiológicos y su correlación genotípica. Así mismo, no se ha definido un morfotipo audiológico que caracterice cada una de las mutaciones que se han descrito hasta el momento. Se han postulado varias hipótesis para explicar la variabilidad de los rasgos audiológicos, dentro de las cuales, cabe resaltar la posible modulación existente entre los genes *GJB2* y *GJB6*, el grado de alteración de la función de las proteínas codificadas y la influencia de los factores medioambientales.^{40,41.}

De forma general, se puede decir que la mayoría de *los loci de herencia autosómica recesiva*, causan HNS severo-profunda prelingual con excepción del locus DFNB8, el cual se relaciona con una hipoacusia postlingual y rápidamente progresiva.^{14-16,19.} La mayoría de *los loci de herencia autosómica dominante* pueden cursar con hipoacusia postlingual, a excepción de DFNA3, DFNA8, DFNA12 y DFNA19. *Los loci ligados al cromosoma X* (DFN) pueden presentar hipoacusias pre o post linguales.^{40,41.}

Para efectos de este estudio, se comentará con mayor detalle las diversas controversias sobre los rasgos audiológicos, de los genes *GJB2* y *GJB6*, que codifican las Cx 26 y 30 respectivamente.

4.1. Mutación del gen *GJB2*

Corresponden a un tipo de hipoacusia autosómica recesiva y se caracterizan por la presencia de una hipoacusia prelingual no progresiva, de severidad variable, con compromiso significativo de las frecuencias agudas.^{10,14,16,19} Esto hace que sus perfiles audiométricos sean muy variados, y que dependan del tipo de mutación del gen *GJB2*.^{42-48,92,93,94}

Más de 90 mutaciones del gen *GJB2* han sido descritas en la literatura y varían según la población estudiada.^{4,42} En la población española, aproximadamente el 60% de las sorderas no sindrómicas familiares se deben a alteraciones en el gen de Cx 26.^{46,48,84}

La alteración más frecuente es conocida como *c.35delG* y causa el 50 % de todos los casos de hipoacusias congénitas prelocutivas y hasta el 85% de los alelos mutantes en poblaciones de origen europeo-mediterráneo.^{16,19,41,42}

Como se ha referido anteriormente, en otros grupos poblacionales como los Judíos Ashkenazi, la mutación más frecuente es *c.167delT*,⁸³ en la población japonesa, es más común la mutación *c.235delC*, en Ghana, la mutación *p.R143W*, y *p.W24X* para la población gitana española.⁸⁴ Se han realizado amplias revisiones de la bibliografía para tratar de unificar la relación fenotipo-genotipo.^{95,96,97,98} Aunque los datos publicados, sugieren que las diversas mutaciones del gen *GJB2* están asociadas a hipoacusia de grado moderado a profundo, se ha observado que los rangos establecidos para los grados de variación de la hipoacusia (en decibelios dB), varía de un estudio a otro, y que la relación específica entre los diferentes alelos del gen *GJB2* y la severidad de la hipoacusia no han sido abordados.^{86,88-98,99}

Los pacientes con mutaciones bialélicas del gen **GJB2**, incluyendo la mutación **c.35delG**, tienden a presentar hipoacusias severas a profundas. Para las mutaciones **c.35delG** en homocigosis, se pueden observar hipoacusias neurosensoriales severo-profundas.^{16,40,41} El 10-50% de los pacientes heterocigotos para la mutación **c.35delG**, pueden presentar una pérdida auditiva de menor intensidad respecto a las mutaciones en homocigosis. Sin embargo, también se describen portadores heterocigotos de la mutación **c.35delG** con audición normal. Para los casos de mutaciones diferentes a **c.35delG**, se ha llegado a encontrar un fenotipo leve a moderado.^{48,89-91}

Existen otras mutaciones en **GJB2** que corresponde a un tipo de hipoacusia autosómica dominante no sindrómica, localizada en la región cromosómica 13q12 y que corresponde al mismo intervalo cromosómico que se relaciona con DFNB1. Se han descrito tres mutaciones en el gen de la Cx 26 (**GJB2/CX26**) que producen hipoacusia DFNA3 y que son diferentes a las que ocasionan DFNB1.^{19,40,41,87}

Se pueden diferenciar dos formas clínicas en DFNA3 para la mutación de la Cx26. La primera corresponde a la mutación **p.W44X** y se caracteriza por ser una hipoacusia neurosensorial prelingual, lentamente progresiva, bilateral y simétrica. Aparece antes de los 4 años de edad y afecta a todas las frecuencias, siendo mas notoria la afectación de frecuencias agudas.^{19,90} La segunda forma clínica está asociada a la mutación **p.C202F**, consiste en una hipoacusia neurosensorial postlingual progresiva, que inicia en la segunda década de la vida. Afecta inicialmente las frecuencias agudas, y posteriormente las frecuencias medias, hasta provocar una hipoacusia moderada que se manifiesta en la quinta década.^{19,42,47,90}

Debido a lo anterior, se ha planteado un modelo de herencia digénica o multigénica ya que ambos genes, **GJB2** y **GJB6**, se ubican contiguos en el cromosoma 13 y es posible que actúen regulando su mutua expresión.^{19,42,45-47,56.}

4.2. La mutación del gen *GJB6*.

Ha sido estudiada por *Castillo y cols*⁴⁶, y representa la segunda causa más frecuente de hipoacusia hereditaria autosómica recesiva no sindrómica. Corresponde a una delección de 309 Kb denominada ***del (GJB6-D13S1830)***. Se ha encontrado en diversos estudios multicéntricos, que es una mutación muy frecuente en la población de España,⁴³⁻⁴⁶ Israel,^{83,99} Gran Bretaña^{42,85} y el sur de Francia.⁹² Otra delección más pequeña de 232 Kb en la misma región, llamada ***del (GJB6-D13S1854)***, resulta la segunda mutación más común causal de hipoacusia neurosensorial de herencia autosómica recesiva en España, Francia, Israel, Gran Bretaña, Brasil, Estados Unidos, Bélgica y Austria.^{48,100,101.} El grupo de *Wilch y cols*,⁸⁶ han encontrado una delección ***del(chr 13:19,837,344-19,968,698)*** la cual deja tanto a **GJB2** como a **GJB6** completamente intactos pero tiene un punto de ruptura proximal sustancialmente mas alejado de **GJB2** que de **GJB6**.

4.3. Mutación del gen *GJB3* se encuentra localizado en el locus DFNA del brazo corto del cromosoma 1 (1p34), codifica la Cx31 y produce una hipoacusia no sindrómica autosómica dominante.^{19,40,41,87.}

5. DETECCIÓN, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LA HIPOACUSIA.

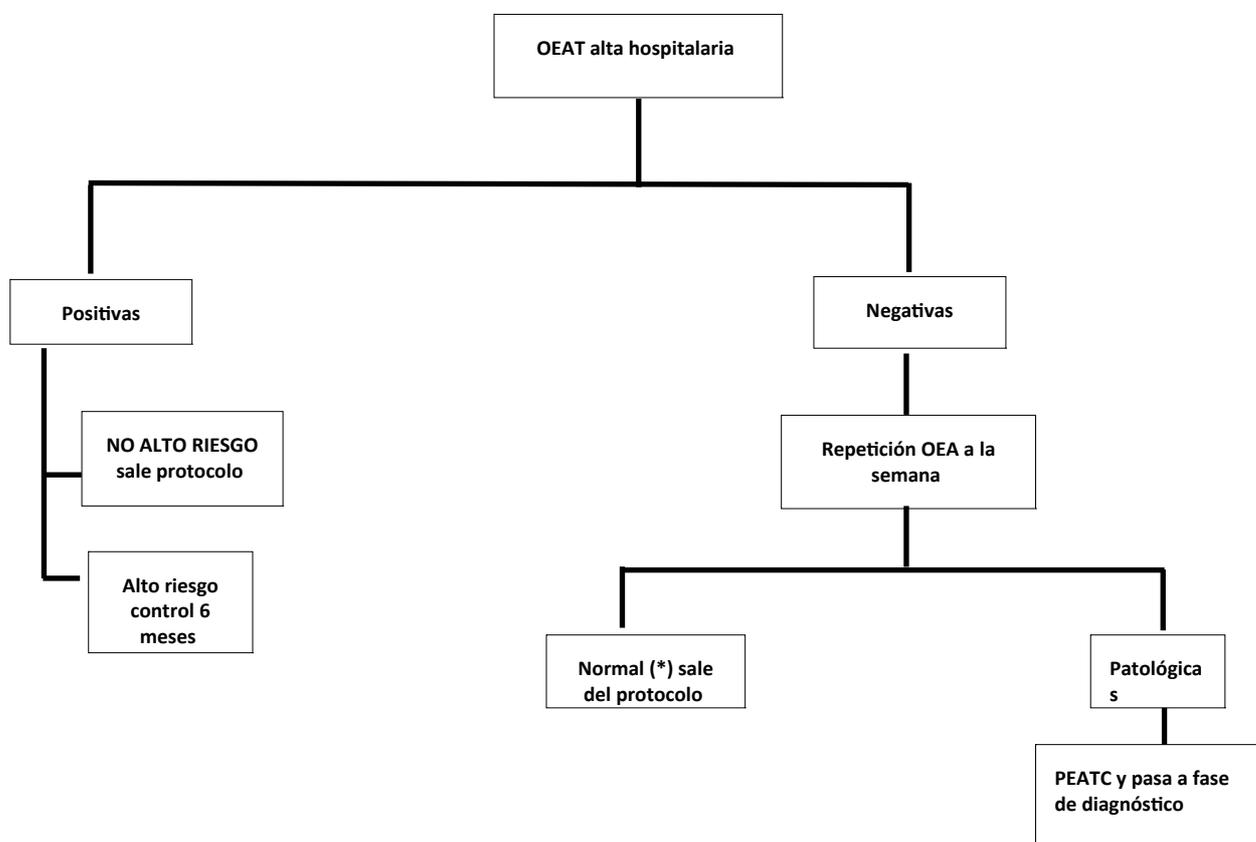
Basados en las indicaciones de la CODEPEH,⁴ el objetivo de un programa de detección de las hipoacusias neonatales de estas características no acaba en el momento de la detección, sino que va más allá y abarca también el diagnóstico y la intervención precoz. El protocolo de screening auditivo neonatal consta de **tres fases** que involucra la *detección precoz, el diagnóstico y el tratamiento.*⁴ (Tabla 4 y 5). La detección debe producirse antes del mes del nacimiento, el diagnóstico antes de los 3 meses y el inicio del tratamiento a los 6 meses. Debe existir una clara organización, de la cual tendrá que haber un responsable que será el que organice todos los datos introduciéndolos en una base de datos y controle en qué fase del proceso se encuentra cada paciente. Además se encargará de los protocolos interdisciplinarios encaminados a la organización de las diferentes especialidades que participan en ellos (ORL, Pediatras, Psicólogos, Logopedas).^{4,102,103.}

5.1. PRIMERA FASE: Detección precoz.

Se realiza al nacimiento o antes del alta hospitalaria. Se considera que la prueba es adecuada cuando se obtiene una onda V mediante PEATC a 40 dB o cuando las OEAT son positivas, por lo cual sale del protocolo. En caso contrario, es incluido en vigilancia por pertenecer a grupo de riesgo o se repite la prueba, aproximadamente a la semana de la primera.⁴ Si en la repetición permanece la anomalía de la prueba de otoemisiones, el niño es citado al mes de vida para la consulta del otorrinolaringólogo responsable del programa. Si al repetir las otoemisiones, éstas siguen estando alteradas, se repiten al cabo de dos semanas tanto PEATC y OEAT y pasarán a la fase de diagnóstico. (Tabla 4)^{103,107,108.}

Según la CODEPEH ⁴, los recién nacidos *sin antecedentes de riesgo de hipoacusia retrococlear*, pueden ser cribados tanto con PEATC como con OEAT. En el caso de no superar el cribado con los PEATC, no será necesaria una segunda prueba y pueden ser derivados a la confirmación diagnóstica. Sin embargo, si se usan las OEAT, especialmente si se realizan antes de las 72 horas de edad del niño, han de repetirse al menos una vez antes de derivarlos a la fase diagnóstica.

Tabla 4. Algoritmo para el diagnóstico precoz de la hipoacusia.



* Si no tiene antecedentes.

Para los niños que presenten *factores de riesgo de hipoacusia retrococlear* y que se les haya realizado el screening mediante OEAT, deben ser estudiados mediante una prueba complementaria utilizando los PEATCa diagnósticos, aunque hayan superado las otoemisiones, con el fin de evitar los falsos negativos asociados a la existencia de una

neuropatía auditiva. Así mismo, aquellos neonatos estudiados mediante PEATCa que no hayan superado la primera prueba deben estudiarse también con las OEAT, para documentar la existencia de una posible neuropatía auditiva. Es por esto que, la aplicación conjunta de estas dos pruebas, debe limitarse a aquellos casos concretos en los que se presenten factores de riesgo de hipoacusia retrococlear o en los que se sospeche la existencia de una neuropatía auditiva. ^{4,102,103,104,105,107,108.}

5.2. SEGUNDA FASE: Diagnóstico.

Partiendo de la base de que la hipoacusia congénita se diagnostica mediante el programa de screening auditivo neonatal, es necesario establecer un enfoque diagnóstico organizado donde se establezcan los protocolos y las pruebas necesarias a seguir, con el fin de completar el estudio de cada paciente. ^{4.}

Aunque en la actualidad, no existe un consenso que permita elaborar un protocolo de diagnóstico, la CODEPEH⁴ recomienda el estudio sistemático y ordenado de la hipoacusia congénita planteando que el abordaje se centre en *tres aspectos fundamentales: clínico, radiológico y genético*. ^{4,106,107,108,109,110,111.}

Para ello es necesario, el apoyo de un equipo multidisciplinario conformado por el otorrinolaringólogo, el pediatra, el neuropediatra, el oftalmólogo y el genetista.

- Aspecto clínico.

Incluye la realización de la anamnesis, el examen físico, las pruebas de laboratorio y las pruebas audiológicas.

* La **Anamnesis** involucra los aspectos relacionados con el inicio de la hipoacusia, respuesta a estímulos sonoros, rendimiento escolar, uso de prótesis auditivas, antecedentes personales y familiares, relacionados con la pérdida auditiva. Es necesario establecer los factores de riesgo pre, peri y posnatales, que han sido definidos en El *Joint Committee on Infant Hearing* (última revisión en el 2007) ¹¹² y que han sido analizados y aplicados también a nivel nacional, por la CODEPEH, 2010.⁴ (Tabla 2)

* **El examen físico** incluye la valoración otológica detallada y la detección de malformaciones o rasgos dismórficos, que pueden orientar al diagnóstico de hipoacusias de origen sindrómico.^{10.}

Según las recomendaciones de la CODEPEH,⁴ todo niño con el diagnóstico confirmado de hipoacusia debe de pasar por lo menos un examen oftalmológico, para valorar si padece una hipoacusia aislada y si esta se encuentra integrada en un síndrome o si se trata de un trastorno asociado a otras enfermedades o déficits neurológicos o neuropsicológicos.^{113.}

* Se han descrito diversos tipos de **análisis de laboratorio y pruebas complementarias**, tales como, función tiroidea, renal y hepática, exámenes inmunológicos, electrocardiograma (por el síndrome de QT prolongado) y además la búsqueda de sífilis, toxoplasmosis y citomegalovirus.^{10,14,19.} Sin embargo, se ha demostrado en diversos estudios, que las determinaciones analíticas tienen un rendimiento diagnóstico muy bajo y no contribuyen al diagnóstico etiológico, por lo que no se recomiendan de forma rutinaria en el screening auditivo.^{109,114,115,116,117.}

El electrocardiograma, se recomienda en todos los casos con hipoacusia severa o profunda para descartar un intervalo Q-T prolongado asociado al síndrome de Jervell-

Lange-Nielsen.¹⁹

La determinación de hormonas tiroideas podría ser útil para descartar el síndrome de Pendred (hipoacusia neurosensorial con bocio). Sin embargo se sabe que, el 56% de los niños con este síndrome son eutiroideos y que el test de descarga con perclorato es la prueba de elección cuando se sospecha este síndrome, mas no una prueba que se pueda utilizar como cribado en todo niño con hipoacusia. Por otro lado, en todo niño hipotiroideo es necesario descartar una hipoacusia.^{118.}

* **Pruebas audiológicas** como se mencionó en apartados anteriores, tiene como pilar fundamental el screening auditivo neonatal. Este diagnóstico debe basarse en un conjunto de pruebas, que debe incluir siempre PEATC y OEAT (Tabla 4.)^{4.}

- Imágenes Diagnósticas.

Algunos estudios sugieren que se debe realizar una tomografía computarizada (TC) y una Resonancia Magnética (RM) de alta resolución, ya que pueden mostrar alteraciones anatómicas del oído interno, como el ensanchamiento del acueducto vestibular. Sin embargo, son de elevado costo y, en el mejor de los casos, permiten hacer el diagnóstico en un 40% a 60% de los casos.^{113,119,120,121.} Las pruebas de imagen, en concreto la TC del peñasco, muestran alteraciones aproximadamente en el 30% de los casos.^{119,120.}

Se ha demostrado estadísticamente que la presencia de mutaciones en el gen **GJB2** hace que sea poco probable encontrar dichas alteraciones, por lo que, considerando el gasto y los trastornos que ocasiona a la familia y al niño la realización de una TC, se recomienda omitir esta prueba. Por el mismo motivo, se recomienda también omitir los test genéticos del *GJB2* en aquellos niños en los que se haya demostrado una alteración en la TC, si ésta se ha pedido como primer estudio.^{4,119,120,121}

- Genética.

Las pruebas genéticas constituyen una nueva técnica que puede mejorar el diagnóstico de HNS en niños, así como ayudar al esclarecimiento de aquellos casos que actualmente no han sido diagnosticados. ^{122,123.}

Identificar la presencia de una predisposición genética en una familia tiene múltiples ventajas, tanto para los individuos sanos como para los que ya han presentado la enfermedad. De igual forma, los beneficios para el paciente, pueden reflejarse en la prevención, el diagnóstico y el pronóstico de la enfermedad, así como, en lo que se refiere al tratamiento y los efectos en la reproducción. ^{19,124,125,126.}

Existe una gran heterogeneidad en las hipoacusias hereditarias, por lo que el estudio de todos los genes identificados hasta el momento supondría un elevado coste. Por este motivo, cualquier abordaje molecular que emplee técnicas de secuenciación convencionales, debe limitarse al estudio de los genes más frecuentemente afectados en la población diana. En nuestro medio y como se ha explicado anteriormente, la mayoría de hipoacusias hereditarias no sindrómicas están ocasionadas por mutaciones en unos pocos genes (por ejemplo, *GJB2*, *GJB6*, *OTOF*, *MTRNR1*). ^{19,109,125.}

Los tests genéticos constituyen la prueba diagnóstica con un mayor rendimiento en las hipoacusias neurosensoriales no sindrómicas, cuando no es posible identificar una causa evidente mediante la historia o la exploración física. El estudio básico debe incluir necesariamente los genes *GJB2* y *GJB6*, para lo cual se han diseñado pruebas de amplificación de PCR para la detección de las mutaciones que producen hipoacusia tipo DFNB1 y DFNA3. Actualmente, estas pruebas están siendo utilizadas en numerosos laboratorios de diagnóstico genético de todo el mundo ^{109,122,125,126.}

Con el fin de aumentar la precisión diagnóstica y minimizar el estrés de los padres, se ha propuesto el estudio molecular del gen *GJB2* como el primer paso del proceso a

seguir en los casos de hipoacusia neurosensorial en los que no se haya identificado su etiología en la historia clínica ni en la exploración física.^{109,121,125,126.}

El rendimiento diagnóstico de esta prueba fue de un 22% en una población de niños con hipoacusia neurosensorial severa o profunda. Si encontramos solo la mutación en un gen, debe realizarse en combinación seriada con la búsqueda de la delección del gen **GJB6**. En la población española, vemos que un número importante de casos en los que se encuentra una mutación en *GJB2* y no encontramos la otra (que aparece en heterocigotos sanos y que la hipoacusia es por otra causa genética), en muchos casos son mutantes compuestos *GJB2/GJB6*.^{117.}

5.3. TERCERA FASE: Tratamiento.

En cuanto se confirma la existencia de una hipoacusia, se debe proporcionar a los padres una atención especializada. Para ello es necesario contar con un equipo multidisciplinario conformado por otorrinolaringólogos (expertos en cirugía otológica), audiólogos infantiles y audioprotesistas. De igual forma se requiere la participación de profesionales no sanitarios como logopedas y maestros, psicólogos o pedagogos con especialización en Audiología y Lenguaje, los cuales, realizarán el apoyo familiar, la atención temprana, la intervención logopédica y el apoyo escolar.^{4,126.} El tratamiento de la hipoacusia en el niño, se basa en técnicas de estimulación precoz auditiva, ayudas auditivas e implante coclear.^{127.}

- La estimulación precoz auditiva.

Cuanto mas precozmente se establece el tratamiento, mejor resultado se obtiene, independientemente del tipo que se aplique. Por ello, la estimulación auditiva por el logopeda debe instaurarse en cuanto se realice el diagnóstico e incluso ante la mínima sospecha suficientemente fundada. Esta habilitación auditiva adaptada a la edad del

niño, debe realizarse como tratamiento aislado, en casos en los que se tenga un diagnóstico audiológico no establecido o como complemento a ayudas auditivas y/o implantes cocleares. Por otro lado, el condicionamiento del niño ante los sonidos y la información por el logopeda de su evolución, ayudan a realizar las pruebas auditivas y establecer el diagnóstico en aquellos casos dudosos.^{128,130.}

- Ayudas auditivas.

Las prótesis utilizadas son de tipo convencionales adaptadas por audiólogos expertos en pacientes pediátricos. Se indican habitualmente en pacientes con hipoacusia moderada a severa y deben adaptarse teniendo en cuenta la edad del niño.^{129,130,131,132.}

- Implantes cocleares.

Aunque en algunas hipoacusias pueden utilizarse otras prótesis implantables, los más utilizados son los IC. Están indicados en hipoacusias neurosensoriales profundas que no se benefician del uso de prótesis auditivas convencionales.^{133,134,135} Los IC han demostrado su utilidad especialmente en hipoacusias genéticas, con mutaciones que afectan las estructuras cocleares o su función.^{136,137,138} En los casos de hipoacusia neurosensorial por mutaciones del gen de la Cx 26 y 30, los implantes cocleares han demostrado su utilidad. Como se comentó en apartados anteriores, las Cx 26 y 30, conforman los gap junction necesarios para la homeostasis del potasio en el oído interno. Estas proteínas son indispensables en el proceso de repolarización celular y su mutación ocasiona hipoacusia neurosensorial profunda.^{19,142,143.}

El papel del implante coclear en este tipo de sorderas es importante, ya que la técnica permite eludir el daño ocasionado por las mutaciones de la Cx26 y 30. La estimulación que realizan los electrodos del implante, se hace a nivel de las células del ganglio espiral de la cóclea, al ser introducido directamente en ella y permitiendo así un estímulo

eléctrico directo, y que es conducido por las vías aferentes hacia la corteza cerebral.^{139,140,141.}

Se ha sugerido que las mutaciones de la Cx 26 corresponden a una patología que no asocia otras alteraciones, y que a su vez, mantiene intactas las células del ganglio espiral y la presencia del nervio coclear, lo que permite que el implante coclear sea una alternativa de tratamiento efectiva.^{138,142,143.}

La determinación de la funcionalidad del nervio coclear es importante para evaluar los resultados en el implante coclear. El porcentaje de pacientes con mutaciones de la Cx26 que presentan anomalías del hueso temporal es del 8-10% aproximadamente. Así mismo, el análisis del hueso temporal en los casos de mutaciones de Cx26 en heterocigosis (*c.35delG*) ha demostrado la integridad de las células del ganglio espiral, sin degeneración neuronal, con ausencia de células ciliadas en el órgano de Corti y agenesia de la estría vascular.¹¹⁷

Propst y cols,¹⁴⁴ utilizaron potenciales evocados eléctricos para estudiar el nervio auditivo de los pacientes implantados con mutaciones de la Cx26 y encontraron que permanecían funcionantes las células del ganglio espiral de toda la cóclea al compararlos con los pacientes que no presentaban mutaciones de la Cx26.

En los últimos años, se ha demostrado la importancia de la implantación precoz, con el fin de aprovechar el período de vida con mayor plasticidad auditiva; ya que a medida que pasa el tiempo, los resultados y beneficios auditivos se hacen más limitados.

^{138,141,142,145.}

Según un estudio realizado por *Connell y cols*,¹⁴¹ en el que se estudian los resultados con implantes cocleares en pacientes con mutaciones DFNB1, se concluye que la implantación coclear es una forma segura y efectiva para mejorar la comunicación aural y verbal en pacientes pediátricos con mutaciones DFNB1. Además demostraron que

hubo mejores resultados en la expresión del lenguaje y la comprensión, en el grupo de pacientes con mutación DNFB1, lo cual podría ser explicado por la preservación del nervio coclear y las células del ganglio espiral. De igual forma, según los resultados obtenidos en este estudio, se sugiere que la identificación de la causa de la hipoacusia neurosensorial puede ser útil como factor de predicción para la implantación coclear temprana y la obtención de mejores resultados valorables en el desarrollo del lenguaje.

Cullen y cols,¹⁴⁶ no encontraron diferencias significativas en las pruebas en campo libre entre los pacientes con y sin mutaciones de la Cx26. En otros estudios realizados por *Green y cols*, así como *Bauer y cols*,¹⁴⁷ encontraron diferencias significativas en los resultados de las pruebas de audición en aquellos pacientes con mutaciones de la Cx 26 en comparación con otros pacientes que presentaban otras causas de hipoacusia neurosensorial.

En un estudio japonés donde se estudiaron 4 niños con mutaciones en homocigosis *c.235delC* del gen *GJB2*, que produce una hipoacusia profunda bilateral y simétrica, encontraron que todos los pacientes presentaban mejores resultados en las pruebas de campo libre con implante, respecto a los pacientes sin mutaciones de Cx26.¹⁴⁸ Esto sugiere que en dicha mutación, se mantiene la integridad central y periférica de las vías auditivas. No solo se ha observado que en la mutación *c.235delC* se presenten este tipo de características, sino también en un estudio realizado por *Mesolella y cols*,¹⁴² donde la mayoría de los pacientes presentaban mutaciones *c.35delG* en homocigosis y además se observó mejores resultados en las pruebas audiológicas y en el desarrollo del lenguaje después de la implantación coclear.

En un estudio realizado por *Ramos y cols*,¹³⁹ se demostró que el implante coclear, constituye una de las mejores alternativas terapéuticas para la hipoacusia de grado severo-profundo de aparición congénita y prelocutiva.

Según los datos obtenidos en este trabajo y otros estudios publicados, los niños con hipoacusia neurosensorial profunda DFNB1 mostraron similares resultados y beneficios que los niños con implante y sin diagnóstico de DFNB1.^{149,150,151,152.}

A pesar de la existencia y la influencia de los factores genéticos y ambientales que puedan afectar los resultados obtenidos con el implante coclear, se debe considerar como una opción terapéutica eficaz en los pacientes con este tipo de hipoacusia. Además se demostró, que los pacientes con alteración de la Cx 26, obtuvieron un adecuado beneficio con el implante coclear, por lo que se puede considerar a los pacientes con DFNB1, como excelentes candidatos para la implantación coclear, si se dan las condiciones generales adecuadas para ello.^{142-152.}

- Tratamiento genético. Perspectivas.

Las opciones terapéuticas actuales para la pérdida auditiva neurosensorial se limitan a los dispositivos de amplificación tales como audífonos y los implantes cocleares. La terapia génica dirigida al oído interno para modular o reemplazar genes endógenos y sus productos, ofrece la promesa de nuevos tratamientos para la pérdida de audición hereditaria.¹⁵³

Actualmente existen dos técnicas para la modulación genética en el oído interno, según el tipo de célula diana a tratar, mediante el uso de vectores virales y no virales. El abordaje se realiza a través de cocleostomía o acceso a la ventana redonda mediante inyección intratimpánica.^{154,155.}

Dada la variedad de tipos de células en el oído interno, el tropismo viral es una consideración importante al seleccionar un vector de transferencia de genes, así como la toxicidad del vector, ya que se ha demostrado que algunos virus tienen efectos perjudiciales sobre sus objetivos.¹⁵⁶ Hasta la fecha, una variedad de vectores virales han sido utilizados para ser dirigidos a genes en el oído interno, incluyendo adenovirus (AV), virus adeno-asociado (AAV), virus del herpes simple y lentivirus.^{157,158,159,160}

También se han descrito una variedad de técnicas de “delivery” como las publicadas por *Jero y cols*,¹⁶¹ *Lalwani y cols*,¹⁶⁰ *Praetorius y cols*,¹⁶² *Yamasoba y cols*,¹⁶³ entre otros.

Muchas formas de hipoacusia genética, incluyendo las causadas por mutaciones **GJB2** o **GJB6**, tienen inicio prelingual. En estos casos, se requiere la intervención temprana para lograr de forma eficaz, la corrección o el reemplazo de genes alterados. Los modelos murinos de hipoacusia con pérdida significativa de la audición relacionada con la conexina en el momento de la maduración coclear, requieren que las estrategias terapéuticas se focalicen en la cóclea en desarrollo.^{164,165,166}

Recientemente, *Bedrosian y cols*¹⁶⁷ desarrollaron un método para la transferencia de genes en el útero, lo cual se muestra un pseudotipo de vectores virus adenoasociados (AAV2/1) para transducir de forma segura y eficiente los progenitores de células ciliadas en la vesícula auditiva del modelo murino. Si bien el direccionamiento in útero de las células ciliadas sensoriales con AAV2/1, ofrece un potencial terapéutico para muchos de los tipos de hipoacusia genética, hay razones importantes para identificar un virus con un tropismo por las células de soporte en la cóclea en desarrollo. Aparte de su papel en la forma más común de HNS autosómica recesiva, las células de soporte cocleares sirven como objetivos principales de intervención para inducir la regeneración de las células del cabello.¹⁵⁸ Un avance significativo en la aplicación de la terapia génica para restaurar la función auditiva, fue el descubrimiento de la entrega adenoviral de

Atoh1 (Math1) a células de soporte en la cóclea de cerdos de Guinea, obteniendo como resultado, la formación de las células de cabello similares a las originales.¹⁵⁸ La posibilidad de regeneración de las células del cabello y el tratamiento potencial de enfermedades comunes como la hipoacusia por mutaciones de las conexinas, son razones de peso para identificar los vectores con tropismo por células de soporte del oído interno.^{168,169}

Los vectores de virus adeno-asociados bovinos (BAAV) y adenovirus (AV), se han utilizado previamente para la transducción con éxito de células de soporte cocleares en roedores adultos, pero nunca han sido entregados a la cóclea en desarrollo in vivo.^{170,171,172,173,174} Gracias a los esfuerzos para mejorar la transducción, la terapia génica en el oído interno parece ser más accesible que en el pasado y pueden llevar al éxito en el tratamiento de la hipoacusia.¹⁵³

- Otras perspectivas en el tratamiento.

La alteración a nivel de las neuronas del ganglio espiral y la preservación de las células ciliadas en los casos de hipoacusia neurosensorial genética, ha llevado a que se lleven a cabo estudios con células madre para intentar recuperar el daño que se produce en dichas neuronas.^{175,176,177,178,179,180}

En un estudio realizado por *Chen y cols*,¹⁸¹ se presentó un protocolo para inducir la diferenciación de células madre de embriones humanos usando las señales involucradas en la formación de la placoda ótica. Como resultados se obtuvieron dos tipos de progenitores óticos capaces de diferenciarse in vitro en células similares a las células ciliadas y en neuronas auditivas, que presentan propiedades electrofisiológicas. Además al transplantar estas células en un modelo de neuropatía auditiva, los neuroprogenitores óticos se injertan, diferencian y mejoran significativamente la respuesta en los PEATC. Estos resultados sugieren la investigación de modelos de trasplante de células madre para intentar dar un tratamiento alternativo.¹⁸¹

OBJETIVOS

En la actualidad, existen numerosos estudios sobre las mutaciones del gen de la Cx26 y 30, en lo que respecta al grado de hipoacusia y al tipo de mutación genética.

Se han planteado varias hipótesis y se ha llegado a concluir que es posible la participación de otros genes en las manifestaciones clínicas audiológicas, siendo debida a un tipo de herencia digénica. Sin embargo no se han realizado estudios en los que se haya diferenciado cada una de las frecuencias audiométricas, de forma individual y específicamente en las agudas, que son las mas afectadas en esta patología, así como su correlación con cada uno de los tipos de mutaciones mas frecuentes para la Cx26 y 30.

1. OBJETIVO PRINCIPAL

Establecer una relación entre las frecuencias audiológicas (agudas, graves, conversacionales y frecuencia por frecuencia) con el tipo de mutación genética, para definir si existe una asociación entre el fenotipo audiológico y el genotipo.

2 .OBJETIVOS SECUNDARIOS.

- Determinar los aspectos epidemiológicos mas relevantes de nuestros pacientes tales como la edad, sexo, antecedentes personales y familiares, tipos de mutaciones, así como los resultados audiométricos pre y postratamiento, comparándolos con los resultados obtenidos en la literatura.
- Establecer la edad de diagnóstico e inicio de la hipoacusia en relación con las mutaciones en el gen **GJB2** y **GJB6**, con el fin de explicar la posible asociación entre algunas mutaciones y su debut en la etapa prelocutiva o postlocutiva.
- Correlacionar los resultados audiológicos con los tipos de mutaciones para establecer si existen diferencias entre las curvas audiométricas y el grado de severidad de la hipoacusia.

- Definir si la hipoacusia por mutaciones de las Cx 26 y 30 presenta diferencias significativas al comparar un oído con el contralateral.
- Establecer diferencias entre los casos de pacientes con hipoacusia por factores no genéticos y como éstos pueden influir al expresarse conjuntamente con mutaciones de las Cx 26 y 30.
- Destacar la importancia del screening neonatal para el diagnóstico precoz de la hipoacusia y dilucidar la necesidad de realizar el screening genético a una edad mas temprana.
- Establecer los diferentes tipos de tratamiento, resaltando el papel de los implantes cocleares para los casos de hipoacusia neurosensorial severo-profunda por mutaciones de la Cx 26 y 30.
- Describir los resultados audiológicos obtenidos para los diferentes tratamientos instaurados (IC y/o PA).

MATERIAL Y MÉTODOS

1.PACIENTES.

Se estudian 67 pacientes evaluados en el servicio de Otorrinolaringología del Hospital Universitario La Fe, recogidos durante el período comprendido entre 2004 a 2012.

Todos los pacientes están diagnosticados de hipoacusia neurosensorial bilateral producida por mutaciones de la Cx 26 y/o 30, utilizando para ello las pruebas genéticas y audiológicas adaptadas a la edad de cada paciente.

La muestra que se estudia, esta conformada por 36 mujeres y 31 hombres, con una media de edad de 99.2 meses (SD=169.8).

Se clasifican según la edad en 5 grupos:

Grupo 1: 0 -12 meses inclusive.

Grupo 2: >12-24 meses.

Grupo 3: > 24-48 meses.

Grupo 4: >48-84 meses.

Grupo 5: >84 meses (Adultos).

2.CRONOGRAMA.

Los datos recogidos durante las visitas fueron los siguientes: (Tabla 5)

- En la primera visita se tomaron los datos administrativos: Número de historia clínica, sexo, edad y nombre. Además se realizó un resumen de la historia clínica que incluyó el inicio de la hipoacusia, antecedentes personales y familiares de interés, fecha y edad de adaptación de las prótesis auditivas. Se indicó la realización de pruebas audiológicas según la edad de cada paciente para clasificar el grado de hipoacusia según la severidad, teniendo en cuenta las normas de el BIAP (2002)¹³
- Una vez diagnosticados de hipoacusia neurosensorial bilateral mediante pruebas audiológicas, se procedió a realizar las pruebas establecidas según los protocolos de hipoacusia de nuestro servicio y que incluyeron: Estudio radiológico, pruebas genéticas, valoración por logopedia y neuropediatría (en caso de los niños) y valoración por psiquiatría.
- En las posteriores visitas se realizaron pruebas audiológicas adaptadas según la edad de cada paciente para control pre y postratamiento.

Tabla 5. Cronograma de visitas y procedimientos realizados.

Procedimiento	Primera visita	Segunda visita	Tercera visita	Sucesivas
Historia Clínica	X	-	-	-
Pruebas audiológicas	X	X	X	X
Estudios complementarios	-	-	X	-

3. TIPO DE ESTUDIO.

Se realiza un estudio retrospectivo, de corte transversal, descriptivo y analítico.

4. CUALIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL FENOTIPO AUDIOLÓGICO.

- Examen físico: A todos los pacientes se les realizó la valoración otológica mediante otomicroscopia.

- Pruebas audiológicas:

* Se realizan las pruebas adaptadas a la edad de cada paciente utilizando:

- Timpanometría.

- Otoemisiones Acústicas Transitorias (OEAT)

- Potenciales Evocados Auditivos del Tronco Cerebral (PEATC).

- Audiometría Tonal Liminar (ATL).

- Audiometría Vocal (AV) y Audiometría Tonal en Campo Libre (ACL) para los pacientes que fueron tratados con implante coclear o prótesis auditivas.

- Timpanometría y Otoemisiones Acústicas Transitorias (OEAT).

- Para la realización del timpanograma hemos utilizado el equipo Audiometer AZ 26 que utilizan las normas ANSI S3.39, ANSI S3.6, IEC 645-1, y IEC 1027. Los registros se obtuvieron utilizando un tono de sonda de 226Hz, con un punto de barrido de arranque de presión de +200 daPa y un punto final de -400daPa.

- Las OEAT se realizaron utilizando el protocolo de *Vega y cols*¹⁸². Para ello, se llevaron a cabo durante el sueño fisiológico del niño, empleando un equipo *Otometrics Madsen AccuScreen*®, con el software ILO88 versión 3.94 conectado a un ordenador

PC. El estímulo utilizado es un clic no lineal que se presenta a una intensidad entre 70 y 84 dB SPL. Se realiza en modo *Quickscreen* a una frecuencia de 80 Hz. Se registra una grabación doble de la respuesta (A y B), donde el ruido se obtiene a partir de la diferencia entre las dos grabaciones y la otoemisión es el espectro coincidente de las mismas. La reproductibilidad fue igual o superior al 70%.¹⁸³

Los registros obtenidos se clasifican en:

- “Normal”: cuando la reproductibilidad (correlación entre las respuesta A y B) es igual o superior al 70% y existen otoemisiones visibles en todas las bandas de frecuencia o sólo faltan en una de ellas.
- “No válido”: cuando la reproductibilidad está comprendida entre el 50% y el 69% y/o no son visibles las otoemisiones en dos bandas de frecuencia.
- “Fallo”: cuando la reproductibilidad es inferior al 50% y/o no son visibles las otoemisiones en tres o más bandas de frecuencia.

- Potenciales Evocados Auditivos del Tronco Cerebral (PEATC)

Se utiliza el protocolo realizado por *Vega y cols.*¹⁸² Para ello, se emplea el equipo de potenciales evocados modelo Biologic Navigator PRO System®. En todos los pacientes se intentó la exploración durante la etapa de sueño fisiológico postprandrial, pero cuando ello no fue posible se utilizó sedación medicamentosa con hidrato de cloral a dosis de 0,5 cc/kg. Se prepara la piel del niño limpiándola con alcohol y colocando un gel conductor para conseguir una buena impedancia de los electrodos (resistencia por debajo de 5.000 ohmios). Se coloca un electrodo sobre la apófisis mastoides ipsilateral al estímulo, un segundo electrodo en la porción media de la frente cercano a la línea del cabello y un tercer electrodo en mastoides contralateral.

El potencial se recoge en una derivación bipolar entre el electrodo colocado en la frente (electrodo positivo) y el de la mastoides ipsilateral (electrodo negativo), mientras el electrodo de la mastoides contralateral actúa como masa.

Se estudia cada oído por separado utilizando un estímulo tipo clic (2048 estímulos) en rarefacción con una intensidad de 80, 60, 40 y 20 dB HL. El tiempo de análisis de la respuesta oscila entre 10-15 mseg. posteriores al estímulo. La respuesta ha sido filtrada con un paso de banda comprendido entre un mínimo de 30 y un máximo de 3.000 Hz.

Una vez terminada la exploración se suavizan y se superponen los registros identificando las latencias e interlatencias de las ondas I, III y V a 80 dB de intensidad siguiendo las recomendaciones internacionales.¹⁸⁴ Posteriormente se identifica la onda V en el resto de las intensidades.

Clasificamos el nivel de audición según los PEATC, en:

- Normoacusia: onda V visible a 20 dB en ambos oídos.
- Hipoacusia leve: onda V visible a 40 dB.
- Hipoacusia moderada: onda V visible a 60 dB.
- Hipoacusia severa: onda V visible a 80 dB.
- Hipoacusia profunda: no se identifica onda V en ninguna intensidad.

- Audiometría Tonal Liminar (ATL)

Hemos utilizado un audiómetro clínico modelo Interacoustics A/S AC40 con unos auriculares TDH 39 (Calibración vía aérea Norma ISO 389 / ANSI S3.6-1996) y un conductor vía ósea Radioear B71 (Calibración vía ósea ISO 7566 / ANSI S3.43-1992).

Los pacientes han sido valorados audiológicamente según las normas utilizadas por la *Asociación Española de Audiología (AEDA)*¹⁸⁵ y que se superponen a las de la *American Speech-Language-Hearing Association (ASHA)*¹⁸⁶: El propósito es mejorar la comparación de los datos, entre los clínicos y los distintos lugares de realización, permitiendo una transferencia de información más efectiva. La AEDA (Normalización de las pruebas audiológicas) y la ASHA (Guía de resultados audiométricos de tonos puros); contiene procedimientos para concluir medidas de resultados auditivos con tonos puros que serán aplicadas en una amplia variedad de situaciones.

** Cabina audiométrica:*

El entorno se ajusta a las especificaciones detalladas en los “Niveles máximos de ruido permitidos para las habitaciones de audiometría ANSI S3.1-1999”. La confirmación de un entorno aceptable se revisa anualmente.

** Determinación de resultados.*

Se ha aplicado un estímulo de una duración de 1 ó 2 segundos, con un intervalo variable entre tonos sucesivos, pero no es menor que la duración del tono de la prueba (1 ó 2 segundos). Los resultados de audición se definen como el nivel de decibelios más bajo audible. El nivel mínimo de respuestas necesario para determinar el umbral de audición son dos respuestas de entre tres presentaciones a un mismo volumen.

Los resultados se representan en una gráfica que consta de un eje de ordenadas dividido en intervalos de 10 decibelios y un eje de abscisas donde se sitúan las frecuencias desde 125 a 8000 Hz. Se usan gráficas separadas para cada oído. La anotación de resultados la hacemos mediante símbolos estandarizados que facilitan la comparación de audiogramas.

* Para una más clara sistematización de los resultados, se clasifican las frecuencias audiométricas en los siguientes grupos:

- Total de frecuencias: Entre 250 a 8000 Hz.
- Frecuencias graves: Entre 250 y 1000 Hz.
- Frecuencias agudas: Entre 2000 y 8000 Hz.
- Frecuencias conversacionales: Entre 1000 y 4000 Hz.

Para cada grupo se calcula la media auténtica (que corresponde a la media aritmética), con el fin de realizar diferentes comparaciones estadísticas.

* En aquellos pacientes que por su edad, solo se les realiza PEATC previos al tratamiento (sin audiometría) y que posterior al tratamiento se les realiza audiometría, se procede a comparar los resultados de los potenciales con aquellas frecuencias audiométricas que corresponden a los estímulos realizados mediante el click acústico utilizado en los PEATC.

* Para los pacientes que se trataron con PA o IC, se compararon los resultados pretratamiento y postratamiento utilizando las frecuencias entre 250 y 4000 Hz.

- Audiometría Tonal Liminar en campo libre.

Se realiza en una cabina insonorizada (según las normas de la ANSI 53.1-1977 o que reemplacen las normas posteriores).

El paciente se encuentra situado a un metro de cada altavoz con un ángulo de 45°, sin ayuda auditiva, portando audífonos o implante coclear. Se estudia el umbral auditivo en las siguientes frecuencias: 250, 500, 1000 y 4000 Hz. En los resultados, se suele

expresar el valor numérico de la media de los umbrales comprendidos entre 500 y 4000 Hz.

- Audiometría Vocal en campo libre.

Se realiza a todos los pacientes portadores de PA y/o IC utilizando las normas de la ANSI S3.6-1969, que sustituye a las normas estándar o posterior). Se estudian ambos oídos tanto de forma aislada como conjunta.

La prueba se realiza teniendo en cuenta las normas de la ASHA para audiometría en campo libre,¹⁸⁷ utilizando una cabina insonorizada según se especifica en los criterios de la American National Standard de ruido ambiente admisible durante la prueba audiométrica (ANSI 53.1-1977 o reemplacen las normas posteriores). El paciente se sitúa a un metro de cada altavoz (dos en total) con un ángulo de 45°. La intensidad de estimulación es de 65dB HL, el test se realiza con una grabación CD y la presentación es única, sin permitirse la repetición del ítem. El paciente es evaluado empleando o no audífonos o implante coclear.

El material utilizado tiene una versión para adultos y otra para niños, y se utilizaron las listas de palabras ponderadas que han sido elaboradas y equilibradas fonéticamente por Cárdenas y Marrero.¹⁸⁸

Se halla previamente el umbral de percepción verbal, y subimos la intensidad de la señal a 35 dB por encima del umbral reconocimiento verbal. Se pasa posteriormente a la grabación y se selecciona una lista de palabras. Mientras el paciente escucha, anotamos los errores contando igual las palabras no repetidas o las confundidas.

La evaluación de los resultados se efectúa en porcentaje; la máxima discriminación (100%) se obtiene repitiendo correctamente el total de las palabras de cualquier lista. Puesto que cada palabra añade un 4% al nivel de discriminación, para obtener el porcentaje total, se multiplica por 4 el número de palabras bien identificadas por el oyente.

5. DETERMINACIÓN DEL GENOTIPO

5.1. PRUEBAS GENÉTICAS. Métodos generales.

Se realizaron los distintos tipos de métodos por el personal de la Unidad de Genética del Hospital Universitario La Fe.

- Extracción del ADN.

Las muestras sanguíneas fueron tomadas por punción venosa, se recolectó en tubos que contenían EDTA (5mM) como anticoagulante. El ADN se extrajo de las muestras de sangre mediante el robot Quiacube (Quiagen). Este robot utiliza un sistema que permite obtener gran cantidad de ADN y de elevada pureza. Se determinó la concentración y la pureza del ADN mediante la medición de la absorbancia a 260nm (A_{260}) y 280 nm (A_{280}) en un espectrofotómetro (UV-VIS NanoDrop 1000, Thermo Scientific).

- Reacciones en cadena de la polimerasa (PCR).

La amplificación de los fragmentos de ADN se realizó en un volumen final de 25 μ l, utilizando 2,5 moles de cada dNTP, 1,5 μ l de tampón de Fast Star Taq DNA Polimerasa 10X (Roche), $MgCl_2$ 1,5 mM, 10pmoles de cada cebador, 0,75 U de Fast Start Taq DNA Polimerasa (Roche) y 20-40 ng de DNA genómico.

Todas las reacciones de PCR se realizaron en termocicladores Applied Biosystem Gene

Amp PCR system 9700, y el programa general utilizado fue: 1) Desnaturalización a 95°C (5 min); 2) 30 ciclos de desnaturalización a 94°C (30 seg), 3) Hibridación de los cebadores a 60°C (30 seg) y extensión a 72°C (30 seg); 3) Extensión final a 72°C (7 min); 4) Conservación a 12°C. Los productos obtenidos fueron comprobados en geles de agarosa al 1,5%.

- Secuenciación del ADN.

El producto resultante de la reacción de PCR se purificó con ExoSAP-IT (USB) (según las instrucciones del fabricante) antes de la reacción de secuenciación, en la que se utilizó el *kit* BigDye Terminator v.1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems).

La reacción de secuencia se fundamenta en el método Sanger y se realizó a volumen final de 20 µl, utilizando 1,75 µl de *premix* BigDye, 4 µl de tampón 5X, 10-15 pmoles de cebador y 2-4 µl del producto de PCR. El programa utilizado fue: 1) Desnaturalización a 94°C (3 min); 2) 25 ciclos de desnaturalización a 96°C (10 seg), hibridación a 50°C (5 seg), extensión a 60°C (4 min); 3) Conservación a 15°C.

La secuenciación se realizó en un secuenciador automático ABI PRISM 3100 de cuatro capilares (Applied Biosystems), y se analizó con el programa informático Sequencing Analysis v.5.1.1. (Applied Biosystems).

Para visualizar las secuencias se utilizaron los analizadores ChromasPro v1.5 (Technelysium Pty Ltd) y Finch TV v1.4 (Pekin Elmer). La nomenclatura de las nuevas variantes de secuencia descritas en este trabajo fue verificada con el programa informático Mutalyzer.

5.2. Locus DFNB1

- Ensayo para la detección de las mutaciones del(*GJB6-D13S1830*) y del(*GJB6-D13S1854*).

El fundamento del test es la amplificación combinada de los segmentos de DNA que contienen el empalme de los puntos de rotura de cada deleción, así como el segmento que contiene el exón 4 de *GJB6*. Este último se utiliza como control de eficiencia de la PCR y para distinguir los heterocigotos de los homocigotos en las deleciones del(*GJB6-D13S1830*) y del(*GJB6-D13S1854*) ya que ambas lo eliminan. La amplificación PCR “múltiple” (de los cuatro fragmentos a la vez) se realizó con los cebadores que se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Secuencia de los cebadores utilizados en el ensayo para la detección de las mutaciones del (*GJB6-D13S1830* y del (*GJB6-D13S1854*).

Fragmento amplificado	Cebadores	Secuencia (5' a 3')
<i>del (GJB6-D13S1830)</i>	del309A	TTTAGGGCATGATTGGGGTGATT
	del309B	CACCATGCGTAGCCTTAACCATTT
<i>del (GJB6-D13S1854)</i>	del232A	TCATAGTGAAGAACTCGATGCTGTT
	del232B	CAGCGGCTACCCTAGTTGTGGT
Exón 4 de <i>GJB6</i>	Cx30Ex4A	CGTCTTTGGGGGTGTTGCTT
	Cx30Ex4B	CATGAAGAGGGCGTACAAGTTAGAA

La reacción se realizó en un volumen final de 15 µl, a una concentración final de 1,5 mM de MgCl₂, utilizando Fast Start Taq DNA polimerasa (Roche). Se utilizó el

siguiente programa: 1) Desnaturalización a 94°C (6 min); 2) 5 ciclos de desnaturalización a 94°C (40 seg), hibridación a 62°C (40 seg) en primer ciclo, con reducción de 1°C cada ciclo posterior (*touchdown*) y extensión a 72°C (1 min); 3) 25 ciclos de desnaturalización a 94°C (40 seg), hibridación a 58°C (40 seg) y extensión a 72°C (1 min); 4) Extensión a 72°C (7min); 5) Conservación a 12°C. Los productos de PCR se resolvieron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5%.

- Secuenciación de la región codificante del gen *GJB2*.

Para la secuenciación de la región codificante de *GJB2* y de su región intrónica flanqueante, se amplificaron dos fragmentos solapantes (A y B) utilizando los cebadores: *GJB2*-A-directo, 5'-ATTTAAGCATGCTTGCTTACCC-3' y *GJB2*-A-inverso, 5'-GACCCGGAAGAAGATGCTGC-3' para la región A y *GJB2*-B-directo 5'-TCCTAGTGGCCATGCACGTGG-3' y *GJB2*-B-inverso 5'-GTTTCACCTGAGGCCTACAGG-3' para la región B . En la PCR se utilizó polimerasa Taq (Roche) y MgCl₂ 2,5 mM, con el programa: 1)Desnaturalización a 95°C (5 min); 2) 30 ciclos de desnaturalización a 94°C (40 seg), hibridación a 65°C (40 seg) y extensión a 72°C (30 seg); 3) Extensión a 72°C (7 min); 4) Conservación a 15°C. El producto amplificado se secuenció como se ha indicado previamente en el apartado ***Secuenciación del DNA.***

5.3. Detección de la mutación m.1555G>A en el gen *MTRMR1*:

El gen *MTRMR1* está localizado en el ADN mitocondrial y codifica para la subunidad 12S del RNA ribosómico. Para la detección de la mutación m.1555G>A se amplificó una región de este gen que contenía dicha mutación utilizando los cebadores 1555G>A-directo: 5'-GCTCAGCCTATATAACCGCCATCTTCAGCAA-3' y 1555G>A-inverso: 5'-TTCCAGTACACTTACCATGTTACGACTGG-3'. 10 microlitros del producto amplificado fueron digeridos con el enzima de restricción BsuRI.

El cambio de G por A en la posición 1555 del ADN mitocondrial crea un sitio de restricción nuevo que es reconocido por BsuRI. El producto de la digestión con BsuRI se sometía a electroforesis en gel de agarosa al 1,5% y se visualizaba con bromuro de etidio y luz ultravioleta.

5.4. Detección de la mutación p.Q829X del gen *OTOF*:

Se amplificó el exón 22 del gen *OTOF* donde se localiza la mutación p.Q829X, para ello se utilizaron los cebadores OTOF22-directo: 5'- GCCTGGTTGTGAGAAGGTG-3' y OTOF22-inverso: 5'-GGGTCTAGCCTCCTGATTG-3'. La PCR se realizó como se describe en el apartado 4.2. El producto amplificado se secuenció como se indica en el apartado **Secuenciación del DNA**.

5.5. CLASIFICACIÓN DE LAS MUTACIONES.

Se realizan varias agrupaciones de las mutaciones de los genes *GJB2* y *GJB6*, como se observan en la tabla 7. (ver apartado resultados).

6.. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

6.1. RECOGIDA Y TABULACIÓN DE DATOS.

Los datos recogidos en el trabajo de campo fueron codificados según su carácter y convertidos en variables cuantitativas (respetando un valor objetivo) y cualitativas o categóricas procurando siempre que fuera posible, que sus alternativas tuvieran una gradación creciente o decreciente a fin de ser utilizadas como semicuantitativas.

La matriz de variables-individuos una vez depurada y convertida a datos numéricos fue trasladada a hoja de cálculo LOTUS y posteriormente transferida al programa estadístico SPSS-PC para su ulterior análisis estadístico.

6.2. PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.

- ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA.

Los datos correspondientes a cada variable fueron reducidos a sus estadísticos básicos: Media aritmética (\bar{X} , medida de centraje), desviación típica (SD, medida de dispersión) y tamaño muestral (n) para variables cuantitativas y matrices de recuento con sus porcentajes para variables cualitativas.

- ESTADÍSTICA ANALÍTICA BIVARIADA

Se procedió al cruce de variables 2 a 2, aplicando los tests estadísticos convencionales atendiendo al carácter de las variables cruzadas así:

* Relación de variables cuantitativa-cualitativa: F de Fisher-Snedecor, para el análisis de la varianza entre varias muestras; t de Student para la relación entre dos muestras, para diferencia de medias; te de Student para series apareadas cuando se analizaron las diferencias para cada individuo en dos situaciones distintas (ejemplo audiometría inicial y postratamiento) a fin de obviar la variabilidad biológica.

* Relación de variables cuantitativa-cuantitativa (las variables cualitativas entran en el análisis dada su disposición semicuantitativa): Coeficiente de correlación r de Pearson y recta de regresión lineal con distribución de valores (método de mínimos cuadrados).

* Relación de variables cualitativa-cuantitativa: Test de Chi-cuadrado para valorar las diferencias entre los valores de la matriz real y los de la matriz esperada representativa de la máxima aleatoriedad. Se aplicó la corrección por continuidad de Yates cuando alguno de los valores esperados era superior a 5 unidades.

Las agrupaciones de las diferencias estadísticas en cualquier caso y para todas las distribuciones en función de los grados de libertad respectivos, se valoran para probits menores de 0.05.

- ESTADÍSTICA MULTIVARIADA

De las cuatro familias genéricamente entendidas de tests multivariados, hemos desarrollado, en función de los intereses del estudio, aquella que permite dilucidar o poner en relación una variable dependiente o a “predecir” en función de varias variables independientes o “predictoras”. Los tests que se agrupan en esta disposición, regresión

múltiple, regresión logística, análisis discriminante, aunque con algoritmos algo distintos, mantienen relaciones matemáticas entre ellos y llevan a conclusiones similares. Entre ellos hemos utilizado el análisis discriminante, mas adaptado a variables independientes cuantitativas vs. la variable dependiente categórica o dicotomizada a “resultado del tratamiento efectivo/no efectivo”, señalando claramente el límite entre las dos alternativas.

Este test nos lleva, a partir de matrices de coeficientes de correlación de Pearson, a una ecuación final que pone en relación la variable dependiente en función de las independientes, del tipo de:

$$y = aX1 + bX2 + cX3 + \dots\dots nXn + etc$$

Esta ecuación muestra el poder discriminante de cada una y todas en conjunto, señalando un límite central que permite predecir teóricamente a que grupo de la variable dependiente se va a asignar cada caso concreto.

Al cotejar la pertenencia real de cada individuo con la teórica asignada por la ecuación, este test permite obtener el porcentaje de aciertos diagnósticos (correspondencia real-teórica) y lo que tiene un interés especial, que es la valoración cuantitativa del margen de error en aquellos individuos equivocados en la presunción teórica respecto a su grupo real.

RESULTADOS

1. ESTUDIO DESCRIPTIVO.

1.1. EPIDEMIOLOGICO.

Se estudiaron 67 pacientes con hipoacusia neurosensorial bilateral de etiología genética no sindrómica. La distribución por sexo fue similar, algo mayor para el femenino (53,7%). La edad media fue de 99.2 meses (8.27 años), con una amplia dispersión muy superior a la media (SD= 14.2 años). La frecuencia de mutaciones de la Cx26 y 30 corresponde a 25.5% de un total de 263 pacientes con diagnóstico de hipoacusia neurosensorial que esta incluidos en el programa de implantes cocleares.

El 21% (14 de 67) de los pacientes realizaron la primera visita a nuestra consulta antes de superar los 12 meses y fueron diagnosticados en nuestro servicio mediante screening neonatal. Alrededor del 24% (16 de 67) lo hicieron antes de los 24 meses, un 32% antes de los 84 meses y el 22% fueron mayores de 84 meses y se consideraron adultos cuando visitaron por primera vez nuestro servicio. Sólo el 39% (26/67) de los pacientes presentaron antecedentes familiares de hipoacusia, de los que la mayoría (15/67) lo eran en primer grado.

1.2. ESTUDIO GENÉTICO.

El balance pormenorizado de las mutaciones genéticas que producen hipoacusia en los pacientes estudiados, aparece en la tabla 7. Tres grupos abarcan el 79% de la muestra a razón de un 34% (23 pacientes) de heterocigotos compuestos para 35delG, un 23% (16 pacientes) homocigotos para 35delG y un 21% (14 pacientes) con mutaciones en heterocigosis en los genes **GJB2/GJB6**. El resto, 14 pacientes (21%) agrupan una miscelánea de mutaciones que van desde la heterocigosis **c.35delG** (4 casos), heterocigosis no **c.35delG** (4 casos), hasta la homocigosis **GJB6** y la mutación puntual con un solo caso.

Tabla 7. Clasificación de las mutaciones según el gen afectado, alelos en homocigosis y heterocigosis, tipo de mutación y número de casos.

GEN	CLASIFICACIÓN DE LA MUTACIÓN		TIPO MUTACIONES	No.CASOS
<i>GJB2</i>	35delG	Homocigotos	c.35delG/c.35delG	16
		Heterocigotos compuestos	c.35delG/p.C202R	1
			c.35delG/p.E47K	2
			c.35delG/p.E147X	1
			c.35delG/p.L90P	1
			c.35delG/p.N206S	2
			c.35delG/p.N206I	1
			c.35delG/p.R184W	1
			c.35delG/p.T123A	1
			c.35delG/p.W24X	3
			c.35delG/p.W77R	4
			c.35delG/c.269insT	2
			c.35delG/c.404delC	1
	c.35delG/c.302_304delAGA	1		
c.35delG/c.765C>T/ p.V153I	1			
Mutación de un alelo	c.35delG	5		
No 35delG	Homocigotos	p.W24X/p.W24X	2	
	Heterocigotos compuestos	p.R143W/p.N206S	1	
		p.I20T/p.V27I	1	
	Mutación de un alelo	p.R127H	4	
		p.N206S	1	
c.328delG		1		
Polimorfismo	c.79G>A/polimorfismo	1		
<i>GJB6</i>	Homocigotos		del(<i>GJB6</i> D13S1830)	1
	Heterocigotos (con <i>GJB2</i>)		c.35delG/del(<i>GJB6</i> D13S1830)	6
			c.35delG/del(<i>GJB6</i> D13S1854)	2
			p.M34T/del(<i>GJB6</i> D13S1830)	1
			p.E47X/del(<i>GJB6</i> D13S1830)	1
			p.N206S/del(<i>GJB6</i> D13S1854)	2

Debido a la gran variabilidad individual de las mutaciones, se han realizado agrupaciones para que el número total permita establecer relaciones entre la mutación genética y el grado de pérdida auditiva, como se refleja en las Tablas 8 y 9.

Tabla 8. Agrupación de mutaciones *GJB2* en homocigosis y heterocigosis

Tipo de Mutación	No. de casos
<i>GJB2</i> homocigosis	18
<i>GJB2</i> heterocigosis	35

Tabla 9. Agrupación de mutaciones *GJB2* en heterocigosis *c.35delG*, no *c.35delG* y mutación en heterocigosis *GJB6*.

Tipo de Mutación	No. de casos
<i>GJB2 c.35delG</i> heterocigotos	27
<i>GJB2</i> no <i>c.35delG</i> heterocigotos	8
<i>GJB6</i> heterocigotos	12

1.3. ESTUDIO AUDIOLÓGICO.

El diagnóstico del déficit auditivo se realizó mediante:

- Potenciales Evocados Auditivos del Tronco Cerebral (PEATC).
- Audiometría tonal liminar.

Los PEATC fueron realizados en el 78% de los pacientes, fundamentalmente porque en los adultos se basan en las audiometrías subjetivas. En torno al 40% presentaban cofosis, algo más en el oído izquierdo. El 54% de los pacientes (28 de 52 casos) tuvieron hipoacusia profunda y cofosis en el oído derecho que se eleva al 63% (33 de 52 casos) en el oído izquierdo. (Tabla 10)

Tabla 10. Grado de hipoacusia según los resultados de los Potenciales Evocados Auditivos del Tronco Cerebral (PEATC) en Oído Derecho (OD) y en Oído Izquierdo (OI)

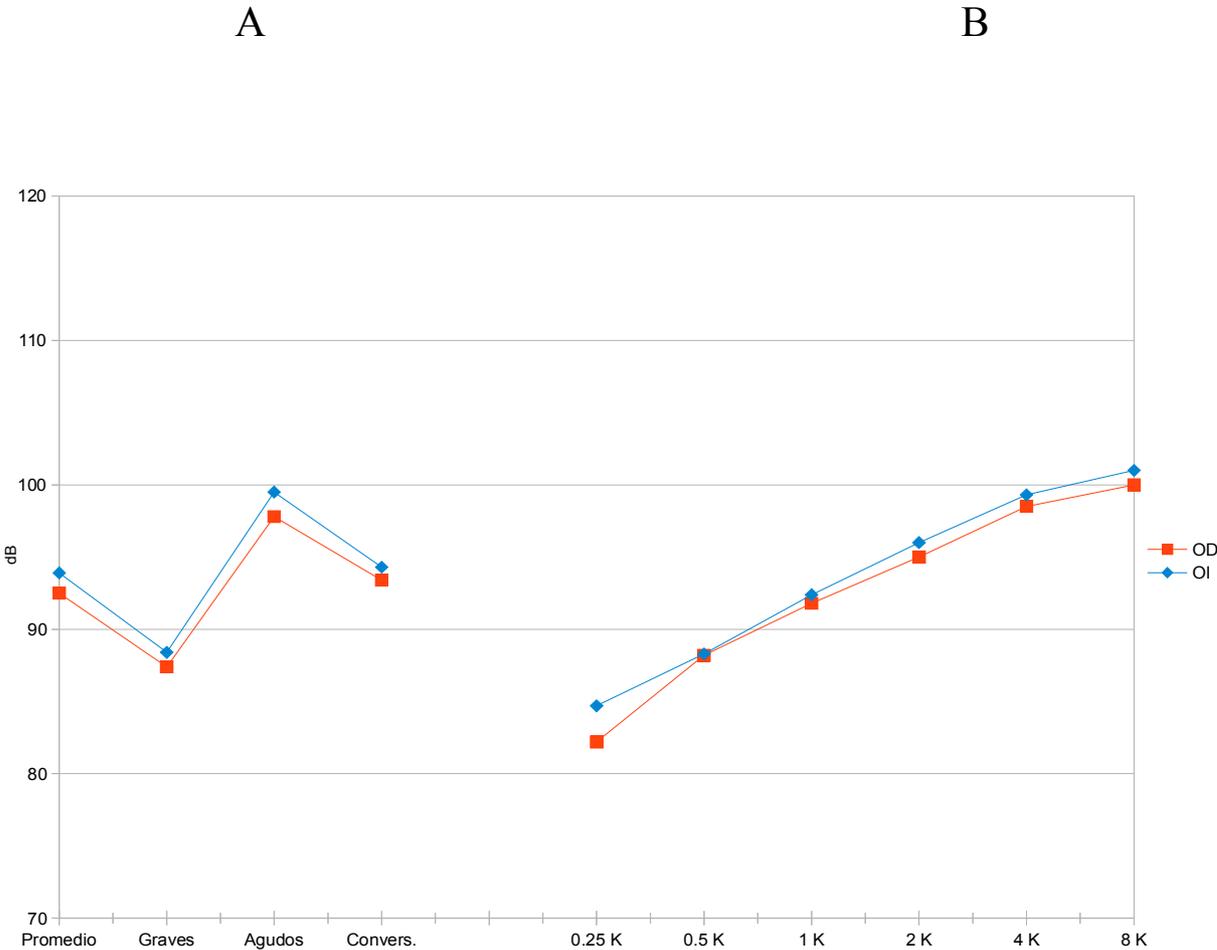
PEATC	OD	OI
Hipoacusia		
Leve	1	2
Moderada	4	6
Severa	19	11
Profunda	2	4
Sin respuesta	26	29
No realizados	15	15

La audiometría tonal inicial se pudo efectuar en aproximadamente el 74% de los casos (50/67), debido a la edad de los pacientes. Se estudiaron los resultados audiométricos de cada una de las frecuencias, así como la agrupación por frecuencias promedio, agudos, graves y conversacionales.

Respecto al grado de hipoacusia promedio en OD, tan solo 8 pacientes (12%) presentaron hipoacusia leve o moderada. El resto, 42 pacientes, eran portadores de hipoacusia severa y profunda (13 y 29 casos respectivamente). Respecto al OI, las cifras son similares, con un leve incremento de la hipoacusia severa y profunda (45 pacientes). Las respuestas frecuencia por frecuencia son similares en las audiometrías iniciales tanto para el OD como para el OI, en escala gradativa creciente desde 250 a 8000 Hz (82 – 100 dB). El promedio total en las frecuencias de 250 a 8000 Hz fue aproximadamente de 93 dB en OD (algo mayor para el OI), no resultando uniforme respecto a los graves (más bajos, 88 dB) y más altos para los agudos (98 dB), y también algo mayor para el OI.

En el gráfico 1 se observa la relación entre los resultados audiométricos en decibelios y la agrupación de las frecuencias audiométricas por promedio, frecuencias graves, agudas y conversacionales, así como frecuencia a frecuencia (desde 250 a 8000 Hz), tanto para el OD como OI, encontrándose mayor afectación de las frecuencias agudas en ambos oídos, pero sin diferencias significativas. No se realizó gráfico de dispersión debido a que las diferencias entre los resultados entre ambos oídos no fueron ostensibles.

Gráfico 1. Media de pérdida auditiva por frecuencias y agrupadas en frecuencias promedio, graves, agudas y conversacionales (A) y frecuencia por frecuencia (B). OD: Oído derecho. OI: Oído izquierdo. dB: Decibelios.



1.4. TRATAMIENTO.

El tratamiento de los pacientes se realizó de la siguiente manera:

- Prótesis auditiva unilateral.
- Prótesis auditiva bilateral.
- Implante coclear unilateral sin prótesis contralateral.
- Estimulación bimodal (Implante unilateral y prótesis contralateral).
- Implante coclear bilateral.

Las prótesis auditivas se adaptaron antes de la decisión ulterior del tratamiento en un 80% de los casos. Como se observa en la tabla 11, alrededor del 50% de los pacientes se les adaptó prótesis auditiva antes de los 2 años de edad, llegando a ser un 79% antes de los 4 años.

Tabla 11. Edad de adaptación del audífono en meses y número de casos con su respectivo porcentaje.

Edad (meses)	No. casos y %
0-12	18 (26.9%)
> 12-24	16 (23.9%)
> 24-48	19 (28.4%)
> 48-84	5 (7.5%)
Adultos	9 (13.4%)

Como se observa en la tabla 12, los pacientes del grupo de 0 a 12 meses fueron tratados cuando tenían una edad de 17 meses en promedio y el grupo correspondiente a los pacientes mayores de 84 meses, fueron tratados en promedio a los 316 meses.

Tabla 12. Grupo de edades en meses, edad al momento del tratamiento en meses y número de casos con su respectivo porcentaje.

Grupo de edades (meses)	Edad al momento del tratamiento (meses)	No. casos y %
0-12	17.7	14 (20.9%)
> 12-24	30.9	16 (23.9%)
> 24-48	36.5	15 (22.4%)
> 48-84	84.7	7 (10.4%)
Adultos	316.4	15 (22.4%)

El tiempo transcurrido en meses desde el diagnóstico a la aplicación del tratamiento no es uniforme para los distintos grupos de edad que tenían los pacientes cuando fueron diagnosticados. Así se establece una escala gradativa creciente de menor a mayor tiempo de diagnóstico-tratamiento cuanto menor a mayor edad. El grupo de adultos marca la mayor diferencia y además la de mayor variabilidad, como se observa en la tabla 13.

Tabla 13. Grupo de edades en meses, diferencial de edad desde el diagnóstico de la hipoacusia hasta el tratamiento en meses y número de casos con su respectivo porcentaje.

Grupo de edades (meses)	Edad desde el diagnóstico hasta el tratamiento. (meses)	No. casos y %
0-12	11.6	14 (20.9%)
> 12-24	14.4	16 (23.9%)
> 24-48	21.2	15 (22.4%)
> 48-84	22.7	7 (10.4%)
Adultos	84.7	15 (22.4%)

Luego de realizar el tratamiento, 24 pacientes eran portadores de prótesis auditivas, de ellos, 23 casos eran portadores de prótesis auditiva bilateral y un solo caso portaba prótesis unilateral. El implante coclear (IC) se realizó en 43 de los 67 pacientes (64.2%), de los cuales, 20 casos fueron unilaterales sin estimulación contralateral, 17 casos presentaron estimulación bimodal, 6 casos con implante coclear bilateral. (Tabla 14).

Tabla 14. Tratamiento realizado en Oído derecho (OD) y en Oído Izquierdo (OI), Sin prótesis (SP), Prótesis (P) e Implante Coclear (IC), Número de casos y porcentajes.

Tratamiento		No. casos y %
OD	OI	
SP	P	1 (1.5%)
SP	IC	7 (10.4%)
IC	SP	13 (19.4%)
P	P	23 (34.3%)
P	IC	12 (17.9%)
IC	P	5 (7.5%)
IC	IC	6 (9.0%)

- RESULTADOS POSTRATAMIENTO.

La mejoría audiométrica en campo libre con PA y/o IC fue ostensible en los 67 pacientes del estudio, quedando el 78% para el OD y 73% para el OI, con umbrales auditivos hasta 30 dB en el 52% de los casos para OD y en el 51% para OI; y con umbrales auditivos de 31 a 50 dB en el 25% de los pacientes para el OD y 21% para OI, con una discreta diferencia de hipoacusia severa y profunda en OI, mayor que el OD (27% vs 21%). (Tabla 15). Los resultados específicos del tratamiento relacionado con la audiometría se especifican en el capítulo del análisis bivariado.

Tabla 15. Grado de hipoacusia en decibelios (dB) para Oído derecho (OD) y el Oído Izquierdo (OI) tras aplicación del tratamiento. Número de casos y porcentajes.

Grado de hipoacusia	OD	OI
≤ 20 dB	1 (1.5%)	1 (1.5%)
21-40 dB	35 (52.2%)	34 (50.7%)
41-70 dB	17 (25.4%)	14 (20.9%)
71-90 dB	7 (10.4%)	5 (7.5%)
91-120 dB	7 (10.4%)	13 (19.4%)

El promedio global de la audiometría (250 a 8000 Hz) fue de 50 a 55 dB (mayor en OI), no uniforme para las frecuencias graves (47 – 52 dB) más bajas que para las agudas (54 – 59 dB).

Las respuestas audiométricas postratamiento, frecuencia a frecuencia en dB, se comportan de manera similar a las observadas pretratamiento, esto es en escala gradativa creciente de graves a agudos, si acaso menos pronunciada para graves en OD y con peor resultado en el OI (menor mejoría).

La audiometría vocal convencional se pudo realizar en el 35% de los pacientes por razones técnicas (23/67 OD y 25/67 OI) (por falta de colaboración del paciente debido a su edad). El promedio de bisílabos estuvo en torno al 89% sin diferencias para ambos oídos.

21 pacientes presentaron otitis media secretora (OMS) con evolución corta y satisfactoria. En dos casos se requirió explantación y reimplantación coclear por fallo técnico del IC.

2. ESTUDIO ANALÍTICO.

2.1. ANÁLISIS DE LOS ANTECEDENTES FAMILIARES.

- RELACIÓN CON LOS ESTUDIOS AUDIOLÓGICOS.

El grupo de pacientes sin antecedentes familiares se encuentra audiométricamente (promedio pretratamiento OD), muy próximo a la media, luego no parece haber diferencias significativas entre los distintos grupos ($F^3_{46}=1.63$). Lo mismo sucede en oído izquierdo. (Tabla 16 y 17).

Tabla 16. Relación entre Antecedentes familiares: Sin antecedentes (SA), Antecedentes Familiares en Tercer grado de consanguinidad (AF3), Antecedentes Familiares en segundo grado de consanguinidad (AF2), Antecedentes Familiares en primer grado de consanguinidad (AF1). Oído Derecho (OD), Oído Izquierdo (OI), Audiometría Promedio Inicial (API), número de casos (n).

Antecedentes Familiares	n	API OD		API OI	
		X	SD	X	SD
SA	41	91.7	20.0	92.3	22.7
AF3	9	74.6	27.9	85.8	20.4
AF2	2	118.3	0.0	102.0	0.0
AF1	15	98.0	24.8	99.7	24.8

$F^3_{46}=1.63$ (NS) $F^3_{46}=0.52$ (NS)

Tabla 17. Relación entre Antecedentes familiares: Sin antecedentes (SA), Con Antecedentes (CA), Oído Derecho (OD), Oído Izquierdo (OI), Audiometría Promedio Inicial (API), número de casos (n).

Antecedentes Familiares	n	API OD		API OI	
		X	SD	X	SD
SA	41	91.7	20.0	92.3	22.7
CA	26	93.9	26.6	96.8	23.3

$t=0.33$ (NS) $t=0.67$ (NS)

No hay diferencias audiométricas (promedio postratamiento OD) con los distintos grupos de antecedentes familiares solos o en conjunto y de forma similar sucede en el OI. (Tablas 18 y 19). Al relacionar los antecedentes familiares con los potenciales evocados auditivos, los bisílabos y las audiometrías luego del tratamiento, no se encontraron diferencias significativas, tanto para el oído derecho como para el oído izquierdo. (t's entre 0.03y 0.83).

Tabla 18. Relación entre Antecedentes familiares: Sin antecedentes (SA), Antecedentes Familiares en Tercer grado de consanguinidad (AF3), Antecedentes Familiares en segundo grado de consanguinidad (AF2), Antecedentes Familiares en primer grado de consanguinidad (AF1). Oído Derecho (OD), Oído Izquierdo (OI), Audiometría Promedio Postratamiento (APPT).

Antecedentes Familiares n	APPT OD		APPT OI	
	X	SD	X	SD
SA 41	49.1	24.0	55.2	30.0
AF3 9	53.3	30.2	53.1	35.1
AF2 2	80.0	31.1	43.0	16.9
AF1 15	44.8	23.5	57.8	35.3

$F^3_{63}=1.25, (NS)$ $F^3_{63}=0.14 (NS)$

Tabla 19. Relación entre Antecedentes familiares: Sin antecedentes (SA), Con Antecedentes (CA), Oído Derecho (OD), Oído Izquierdo (OI), Audiometría Promedio Postratamiento (APPT)

Antecedentes Familiares n	APPT OD		APPT OI	
	X	SD	X	SD
SA 41	49.1	24.0	55.1	30.0
CA 26	50.5	27.1	55.0	33.5

$t=0.22 (NS)$ $t=0.03 (NS)$

2.2. ANÁLISIS DE LAS MUTACIONES.

La clasificación de las mutaciones atendiendo a la pormenorización de los cambios genéticos, aparece en la tabla 7 y las agrupaciones efectuadas para el análisis comparativo de las alteraciones audiométricas, se reflejan en las tablas 8 y 9. Es a estas clasificaciones a las que nos referiremos en adelante a fin de intentar detectar algún comportamiento audiométrico particular y diferenciado de unas u otras alteraciones genéticas.

- RELACIÓN CON EL SEXO.

Al relacionar los diferentes tipos de mutaciones del gen **GJB2** y el gen **GJB6** con el sexo femenino y masculino, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (NS). (Tablas 20, 21, 22)

Tabla 20. Relación entre el sexo M: Mujer, V: Varón, y las mutaciones de *GJB2* y *GJB6*.

Mutaciones	<i>GJB2</i>	<i>GJB6</i>	Total
Sexo			
M	30	6	36
V	22	9	31

$\chi^2 = 1.47$ (NS)

Tabla 21. Relación entre el sexo M: Mujer, V: Varón, y las mutaciones de *GJB2 c.35delG* y no *c.35delG*.

Mutaciones	<i>c.35delG</i>	No <i>c.35delG</i>	Total
Sexo			
M	26	17	43
V	4	5	9

$\chi^2 = 0.78$ (NS)

Tabla 22. Relación entre el sexo M: Mujer, V: Varón, y las mutaciones en heterocigosis de *GJB2 c.35delG* y no *c.35delG*, y *GJB6*.

Mutaciones Sexo	Heterocigotos <i>c.35delG</i>	Heterocigotos No <i>c.35delG</i>	Heterocigotos <i>GJB6</i>	Total
M	15	2	5	22
V	12	4	9	25

$$\chi^2_{\text{yates}} = 0.90 \text{ (NS)}$$

- RELACIÓN CON LA EDAD.

Al relacionar los diferentes grupos de edades comprendidos entre los primeros 24 meses, con los tipos de mutaciones tanto en *GJB2* como en *GJB6*, observamos que no existen diferencias significativas. (Tabla 23 y 24)

Tabla 23. Relación entre Mutaciones *c.35delG*, No *c.35delG* y *GJB2/GJB6* con edades entre 0 y 24 meses.

Mutaciones Edad (meses)	<i>c.35delG</i>	No <i>c.35delG</i>	<i>GJB2/GJB6</i>	Total
0-12	11	1	2	14
>12-24	10	1	5	16

$$\chi^2_{\text{yates}} = 0.81 \text{ (p NS)}$$

Tabla 24. Relación entre Mutaciones *c.35delG* en homocigosis, *c.35delG* en heterocigosis y otras mutaciones, con los grupos de edades entre 0 y 24 meses.

Mutaciones Edad (meses)	Homocigosis <i>c.35delG</i>	Heterocigosis <i>c.35delG</i>	Otros	Total
0-12	7	4	3	14
>12-24	1	9	6	16

$$\chi^2_{\text{yates}} = 4.86 \text{ (p NS)}$$

Al relacionar las mutaciones con la edad de adquisición del lenguaje (menores de 7 años y mayores de 7) con los distintos tipos de mutaciones, no se observaron diferencias significativas. (Tabla 25 y 26)

Tabla 25. Relación entre Mutaciones *c.35delG*, No *c.35delG* y *GJB2/GJB6* con respecto a la edad de adquisición del lenguaje < 7 y > 7 años.

Mutaciones Edad (años)	<i>c.35delG</i>	No <i>c.35delG</i>	<i>GJB2/GJB6</i>	Total
< 7	35	5	12	52
>7	8	4	3	15

$$\chi^2_{\text{yates}} = 0.58 \text{ (p NS)}$$

Tabla 26. Relación entre Mutaciones *c.35delG* en homocigosis, *c.35delG* en heterocigosis y otras mutaciones, con respecto a la edad de adquisición del lenguaje < 7 y > 7 años.

Mutaciones Edad (años)	Homocigosis <i>c.35delG</i>	Heterocigosis <i>c.35delG</i>	Otros	Total
< 7	12	23	17	52
> 7	4	4	7	15

$$\chi^2_{\text{yates}} = 0.83 \text{ (p NS)}$$

- RELACIÓN CON ANTECEDENTES FAMILIARES Y OTROS ANTECEDENTES.

No existen diferencias significativas entre la ausencia o la presencia de antecedentes familiares de hipoacusia y sus grados (1º, 2º o 3º) y los distintos tipos de mutaciones genéticas consideradas, o sea que, un más próximo antecedente familiar, no va a determinar un tipo particular de mutación con mayor frecuencia que otro, al menos en nuestra serie. (Tabla 27,28,29).

Tabla 27. Relación entre los antecedentes familiares en diferentes grados y las mutaciones del gen *GJB2 c.35delG* y no *c.35delG*.

Ant. Familiares Mutaciones	No	Con antecedentes			Total
		3°	2°	1°	
<i>GJB2 35delG</i>	27	6	2	8	43
GJB2 no 35delG	5	1	0	3	9

$\chi^2 = 0.04$ (NS) $\chi^2_{\text{yates}} = 0.00$ (NS)

Ant. Familiares Mutaciones	No	Si	Total
<i>GJB2 c.35delG</i>	27	16	43
GJB2 no <i>c.35delG</i>	5	4	9

Tabla 28. Relación entre los antecedentes familiares y las mutaciones de los genes *GJB2* y *GJB6* tanto en homocigosis como en heterocigosis.

Ant. Familiares Mutaciones	No	Con antecedentes			Total
		3°	2°	1°	
Homocigotos	14	1	0	4	19
Heterocigotos	27	8	2	11	48

$\bar{X}_i = 1.76$ (NS)

Ant. Familiares Mutaciones	No	Si	Total
Homocigotos	14	5	19
Heterocigotos	27	21	48

Tabla 29. Relación entre los diferentes grados de antecedentes familiares y las mutaciones en heterocigosis del gen *GJB2 c.35delG* y no *c.35delG*, así como del *GJB6*.

Ant. Familiares Mutaciones	No	Con antecedentes			Total
		3°	2°	1°	
Heterocigotos <i>c.35delG</i>	14	6	2	5	27
Heterocigotos no <i>c.35delG</i>	3	0	0	3	6
Heterocigotos <i>GJB6</i>	9	2	0	3	14

$\chi^2 = 0.73$ (NS) $\chi^2_{\text{ Yates}} = 0.22$ (NS)

Ant. Familiares Mutaciones	No	Si	Total
Heterocigotos <i>c.35delG</i>	14	13	27
Heterocigotos no <i>c.35delG</i>	3	3	6
Heterocigotos <i>GJB6</i>	9	5	14

En nuestra serie observamos 2 casos con ictericia neonatal, ambos con genotipo *c.35delG en homocigosis*; 3 casos recibieron tratamiento con aminoglucósidos, de los cuales 2 tenían genotipo *c.35delG en homocigosis* y 1 caso con mutación *c.35delG/GJB6-D13S1830*; 2 casos estaban asociados a malformaciones, uno con atresia del conducto y otro con agenesia renal, ambos con genotipos *c.35delG en homocigosis*; 1 caso de meningitis a los 14 años a quien se le diagnosticó la hipoacusia a los 54 años de edad y cuya mutación fue *p.R27H en heterocigosis*, 4 casos con antecedentes perinatales de hipoxia por sufrimiento fetal agudo.

- RELACIÓN CON EL GRADO DE HIPOACUSIA INICIAL.

Los distintos tipos de mutaciones no condicionan diferencias significativas con el grado de hipoacusia en la mayoría de los casos, incluida la que se determinó mediante potenciales evocados para aquellos en los que no fue posible practicarles audiometría. Esta hipoacusia supera en promedio global los 90 dB, en la mayoría de los tipos de mutaciones consideradas.

(Tabla 30)

Tabla 30. Mutaciones de *GJB2* y *GJB6*. Grado de hipoacusia (determinado por PEATC en 17 casos), para el Oído Derecho (OD) y para el Oído Izquierdo (OI) expresado como Ausencia de Respuesta (AR) o en decibelios (dB), número de casos (n).

GEN	CLASIFICACIÓN DE LA MUTACIÓN		TIPO MUTACIONES	N (total=17)	Grado de hipoacusia PEATC		
					OD	OI	
<i>GJB2</i>	35delG	Homocigotos	c.35delG/c.35delG	1	80	AR	
				1	90	AR	
				3	AR	AR	
	Heterocigotos compuestos			c.35delG/p.N206S	1	AR	AR
				c.35delG/p.N206I	1	75	85
				c.35delG/p.W24X	1	AR	AR
				c.35delG/p.W77R	1	80	80
				c.35delG/c.404delC	1	75	70
	No 35delG	Homocigotos	p.W24X/p.W24X	1	AR	AR	
		Mutación de un alelo	p.R127H	1	80	60	
<i>GJB6</i>	Heterocigotos (con <i>GJB2</i>)		c.35delG/del(<i>GJB6</i> D13S1830)	3	AR	AR	
			c.35delG/del(<i>GJB6</i> D13S1854)	1	AR	AR	

Los resultados con PEATC se especifican en la tabla 30 de forma individual y agrupadas por el grado de severidad de la hipoacusia como se observa en la tabla 31.

Tabla 31. Mutaciones de *GJB2* y *GJB6*. Grado de hipoacusia (determinado por PEATC en 17 casos), expresado de forma cualitativa como M: Moderada, S: Severa, P: Profunda y AR: Ausencia de Respuesta. OD/OI: Oído derecho/Oído izquierdo.

GEN	CLASIFICACIÓN DE LA MUTACIÓN		GRADO DE HIPOACUSIA			
			M	S	P	AR
<i>GJB2</i>	<i>c.35delG</i>	Homocigotos	0/0	2/0	0/0	3/5
		Heterocigotos compuestos	0/1	3/2	0/0	3/3
	No <i>c.35delG</i>	Homocigotos	0/0	0/0	0/0	1/1
		Mutación de un alelo	0/1	1/0	0/0	0/0
<i>GJB6</i>	Heterocigotos (con <i>GJB2</i>)		0/0	0/0	0/0	4/4

Los resultados de la audiometría promedio inicial en relación con los diferentes tipos de mutaciones genéticas encontradas, se expresan en la tabla 32 de forma individual para el OD y el OI.

Tabla 32. Mutaciones de *GJB2* y *GJB6*. Grado de hipoacusia inicial promedio (determinado por audiometría en 50 casos), para el Oído Derecho (OD) y el Oído Izquierdo (OI) . \bar{X} : Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

GEN	CLASIFICACIÓN DE LA MUTACIÓN		TIPO MUTACIONES	GRADO DE HIPOACUSIA		
				OD	OI	
<i>GJB2</i>	35delG	Homocigotos	c.35delG/c.35delG	\bar{X} = 93.2 dB SD=21.9 n=11	\bar{X} = 88.7 dB SD=26.9 n=11	
		Heterocigotos compuestos	c.35delG/p.C202R c.35delG/p.E47K c.35delG/p.E147X c.35delG/p.L90P c.35delG/p.N206S c.35delG/p.N206I c.35delG/p.R184W c.35delG/p.T123A c.35delG/p.W24X c.35delG/p.W77R c.35delG/c.269insT c.35delG/c.404delC c.35delG/c.302_304delAGA c.35delG/c.765C>T/ p.V153I	\bar{X} = 94.6 dB SD=24.6 n=17	\bar{X} = 97.02 dB SD=20.6 n=17	
			Mutación de un alelo	c.35delG	\bar{X} = 90.0 dB SD=18.5 n=4	\bar{X} = 91.3 dB SD=26.9 n=4
	No 35delG		Homocigotos	p.W24X/p.W24X	\bar{X} = 75.0 dB SD=0 n=1	\bar{X} = 71.7 dB SD=0 n=1
			Heterocigotos compuestos	p.R143W/p.N206S p.I20T/p.V27I	\bar{X} = 87.9 dB SD=20.6 n=2	\bar{X} = 101.9 dB SD=7.3 n=2
				Mutación de un alelo	p.R127H p.N206S c.328delG	\bar{X} = 97.7 dB SD=16.5 n=3
			Polimorfismo	c.79G>A/polimorfismo	\bar{X} = 100.8dB SD=0 n=1	\bar{X} = 95.8 dB SD=0 n=1

<i>GJB6</i>	Homocigotos	del(<i>GJB6</i> D13S1830)	\bar{X} = 117.5 dB SD=0 n=1	\bar{X} = 117.5 dB SD=0 n=1
	Heterocigotos (con <i>GJB2</i>)	c.35delG/del(<i>GJB6</i> D13S1830) c.35delG/del(<i>GJB6</i> D13S1854) p.M34T/del(<i>GJB6</i> D13S1830) p.E47X/del(<i>GJB6</i> D13S1830) p.N206S/del(<i>GJB6</i> D13S1854)	\bar{X} = 87.2 dB SD=26.8 n=10	\bar{X} = 93.01 dB SD=27.2 n=10

En la tabla 33 y 34, se observan los resultados de las mutaciones estudiadas agrupadas según los genes en: *GJB2* y *GJB6*, así como por el tipo de mutación *GJB2* *c.35delG* y *GJB2* no *c.35delG*. Al realizar la relación entre el grado de severidad de hipoacusia con las mutaciones, y de éstas con el promedio en todas las frecuencias (de 250 a 8000 Hz), no se observaron diferencias significativas.

Tabla 33. Mutaciones *GJB2* y *GJB6*, grado de hipoacusia. L:Leve, M: Moderada, S: Severa, P: Profunda, C: Cofosis. OD/OI: Oído Derecho/Oído Izquierdo. Med: Medidas de tendencia central, \bar{X} : Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos. AIDP: Audiometría Inicial en Oído Derecho Promedio. AIIP: Audiometría Inicial Oído Izquierdo Promedio.

Grado Hipoacusia Mutaciones	OD/OI				Med.	AIDP	AIIP
	L	M	S	P			
<i>GJB2</i>	1/0	5/4	8/10	25/25	\bar{X}	93.3	93.5
					SD	21.2	21.8
					n	39	39
<i>GJB6</i>	0/0	2/1	5/3	4/7	\bar{X}	89.9	95.2
					SD	27.02	26.8
					n	11	11

$\chi^2_{\text{ Yates}} = 1.69 / 0.33$ (NS) $t = 0.43$ (NS) $t = 0.22$ (NS)

Tabla 34. Mutaciones *GJB2 c.35delG* y no *c.35delG*, grado de hipoacusia. L:Leve, M: Moderada, S: Severa, P: Profunda, C: Cofosis. OD/OI: Oído derecho/Oído izquierdo. Med: Medidas de tendencia central, X: Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos. AIDP: Audiometría Inicial en Oído Derecho Promedio (Frecuencias 250 a 8000 Hz). AIIIP: Audiometría Inicial Oído Izquierdo Promedio (Frecuencias 250 a 8000 Hz).

Grado Hipoacusia Mutaciones	OD/OI					Med.	AIDP	AIIIP
	L	M	S	P	C			
<i>GJB2 c.35delG</i>	1/0	5/5	10/10	21/20	6/8	X	93.5	93.4
						SD	22.4	23.2
						n	32	32
<i>GJB2</i> no <i>c.35delG</i>	0/0	0/1	4/2	4/5	1/1	X	92.1	93.8
						SD	15.7	15.9
						n	7	7

$\chi^2_{\text{yates}} = 0.00 / 0.09$ (NS) $t = 0.15$ (NS) $t = 0.04$ (NS)

Dentro de los 67 casos, se encontraron 11 pacientes con hipoacusia leve y moderada en OD y 13 en OI, con diversos tipos de mutaciones como se observa en la tabla 35.

Tabla 35. Mutaciones con hipoacusia leve y moderada en OD (oído derecho) y OI (oído izquierdo), incluidos los pacientes con Potenciales Evocados Auditivos del Tronco Cerebral (PEATC), n=Número de casos.

Mutaciones	Grado de hipoacusia OD/OI	
	Leve	Moderada
Homocigosis <i>c.35delG</i>	0/1	4/3
Heterocigosis compuesta <i>c.35delG</i>	1/1	2/2
Heterocigosis <i>c.35delG</i> (un solo alelo)	0/0	2/2
Heterocigosis no <i>c.35delG</i> (un solo alelo)	0/0	1/2
<i>GJB6</i> en heterocigosis	0/1	1/1
Total	1/3	10/10

Tampoco hemos encontrado diferencias cuando este promedio se desglosa respecto a la respuesta de las frecuencias comprendidas en tonos graves, agudos y conversacionales, así como frecuencia a frecuencia, tanto para el oído derecho como para el oído izquierdo. Observamos que existe afectación creciente, de graves a agudos, también sin diferencias significativas entre los diferentes tipos de mutación confrontados y al comparar entre sí ambos oídos. (Gráficos 2, 3, 4, 5, 6, y 7; Tablas 36, 37, 38)

En el gráfico 2 (OD) y el gráfico 3 (OI), se observa que para los grupos de mutaciones *c.35delG* en homocigosis, *c.35delG* en heterocigosis compuesta, *c.35delG/Cx30*, 35delG en heterocigosis (un solo alelo), No *c.35delG* en heterocigosis (un solo alelo), presentan mas afectación en las frecuencias agudas y conversacionales, siendo en el oído derecho, mayor para la mutación No *c.35delG* en heterocigosis (un alelo) y menor para *c.35delG/Cx30*; mientras que en el oído izquierdo, es mayor la afectación en agudos para la mutación *c.35delG* en heterocigosis compuesta y menor para *c.35delG* en homocigosis. Sin embargo no se encontraron diferencias estadísticas ostensibles.

Gráfico 2. Comportamiento de la hipoacusia inicial en oído derecho, según el tipo de mutaciones, para el promedio de todas las frecuencias audiométricas, frecuencias graves, agudas y conversacionales. Mutaciones: *c.35delG* en homocigosis, *c.35delG* en heterocigosis compuesta, *c.35delG/Cx30*, *c.35delG* en heterocigosis (un solo alelo), No *c.35delG* en heterocigosis (un solo alelo).

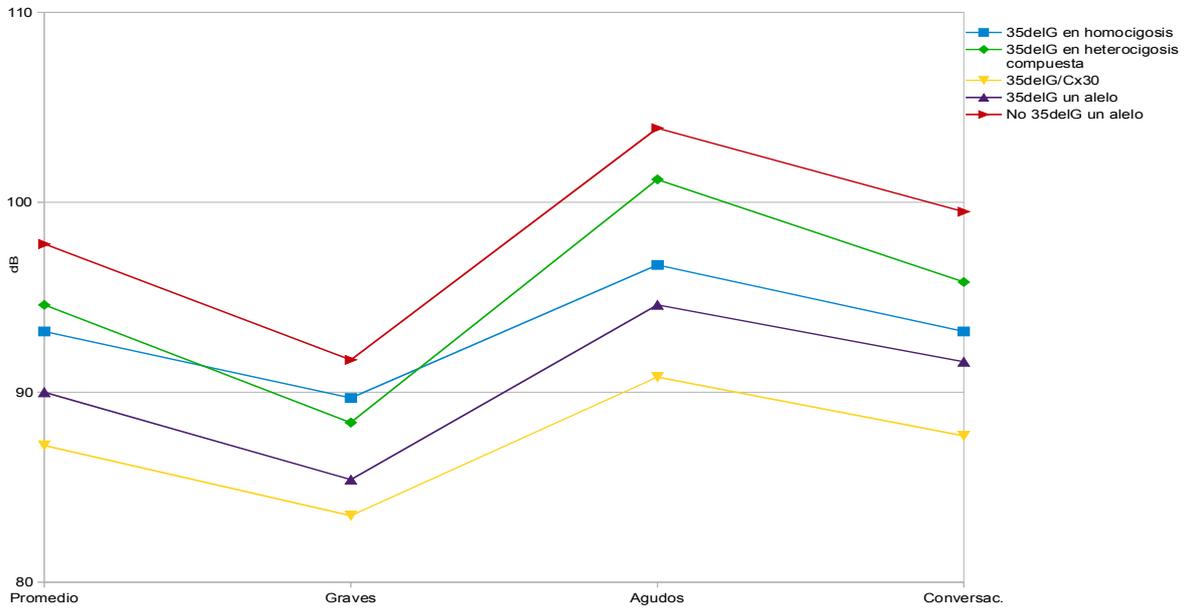
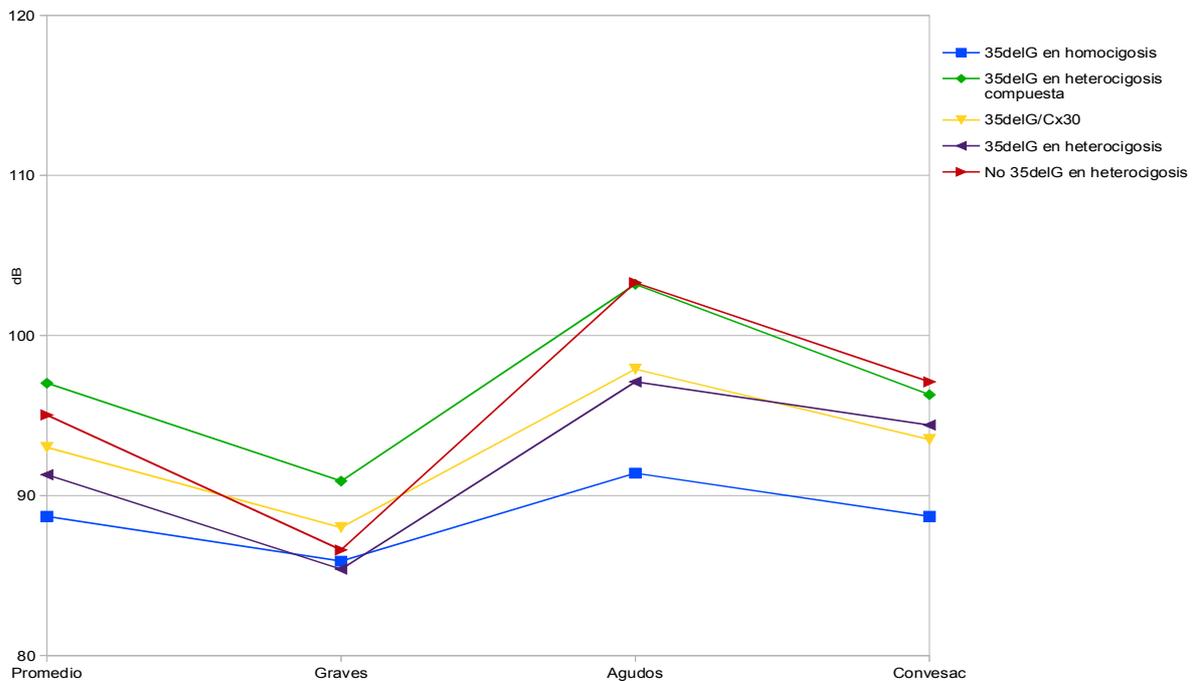


Gráfico 3. Comportamiento de la hipoacusia inicial en oído izquierdo, según el tipo de mutaciones, para el promedio de todas las frecuencias audiométricas, frecuencias graves, agudas y conversacionales. Mutaciones: *c.35delG* en homocigosis, *c.35delG* en heterocigosis compuesta, *c.35delG/Cx30*, *c.35delG* en heterocigosis (un solo alelo), No *c.35delG* en heterocigosis (un solo alelo).



En el análisis realizado para las mutaciones y el grado de hipoacusia, llama la atención los casos heterocigotos compuestos *c.35delG/Cx30* porque presentan menor grado de hipoacusia (moderada-severa) para el oído derecho, respecto al resto de mutaciones. Sin embargo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Gráficos 4 y 5).

Gráfico 4. Comportamiento de la hipoacusia inicial en oído derecho, según el tipo de mutaciones, para cada una de las frecuencias audiométricas, desde 250 hasta 8000 Hz. Mutaciones: 1. *c.35delG* en homocigosis, 2. *c.35delG* en heterocigosis compuesta, 3. *c.35delG/Cx30*.

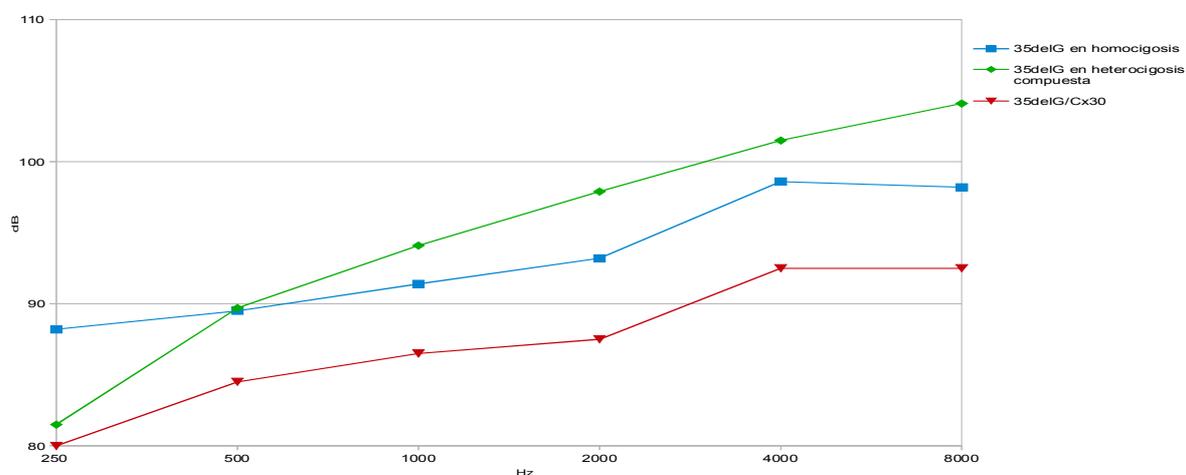
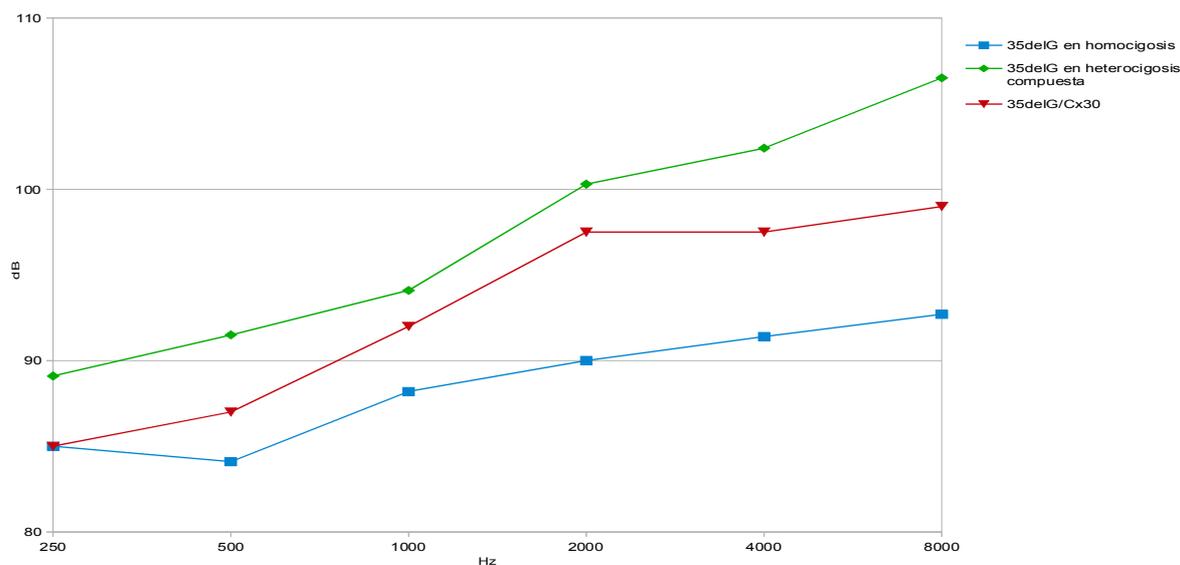


Gráfico 5. Comportamiento de la hipoacusia inicial en oído izquierdo, según el tipo de mutaciones, para cada una de las frecuencias audiométricas, desde 250 hasta 8000 Hz. Mutaciones: 1. *c.35delG* en homocigosis, 2. *c.35delG* en heterocigosis compuesta, 3. *c.35delG/Cx30*.



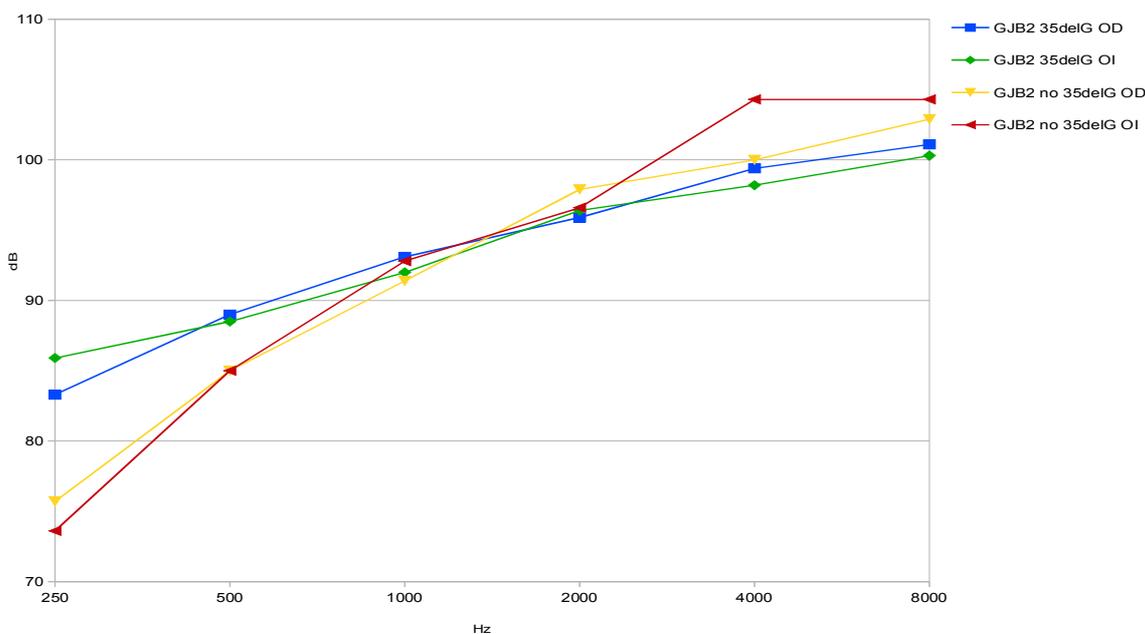
Los resultados que se representan en la tabla 36 y el gráfico 6, muestran el grado de hipoacusia inicial frecuencia a frecuencia en relación con las mutaciones *GJB2 c.35delG* y *GJB2 no c.35delG*, tanto para el OD como OI. Se observa que existe una hipoacusia progresiva de frecuencias graves a agudas, sin diferencias entre ambas mutaciones y ambos oídos.

Tabla 36. Mutaciones *GJB2 c.35delG* y no *c.35delG*, Grado de hipoacusia inicial (en decibelios) en cada una de las frecuencias (250 a 8000 Hz) para el Oído Derecho (OD) y el Oído Izquierdo (OI). Med: Medidas de tendencia central, X: Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

Grado Hipoacusia Mutaciones	Med.	Audiometría inicial (Hz) OD						Audiometría inicial (Hz) OI					
		250	500	1000	2000	4000	8000	250	500	1000	2000	4000	8000
<i>GJB2 c.35delG</i> n=32	X	83.3	83.3	93.1	95.9	99.4	101.1	85.9	88.5	92	96.4	98.2	100.3
	SD	23.3	23.4	23.7	24.1	24.3	24.1	25.6	23.8	26	23.9	23.5	24.8
<i>GJB2 no c.35delG</i> n=7	X	75.7	85	91.4	97.9	100	102.9	73.6	85	92.8	96.6	104.3	104.3
	SD	17.0	16.3	19.5	18.0	18.9	20.4	15.7	16.1	18.0	38.5	19.7	21.3

Nivel de significación: No significativo en todos los casos.

Gráfico 6. Mutaciones *c.35delG* y no *c.35delG* Grado de hipoacusia inicial (en decibelios) en cada una de las frecuencias, desde 250 a 8000 Hz, para el Oído Derecho (OD) y el Oído Izquierdo (OI).



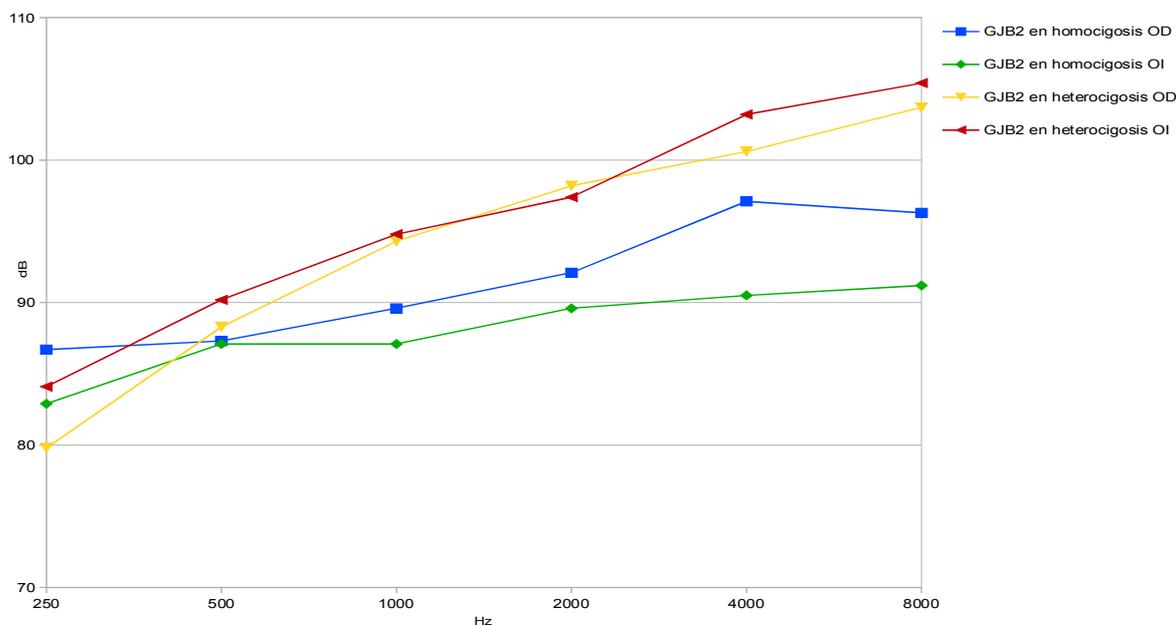
De forma similar ocurre con los resultados observados en la tabla 37 y gráfico 7 en el cual se relacionan las mutaciones de **GJB2** en homocigosis y heterocigosis con los resultados de la audiometría inicial, observando un comportamiento de hipoacusia progresiva de graves a agudos, ligeramente mayor para la mutación **GJB2** en heterocigosis para el OD y para la mutación **GJB2** en homocigosis en OI , pero sin diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 37. Mutaciones *GJB2* en homocigosis y heterocigosis. Grado de hipoacusia inicial (en decibelios) en cada una de las frecuencias (250 a 8000 Hz) para el Oído Derecho (OD) y el Oído Izquierdo (OI). Med: Medidas de tendencia central, \bar{X} : Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

Grado Hipoacusia Mutaciones	Med.	Audiometría inicial (Hz) OD						Audiometría inicial (Hz) OI					
		250	500	1000	2000	4000	8000	250	500	1000	2000	4000	8000
<i>GJB2</i> en homocigosis n=12	\bar{X}	86.7	88.3	89.6	92.1	97.04	96.3	82.9	87.1	87.1	89.6	90.5	91.2
	SD	20.8	23.9	23.3	21.8	23.4	22.4	25.6	23.8	26.0	23.9	23.5	24.8
<i>GJB2</i> en heterocigosis n=27	\bar{X}	79.8	88.3	94.3	98.2	100.6	103.7	84.1	90.2	94.8	97.4	103.2	105.4
	SD	17.0	16.3	23.3	21.8	23.4	22.4	15.7	16.1	18.0	38.5	19.7	21.3

Nivel de significación: No significativo en todos los casos

Gráfico 7. Mutaciones *GJB2* en homocigosis y heterocigosis. Grado de hipoacusia pretratamiento (en decibelios) en cada una de las frecuencias, desde 250 a 8000 Hz, para el Oído Derecho (OD) y el Oído Izquierdo (OI).



Para el caso de las mutaciones **GJB2** en heterocigosis **c.35delG** y no **c.35delG**, y **GJB6** en heterocigosis, se observa que el grado de hipoacusia es creciente de graves a agudos para todas ellas. Sin embargo el promedio para cada una de las frecuencias es ligeramente menor en los casos de mutaciones **GJB6** en heterocigosis, seguido de los casos de Heterocigosis no **c.35delG** y algo mayor para los casos de Heterocigosis **c.35delG**. Al comparar ambos oídos se encontró que el comportamiento audiométrico de las mutaciones de **GJB2** (Heterocigosis **c.35delG** y no **c.35delG**) presentan escasa variación No se encontraron diferencias significativas. (Tabla 38).

Tabla 38. Mutaciones **GJB2** en heterocigosis **c.35delG** y no **c.35delG**, **GJB6** en heterocigosis. Grado de hipoacusia pretratamiento (en decibelios) en cada una de las frecuencias (250 a 8000 Hz) para el oído derecho (OD) y el oído izquierdo (OI). Med: Medidas de tendencia central, X: Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

Grado Hipoacusia Mutaciones	Med	Audiometría pretratamiento (Hz) OD						Audiometría pretratamiento (Hz) OI					
		250	500	1000	2000	4000	8000	250	500	1000	2000	4000	8000
Heterocigosis c.35delG n=21	X	80.7	88.8	94.0	97.3	99.8	102.6	86.4	90.7	94.0	99.8	101.7	104.3
	SD	24.4	25.8	24.8	23.1	25.0	23.8	24.7	24.4	25.4	19.5	19.7	21.8
Heterocigosis no c.35delG n=5	X	79.0	88.0	93.0	98.0	100.0	105.0	80.0	92.0	98.0	84.0	106.0	107.0
	SD	19.5	18.9	20.2	18.2	18.4	18.7	13.7	13.0	16.1	44.9	19.2	19.8
Heterocigosis GJB6 n=10	X	79.5	84.5	86.5	87.5	92.5	92.5	85.0	87.0	92.0	97.5	97.5	99.0
	SD	28.1	27.4	26.5	31.1	27.9	27.7	30.3	26.8	28.7	26.5	30.9	29.3

F=0.01 F=0.1 F=0.3 F=0.6 F=0.3 F=0.7 F=0.1 F=0.1 F=0.1 F=0.8 F=0.2 F=0.2

Nivel de significación: No significativo en todos los casos.

2.3. ANÁLISIS DEL TRATAMIENTO.

- GRADO DE HIPOACUSIA INICIAL.

Las alternativas del tratamiento de la hipoacusia se basan en la colocación de una prótesis auditiva o de un implante coclear, quedando otra alternativa que excluye las dos anteriores, de tal forma que la distribución de pacientes respecto al tratamiento quedaría como se muestra en la tabla 39:

Tabla 39. Opciones de tratamiento realizadas para oído derecho (OD) y oído izquierdo (OI), n: Número de casos, y porcentaje correspondiente (%).

Tratamiento	OD	OI	n	%
1	Sin prótesis	Prótesis	1	1.5
2	Prótesis	Sin prótesis	0	0.0
3	Sin prótesis	Implante coclear	7	10.4
4	Implante coclear	Sin prótesis	13	19.4
5	Prótesis	Prótesis	23	34.3
6	Prótesis	Implante coclear	12	17.9
7	Implante coclear	Prótesis	5	7.5
8	Implante coclear	Implante coclear	6	9.0

A 43 de los 67 pacientes (64.2%) se les realizó implante coclear (IC), en uno (37 casos) o en ambos oídos (6 casos), de los que 17 llevaban prótesis en el oído contralateral y 20 quedaron sin prótesis en el oído no implantado. De los pacientes sin IC, 24 (35,8%) eran portadores de prótesis auditiva y la mayoría en ambos oídos (23)

Al cotejar el grado de hipoacusia inicial con el tratamiento aplicado, se realizó la audiometría a 50 pacientes. La decisión terapéutica de realizar implante coclear, en cada caso, tiene que ver con el grado de hipoacusia valorado en cada oído, así el grado profundo (91-120 dB) presenta diferencias significativas entre el IC (más de los esperados en una distribución aleatoria) y la prótesis (menos), a la inversa de lo que ocurre con los grados de hipoacusia menos graves ($\chi^2_{yates} = 6.3$, $p < 0.05$ para OD y $\chi^2_{yates} = 8.4$ $p < 0.05$ para OI). (Tabla 40 y 41)

Tabla 40. Tratamiento en Oído Derecho (OD), SP: Sin Prótesis, P: Prótesis, IC: Implante Coclear. Grado de hipoacusia inicial hasta 90 dB y de 91 a 120 dB.

Tratamiento OD	Grado de hipoacusia inicial		Total
	Hasta 90 dB	91-120 dB	
SP	1	4	5
P	18	13	31
IC	2	12	14

$$\chi^2_1 = 7.49 \quad p < 0.01$$

$$\chi^2_{yates} = 6.3 \quad p < 0.05$$

Tabla 41. Tratamiento en Oído Izquierdo (OI), SP: Sin Prótesis, P: Prótesis, IC: Implante Coclear. Grado de hipoacusia inicial hasta 90 dB y de 91 a 120 dB.

Tratamiento OI	Grado de hipoacusia inicial		Total
	Hasta 90 dB	91-120 dB	
SP	1	6	7
P	15	11	26
IC	2	15	17

$$\chi^2_1 = 9.07 \quad p < 0.01$$

$$\chi^2_{yates} = 8.4 \quad p < 0.05$$

La audiometría inicial para cada uno de los oídos, en relación con el tratamiento aplicado, ofrece los siguientes resultados que se reflejan en la Tabla 42:

Tabla 42. Tratamiento en Oído Derecho (OD) y Oído Izquierdo (OI). SP: Sin Prótesis, P: Prótesis, IC: Implante Coclear. Audiometría Inicial Promedio (AIP) de todas las frecuencias (250 a 8000 Hz). Med: Medidas de tendencia central. \bar{X} : Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

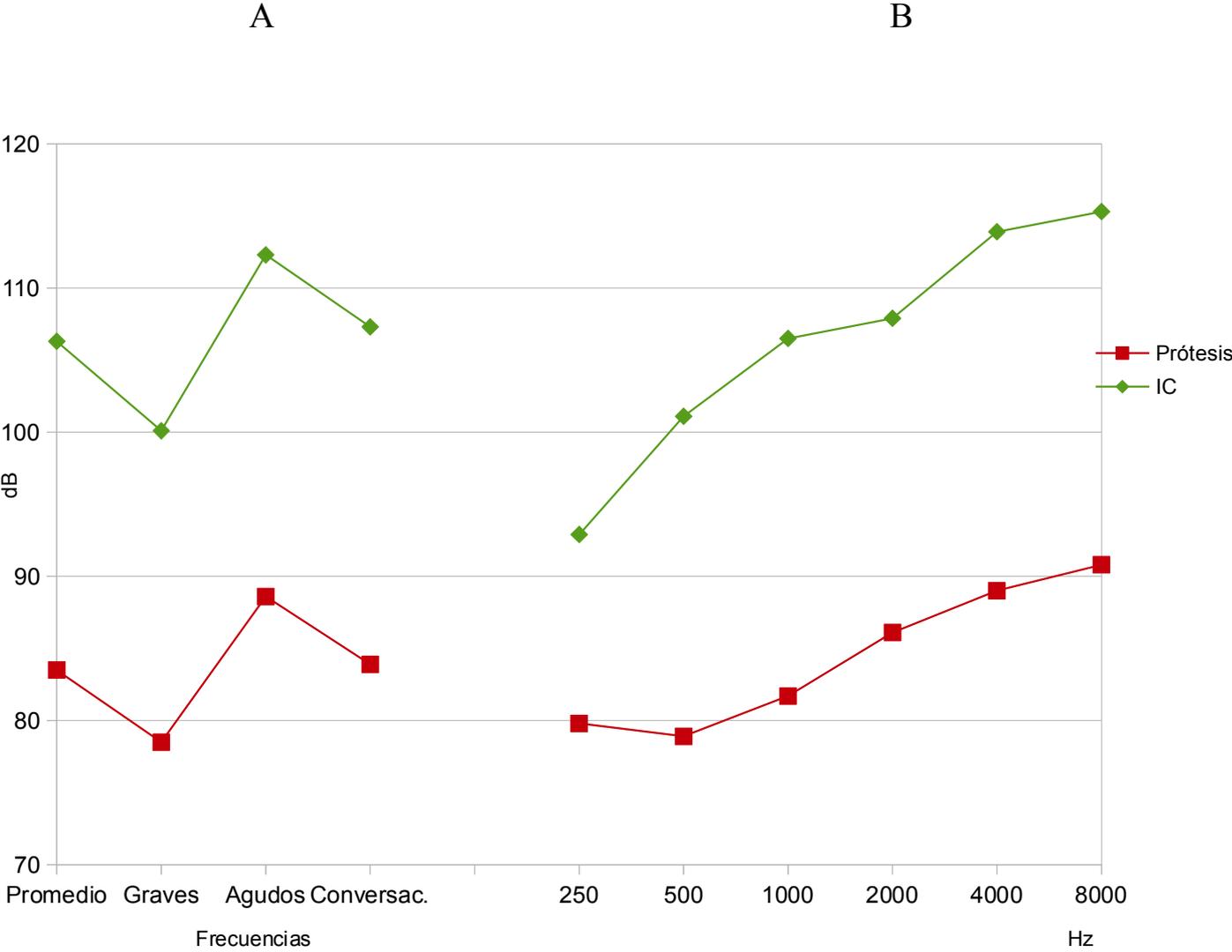
Tratamiento	AIP OD			AIP OI		
	\bar{X}	SD	n	\bar{X}	SD	n
SP	110.5	10.3	5	105.1	15.1	7
P	83.5	23.0	31	82.7	24.7	26
IC	106.3	10.4	14	106.3	11.6	17

$F^2_{47} = 9.0 \quad p < 0.001$ $F^2_{45} = 8.5 \quad p < 0.001$

$t_{p-IC} = 3.5 \quad p < 0.001$ $t_{p-IC} = 3.7 \quad p < 0.001$

Como se expresa en el gráfico 8, los pacientes subsidiarios de implante coclear presentaron peores registros audiométricos al compararlo con los que se les aplicó prótesis auditiva, tanto para el promedio de todas las frecuencias, como para las frecuencias graves, agudas, conversacionales y frecuencia a frecuencia. No hay diferencias estadísticamente significativas en los promedios entre los pacientes subsidiarios de IC y aquellos que permanecerán sin prótesis en el oído contralateral. Tampoco el perfil audiométrico ofrece diferencias estimables entre los pacientes que fueron sometidos a prótesis o implante al pasar de estímulos graves a agudos.

Gráfico 8. Audiometría promedio inicial (todas las frecuencias), frecuencias graves, agudas y conversacionales (A), así como frecuencia a frecuencia (B) (250 a 8000 Hz), en pacientes a los que se les colocó Prótesis (P) o Implante Coclear (IC).



- GRADO DE HIPOACUSIA POSTRATAMIENTO.

La audiometría tras el tratamiento aplicado, ha sido practicada para cada oído agrupando los resultados en tres tipos: Implante coclear, Prótesis y Sin Prótesis. Los resultados auditivos postratamiento son similares en ambos oídos, obviamente notorios y significativos ($F^2_{67} = 25.9$ $p < 0.001$) quedando los implantes cocleares con un promedio global de 29.9 dB (SD=3.1), las prótesis con una media de 52.4 dB (SD=19.8) y aquellos pacientes sin prótesis con 96 (SD=12.3).

Así, todos los pacientes implantados quedaron con un promedio audiométrico inferior a 40 dB (24 casos para OD y 25 casos para OI), mientras que tan solo 22 casos con prótesis auditiva (12/35 en OD y 10/29 en OI), quedaron en esta situación ($\chi^2_1 = 25$ $p < 10^{-6}$). (Tabla 43 y 44)

Tabla 43. Grado de hipoacusia en Oído Derecho (OD) y en Oído Izquierdo (OI), expresado en decibelios (dB). Tratamiento aplicado, P: Prótesis, IC: Implante Coclear.

Tratamiento OD/OI	Grado de hipoacusia OD				Grado de hipoacusia OI			
	<40dB	41-70 dB	71-90 dB	91-120 dB	<40dB	41-70 dB	71-90 dB	91-120 dB
SP (n=8/13)	0	0	2	6	0	0	2	11
P (n=35/29)	12	17	5	1	10	14	3	2
IC (n=24/25)	24	0	0	0	25	0	0	0
	$\chi^2_1 = 25.8$ $p < 10^{-6}$				$\chi^2_1 = 25.3$ $p < 10^{-6}$			

Tabla 44. Tratamiento en Oído Derecho (OD) y Oído Izquierdo (OI). SP: Sin Prótesis, P: Prótesis, IC: Implante Coclear. Audiometría Con Tratamiento Promedio (ACTP) de todas las frecuencias (250 a 4000 Hz). Med: Medidas de tendencia central. X: Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

Tratamiento	ASTP OD			ASTP OI		
	X	SD	n	X	SD	n
SP	96.0	12.3	8	105.9	12.9	13
P	52.4	19.8	35	54.0	21.1	29
IC	29.9	3.1	24	30.0	3.4	25

$F^2_{67} = 25.9$ $p << 0.001$ $F^2_{67} = 39.4$ $p < 0.001$

$t_{p-ic} = 5.7$ $p < 0.001$ $t_{p-ic} = 5.6$ $p < 0.001$

La eficacia del IC se testifica no sólo por el bajo promedio (30dB), sino por la fijeza y proximidad de todos los resultados en torno a él, dada la escasa desviación típica y a que los pacientes sometidos a implante, partían de los peores registros audiométricos como grupo.

Debe hacerse notar que el perfil diferencial (menos malo para graves y peor para los agudos) que se observaba en las audiometrías iniciales se repite luego del tratamiento para las prótesis, con una diferencia ostensible. Sin embargo, el aplanamiento de las curvas audiométricas en la audiometría tonal (igualdad en las respuestas de graves y agudos) en los implantes tiene su importancia por lo que significa de cambio en la audiometría inicial.

Lo mismo ocurre para el perfil frecuencia a frecuencia; el incremento a peor en dB de graves a agudos en la audiometría inicial, se repite en el posterior al tratamiento para las prótesis, pero no para los implantes, donde se anulan las diferencias entre las frecuencias agudas y graves, lo que significa un cambio en la curva audiométrica inicial.

De hecho, mientras que en los implantes no hay diferencias significativas frecuencia a frecuencia, en las prótesis sí existe un cambio a partir de la frecuencia 1000 a 2000 Hz, que alcanza niveles de significación al pasar de 1000 a 4000 Hz ($t=2.33$ $p<0.05$ para OD). De igual modo al comparar los resultados entre el OD y el OI, no parece haber diferencias ostensibles. (Tabla 45 y 46).

La diferencia entre los registros alcanzados postratamiento entre las prótesis y los implantes, resultan en cualquier caso significativas ($t=5.73$ $p<0.001$) para el promedio global, así como para las respuestas a los estímulos graves, agudos y conversacionales, con parecida carga de significación estadística y en la misma dirección y sentido, siendo mejor para los implantes (similar en ambos oídos). (Tabla 45, 46 y gráfico 9).

Tabla 45. Tratamiento en Oído Derecho (OD). P: Prótesis, IC: Implante Coclear. Audiometría Postratamiento (APT): Promedio de todas las frecuencias (P), frecuencias graves (G), agudas (A) y conversacionales (C), así como frecuencia a frecuencia (250 a 4000 Hz). Med: Medidas de tendencia central. X: Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

Tratamiento	Med	APT				APT				
		P	G	A	C	250	500	1000	2000	4000
P (n=35)	X	52.4	49.1	57.5	53.3	49.3	49.1	48.9	53.2	61.5
	SD	19.8	19.2	22.5	20.4	19.0	19.9	21.1	22.7	24.1
IC (n=24)	X	29.9	29.7	30.3	30.0	30.0	30.2	28.9	29.6	31.0
	SD	3.1	3.4	4.2	3.6	3.9	4.0	4.7	3.9	5.1

t=5.7* t=4.9* t=5.8* t=5.5* t=4.9* t=4.6* t=4.7* t=5.1* t=6.1*

* p<0.001

	Prótesis	Implantes
tG-A	1.7 (NS)	0.5 (NS)
t _{1000Hz-2000Hz}	0.8 (NS)	0.6 (NS)
t _{1000Hz-4000Hz}	2.3 (p<0.05)	1.5 (NS)

Tabla 46. Tratamiento en Oído Izquierdo (OI). P: Prótesis, IC: Implante Coclear. Audiometría Postratamiento (APT): Promedio de todas las frecuencias (P), frecuencias graves (G), agudas (A) y conversacionales (C), así como frecuencia a frecuencia (250 a 4000 Hz). Med: Medidas de tendencia central. X: Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

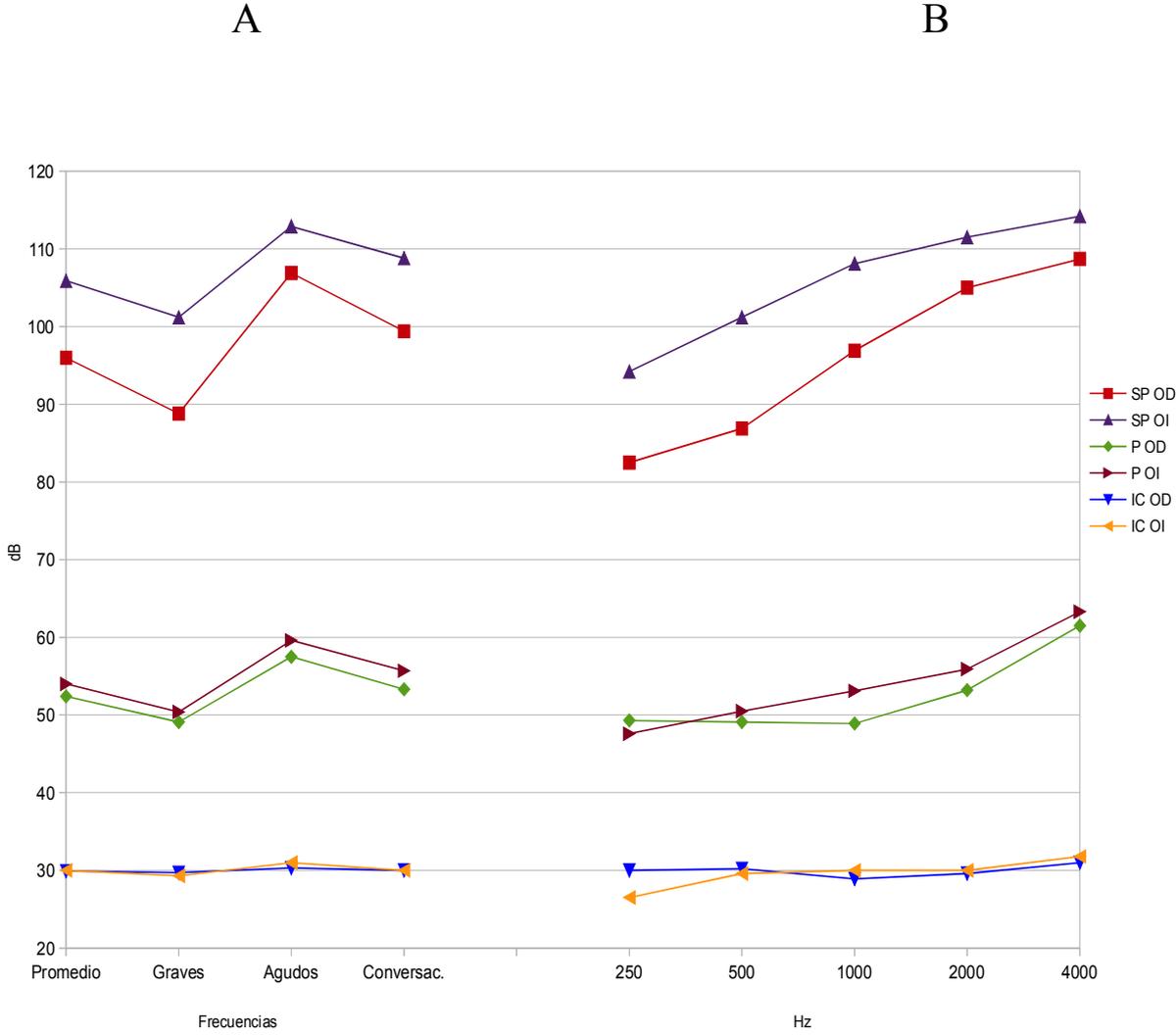
Tratamiento	Med	APT				APT				
		P	G	A	C	250	500	1000	2000	4000
P (n=29)	X	54.0	50.4	59.6	55.7	47.6	50.5	53.1	55.9	63.3
	SD	21.1	19.7	25.0	22.2	18.5	18.6	24.4	25.4	25.3
IC (n=25)	X	30.0	29.3	31.0	30.0	26.5	29.6	30.0	30.0	31.8
	SD	3.4	3.3	4.6	3.5	5.7	2.3	4.8	5.5	5.4

t=5.6* t=5.3* t=5.6* t=5.7* t=5.5* t=5.6* t=4.7* t=5.0* t=6.1*

* p<0.001

	Prótesis	Implantes
tG-A	1.6 (NS)	1.5 (NS)
t _{1000Hz-2000Hz}	0.4 (NS)	0.0 (NS)
t _{1000Hz-4000Hz}	1.6 (NS)	1.3 (NS)

Gráfico 9. Audiometría postratamiento en Oído Derecho (OD) y Oído Izquierdo (OI) para el promedio de todas las frecuencias, frecuencias graves, agudas y conversacionales (A), así como frecuencia a frecuencia de 250 a 4000 Hz (B) , en pacientes a los que se les colocó Prótesis (P) o Implante Coclear (IC).



2.4. ANÁLISIS DIFERENCIAL AUDIOLÓGICO INICIAL Y POSTRATAMIENTO.

El comportamiento es similar para ambos oídos independientemente de la cantidad de cambio. El tratamiento con IC es muy eficaz y fijo, o sea, la ganancia es no solo importante sino que presenta variabilidad limitada en el grupo de pacientes tratados con esta técnica (Coeficiente de Variación (CV)≈15%), es decir la mejoría es para la mayoría de forma similar. También debe resaltarse la mayor ganancia en las frecuencias agudas que iguala los registros graves y agudos, que estaban diferenciados en la audiometría basal.

De menor eficacia es el tratamiento con prótesis (ganancia en torno a los 30 dB) pero con mucho menor grado de fijeza (CV≈50%) o sea que la mejoría es variable según los pacientes y sin mayor ganancia en las frecuencias agudas lo que repite la curva audiométrica inicial (mejor graves y peor agudos) (Tabla 47 y 48, Gráfico 10 y 11).

Debemos hacer notar de forma particular, la mejoría observada en los casos sin prótesis, sobre todo en OD con ganancia en promedio de 11 dB sobre todo en tonos graves (18 dB) y en la frecuencia 250 (20 dB) y 500 (26 dB). Esta ganancia presenta una gran variabilidad (CV superior al 100%), lo que supone que alguno de los pocos pacientes de este grupo (4), haya presentado una mejoría auditiva sin causa aparente que la justifique. (Tabla 47 y 48, Gráfico 10 y 11).

Tabla 47. Diferencial de Audiometrías pre y postratamiento (DApre-post). Tratamiento en oído derecho (OD). SP: Sin Prótesis, P: Prótesis, IC: Implante Coclear. Promedio de todas las frecuencias (P), frecuencias graves (G), agudas (A) y conversacionales (C), así como frecuencia a frecuencia (250 a 4000 Hz). Med: Medidas de tendencia central. X: Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

Tratamiento	Med	DApre-post				DApre-post				
		P	G	A	C	250	500	1000	2000	4000
SP (n=4)	X	11.3	17.9	1.3	9.1	20.0	26.3	7.5	2.5	0.0
	SD	13.4	15.1	15.5	14.1	14.1	25.6	9.6	17.1	14.1
P (n=31)	X	31.4	31.4	31.3	33.0	27.2	32.1	34.8	34.3	28.5
	SD	17.7	16.7	15.8	15.8	21.7	17.4	18.0	20.1	17.9
IC (n=14)	X	73.5	69.5	79.5	76.3	62.5	70.0	76.1	77.1	81.8
	SD	10.6	13.3	10.2	10.3	17.2	14.4	13.3	14.4	7.8

	Sin Prótesis	Prótesis	Implantes
tG-A	1.5 (NS)	0.0 (NS)	2.2 p<0.05

Tabla 48. Diferencial de Audiometrías inicial y postratamiento (DApre-post). Tratamiento en oído izquierdo (OI). SP: Sin Prótesis, P: Prótesis, IC: Implante Coclear. Promedio de todas las frecuencias (P), frecuencias graves (G), agudas (A) y conversacionales (C), así como frecuencia a frecuencia (250 a 4000 Hz). Med: Medidas de tendencia central. X: Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

Tratamiento	Med	DApre-post				DApre-post				
		P	G	A	C	250	500	1000	2000	4000
SP (n=7)	X	24.0	4.1	0.0	2.0	4.3	7.9	0.0	-1.4	1.4
	SD	7.8	8.3	7.7	8.3	7.9	10.4	10.4	11.4	4.8
P (n=26)	X	27.7	27.4	28.2	28.0	26.7	26.9	28.6	32.4	24.0
	SD	16.6	17.8	17.0	16.9	19.1	16.0	22.0	17.4	18.2
IC (n=17)	X	75.2	72.3	78.4	75.8	72.4	72.0	74.4	77.6	79.1
	SD	12.6	14.3	12.7	13.0	16.9	15.3	16.2	14.0	12.2

	Sin Prótesis	Prótesis	Implantes
tG-A	0.9 (NS)	0.2 (NS)	1.3 (NS)

Gráfico 10. Audiometría Previa al tratamiento y Postratamiento en Oído Derecho (OD) para cada una de las frecuencias (250 a 4000 Hz), en pacientes a los que se les aplicó tratamiento: A: Sin Prótesis (SP), B: Prótesis (P) o C: Implante Coclear (IC).

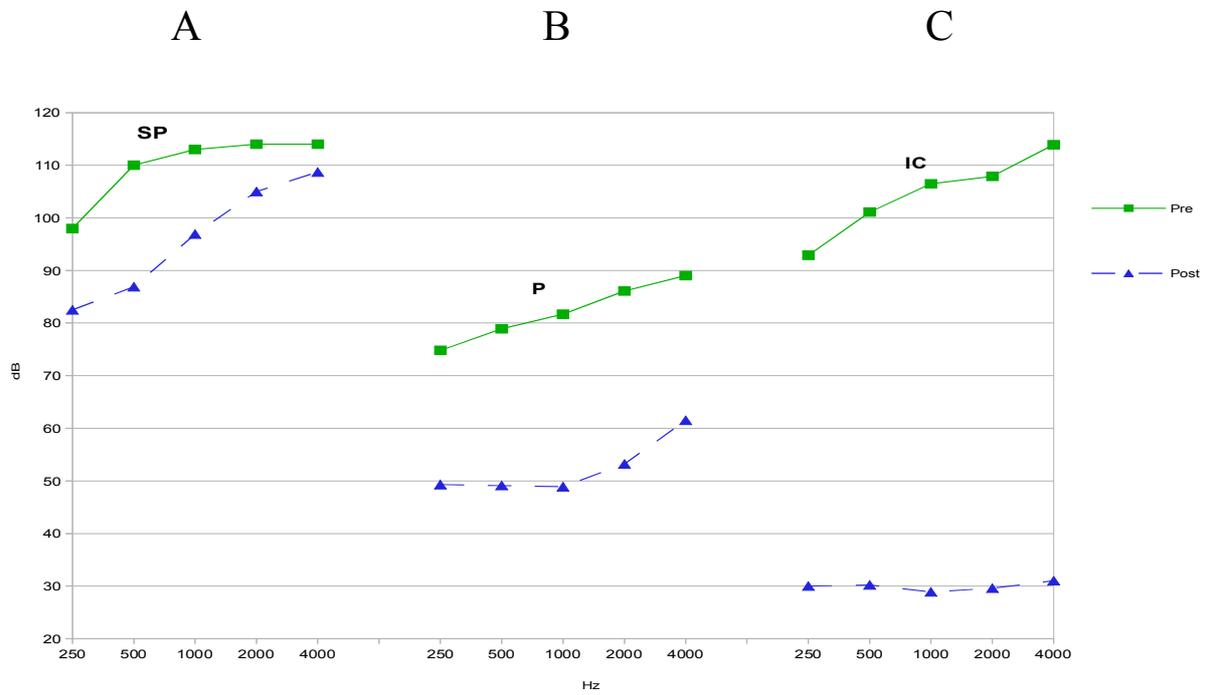
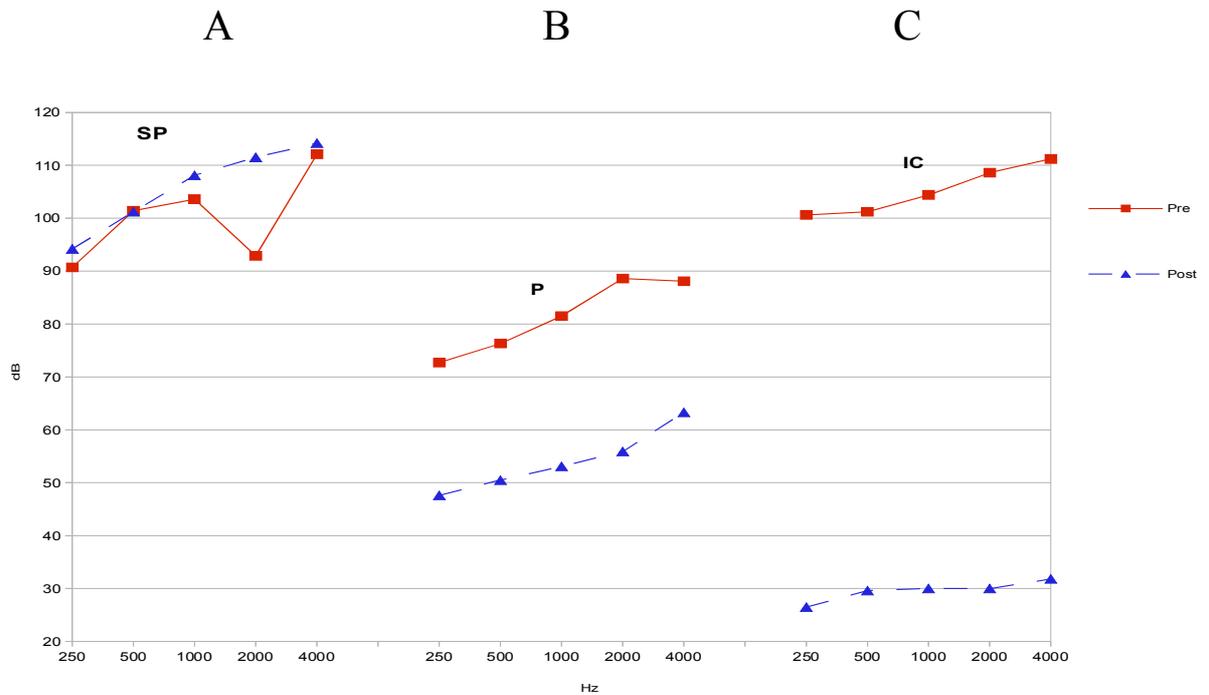


Gráfico 11. Audiometría Previa al tratamiento y Postratamiento en Oído Izquierdo (OI) para cada una de las frecuencias (250 a 4000 Hz), en pacientes a los que se les aplicó tratamiento: A: Sin Prótesis (SP), B: Prótesis (P) o C: Implante Coclear (IC).



A 17 pacientes, por razones ya apuntadas, se les practicó PEATC pretratamiento y se les comparó con la audiometría postratamiento y su diferencial pre-post, limitada a las frecuencias 2000 y 4000 Hz, privativas de los PEATC, para los propósitos que nos ocupan. Los resultados obtenidos no arrojan diferencias significativas comparados con los correspondientes para aquellos pacientes que se les realizó audiometría pre y postratamiento (Tabla 49, 50, 51, 52).

Tabla 49. Diferenciales entre los Potenciales Evocados Auditivos del Tronco Cerebral (PEATC) (1) con las frecuencias 2000 (2) y 4000 Hz (3) de las Audiometrías Postratamiento (APT) en el oído derecho. Tratamiento en Oído Derecho (OD). SP: Sin Prótesis, P: Prótesis, IC: Implante Coclear. Med: Medidas de tendencia central. \bar{X} : Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

Tratamiento	Med	PEAT (1)	APT		Diferenciales	
			2000Hz (2)	4000Hz (3)	D(1-2)	D(1-3)
OD	\bar{X}	120.0	93,3	100.0	26.7	20.0
	SD	0.0	11.5	0.0	11.5	0.0
SP (n=3)	\bar{X}	87.5	65.0	70.0	22.5	17.5
	SD	21.8	16.8	14.1	6.5	10.4
P (n=4)	\bar{X}	109.0	28.0	29.5	81.0	79.5
	SD	17.9	3.5	5.0	18.4	17.7
IC (n=10)	\bar{X}					
	SD					

Tabla 50. Relación entre las diferenciales de Potenciales Evocados Auditivos del Tronco Cerebral (PEATC) con la Audiometría Postratamiento (DPEATC-APT) para las frecuencias 2000 (1) y 4000 Hz (2) y las Diferenciales de las Audiometrías pre y postratamiento (DApre-Post) para las frecuencias 2000 (3) y 4000 Hz (4) en el oído derecho. Tratamiento en Oído Derecho (OD). SP: Sin Prótesis, P: Prótesis, IC: Implante Coclear. Med: Medidas de tendencia central. X: Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

Tratamiento OD	Med	DPEATC-APT		DApre-Post	
		2000Hz	4000Hz	2000Hz	4000Hz
		(1)	(2)	(3)	(4)
SP	X	26.7	20.0	2.5	0.0
	SD	11.5	0.0	17.1	14.1
	n	3	3	4	4
P	X	22.5	17.5	34.3	28.5
	SD	6.5	10.4	20.1	17.9
	n	4	4	31	31
IC	X	81.0	79.5	77.1	81.8
	SD	18.4	17.7	14.4	7.8
	n	10	10	14	14

	Sin Prótesis	Prótesis	Implantes
tD(1-3)	2.1 (NS)	1.2 (NS)	0.6 (NS)
tD(2-4)	2.4 (NS)	1.2 (NS)	0.4 (NS)

Tabla 51. Diferenciales entre Potenciales Evocados Auditivos del Tronco Cerebral (PEATC) (1) con las frecuencias 2000 (2) y 4000 Hz (3) de las Audiometrías Postratamiento (APT) en el oído izquierdo. Tratamiento en Oído Izquierdo (OI). SP: Sin Prótesis, P: Prótesis, IC: Implante Coclear. Med: Medidas de tendencia central. X: Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

Tratamiento OI	Med	PEATC (1)	APT		Diferenciales	
			2000Hz (2)	4000Hz (3)	D(1-2)	D(1-3)
SP (n=6)	X	113.3	115.0	118.3	-1.7	-5.0
	SD	16.3	12.2	4.1	22.3	17.6
P (n=3)	X	103.3	51.7	56.7	51.7	46.7
	SD	28.9	2.9	5.8	27.5	23.1
IC (n=8)	X	108.1	28.8	32.5	79.4	75.6
	SD	23.0	3.5	4.6	24.0	21.9

Tabla 52. Relación entre las diferenciales entre Potenciales Evocados Auditivos del Tronco Cerebral (PEATC) con la Audiometría Postratamiento (DPEATC-APT) para las frecuencias 2000 (1) y 4000 Hz (2), y las Diferenciales de las Audiometrías inicial y postratamiento (DAini-Post) para las frecuencias 2000 (3) y 4000 Hz (4) en el oído izquierdo. Tratamiento en Oído Izquierdo (OI). SP: Sin Prótesis, P: Prótesis, IC: Implante Coclear. Med: Medidas de tendencia central. X: Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

Tratamiento OI	Med	DPEATC-APT		DAini-Post	
		2000Hz (1)	4000Hz (2)	2000Hz (3)	4000Hz (4)
SP	X	-1.7	-5.0	-1.4	1.4
	SD	22.3	17.6	11.4	4.8
	n	6	6	7	7
P	X	51.7	46.7	32.4	24.0
	SD	27.5	23.1	17.4	18.2
	n	3	3	26	26
IC	X	79.4	75.6	77.6	79.1
	SD	24.0	21.9	14.0	12.2
	n	8	8	17	17

	Sin Prótesis	Prótesis	Implantes
tD(1-3)	0.0 (NS)	1.7 (NS)	0.2 (NS)
tD(2-4)	0.9 (NS)	2.0 (NS)	0.5 (NS)

2.5. ANÁLISIS DE BISÍLABOS POSTRATAMIENTO.

La respuesta obtenida en los bisílabos postratamiento para aquellos pacientes a los que se les practicó la prueba, en uno o en ambos oídos, ofrece algunos detalles que nos parece oportuno señalar. Las diferencias entre tratamientos no alcanzan dinteles de significación estadística aunque quedan en el límite ($t=1.9$ y $p< 0.07$), a favor de una mayor respuesta en los oídos sometidos a IC ($\bar{X}=93.8\%$, $SD=8.7$, $n=18$), que para aquellos pacientes a los que se les aplicó tratamiento con Prótesis ($\bar{X}=85.8\%$, $SD=16.6$, $n=30$). (Tabla 53).

Tabla 53. Resultados de porcentaje de bisílabos en Oído Derecho (OD) y en Oído Izquierdo (OI) para los tratamiento son Prótesis e Implante Coclear (IC). Med: Medidas de tendencia central. \bar{X} : Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

Tratamiento	Med	OD	OI	OD+OI
P	\bar{X}	85.5	88.1	85.8
	SD	19.9	12.7	16.6
	n	15	15	30
IC	\bar{X}	95.6	92.4	93.8
	SD	7.3	9.9	8.7
	n	8	10	18

$$t_{P-IC\ OD} \quad 1.7 \text{ (NS)} \quad t_{P-IC\ OI} \quad 0.9 \text{ (NS)}$$

$$t_{P\ OD-OI} \quad 0.8 \text{ (NS)} \quad t_{IC\ OD-OI} \quad 0.8 \text{ (NS)}$$

$$t_{P-IC\ OD+OI} \quad 1.9 \text{ (NS)}$$

Sin embargo, estas diferencias si alcanzan significación para el IC cuando se compara la respuesta si va acompañado de IC en el oído contralateral ($\bar{X}=100\%$, $SD=0.0$, $n=6$), con respecto a los casos en los que llevan prótesis o ningún tratamiento en el otro oído. ($\bar{X}=90.6\%$, $SD=9.3$, $n=12$) ($t=2.4$ y $p<0.05$). (Tabla 54). No presentan diferencias entre ambos oídos independientemente del tratamiento aplicado ya sea prótesis o IC.

Tabla 54. Resultados de porcentaje de bisílabos en Implante Coclear Bilateral (ICB) vs Implante Coclear Unilateral (ICU), (asociado a Sin Prótesis (SP) o Prótesis (P) en oído contralateral). Med: Medidas de tendencia central. \bar{X} : Media, SD: Desviación típica, n: Número de casos.

% Bisílabos	ICB	ICU
\bar{X}	100	90.6
SD	0	9.3
n	6	12

$t=2.4$ $p<0.05$

Sería de esperar obtener una correlación significativa entre el porcentaje de bisílabos y a audiometría promedio postratamiento verificada para cada oído en el sentido que a mejor audiometría, mayor porcentaje de bisílabos. Esto no aparece en nuestra serie, ni en conjunto ($r=-0.12$, PNS) ni separando por tratamientos (Implante coclear: $r=-0.02$, PNS) (Prótesis auditiva: $r=0.01$, PNS). Esta correlación no significativa viene de la mano de 8 casos con buena audiometría y discreta comprensión de bisílabos, y lo que es mas difícil de entender, 7 casos con discreta audiometría y buena comprensión de bisílabos. No hay diferencias al cotejar los bisílabos con los antecedentes familiares, ni con la edad (aquí las correlaciones son dispares y poco explicables para el OD y el OI). No parece razonable a la vista de lo anteriormente expuesto, verificar con análisis multivariado con bisílabos como variante a predecir en función de las variables predictoras utilizadas.

2.6. CORRELACIONES ENTRE EL ESTUDIO AUDIOLÓGICO INICIAL Y EL POSTRATAMIENTO.

- AUDIOMETRÍAS.

Las correlaciones entre los distintos parámetros de la audiometría pretratamiento (promedio, graves, agudos, conversacionales y frecuencia a frecuencia) son muy estrechas y significativas, sobre todo los que mantienen relaciones ligadas matemáticamente (r 's superiores a 0.90 $p < 0.001$) para descender a r 's de 0.70 a 0.80, $p < 0.001$, cuando se contrasta la relación entre frecuencias agudas y graves. No hay diferencias sensibles entre OD y OI. Lo mismo puede atribuirse a las correlaciones entre los parámetros de la audiometría postratamiento, en la misma dirección y sentido y sin diferencias entre OD y OI.

La correlación entre la audiometría inicial con la audiometría postratamiento descende a r 's entre 0.36-0.43, $p < 0.01$, con cambios muy estrechos entre los distintos parámetros, señalando la fijeza de los efectos del tratamiento sobre la audición, esto para el oído derecho. En el oído izquierdo, el nivel de correlación descende a dinteles de 0.30-0.35, $p < 0.05$, perdiéndose la significación sobre todo a expensas de las frecuencias graves (250 y 500), al cotejarlos con las agudas y conversacionales (1000, 2000 y 4000 Hz); es como si aquí (OI), la mejoría fuera algo distinta para unas frecuencias que para otras.

- POTENCIALES EVOCADOS AUDITIVOS DEL TRONCO CEREBRAL Y AUDIOMETRÍAS POSTRATAMIENTO.

No existe correlación significativa entre los potenciales evocados previos al tratamiento con las audiometrías postratamiento, para las frecuencias 2000 y 4000 Hz (r 's entre 0.09 y 0.15, p NS), a diferencia de la relación audiométrica pre-post para estas mismas frecuencias (r 's entre 0.36 y 0.40, $p < 0.01$). Sin embargo, la relación es muy significativa ($r = 0.63$, $p < 0.001$) entre los potenciales evocados y la audiometría pretratamiento a frecuencias 2000 y 4000 Hz. O sea, siendo dos pruebas audiológicas comparables previas, cuando seleccionamos los casos con audiometría pre y postratamiento a las frecuencias indicadas, la correlación es significativa ($r = 0.56$, $p < 0.05$), mientras que la selección de casos con potenciales evocados y audiometría postratamiento pierde la correlación significativa ($r = 0.12$, p NS).

3. ANÁLISIS MULTIVARIADO.

El enfoque del análisis multivariado lo empezamos por definir con la variable dependiente o a "predecir", que en este caso parece claro debe referirse al resultado del tratamiento (prótesis o implante coclear) medido por audiometría postratamiento, sobre cada oído intervenido.

Este resultado audiométrico tomado del promedio global después del tratamiento, lo establecemos dicotomizado en ≤ 40 dB y > 40 dB (conceptualizando como resultado satisfactorio/no satisfactorio) y que permitía dividir la variable en un aproximado 50% para cada alternativa (71 y 63 casos respectivamente)

Obviamente, las variables independientes o “predictoras” deben reunir algunos requisitos para su selección, entre los que parecen mas importantes, el que sean previas al desenlace (de ahí su carácter predictor) y el que sean secuenciales y representativas del proceder clínico sobre cada caso. Así las variables seleccionadas han sido: la edad desde el nacimiento al diagnóstico de la hipoacusia (en meses) y la presencia o ausencia de antecedentes familiares de hipoacusia como variables anamnésicas; la audiometría inicial promedio como variable de exploración y el tratamiento aplicado entendido como prótesis o implante coclear para cada oído afecto.

La edad del diagnóstico fue en promedio 99.1 meses con muy amplia dispersión ($S=169$ meses) como corresponde al grupo de casos diagnosticados (en realidad que llegaron a nosotros) en edad adulta. Los antecedentes familiares de hipoacusia independientemente del grado familiar, afectaron al 39% de los casos (52/134).

La audiometría previa mostró un promedio de 96.98 dB con muy corta dispersión ($S=23$), lo que muestra la severidad de la hipoacusia. Por último, el tratamiento para cada oído se distribuyó en 64 prótesis auditivas y 49 implantes cocleares. La matriz de coeficientes de correlación entre todas las variables implicadas, solo muestra niveles de significación entre la audiometría previa y el tratamiento ($r=0.49$, $p<0.001$), a peor audiometría es preferente el implante; y entre el tratamiento y la audiometría posterior ($r=-0.67$, $p<0.001$) en el sentido que el implante coclear da como resultado mejores niveles audiométricos.

La edad y los antecedentes familiares presentan prácticamente nula correlación con la audiometría postratamiento. De acuerdo a estos resultados, no hay diferencias significativas entre el resultado de la audiometría postratamiento ≤ 40 dB/ >40 dB con la edad del diagnóstico ni con los antecedentes familiares de hipoacusia; aunque la diferencia no es ostensible, los resultados de la audiometría inicial son bastante fijos en torno a la media (con escasa dispersión), lo cual deja las diferencias cercanas a la significación estadística con mejor audiometría inicial para aquellos que tendrán mejor audiometría postratamiento ($F=3.01$, $p=0.085$). Lo que si marca diferencias ostensibles, es la relación con el tratamiento, en el sentido que el IC refleja mejoría audiométrica posterior claramente mayor de la esperada en una distribución aleatoria cuando se compara con el efecto audiométrico de las prótesis ($\chi^2=52.2$, $p \ll 10^{-5}$).

Hay alguna relación entre las variables independientes que merece ser destacada: La edad de diagnóstico no va a influir en el tipo de tratamiento efectuado y si bien la diferencia de medias es ostensible (más mayores aquellos en los que se colocará prótesis, $\bar{x}= 126$ vs 81), la variabilidad es demasiado elevada para establecer diferencias significativas, por otro lado la audiometría inicial si condiciona en alguna medida el tratamiento, teniendo una peor audiometría aquellos que recibirán IC ($\bar{x}= 107$ vs 84.5 , $F=35.2$, $p \ll 0.001$).

Así pues podemos presumir que el tratamiento va a condicionar el buen resultado audiométrico posterior de forma clara, como ya es bien sabido y hemos reflejado en escasa medida a juzgar por las relaciones bivariadas, van a resultar discriminantes el resto de variables por este orden: audiometría previa, edad y antecedentes familiares.

La variable tratamiento es capaz de discriminar por si sola el 80.53% de aciertos reales sobre las previsiones teóricas con una matriz de bien clasificados como se observa en la tabla 55.

Tabla 55. Resultados del análisis discriminante para los resultados audiométricos postratamiento grupo 1 (1) ≤ 40 dB y grupo 2 (2) > 40 dB tanto para la previsión teórica como para el grupo real.

Previsión teórica	(1) ≤ 40 dB	(2) > 40 dB	Total
Grupo real			
(1) ≤ 40 dB	49	22	71
(2) > 40 dB	0	42	42
Total	49	64	113

% de bien clasificados: 80.53%

Cuando el tratamiento le añadimos la audiometría previa, este porcentaje de aciertos se eleva al 89.38% con tan solo 12/113 casos mal clasificados, porcentaje que no mejora cuando a estas dos variables le añadimos la edad o los antecedentes familiares. Por último las 4 variables predictoras en conjunto ofrecen la siguiente matriz representada en la tabla 56.

Tabla 56. Resultados del análisis discriminante para los resultados audiométricos postratamiento ≤ 40 dB y > 40 dB tanto para la previsión teórica como para el grupo real.

Previsión teórica	(1) ≤ 40 dB	(2) > 40 dB	Total
Grupo real			
(1) ≤ 40 dB	62	9	71
(2) > 40 dB	1	41	42
Total	62	50	113

% de bien clasificados: 91.15%

La ecuación discriminante canónica no estandarizada que sustenta esta matriz puede escribirse así:

$$\text{AUDIOMETRÍA POST} = 0.000680508 * \text{EDAD} - 0.1543658 * \text{ANT. FAMILIARES} - 0.0433513 * \text{AUDIO PREVIA} + 3.825598 * \text{TRAT.} - 1.250294.$$

Siendo el límite de asignación a grupo teórico, el valor de -0.344685 de puntuación discriminante, de tal suerte que, para cada caso, al sustituir en la ecuación los valores de las variables, si el resultado es superior al límite será asignado teóricamente al grupo 1 (≤ 40 dB) y si es superior al límite será asignado al grupo 2 (> 40 dB).

Así concebido el test, los errores advertidos en la asignación teórica respecto al grupo real, han sido de 9 casos en que la previsión teórica apostó por el grupo 2 (peor audiometría) y que realmente acabaron con audiometrías satisfactorias (≤ 40 dB) y tan solo un caso en que sucedió lo contrario (caso N.118). Como es de suponer, estos dos tipos de error no tienen la misma significación pronóstica, siendo de peor sentido el caso aislado.

El análisis discriminante por su puntuación más o menos alejada del límite de asignación, permite así mismo valorar la importancia del acierto o error de asignación teórica, como se observa en los siguientes ejemplos:

Tabla 57. Número de caso, Edad, Antecedentes familiares (A.Fam), Audiometría previa (A.Pre), Tratamiento (Trat), Audiometría postratamiento (A.Post), Grupo real (G.Real), Puntuación discriminante (P.discr), Grupo de asignación (G.Asign) y Concepto (Cpt).

Caso	Edad	A.Fam	A.Pre	Trat.	A.Post	G.Real	P.discr	G.Asign	Cpt
7	16	Si (2)	120.0	Prótesis (1)	88 (2)	2	-2.924	2	Acierto
55	5	Si (2)	117.5	Prótesis (1)	56 (2)	2	-2.845	2	Acierto
90	9	Si (2)	60.0	Implante (2)	30 (1)	1	3.497	1	Acierto
62	494	No (1)	84.2	Implante (2)	29 (1)	1	2.941	1	Acierto
118	146	Si (2)	40.0	Prótesis (1)	43 (2)	2	0.631	1	Error
125	22	No (1)	100.0	Prótesis (1)	34 (1)	1	-1.899	2	Error
66	2	No (1)	77.5	Prótesis (1)	37 (2)	1	-0.959	2	Error
99	122	Si (2)	73.3	Prótesis (1)	38 (2)	1	-0.815	2	Error

O sea que el prototipo de caso asignado al grupo 1 (≤ 40 dB) es un paciente sometido a implante coclear con audiometría previa preferentemente inferior a 100 dB, edad variable y sin antecedentes familiares de hipoacusia. El prototipo del grupo 2 (> 40 dB) es un paciente sometido a prótesis con audiometría previa alta, antecedentes familiares de hipoacusia y edad baja. Los errores señalados en la tabla, contradicen en unos u otros aspectos estos prototipos, de ahí que su grupo de asignación teórica no coincida con su grupo real. Es interesante codificar los casos mal clasificados por intentar descifrar la categoría o “tamaño” del error con el desvío, o sea que debemos ahora centrar nuestro interés en los 10 casos mal clasificados y por orden de puntuación discriminante. (Tabla 58).

Tabla 58. Número de caso, Edad, Antecedentes familiares (A.Fam), Audiometría previa (A.Pre), Tratamiento (Trat), Audiometría postratamiento (A.Post), Grupo real (G.Real), Puntuación discriminante (P.discr), Grupo de asignación (G.Asign).

Caso	Edad	A.Fam	A.Pre	Trat.	A.Post	G.Real	P.discr	G.Asign
125	22	No (1)	100.0	Prótesis (1)	34	1	-1.899	2
113	66	No (1)	80.0	Prótesis (1)	34	1	-1.002	2
66	2	No (1)	77.5	Prótesis (1)	37	1	-0.959	2
99	122	Si (2)	73.3	Prótesis (1)	38	1	-0.815	2
91	176	Si (2)	72.5	Prótesis (1)	33	1	-0.778	2
92	176	Si (2)	71.7	Prótesis (1)	39	1	-0.738	2
14	21	No (1)	73.3	Prótesis (1)	37	1	-0.729	2
72	719	Si (2)	80.0	Prótesis (1)	37	1	-0.712	2
114	66	No (1)	71.7	Prótesis (1)	27	1	-0.655	2
118	146	Si (2)	40.0	Prótesis (1)	43	2	0.631	1

Vemos que a nivel de puntuación discriminante los errores no son muy groseros, quedando salvo el paciente 125, todos por dentro del límite medio del grupo asignado. Este paciente, su predicción fue el grupo 2 (Audiometría postratamiento superior a 40 dB) en función de que fue sometido a prótesis auditiva con una audiometría previa en el límite de 100 dB y sin antecedentes familiares.

El resto de pacientes participan de parecidos registros, tratamiento con prótesis, audiometría previa inferior a 100 dB, edad y antecedentes familiares variables, criterios de asignación al grupo 2 y que su grupo real fue el 1. El paciente 118 fue asignado al grupo 1 porque a pesar de su tratamiento con prótesis, pesó más en la asignación su audiometría previa de las mas bajas (40 dB) y su edad de 146 meses, sin embargo su grupo real (por escaso margen) fue el 2. Así, aún cuando no es claramente nuestro caso, la detección de falsas predicciones mediante puntuaciones discriminantes puede conducirnos a la detección de errores importantes diagnósticos o terapéuticos y de esta manera ayudar a revisarlos y valorarlos.

DISCUSIÓN

1. EPIDEMIOLOGÍA GENÉTICA.

La frecuencia de hipoacusia en niños se estima en 1 a 3 por 1000 y generalmente se atribuye a factores genéticos en el 50% de los casos.¹⁸⁹ Aproximadamente el 30% de los casos de hipoacusia son sindrómicas (siendo descritos más de 400 síndromes) y el 70% son no sindrómicas. En este último grupo, el 75 a 80% de los casos son autosómicas recesivas, 12-15% autosómicas dominantes, 1-5% mitocondriales y 1-5% ligadas al sexo. Dentro de las hipoacusias autosómicas recesivas, las más prevalentes son las mutaciones del gen **GJB2** (conexina 26)⁴² que representan hasta el 50% de estos casos⁴⁸ y se producen por alteración directa, por eliminación de un elemento regulador necesario para la expresión del gen, que se localiza próximo a este o a distancia, y que puede o no, involucrar al gen **GJB6** que es contiguo y funcionalmente relacionado.^{190,191,192,193,194.}

En nuestro estudio observamos que el número de pacientes con mutaciones de la Cx26 y 30 corresponde 25,5% de un total de 263 casos de pacientes con hipoacusia neurosensorial profunda del programa de implantes cocleares.

En la actualidad, se han encontrado nuevas mutaciones que tienen una relevancia clínica, por lo cual el Colegio Americano de Genética Médica ha publicado las recomendaciones para interpretar las variantes de las mutaciones que tengan importancia clínica.¹⁹⁵ Dentro del amplio espectro de más de 100 tipos de mutaciones descritas del gen **GJB2**,¹⁹⁶ existen algunas con mayor prevalencia en determinados grupos étnicos. En los caucásicos se encuentra con más frecuencia la mutación **c.35delG**, con un posible origen en Grecia (*Lucotte y cols*¹⁹⁷ y *Kokotas y cols*¹⁹⁸); en un 83% en alemanes (*Gabriel y cols*¹⁹⁹); 60% en norteamericanos del medio oeste de EEUU (*Green y cols*²⁰⁰) y 53% en austriacos (*Löffler y cols*, 2001)²⁰¹. En poblaciones mediterráneas, los estudios de *Zelante y cols*²⁰² muestran una contribución del 63% de los alelos mutantes. En nuestro estudio es también, con diferencia, la mutación más frecuente con 16 caso

en homocigosis y 22 casos en heterocigosis compuesta, siendo las tres mas frecuentes *c.35delG/p.W77R* (4 casos), *c.35delG/p.W24X* (3 casos) y *c.35delG/c.269insT* (2 casos). Además en nuestros resultados se presentaron 5 casos de mutaciones de un solo alelo *c.35delG*. (Tablas 7 y 59).

Tabla 59. Frecuencia de mutaciones en distintas poblaciones incluyendo nuestra muestra, expresado en porcentajes (%).

Población	Frecuencia
Alemanes	83%
Norteamericanos del este	60%
Austriacos	53%
Mediterráneos	63%
Nuestro estudio	53%

El segundo alelo más frecuente en nuestra serie, es la delección *del(GJB6- D13S1830)* con un 12% (Tabla 7), para el cual se ha descrito su origen en la población española (*del Castillo y cols*⁴⁵). Otras mutaciones en *GJB2* con elevada frecuencia en otras poblaciones son: *c.235delC* en japoneses, mongoles y chinos (*Yan y cols*²⁰³), *p.V37I* en coreanos (*Han y cols*²⁰⁴), *c.167delT* en judíos Ashkenazis (*Morell y cols*⁸³), *p.R143W* en pacientes africanos de Ghana (*Brobby y cols*²⁰⁵) y *p.W24X*, muy frecuente en la India (*Maneshwari y cols*²⁰⁶; *RamShankar y cols*²⁰⁷) y en pacientes de etnia gitana (*Minarik y cols*²⁰⁸; *Seeman y cols*²⁰⁹; *Álvarez y cols*⁸⁴).

En nuestra serie encontramos un grupo de 15 mutaciones con frecuencias superiores al 5%, 11 mutaciones de *GJB2* no *c.35delG* en homocigosis y heterocigosis, así como cuatro casos de la delección *del(GJB6-D13S1854)*. Las mutaciones no *c.35delG* que resultaron en nuestro estudio fueron las siguientes de mayor a menor frecuencia: *p.R127H* en heterocigosis simple (4 casos), *p.W24X* en homocigosis (2 casos), *p.R143W/p.N206S* (1 caso), *p.I20T/p.V27I* (1 caso), *p.N206S* (1 caso), *c.328delG* (1 caso) y *c.79G>A/polimorfismo* (1 caso). Los casos de las delecciones del gen *GJB6* estaban asociadas con los alelos *p.N206* (2 casos) y *c.35delG* (2 casos) (Tabla 7).

2. EDAD DE DIAGNÓSTICO E INICIO DE LA HIPOACUSIA EN RELACIÓN CON LAS MUTACIONES EN EL GEN *GJB2* Y *GJB6*.

Las diferentes mutaciones del gen *GJB2* que se han descrito, generalmente producen hipoacusia neurosensorial prelingual. Sin embargo en la mayoría de estudios publicados no es posible distinguir entre un origen congénito o no congénito. Sólo un estudio publicado ha evaluado la contribución de las mutaciones del gen *GJB2* en la hipoacusia congénita.⁴⁸

En nuestro estudio, se consideró la edad de inicio de la hipoacusia al momento del diagnóstico llevado a cabo en nuestro servicio, mediante las diferentes pruebas audiológicas. De esta forma encontramos que de los 67 casos, 14 (21%) fueron diagnosticados mediante screening neonatal con una edad inferior a los 12 meses, 16 casos (24%) antes de los 24 meses, 22 (32%) antes de los 84 meses y 15 (22%) se incluyeron en el grupo de adultos con edad mayor a los 84 meses. A pesar de que para nuestra serie, el 65% de los pacientes presentaron hipoacusia prelingual, consideramos que es necesario establecer las diferencias entre el momento del diagnóstico y e

inicio real de la patología, ya que algunos pacientes acudieron a nuestro centro de forma tardía para continuar con su estudio y ofrecer una posibilidad de tratamiento mas especializada. Esto nos hace pensar no sólo en la necesidad de tener un diagnóstico precoz y protocolizado de la hipoacusia mediante pruebas de screening neonatal, sino también en la necesidad de realizar el seguimiento de los casos para observar la evolución de la pérdida auditiva en el tiempo.

Para relacionar el tipo de mutaciones del gen **GJB2** con la edad de inicio de la hipoacusia, se han publicado diversos estudios como el realizado en Rhode Island en neonatos, donde se encontró que la prevalencia de los genotipos *c.35delG*, es similar a los de otros neonatos americanos con hipoacusia, diagnosticados en la infancia y con raza similar.²¹⁰ Los datos son significativos sobre los casos de neonatos que han superado el screening auditivo, pero que se han diagnosticado de forma tardía de hipoacusia relacionada con **GJB2**.^{211,212} No esta claro si estos datos, representan resultados falsos negativos en el programa de screening neonatal o indican el inicio tardío o la naturaleza progresiva de algunos casos de hipoacusia. Por este motivo, se concluyó que se requieren mas estudios de este tipo y así mismo, otros estudios en los que se incluya la hipoacusia no congénita prelingual, con el fin de establecer una relación entre las variantes de mutaciones del gen **GJB2** y la hipoacusia de origen congénito.

De igual modo, en un estudio realizado por *Orzan y cols*²¹³ se encontró que tres niños italianos con mutaciones bialélicas del gen **GJB2** tuvieron una hipoacusia de inicio súbito entre los 18 y 24 meses de edad, aunque el estado auditivo previo no fue documentado previamente por los padres.

Las investigaciones recientes no están dirigidas a un análisis riguroso de la participación del gen **GJB2** en la hipoacusia postlingual. Una de estas fue realizada en pacientes con mutaciones de **GJB2** en el servicio de hipoacusia de dos hospitales de París, donde se encontró que 43 de los 88 pacientes con hipoacusia neurosensorial prelingual presentaban alteraciones en este gen, pero no se observaron cambios entre los 16 casos con hipoacusia neurosensorial postlingual.²¹⁴

Además un estudio realizado en Israel en pacientes con hipoacusia neurosensorial no sindrómica y evaluados para mutaciones del gen **GJB2** mostró que 66 casos presentaban hipoacusia prelingual, 25 eran homocigotos o heterocigotos compuestos y 4 casos eran heterocigotos. No se encontraron variantes del gen **GJB2** entre los 11 casos de hipoacusia postlingual.²¹⁵

En Japón, 5 de 39 pacientes con hipoacusia prelingual eran homocigotos o heterocigotos para el gen **GJB2** pero no se observaron cambios entre los 39 individuos con hipoacusia postlingual (edad de inicio entre los 3 y 30 años).⁸²

Un cuarto estudio realizado en Austria, encontró que 4 de 16 pacientes con hipoacusia postlingual, presentaban mutaciones en el gen **GJB2**.²¹⁶ Los genotipos fueron **p.L90P/p.I20T** (inicio en la primera década de la vida), **c.35delG** (inicio en la primera década) y **p.G160S/** (inicio en la cuarta década). El alelo **p.L90P** es de interés en esta población pues se ha encontrado en dos de los 16 casos de hipoacusia postlingual, y en 3 de los 53 casos de hipoacusia prelingual, siendo entonces un alelo significativo que contribuye a los casos de hipoacusia postlingual.

El hecho de no detectar las variantes del gen **GJB2** en los otros tres estudios, puede ser debido a una mayor prevalencia del alelo **p.L90P** en la población austriaca, ya que este alelo se detectó sólo en raras ocasiones en los pacientes con hipoacusia en un estudio realizado en Francia (2 de 135)^{214,217} y en ningún caso para los estudios realizados en Israel (0 de 102)^{215,218} y en Japón (0 de 94).^{82,219,220}

El alelo **p.C202F** y el **p.W44C** están relacionados con la hipoacusia no congénita. El primero esta asociado a hipoacusia postlingual con edad de inicio entre los 10 a 20 años y con hipoacusia progresiva en la quinta generación de una familia francesa.²²¹ En cuanto al segundo alelo, se observó que estaba en relación con hipoacusia progresiva en una familia americana de descendientes del norte de Europa, con una edad de inicio desde la infancia hasta los 18 años.²²²

No se encontraron estos alelos en otros estudios publicados en 100 neonatos coreanos,²²³ 209 pacientes japoneses^{82,219,220} y 204 pacientes franceses.^{217,221} Estos estudios sugieren que la pérdida auditiva asociada con las variantes más comunes de mutación del gen **GJB2**, es probablemente prelocutiva. Sin embargo, se requieren realizar mas estudios poblacionales en los que se incluyen pacientes con hipoacusia congénita, no congénita, pre y postlocutiva y la edad de inicio tardío, para evaluar de forma más concreta la relación entre las diferentes mutaciones del gen **GJB2** y la edad de inicio, particularmente en lo que se refiere a los alelos menos comunes en la población estudiada.

Para el caso de nuestro estudio, al relacionar la edad de diagnóstico de la hipoacusia con el tipo de mutaciones, encontramos que los casos diagnosticados antes de los 24 meses para las mutaciones **c.35delG** tanto en homocigosis como en heterocigosis, fue de 21 de 43 casos; 2 de 8 casos, para las mutaciones **no c.35delG** y 7 de 15 casos para otras mutaciones. (Tablas 23 y 24)

La distribución de los casos de hipoacusia prelingual fue mayor para los casos de mutaciones *c.35delG* con 35 pacientes de un total de 43, mientras que para las mutaciones *no c.35delG* y otras mutaciones fue de 5 de 8 casos y 12 de 15 casos respectivamente. Sin embargo al analizar los resultados obtenidos no encontramos diferencias significativas. (Tablas 25 y 26).

Por lo anteriormente expuesto, consideramos necesario resaltar la importancia que tiene el screening auditivo en la etapa neonatal, ya que ha permitido diagnosticar de forma precoz aquellos pacientes con hipoacusia severa y detectar casos límites, permitiendo un seguimiento mas cercano para determinar su evolución en el tiempo. De igual forma coincidimos con lo expuesto en la literatura, en la que se destaca la importancia de realizar mas estudios poblacionales, para establecer con mas certeza la edad de inicio de la pérdida auditiva así como su relación con las mutaciones.

3. CORRELACIÓN ENTRE FENOTIPO-GENOTIPO AUDIOLÓGICO.

3.1. GRADO DE HIPOACUSIA.

La genética coclear, y mas específicamente la relacionada con los genes *GJB2* y *GJB6*, involucra una serie de mecanismos complejos, mas aún en aquellos casos en los que se presentan alteraciones en los genes relacionados con la audición, produciéndose un amplio espectro de mutaciones que se manifiestan de forma variable tanto clínica como molecularmente.^{9,10,14}

Estas mutaciones, así como los fenotipos audiológicos, han sido motivo de varias investigaciones en diferentes poblaciones, con el fin de tratar de establecer una relación directa entre el comportamiento y la morfología de las curvas audiométricas según el tipo de alteración genética. La hipoacusia asociada a las mutaciones del gen *GJB2* se manifiesta generalmente como grado severo o profundo. En tres estudios europeos se evaluó el grado de severidad de la hipoacusia entre los niños con y sin mutaciones del gen *GJB2*. Uno de ellos realizado en Francia, mostró

que los casos de mutaciones de **GJB2** en homocigosis o heterocigosis compuesta presentaban hipoacusia profunda (>90 dB) en 31 de 56 casos (55%), 14 de 29 casos (48%) tenían hipoacusia severa (70-89 dB), 8 de 19 casos (42%) con hipoacusia moderada (40-69 dB) y 1 de 7 casos (14%) con hipoacusia leve (20-39 dB).²¹⁴ Así mismo se observó que del total de casos, 47 pacientes presentaban mutaciones **c.35delG** en homocigosis, de los cuales 29 (62%) presentaban hipoacusia profunda, 10 casos (21%) severa, 7 casos moderada (15%) y tan solo un caso (2%) presentó hipoacusia leve. Para los casos de mutaciones **c.35delG** en heterocigosis compuesta, se observó que dos de ellos (22%), presentaban hipoacusia profunda, 3 casos (33%) con hipoacusia severa y 3 (33%) con moderada y tan solo un caso (11%) de grado leve. Aunque los grupos son pequeños, los resultados son sugestivos de la variabilidad en el grado de hipoacusia entre ambos alelos.²¹⁴

En el estudio realizado en Reino Unido²²⁴ durante 1999, se presentaron 284 casos de pacientes con hipoacusia neurosensorial prelingual con mutaciones bialélicas en el gen **GJB2**, encontrando que ningún caso presentó hipoacusia leve dentro de una muestra de 19, 9 de 92 casos (10%) presentaron hipoacusia moderada, 11 de 64 casos (17%) con hipoacusia severa y 30 de 100 casos (30%) con hipoacusia profunda. 40 pacientes presentaron el genotipo **c.35delG/c.35delG**, de los cuales 6 casos tenían hipoacusia moderada, 10 hipoacusia severa y 24 profunda. Sólo se encontraron en el estudio, dos casos con mutación en homocigosis **c.167delT**, ambos con hipoacusia moderada y además, dos casos con mutaciones **c.35delG/167delT**, uno con hipoacusia moderada y otro caso con hipoacusia severa.

También en el mismo año (1999), se realizó un estudio en la población italiana en pacientes con hipoacusia no sindrómica prelingual encontrando que 43% de los casos presentaban hipoacusia severa (70-94 dB), 33% moderada (40-69 dB) y 24% profunda (95dB). De los casos con hipoacusia profunda, el 63%, presentaban alelos mutantes del gen **GJB2**, con 27 casos

homocigotos y 13 casos heterocigotos compuestos para la mutación *c.35delG*. En un estudio realizado en Francia se encontró que los homocigotos para *c.35delG* presentaban hipoacusia moderada o profunda, mientras que los heterocigotos compuestos eran mas dispersos repartidos en tres categorías de moderado, severo o profundo, demostrando la variabilidad y la diferencia entre los alelos y su expresividad fenotípica.²¹³

Adicionalmente se han realizado 7 estudios en los que se demuestra el grado de hipoacusia en los pacientes con mutaciones del gen *GJB2*, siendo las mas frecuentemente encontradas la *c.35delG* y la *c.167delT*. Aunque también se han presentado un gran número de variantes genotípicas, con escasa casuística en los casos de mutaciones mas infrecuentes (tabla 53). Dos estudios realizados en Israel ^{215,218}, 2 en Australia ^{225,226}, 2 en Norte América ^{210,227} y un estudio en Austria²⁰¹, describen en 50 casos de pacientes con genotipo *c.35delG* en homocigosis, el nivel de hipoacusia entre los individuos con mutaciones del gen *GJB2*. Los resultados muestran que 8 casos presentaron hipoacusia moderada (16%), 12 casos severa (24%) y 30 casos profunda (60%). Además se estudiaron 30 casos con genotipo *c.167delT*, de los cuales un caso presentó hipoacusia leve (3.3%), 5 moderada (16.7%), 8 severa (26.7%) y 16 profunda (53.3%). Estos datos son correlacionables con los resultados publicados en otros estudios, en los cuales se indica que el grado de hipoacusia en estos dos genotipos varían en un rango de moderada a profunda, siendo la hipoacusia profunda, la manifestación fenotípica mas común. Aunque estos datos sugieren el rango de hipoacusia en el cual se encuentran estas mutaciones, el número de casos es escaso y el grado de pérdida auditiva medido de forma cualitativa y cuantitativa en dB, varía de un estudio a otro, así como la relación específica entre los alelos mutantes del gen *GJB2* y la severidad de la hipoacusia no esta totalmente establecida de una forma directa, en la cual se pueda correlacionar una curva audiométrica con un tipo específico de alteración genética, en

caso de que existiera.

Nuestros resultados audiométricos para aquellos casos estudiados con potenciales evocados auditivos con un total de 17 casos (Tabla 30), mostraron que las mutaciones *c.35delG* en homocigosis presentaron desde hipoacusia severo-profunda hasta ausencia de respuestas (Tabla 30). Para las mutaciones *c.35delG* en heterocigosis, observamos un caso con ausencia de respuestas bilateralmente para la mutación *c.35delG/p.N206S*, 1 caso a 75 dB en OD y a 85 dB en OI para la mutación *c.35delG/p.N206I*, 2 casos para la mutación *c.35delG/p.W77R*, uno de ellos con ausencia de respuestas bilateral y otro caso a 80 dB bilateralmente; 1 caso para la mutación *c.35delG/p.W24X* con ausencia de respuestas bilateralmente y 1 caso en OD a 75 dB y en OI a 70 dB para la mutación *c.35delG/c.404delC*.

Las mutaciones no *c.35delG* en homocigosis, presentaron ausencia de respuesta en ambos oídos para los alelos *p.W24X/W24X*, y en un solo caso se observó hipoacusia severa (80 dB en OD y 60 dB en OI) para la mutación de un alelo *p.R127H*. En las mutaciones del gen *GJB6*, se observaron ausencia de respuestas en ambos oídos. Se encontraron dos casos de hipoacusia moderada en OI para la mutación *c.35delG* en heterocigosis.

En cuanto a los resultados obtenidos mediante audiometría tonal, observamos que los casos de mutaciones *c.35delG* en homocigosis presentaban hipoacusia profunda bilateral, con una media de 93.2 dB en OD y 88.7 dB en OI. De forma similar se comportan los casos *c.35delG* en heterocigosis compuesta, con hipoacusia profunda bilateral discretamente mas elevada en OI (media de 94.6 dB en OD y 97.02 dB en OI), pero sin diferencias significativas entre los resultados de ambos oídos. En los casos de mutaciones de un solo alelo *c.35delG* y *no c.35delG* así como las mutaciones *no c.35delG* en heterocigosis compuesta y los polimorfismos, se

observó hipoacusia severo-profunda. Sin embargo se encontraron dos casos, uno de ellos con hipoacusia moderada en ambos oídos (75 dB OD y 71.7 dB en OI) para la mutación *p.W24X/p.W24X*, y otro con hipoacusia leve para la mutación *c.35delG* en homocigosis.(Tabla 32).

En nuestros resultados, así como en los distintos estudios publicados,, encontramos que no hay una relación directa entre el tipo de mutación y las pruebas audiológicas, aunque se puede establecer el rango de hipoacusia de severo a profundo entre las mutaciones, pero en algunos casos se pueden hacer algunas diferencias como las mutaciones *no c.35delG* que presentan hipoacusia moderada (71 dB) y la mutación en *GJB6 (D13S1830)* en la cual observamos hipoacusia profunda (117.5 dB), pero sin diferencias estadísticamente significativas al momento de realizar las diversas comparaciones mediante el análisis bivariado.

Los resultados del estudio realizado por *Marlin y cols*,⁹² muestran que el 77% de los pacientes evaluados presentaban hipoacusia severa o profunda y en el 82% (107 casos de 131) de los casos con mutaciones *c.35delG* en homocigosis. Al comparar la severidad de la hipoacusia para las deleciones del gen *GJB6* y las mutaciones del gen *GJB2* (*p.Q57X*, *c.313del14*, *c.E120del* y *c.167delT*), no se encontraron diferencias significativas. Sin embargo las mutaciones en heterocigosis compuesta tales como *c.35delG/p.L90P* y *c.35delG/p.N206S* presentaron un fenotipo con hipoacusia menos severa al compararlas con los casos de mutaciones *c.35delG* en homocigosis.

En dos estudios realizados en Inglaterra y Francia^{214,224} se sugiere que la hipoacusia asociada a la mutación del gen *GJB2*, particularmente los alelos *c.35delG* y *c.167delT*, tienden a presentar hipoacusia profunda. De otro lado el grupo australiano describe tres individuos con hipoacusia leve (25-40 dB) con genotipos menos comunes tales como *p.M34T/R184W*, *c.35delG/p.M34T*, y

c.35delG/p.V37I.²²⁵ Así mismo, en el estudio Austriaco se encontraron tres casos con hipoacusia leve para los genotipos *p.L90P/31414*, *p.Y155X/*, y *p.G160S/*²⁰¹ Es posible que los portadores de estos alelos no tengan siempre hipoacusia pero debido a que estos alelos son menos frecuentes en comparación con los alelos *c.35delG* y *c.167delT* que están ampliamente distribuidos en la población, serían necesarios más estudios en los cuales exista un mayor número de casos para establecer esta diferenciación, en caso de que la hubiera.

Se ha postulado que esta variabilidad fenotípica podría ser explicada por la acción de genes modificadores. El primer estudio realizado sobre este tema ha proporcionado la conclusión de que no existiría un gen modificador principal que estuviera relacionado con la mayoría de la variabilidad observada.²²⁸

En lo que respecta al gen *GJB6*, se han postulado dos hipótesis para explicar las deleciones que ocurren en este tipo de mutaciones y que se refieren a la herencia digénica y a la existencia de un elemento regulador que reduciría la expresión de *GJB2*. La hipótesis de la herencia digénica estaría apoyada teóricamente por el hecho de que los genes *GJB2* y *GJB6* están localizados contiguos en cromosoma 13q12 y codifican las Cx26 y 30, que son proteínas que se relacionan funcionalmente y se expresan en las mismas estructuras del oído interno.^{229,230,231,232} Además, los conexones compuestos por Cx26 pueden unirse a conexones compuestos por Cx30 para formar canales heterotípicos en las uniones comunicantes.²³³ En humanos, las mutaciones puntuales en el gen *GJB2* causan hipoacusia (autosómica dominante o recesiva)⁴⁸, y una mutación puntual en el gen *GJB6* causa una hipoacusia autosómica dominante.²³⁴

En un estudio realizado por *Teubner y cols*,²³⁵ se observó que los ratones KO para *GJB6* carecen de potencial endococlear y sufren una hipoacusia severa. Sin embargo, también hay argumentos en contra de la hipótesis expuesta, ya que aún no se han encontrado mutaciones puntuales en *GJB6* que ocasionen hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva en humanos.^{92,94,124,23}

Además, la mayoría de los dobles heterocigotos para las mutaciones *del(GJB6-D13S1830)* y *GJB2* presentan hipoacusia severa o profunda, mientras que en ratones dobles heterocigotos *Cx26+/-/Cx30+/-* sólo se observa hipoacusia moderada.^{237,238,239,240,241.}

La segunda hipótesis se refiere a la existencia de un elemento regulador en los segmentos de ADN eliminados, el cual activaría la expresión de *GJB2* en el oído interno. La ausencia de éste, reduciría fuertemente la expresión de *GJB2*, hasta el punto de que un alelo silvestre se comportaría como un alelo nulo. Esta hipótesis recibió un importante apoyo procedente del estudio de una biopsia de piel de un paciente doble heterocigoto *c.35delG/del(GJB6-D13S1830)*. En este paciente se demostró la ausencia de expresión de la Cx26 en glándulas sudoríparas, donde normalmente sí se expresa.²⁴² Más recientemente, en una familia estadounidense de origen alemán, se describió un nuevo alelo DFNB1, en *trans* con el alelo mutante *c.35delG* en *GJB2*, en el cual la expresión de los genes *GJB2* y *GJB6* estaba dramáticamente reducida.⁸⁵ Este alelo DFNB1 era en realidad una deleción de 131 kb localizada a distancia de los genes *GJB2* y *GJB6*.^{86,223} La deleción *del(DFNB1-200kb)* descrita por *Aguirre y cols*,¹⁶ se localiza también a distancia de los dos genes mencionados, en la misma zona que la deleción de 131 kb descrita anteriormente; las cuales apoyan la hipótesis de la existencia de un elemento regulador en los segmentos de ADN eliminados por las deleciones.

Es importante aclarar que estas dos hipótesis no se excluyen mutuamente: si una deleción elimina el elemento regulador y éste también tiene efecto sobre la expresión del gen *GJB6*, podría ocurrir que el principal efecto patogénico fuera debido a la deficiencia en la expresión de *GJB2*, pero la haploinsuficiencia para *GJB6* podría contribuir a agravar el fenotipo. De hecho, el alelo *del(GJB6-D13S1830)* está asociado a hipoacusias más severas que las provocadas por la casi totalidad de los alelos *GJB2* patogénicos.²⁴³

Con todo lo expuesto anteriormente y la literatura publicada, se sugiere realizar más investigaciones, con el apoyo y los avances de la biología molecular y genética, para intentar esclarecer los posibles mecanismos involucrados en este tipo de hipoacusias.

3.2. LATERALIDAD Y PROGRESIÓN DE LA HIPOACUSIA.

Para establecer las diferencias de hipoacusia en ambos oídos y el grado de severidad de la misma, se han publicado estudios que corroboran la simetría binaural de la misma. Dentro de estos, en un estudio francés, se analizaron 54 casos de mutaciones bialélicas del gen **GJB2**. En 48 casos (89%), la severidad de la hipoacusia no difiere entre ambos oídos. En el resto de los casos (6), las diferencias varían en un grado de severidad no estadísticamente significativas (en rango de dB).²¹⁴

En un estudio realizado en Italia, en niños con hipoacusia no sindrómica prelingual, se encontró que más de 90% de los 46 casos con mutaciones del gen **GJB2** presentaban una hipoacusia simétrica con una diferencia interauricular de 15 dB en al menos dos frecuencias o 10 dB en cuatro frecuencias.²¹³

Los resultados obtenidos en el estudio llevado a cabo en Reino Unido,²²⁴ mostraron que la media de diferencia en dB de la pérdida de audición entre ambos oídos fue de 6,33 (N 45, SD= 8.09) para **GJB2** homocigotos y heterocigotos compuestos; de 6,66 (N 26, SD= 8.05) para los heterocigotos, y 7,86 (N 175, SD= 11.2) No hubo diferencias significativas entre cualquiera de estos grupos. En un grupo de pacientes Austríacos con hipoacusia neurosensorial, se observó que 5 de 24 casos presentaron hipoacusia asimétrica.²⁰¹

Nuestro estudio arroja resultados similares a los expuestos en la literatura, encontrando que el grado de hipoacusia es simétrica al comparar ambos oídos, con una diferencia que oscila en un rango de 1 a 5 dB para los 50 de 67 casos a los que se les realizó audiometría tonal. (ver tabla 32)

El análisis pormenorizado de las mutaciones en relación con el grado de hipoacusia promedio en cada oído, muestra que para los casos de mutaciones *c.35delG* en *homocigosis* (OD 93.2 dB y OI 88. dB), *heterocigosis compuesta* (OD 94.6 dB y OI 97.0 dB) o mutación de un solo alelo (OD 90 dB y OI 91.3 dB), no existen diferencias significativas. De igual forma sucede para los casos de mutaciones *no 35delG* tanto en *homocigosis* (OD 75.0 dB y OI 71.7 dB) como *heterocigosis compuesta* (OD 87.9 y OI 101.9) o mutación de un solo alelo (OD 97.7 dB y OI 95.0 dB), así como para los casos de mutaciones de *GJB2/GJB6* (OD 87.2 dB y OI 93.0 dB).

En todos estos estudios, la determinación de la hipoacusia unilateral no esta clara. Por lo tanto, aunque los diferentes tipos de mutaciones del gen *GJB2* están asociadas con hipoacusia bilateral, son necesarios estudios poblacionales mayores sobre las personas con cualquier tipo de pérdida auditiva, para aclarar este tipo de interrogantes.

En cuanto a la progresión de la hipoacusia, *Kenna y cols*,²²⁷ han encontrado que en el 56% de los pacientes estudiados con mutaciones bialélicas del gen *GJB2*, se presenta progresión de la pérdida auditiva. En contraste, en el estudio realizado por *Marlin y cols*⁹² se observó que la hipoacusia DFNB1, es estable en la mayoría de los casos (76%), aunque puede ser progresiva y en casos mas raros, llegar a ser fluctuante.

3.3. ANÁLISIS DE LAS CURVAS AUDIOMÉTRICAS.

Los diferentes estudios realizados muestran que se ha relacionado las mutaciones en el gen *GJB2* con audiogramas que tienden a ser planos o ligeramente descendentes con afectación similar en todas las frecuencias.^{244,245,246,247,248} Dos casos de mutaciones *c.35delG/p.L90P* han sido descritos con afectación en frecuencias agudas (2000 a 8000 Hz)²²⁵ Estos hallazgos sugieren que ciertos alelos, otros más comunes que los estudiados como *c.35delG* y *c.167delT*, pueden estar asociados con mayor afectación de las frecuencias agudas. Sin embargo los resultados que se han

publicado, no contribuyen de forma específica, para definir si las diferentes mutaciones del gen **GJB2** presentan mas afectación de dichas frecuencias.^{213,214,219,224,223,226.}

En un estudio realizado por *Pandya y cols*⁹⁴ se compararon los resultados audiológicos en las diferentes frecuencias, y se encontró que los pacientes heterocigotos compuestos para la mutación de la Cx26 tenían una hipoacusia menos severa respecto al resto de mutaciones encontradas, y que la afectación frecuencia por frecuencia fue similar. Además se observó que los pacientes con mutaciones Cx26/Cx30 presentaron una hipoacusia mas profunda respecto al resto de mutaciones analizadas, y que la afectación mas notoria en la curva audiométrica fue para las frecuencias agudas. Sin embargo las diferencias no fueron significativas y la muestra de pacientes era pequeña.

En lo que respecta a nuestros resultados, analizamos las curvas audiométricas, así como el comportamiento audiométrico frecuencia a frecuencia y también según las frecuencias agudas, graves y conversacionales. Observamos que las mutaciones de la Cx 26, se destacan por presentar una hipoacusia severo-profunda, con una mayor pero discreta afectación de las frecuencias agudas, presentando curvas descendentes, aunque las variaciones frecuencia por frecuencia no sean muy marcadas pues llegan a ser entre 2-5 dB aproximadamente y sin encontrar diferencias estadísticamente significativas. (Tablas 32,36 y 37; Gráficos 6 y 7).

A pesar de que el análisis de cada uno de los grupos de mutaciones muestra comportamientos similares, se pueden encontrar algunos matices que se expondrán a continuación. Las mutaciones **c.35delG** en **homocigosis** para el oído derecho, muestran una curva que tiende a ser aplanada con una caída levemente mas notoria en frecuencias agudas (Gráfico 2). Al analizar las frecuencias, encontramos que presentan una afectación ligeramente mas notoria en frecuencias agudas a partir de 2000 Hz (92.1 dB) y con aumento creciente, llegando a 97 dB y 96.3 dB para las

frecuencias 4000 y 8000 Hz, respectivamente. (Tabla 37)

Las frecuencias graves presentan un comportamiento similar a las frecuencias agudas, siendo menor la afectación en la frecuencia 250 Hz (86.7 dB) y ligeramente mayor para la frecuencia 1000 Hz (89.6 dB). Las frecuencias conversacionales presentan una variación de 3 a 5 dB entre cada una de ellas y también de forma gradativa creciente. Sin embargo las diferencias no son estadísticamente significativas tanto al estudiar los resultados frecuenciales como al compararlos entre ambos oídos. (Tabla 37 y gráfico 7).

La curva audiométrica de los casos de mutaciones *c.35delG* en *heterocigosis compuesta* para el oído derecho, muestra una mayor caída en agudos respecto a los graves (Ver gráfico 2). Se aprecia que la afectación de las frecuencias agudas es mayor y progresiva, siendo de 98.2 dB para la frecuencia 2000 Hz, llegando a 103.7 dB para la frecuencia 8000 Hz. Al comparar los resultados con las frecuencias graves, encontramos que la hipoacusia es menor para los 250 y 500 Hz (79.8 dB y 88.3 dB). En las frecuencias conversacionales, la variación frecuencia a frecuencia de 1000 a 4000 Hz oscila entre 2 y 4 dB (Tabla 37 y gráfico 7). Los resultados son similares tanto para el oído derecho como para el izquierdo y no se encontraron diferencias significativas al compararlos entre sí.

Las mutaciones *c.35delG* en heterocigosis compuesta con **conexina 30**, presentan una curva con caída en agudos, siendo las frecuencias más afectadas la 4000 y 8000 Hz (92.5 dB para cada una). Las frecuencias graves presentan una afectación discretamente menor hasta un máximo de 86.5 dB en la frecuencia 1000 Hz, y para las frecuencias conversacionales no se observan variaciones significativas entre cada una de ellas. (Tabla 38 y gráficos 2,3,4 y 5) En este punto cabe resaltar que los resultados que arroja la bibliografía, no son similares a los encontrados en este estudio, pues en nuestra serie encontramos que el grado de hipoacusia es severo, mientras

que los descritos en la bibliografía muestran una hipoacusia profunda, lo cual podría deberse al escaso número de pacientes que hemos recolectado en este tipo de mutación principalmente.

Durante nuestro estudio, observamos que 11 casos presentaron hipoacusia leve y moderada para el oído derecho y 13 en oído izquierdo. (Tabla 35). La mayoría de casos (4) de hipoacusia moderada para el oído derecho, se presentaron para la mutación *c.35delG* en *homocigosis* y para el oído izquierdo, la distribución fue similar para las mutaciones *c.35delG* en *heterocigosis compuesta*, *c.35delG* en *heterocigosis* (un sólo alelo), *no c.35delG* en *heterocigosis* (un solo alelo) con 2 casos para cada uno respectivamente.

De los casos de hipoacusia leve, sólo encontramos un caso en el oído derecho para la mutación *c.35delG* en *heterocigosis compuesta*, los tres casos restantes fueron para el oído izquierdo y que presentaron mutaciones *c.35delG* en *homocigosis*, *c.35delG* en *heterocigosis compuesta* y *GBJ6* en *heterocigosis*.(Tabla 35)

Aunque los resultados encontrados para los casos de hipoacusia leve y moderada son escasos, podríamos decir que el grado de hipoacusia en estos pacientes no siempre es severo-profundo y llega a ser variable y destacamos que existe la posibilidad de encontrar mas casos de pacientes normoacúsicos. Esto puede explicarse parte mediante un estudio realizado por *Marlin y cols*¹²², donde se observó la evolución de la hipoacusia en pacientes con mutaciones *GJB2* y *GBJ6*, encontrando que el 76% (73 pacientes) de los casos no presentaron variaciones audiométricas, 22% (21 pacientes) tuvieron hipoacusia progresiva y 2% (2 pacientes) resultaron con hipoacusia fluctuante.

Como es sabido, los ensayos clínicos que se realizan sobre este tipo de mutaciones parten del estudio de pacientes con algún grado de pérdida auditiva, sin embargo no son muchos los que realicen un análisis detallado de aquellos casos con mutaciones en los genes *GJB2* y *GJB6* y que presenten normoacusia. Así mismo tampoco se han realizado suficientes investigaciones para valorar su evolución en el tiempo con el fin de establecer el grado de hipoacusia y el comportamiento audiométrico de los mismos. Esto podría ser interesante a la hora de establecer los diferentes matices de pérdida auditiva que pueden presentar estos pacientes.

4. RELACIÓN DE LA HIPOACUSIA CON LOS FACTORES NO GENÉTICOS.

Según el Joint Committee on Infant Hearing y de la CODEPEH ^{7,112} existen un gran número de condiciones que afectan la audición y que son detectadas tempranamente mediante el screening neonatal en aquellos pacientes con hipoacusia, para ser remitidos lo mas temprano posible a los centros correspondientes para su manejo y tratamiento.

Muchos estudios demuestran que existe una relación entre los antecedentes familiares y las variaciones en el grado de hipoacusia dentro de un mismo genotipo.^{201,213,218,226,244.} Esto se ha encontrado en algunos estudios, donde se observó que en una familia israelí con genotipo *c.167delT/ c.167delT* presentaban variaciones en el grado de hipoacusia, ya que tres casos tenían un grado profundo (90dB), un caso tenía hipoacusia severa (79-80 dB) y otro caso hipoacusia leve (20-39 dB)²¹⁸

De igual modo, en un estudio realizado en Francia, se encontraron 16 niños con mutaciones bialélicas del gen *GJB2*, con un grado de hipoacusia que variaba en el árbol familiar en un 50% de las familias.²¹⁴ Estos hallazgos sugieren que existen otros factores ya sea genéticos y/o ambientales que pueden modificar el resultado del fenotipo audiológico.

Los individuos que presentan una mutación única en **GJB2** muestran una reducción en la función de las células ciliadas,²¹⁶ además es posible que estos individuos sean más propensos a desarrollar hipoacusia con la presencia de un factor genético y/o ambiental, que aquellos que no son portadores de esta mutación. Esta posibilidad se apoya en estudios recientes de las mutaciones encontradas en otros genes y que incrementan la incidencia entre los pacientes con alteraciones en el gen **GJB2**, como es el caso del gen **GJB6** o las mutaciones mitocondriales 12S rRNA.²⁴⁹

En el meta análisis realizado por *Kenneson y cols*,⁴⁸ se encontró que muchos de los estudios recopilados separaron los casos en los que se sospechaba causas ambientales de las causas genéticas. Estos factores incluían causas infecciosas como meningitis y rubéola, bajo peso al nacer, ventilación mecánica, uso de ototóxicos como los aminoglucósidos, e hiperbilirrubinemia. Sin embargo, dos casos que presentaban hipoacusia causada por rubéola fueron tardíamente diagnosticados genéticamente de mutación *c.167delT* en homocigosis. Por lo tanto la presencia de factores ambientales conocidos no necesariamente excluye el análisis genético. De hecho, la proporción de casos con mutaciones en **GJB2** que han sido atribuidos a otras causas que no han sido esclarecidas puede plantear la posibilidad de que la interacción entre gen y factores ambientales no ha sido muy bien estudiada.⁴⁸

De la misma manera, los estudios publicados han separado los casos de hipoacusia sindrómica de los análisis genéticos para el gen **GJB2**. Por lo tanto, no ha sido bien dilucidado que exista la posibilidad de que las diferentes mutaciones de **GJB2**, puedan estar involucradas en la penetrancia y expresividad de la hipoacusia.⁴⁸

En nuestra serie observamos 2 casos con ictericia neonatal, ambos con genotipo *c.35delG en homocigosis*; 3 casos recibieron tratamiento con aminoglucósidos, de los cuales 2 tenían

genotipo *c.35delG en homocigosis* y 1 caso con mutación *c.35delG/GJB6-D13S1830*; 2 casos estaban asociados a malformaciones, uno con atresia del conducto y otro con agenesia renal, ambos con genotipos *c.35delG en homocigosis*; 1 caso de meningitis a los 14 años a quien se le diagnosticó la hipoacusia a los 54 años de edad y cuya mutación fue *p.R27H en heterocigosis*, 4 casos con antecedentes perinatales de hipoxia por sufrimiento fetal agudo.

El papel de las pruebas genéticas que incluye el estudio de los genes *GJB2* y *GJB6* llegará a ser un punto clave en los programas de screening neonatal en los que aún no se encuentran definidos. Se requieren más estudios poblacionales en los cuales se determine la relación entre las mutaciones del gen *GJB2* y la aparición de la hipoacusia congénita, así como también la asociación entre estas mutaciones y la hipoacusia progresiva.⁴⁸

5. TRATAMIENTO.

El tratamiento de estos casos, es similar al de otras hipoacusias neurosensoriales. Aunque está descrito que el grado de hipoacusia puede ser variable en las mutaciones de las conexinas, en nuestro estudio, la mayor parte de hipoacusias fueron severo- profundas.

Las PA han sido indicadas en casos con hipoacusias moderadas y severas con buena comprensión verbal, y esta supeditado además a la evolución de la hipoacusia.^{134,142} Sin embargo en nuestra experiencia los resultados con la PA en hipoacusias severas bilaterales prácticamente simétricas, tratadas con PA e IC contralateral, han dado mucho mejor resultado en el oído implantado.

El implante coclear es una modalidad de tratamiento auditivo que es efectivo para pacientes con hipoacusia severa o profunda. Los resultados obtenidos con este tipo de tratamiento dependen de la edad de implantación, los restos auditivos y la forma de comunicación.^{133,147,254,255,256} En nuestro programa de IC se incluyen a los pacientes con HNS severo-profundas con comprensión verbal menor de 50% en test bisilábicos.

Se han encontrado diferencias en los resultados audiológicos a pesar de que los pacientes hayan recibido una rehabilitación con la misma calidad en los programas de educación, lo cual sugiere que estas diferencias no son sólo atribuibles a la edad de implantación o al tipo y cantidad de entrenamiento auditivo. Esto puede explicarse por la diferencia que puede existir en cuanto al número de células vivas en el ganglio espiral, al origen de la pérdida auditiva y otros factores agregados.¹⁴⁷

La relación que existe entre los factores genéticos y fisiológicos puede influir en los resultados postratamiento, dentro de los que se destacan los relacionados al implante coclear como uno de los más importantes y determinantes en la hipoacusia por mutaciones de las conexinas. Desde el punto de vista fisiológico e histológico, la implantación coclear se basa en la integridad del nervio coclear y del ganglio espiral, por lo que la determinación en la función del nervio es importante en la evaluación de los resultados post implante. El porcentaje de pacientes con mutaciones de la conexina 26 que presentan anomalías en el oído interno, es aproximadamente del 8 al 10%.^{141,143} El análisis histológico de huesos temporales en pacientes heterocigotos para mutaciones de la conexina 26, demostró que las células del ganglio espiral estaban íntegras y no se observó degeneración neural, ausencia de células ciliadas en el órgano de Corti o agenesia de la estría vascular.¹¹⁷

Propst y cols,¹⁴⁴ utilizaron pruebas de potenciales de acción evocados eléctricamente en pacientes postimplantados para demostrar si los casos hipoacusia relacionados con las mutaciones de la conexina 26, tenían células vivas en el ganglio espiral en toda la longitud de la cóclea en comparación con los casos de hipoacusia sin este tipo de mutaciones. Uno de los estudios muestra que no hay alteraciones en las células ciliadas del hueso temporal en los casos de Cx 26, diferente a la alteración de las gap junction.²¹⁴

Uno de los problemas en la interpretación de los resultados auditivos, es que existe la necesidad de una evaluación estandarizada de los mismos en un grupo de poblaciones heterogéneas. Existe una amplia variabilidad de los resultados entre los niños de diferentes edades que han sido determinados en diferentes momentos tras la implantación. Las medidas que se pueden aplicar a los niños en etapa prelinguales y por un número de años después de la implantación, son necesarias para el estudio de la población diana. Una de estas medidas es el Speech Perception Category (SPC), que es una escala ordinal propuesta por *Geers y Moog*²⁵⁰ y ha sido validada en estudios posteriores. Esta escala tiene en cuenta una serie de pruebas de habilidad auditiva realizadas en niños implantados con diferentes edades y niveles de rendimiento.

Además, a pesar de que las pruebas formales de recepción del habla son importantes, pueden no reflejar el rendimiento del niño fuera del entorno clínico. Por lo tanto, también es importante considerar las Escalas de Desarrollo del Lenguaje, de Comprensión verbal y de Lenguaje Expresivo de Reynell, que son representativos del conjunto de habilidades en el habla de los niños en el aula.

En un estudio realizado por *Connell y cols*,¹⁴¹ se encontró que los pacientes con mutaciones en el locus DFNB1 mostraron un mejor resultado en el lenguaje verbal y expresivo, de una manera mas rápida y uniforme al compararla con los niños que no tenían este tipo de mutaciones relacionadas con hipoacusia congénita. Se observó que los resultados tras la implantación, en los casos de pacientes con mutaciones en DFNB1, fueron mucho mejores debido a la ausencia relativa de degeneración neural y de cambios en el sistema nervioso central encontrados por histología en el hueso temporal. Los efectos de la meningitis y la infección congénita por citomegalovirus potencialmente pueden afectar el nivel cognitivo, adicionalmente pueden ser un impedimento para el desarrollo del lenguaje en aquellos casos con mutaciones no diferentes a DFNB1. A pesar de esto no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

Además en este estudio se concluyó que el implante coclear, es un tratamiento seguro y eficaz para mejorar la comunicación auditiva-verbal en pacientes pediátricos con mutaciones en el locus DFNB1. Durante el período de estudio, los pacientes con mutaciones en este gen alcanzaron mayores beneficios en las pruebas de lenguaje de expresión y de comprensión en comparación con los pacientes sin mutaciones en DFNB1. Se cree que esto se puede explicar por la preservación del nervio coclear y las células del ganglio espiral en los casos de mutaciones DFNB1. Estos resultados sugieren que la identificación de la causa de pérdida de audición neurosensorial puede ser un factor útil para predecir los resultados de la implantación coclear de forma temprana.¹⁴¹

La presencia de mutaciones de la conexina 26 no son un importante indicador del pronóstico de la percepción auditiva tras el implante coclear.^{141,146,147,149.} *Cullen y cols*,¹⁴⁶ no encontraron diferencias en las pruebas en campo libre al compararlos con los pacientes implantados sin mutaciones de la conexina 26. Sin embargo *Connell y cols*,¹⁴¹ observaron que los pacientes con mutaciones *c.35delG* alcanzaron más beneficios en las pruebas de comprensión del lenguaje y con mayor rapidez, respecto a los casos de pacientes con hipoacusia neurosensorial no sindrómica y sin este tipo de mutaciones. Los pacientes con mutaciones en DFNB1 mostraron mejores puntajes en la escala SPC y con mucho más rápido en comparación con los casos que no tenían estas mutaciones. Se especula que los niños que no presentan mutaciones DFNB1 tienen una mayor complejidad en los defectos moleculares y estructurales que causan la hipoacusia al compararlos con los aquellos casos de pacientes con mutaciones en DFNB1; y esta sutil diferencia en el rendimiento del implante coclear puede ser debida a preservación del ganglio espiral y del nervio coclear que se ha demostrado en los pacientes con mutaciones en DFNB1. Sin embargo, el análisis estadístico demostró que la duración en el uso del implante fue el mejor indicador de los resultados en comparación con el genotipo.¹⁴¹

Green y cols,¹⁴⁹ demostraron resultados similares en pacientes homocigotos y heterocigotos para la mutación *c.35delG*. Estos resultados fueron confirmados por *Bauer y cols* ¹⁴⁷ quienes observaron que los pacientes con mutaciones de la conexina 26 tenían mejores resultados cognitivos post implantación, respecto a otros casos de hipoacusia de etiología desconocida. En un estudio realizado en niños japoneses algunos con mutaciones en homocigosis *c.235delC* que está en relación con hipoacusia congénita profunda bilateral no progresiva, se observó que los resultados de las pruebas verbales tras la implantación fueron mucho mejores que para aquellos pacientes que no presentaban mutaciones de la Cx 26. Además, esta mutación ha sido asociada con hipoacusia profunda con mínimas variaciones entre paciente y paciente, lo cual sugiere que los casos que presentan este genotipo pueden tener una mejor integridad de los sistemas auditivos central y periférico.^{148,251}

No sólo las mutaciones *c.235delC* presentan este tipo de características ya que también se ha descrito en un estudio que la mayoría de los pacientes homocigotos *c.35delG* tienen mejores resultados en las pruebas verbales y en habilidad lingüística después de la implantación coclear.¹⁴²

El aumento en el rendimiento de la lectura, sugiere que las mutaciones de la conexina 26 no están complicadas por otras patologías tales como afectación del VIII par craneal, alteraciones del sistema nervioso central o disfunción cognitiva.²²⁷ Otros estudios han corroborado que en los casos de hipoacusia por mutaciones en *DFNB1*, las células del ganglio espiral y el nervio coclear están conservadas y pueden contribuir para mejorar el resultado tras la implantación coclear si se compara con aquellos pacientes cuya causa de hipoacusia son de origen no genético o de etiología desconocida.^{141,145,150,151,152.}

Los resultados presentados por *Ramos y cols*,¹³⁹ comparan los casos de pacientes con mutaciones en DFNB1 con el grupo de pacientes control, observando que en la audiometría tonal liminar a campo libre, la pérdida auditiva media (0.5 a 4 kHz) pre implantación era de 118.2 dB para el grupo DFNB1 y de 118.6 dB para el grupo control. Posteriormente los controles audiométricos a los 6 y 12 meses tras la implantación mostraron que para el grupo DFNB1 fue de 33.4 dB y 32.2 dB; y para el grupo control fue de 33.7 dB y 35.4 dB respectivamente, con diferencias significativas ($p < 0.05$). En lo referente al test de bisílabos se pasó de un 0% en el preoperatorio del grupo con DFNB1 a un 50 % a los 6 meses de la activación, y luego a un 75 % a los 12 meses. En el grupo control se pasó de un 2% preoperatorio a un 40 % a los 6 meses y un 72 % a los 12 meses. Sin embargo, en el grupo con DFNB1 se observa una tendencia a conseguir más rápidamente buenos resultados en los test de vocales y de bisílabos durante el primer año tras el implante.

En nuestro estudio observamos que en la audiometría tonal liminar, el grado de hipoacusia media (0.25 a 8 kHz en oído derecho) previo al tratamiento en los pacientes con mutaciones en *c.35delG* fue de 93.5 dB ; para las mutaciones *no c.35delG* fue de 92.1 dB y para las mutaciones en *GJB6* fue de 89.9 dB. (Tablas 32 y 38).

A diferencia de otros estudios, nuestro ensayo abarca diferentes tratamientos dentro del grupo de pacientes con mutaciones de la Cx 26 y 30; y compara la eficacia de cada uno de forma individual y la relación entre los mismos. Al analizar los resultados a los 6 y 9 meses tras la aplicación del tratamiento, observamos que los pacientes a los que se les realiza implante coclear presentaron un promedio global de 29.9 dB, con mucha más ganancia auditiva al compararlo con el resto de tratamientos aplicados como las prótesis auditivas (52.4 dB) o sin prótesis (96 dB), con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$) (Tablas 44,45 y 46; Gráficos 9, 10 y 11).

Al realizar el análisis diferencial audiológico pre y postratamiento, observamos que a los casos de pacientes que recibieron tratamiento con implante coclear presentaron una importante ganancia en todas las frecuencias y en especial las agudas que es la que se encuentra más afectada en estos pacientes. Así mismo pudimos encontrar que el tratamiento con prótesis auditiva es de menor eficacia que el implante, ya que la mejoría es variable y sin mayor ganancia en frecuencias agudas. (Tablas 47 a 52 y gráficos 10 y 11).

En nuestro estudio se realizó bisílabos en 18 casos, debido a la limitación que tiene la prueba para ser llevada a cabo en pacientes menores de 3 años. Las diferencias obtenidas al comparar los tratamientos con prótesis e implante coclear no muestran significación estadística aunque quedan en el límite a favor de los implantes cocleares (Tablas 53 y 54). Sin embargo encontramos que los niveles de significación se alcanzan para el implante cuando se compara la respuesta si va acompañado de implante en el oído contralateral con respecto a los que llevan prótesis o ningún tratamiento.

Al correlacionar tanto las audiometrías pre y postratamiento, así como los PEATC y las audiometrías postratamiento, encontramos que los niveles de correlación no son significativos. Sin embargo cabe resaltar que existen niveles de correlación muy significativos ($r=0.63$, $P<0.001$) entre los PEATC y las audiometrías pretratamiento (frecuencias 2000 y 4000 Hz), en aquellos pacientes en los que se realizaron ambas pruebas, con lo cual se podría pensar que ambas pruebas son eficaces para el diagnóstico inicial de la hipoacusia y que ambas se aplican en función de la edad de los pacientes.

Al realizar el análisis multivariado en nuestra muestra, pudimos inferir que el tratamiento va a condicionar el buen resultado audiométrico posterior de forma clara, y en escasa medida por las relaciones bivariadas, van a resultar discriminantes el resto de variables por este orden: audiometría previa, edad y antecedentes familiares. (Tablas 55 a 58)

El implante coclear constituye una de las mejores alternativas terapéuticas para la hipoacusia de grado severo-profundo de aparición congénita y prelocutiva. En los últimos años se ha demostrado la importancia de la implantación precoz, a fin de aprovechar el período de vida dotado de mayor plasticidad auditiva; con el paso del tiempo, los resultados y beneficios auditivos se hacen más limitados.^{135,139,252,253,254.} Conjuntamente con la precocidad en la implantación, se considera factores determinantes del pronóstico el momento de aparición y la duración de la hipoacusia, que haya audición residual o no, la etiología, enfermedades concomitantes a la hipoacusia, la estimulación, la motivación y el entorno familiar, entre otros.^{138,255.}

En un estudio realizado por *Ramos y cols*¹³⁹ y por *Taitelbaum-Swead y cols*,²⁵⁶ los niños con hipoacusia neurosensorial profunda DFNB1 obtuvieron similares resultados y beneficios que los niños con implante y sin diagnóstico de DFNB1. Más allá de la influencia de otros factores genéticos o ambientales que puedan estar incidiendo en los logros obtenidos con el implante coclear, se debe considerar en estos casos como una opción terapéutica eficaz. Además si la lesión que produce el déficit de Cx 26 en el oído interno no parece afectar a los beneficios obtenidos con el implante coclear, se puede considerar que los pacientes con DFNB1, si se dan las condiciones generales adecuadas, son excelentes candidatos a implante coclear.¹³⁹

CONCLUSIONES

1. En nuestro estudio observamos que la frecuencia de mutaciones de la Cx26 y 30, corresponde a 25.5%, de un total de 263 casos de pacientes con diagnóstico de hipoacusia neurosensorial, incluidos en el programa de implantes cocleares de nuestro servicio.
2. La mutación más frecuentemente encontrada en nuestros pacientes fue *c.35delG*, con un 34% (23 casos) en heterocigosis compuesta, 23% (16 casos) en homocigosis y 6% (4 casos) en heterocigosis.
3. Las tres mutaciones *c.35delG* en heterocigosis compuesta más frecuentes fueron: *c.35delG/p.W77R* (4 casos), *c.35delG/p.W24X* (3 casos) y *c.35delG/c.269insT* (dos casos).
4. El 21% de los pacientes (14 casos) presentaron otras mutaciones: 4 casos en heterocigosis *c.35delG*, 4 casos en heterocigosis **no** *c.35delG*, 1 caso de homocigosis *GJB6* y un caso con mutación puntual.
4. Las mutaciones en el gen *GJB2* se caracterizan por producir una hipoacusia neurosensorial severo-profunda bilateral y prácticamente simétrica.
5. Los casos en homocigosis *c.35delG* presentan HNS bilateral que oscila entre 89 y 93 dB; para los casos en heterocigosis compuesta *c.35delG* se encuentra entre 95 y 97 dB, en los casos de homocigosis **no** *c.35delG* varía entre 71 y 75 dB y los casos en heterocigosis compuesta **no** *c.35delG* entre 102 y 88 dB.
4. Las mutaciones en el gen *GJB6* presentan una hipoacusia severo-profunda bilateral y simétrica. Los casos homocigotos *del (GJB6/D13S1830)* presentan hipoacusia a 118 dB bilateral, mientras que los casos heterocigotos (*GJB2/GJB6*) presentan hipoacusia que varía entre 87 y 93 dB.
5. Dentro de los 67 casos estudiados, encontramos 11 pacientes con hipoacusia leve y moderada en OD y 13 casos en OI, con un genotipo variable tanto para *GJB2* como para *GJB6*.

6. Las mutaciones del gen **GJB2** y **GJB6** afectan de forma significativa a las frecuencias agudas, con audiogramas que muestran curvas descendentes; pero es importante resaltar que la severidad de la pérdida auditiva es mayor en estas frecuencias, para los casos de mutaciones en **GJB6**.
7. Las PA se adaptaron antes del tratamiento ulterior en el 80% de los casos, y el 79% de los casos se adaptó antes de los 4 años de edad. Tras la realización del tratamiento, 24 pacientes eran portadores de PA, de los cuales 23 eran bilaterales.
8. El IC se realizó en 43 de los 67 pacientes, de los cuales 20 casos fueron unilaterales sin estimulación contralateral, 17 casos con estimulación bimodal y 6 casos con implante coclear bilateral.
9. Los resultados audiométricos postratamiento muestran la efectividad del IC con un promedio global de 29.9dB, mientras que las PA quedaron con una media de 52. dB.
10. El tratamiento con IC demuestra ser mas efectivo en los casos de hipoacusias severo profundas, con una buena respuesta que se evidencia mediante la audiometría y las pruebas vocales.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ . Bixquert V, Jáudenes C, Patiño I. Incidencia y Repercusiones de la Hipoacusia en Niños Federación Española de Asociaciones de Padres y Amigos de los Sordos (FIAPAS). Libro blanco sobre hipoacusia. Detección precoz de la hipoacusia en recién nacidos. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo; 2003;13-25.
- ² . Almenar A, Moro M. Estrategias de Detección Precoz de la Hipoacusia. Libro Blanco sobre la Hipoacusia. Detección Precoz de la Hipoacusia en Recién Nacidos. Ministerio de Sanidad y Consumo. Secretaría General Técnica. 2003; 25-34.
- ³ . Marco J, Almenar A, Alzina V, Bixquert V, Jáudenes M.C, Ramos A. Control de calidad de un programa de detección, diagnóstico e intervención precoz de la hipoacusia en recién nacidos. Documento oficial de la comisión para la detección de la hipoacusia en recién nacidos (CODEPEH). Acta Otorrinolaringol Esp. 2004;55:103-106.
- ⁴ . Trinidad G, Alzina V, Jáudenes C, Núñez F, Sequí J.M. Recomendaciones de la Comisión para la Detección Precoz de la Hipoacusia (CODEPEH) para 2010. Acta Otorrinolaringol Esp. 2010;61:69-77.
- ⁵ . American Academy of Pediatrics. Hearing Assessment in Infants and Children: Recommendations Beyond Neonatal Screening. Guidance for the Clinician in Rendering Pediatric Care. Pediatrics. 2003;111:2.
- ⁶ . Morton C.C, Nance W.E. Newborn hearing screening--a silent revolution. N Engl J Med 2006; 354: 2151-2164.
- ⁷ . CODEPEH (Comisión Detección Precoz Hipoacusia Infantil): «Propuesta para la Detección e Intervención Precoz de la Hipoacusia Infantil». Rev. FIAPAS n.º 71, 1999.
- ⁸ . Harrison J, Roush M.J, Wallace J. Trends in age of identification and intervention in infants with hearing loss. Ear Hear. 2003; 57: 89-95.
- ⁹ . Collazo T, Corzón T, De Vergas J.J. Evaluación del Paciente con Hipoacusia. En: Libro Virtual de Formación ORL. Scola Yurrita B; Ortega del Álamo P editores. Madrid, Ed.Sociedad Española de Otorrinolaringología y Patología-Cervico Facial; 2009. p.1-14.
- ¹⁰ . Kawaguchi K. Hipoacusia de causa genética Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza cuello. 2005; 65: 39-44.
- ¹¹ . Lynne L, Greinwald J. Current status of genetics in the evaluation and management of SNHL. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2002;10:435-439.
- ¹² . Nelson H.D, Bougatsos C, Nygren P. Universal Newborn Hearing Screening: Systematic Review to Update the 2001. US Preventive Services Task Force Recommendation. Pediatrics. 2008;122:266-76.
- ¹³ . www.biap.org. (Última fecha de consulta 15 de septiembre de 2012).
- ¹⁴ . Dalamón V, Elgoyhen A.B. Hipoacusias De Origen Genético. Actualización. Rev Med Clin. Condes. 2009; 20:408-417.
- ¹⁵ . Thomassin JM, Paris J. Stratégie diagnostique devant una surdit  de l'adulte. Encycl Méd Chir. Oto-rhino-latynologie, Elsevier, Paris: 2010; 20- 81-A-10.
- ¹⁶ . Aguirre L.A. Estudio genético-molecular de hipoacusias no sindrómicas autosómicas recesivas y del síndrome De Mohr-Tranebjaerg. Tesis doctoral. 2009.

17. Sauvage J.P, Puyraud S, Roche O, Rahman A. Anatomie de l'oreille interne. *Encycl Méd Chir Oto-rhinolaryngologie*, Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS. Paris: 1999, 20-020-A-10. p.1-18.
18. www.audiology.wordpress.com/la-coclea/anatomy/. (fecha de consulta 23 septiembre 2012).
19. Gómez J.R. Hipoacusias Genéticas no Sindrómicas. En *Temas de Actualidad en ORL*. Editorial Edika Med. 2003; p.1-25.
20. Russell I.J., Sellick P.M. Intracellular studies of hair cells in the mammalian cochlea. *J Physiol* 1978;338:179-206.
21. Spöndlin H. Innervation Patterns in Organ of Corti of cat. *Acta Otolaryngol.* 1969;67:239-251.
22. Kiang N.Y, Rho J.M, Northrop C.C, Liberman M.C, Ryugo D.K. Hair-cell innervation by spiral ganglion cells in adult cats. *Science*. 1982;217:175-177.
23. Puel J.L. Chemical synaptic transmission in the cochlea. *Prog Neurobiol.* 1995;47:449-462.
24. Vrijens K, van Laer L, Van Camp G. Human hereditary hearing impairment: Mouse models can help to solve the puzzle. *Hum. Genet.* 2008; 325-348.
25. Strassmaier M, Gillespie P.G. The hair cell's transduction channel. *Curr Opin Neurobiol* 2002;12:380-386.
26. Moser T, Beutner D. Kinetics of exocytosis and endocytosis at the cochlear inner hair cell afferent synapse of the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97:883-888.
27. Lenzi D, Crum J, Ellisman M.H, Roberts W.M. Depolarization redistributes synaptic membrane and creates a gradient of vesicles on the synaptic body at a ribbon synapse. *Neuron.* 2002;36:649-659.
28. Glowatzki E, Fuchs P.A. Transmitter release at the hair cell ribbon synapse. *Nat Neurosci* 2002;5:147-154.
29. Martínez A, Acuña R, Figueroa V, Miripillan J, Nicholson B. Gap Junction Channels Dysfunction In Deafness And Hearing Loss. *Antioxid Redox Signal.* 2009;11:309-322.
30. Huesca F, Domínguez J.E. Genes, proteínas y mutaciones involucradas en la fisiopatología de la audición. *Anales De Otorrinolaringología Mexicana.* 2005.4:17-21.
31. Takeuchi S, Ando M, Kakigi A. Mechanism generating endocochlear potential: role placed by intermediate cells in stria vascularis. *Biophys J.* 2000;79:2572-2582.
32. Zhao H.B, Kikuchi T, Ngezahayo A, White T.W. Gap Junctions and Cochlear Homeostasis. *J Membr Biol.* 2006; 209:177-186.
33. Schulte B.A, Adams J.C. Distribution of immunoreactive Na⁺, K⁺ -ATPase in the gerbil cochlea. *J Histochem Cytochem.* 1989;37:127-34.
34. Crouch J.J, Sakaguchi N, Lytle C, Schulte B.A. Immunohistochemical localization of the Na-K-Cl cotransporter (NKCC1) in the gerbil inner ear. *J Histochem Cytochem.* 1997;45:773-778.
35. Kikuchi T, Adams J.C, Miyabe Y, So E, Kobayashi T. Potassium ion recycling pathway via gap junction systems in the mammalian cochlea and its interruption in hereditary nonsyndromic deafness. *Med Electron Microsc.* 2000;33:51-56.
36. Higashiyama K, Takeuchi S, Azuma H, Sawada S, Yamakawa K, Kakigi A. Bumetanide induced enlargement of the intercellular space in the stria vascularis critically depends on Na⁺ transport. *Hear Res.* 2003;286:1-9.

- ³⁷. World Health Organization. En: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs300/en/index. (fecha de consulta 23 septiembre 2012).
- ³⁸. Instituto Nacional de Estadística. En: www.ine.es. (fecha de consulta 23 septiembre 2012).
- ³⁹. Comisión para la Detección Precoz de la Hipoacusia. Propuesta para la detección e intervención precoz de la hipoacusia infantil. *An Esp Ped*. 1999;51:336-344.
- ⁴⁰. Hereditary hearing loss home-page. En: www.uia.ac.be/dnalab/hhh. (fecha de consulta 23 septiembre 2012).
- ⁴¹. Connexin-Deafness home page. En: www.crg.es/deafness. (fecha de consulta 23 septiembre 2012).
- ⁴². Kelsell D.P, Dunlop J, Stevens H.P, Lench N.J, Liang J.N, Parry G, Mueller RF, Leigh I.M. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. *Nature*. 1997;387:80-83.
- ⁴³. Del Castillo I, Moreno-Pelayo M.A, Del Castillo F.J, Brownstein Z, Marlin S, Adina Q, Cockburn D.J, Pandya A, Siemering K.R, Chamberlin G.P, Ballana E, Wuyts W, Maciel-Guerra A.T, Alvarez A, Villamar M, Shohat M, Abeliovich D, Dahl H.H, Estivill X, Gasparini P, Hutchin T, Nance W.E, Sartorato E.L, Smith R.J, Van Camp G, Avraham K.B, Petit C, Moreno F. Prevalence and evolutionary origins of the del(GJB6-D13S1830) mutation in the DFNB1 locus in hearing-impaired subjects: a multicenter study. *Am J Hum Genet*. 2003;73:1452-1458.
- ⁴⁴. Gallo-Terán J, Morales-Angulo C, Rodríguez-Ballesteros M, Moreno-Pelayo M.A, del Castillo I, Moreno F. Prevalence of the 35delG mutation in the GJB2 gene, del (GJB6-D13S1830) in the GJB6 gene, Q829X in the OTOF gene and A1555G in the mitochondrial 12S rRNA gene in subjects with non-syndromic sensorineural hearing impairment of congenital/Childhood onset. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2005;56:463-468.
- ⁴⁵. del Castillo F.J, Rodríguez-Ballesteros M, Alvarez A, Hutchin T, Leonardi E, de Oliveira C.A, Azaiez H, Brownstein Z, Avenarius M.R, Marlin S, Pandya A, Shahin H, Siemering K.R, Weil D, Wuyts W, Aguirre L.A, Martín Y, Moreno-Pelayo M.A, Villamar M, Avraham K.B, Dahl H.H, Kanaan M, Nance W.E, Petit C, Smith R.J, Van Camp G, Sartorato E.L, Murgia A, Moreno F, del Castillo I. A Novel Deletion Involving The Connexin-30 Gene, Del(GJB6-D13s1854), Found In Trans With Mutations In The GJB2 Gene (Connexin-26) In Subjects With DFNB1 Non-Syndromic Hearing Impairment. *J Med Genet*. 2005;42:588-594.
- ⁴⁶. del Castillo I, Villamar M, Moreno-Pelayo M.A, del Castillo F.J, Alvarez A, Tellería D, Menéndez I, Moreno F. A deletion involving the connexin 30 gene in nonsyndromic hearing impairment. *N Engl J Med*. 2002;346:243-9.
- ⁴⁷. Liu X.Z, Yuan Y, Yan D, Ding E.H, Ouyang X.M, Fei Y, Tang W, Yuan H, Chang Q, Du L.L, Zhang X, Wang G, Ahmad S, Kang D.Y, Lin X, Dai P. Digenic inheritance of non-syndromic deafness caused by mutations at the gap junction proteins Cx26 and Cx31. *Hum Genet*. 2009;125:53-62.
- ⁴⁸. Kenneson A, Van Naarden Braun K, Boyle C. GJB2. (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: a HuGE review, *Genet Med*. 2002;4:258-274.
- ⁴⁹. Prezant T.R, Agopian J.V, Bohlman M.C, Bu X, Oztas S, Qiu W.Q, Arnos K.S, Cortopassi G.A, Jaber L, Rotter J.I. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nature Genet*. 1993;4:289-294.

- ⁵⁰. Kubisch C, Schroeder B.C, Friedrich T, Lütjohann B, El-Amraoui A, Marlin S, Petit C, Jentsch T.J. KCNQ4, a novel potassium channel expressed in sensory outer hair cells, is mutated in dominant deafness. *Cell*. 1999;96:437-446.
- ⁵¹. Li X.C, Everett L.A, Lalwani A.K, Desmukh D, Friedman T.B, Green E.D, Wilcox E.R. A mutation in PDS causes non-syndromic recessive deafness. *Nat Genet*. 1998;18:215-217.
- ⁵². Wilcox E.R, Burton Q.L, Naz S, Riazuddin S, Smith T.N, Ploplis B, Belyantseva I, Ben-Yosef T, Liburd N.A, Morell R.J, Kachar B, Wu D.K, Griffith A.J, Riazuddin S, Friedman T.B. Mutations in the gene encoding tight junction claudin-14 cause autosomal recessive deafness DFNB29. *Cell*. 2001;104:165-172.
- ⁵³. Bernalova I.N, Van Camp G, Bom S.J, Brown D.J, Cryns K, DeWan A.T, Erson A.E, Flothmann K, Kunst H.P, Kurnool P, Sivakumaran T.A, Cremers C.W, Leal S.M, Burmeister M, Lesperance M.M. Mutations in the Wolfram syndrome 1 gene (WFS1) are a common cause of low frequency sensorineural hearing loss. *Hum Mol Genet*. 2001;10:2501-2508.
- ⁵⁴. Liu X.Z, Walsh J, Tamagawa Y, Kitamura K, Nishizawa M, Steel KP, Brown S.D. Autosomal dominant non-syndromic deafness caused by a mutation in the myosin VIIA gene. *Nat Genet*. 1997;17:268-269.
- ⁵⁵. Weil D, Küssel P, Blanchard S, Lévy G, Levi-Acobas F, Drira M, Ayadi H, Petit C. The autosomal recessive isolated deafness, DFNB2, and the Usher 1B syndrome are allelic defects of the myosin-VIIA gene. *Nat Genet*. 1997;16:191-3.
- ⁵⁶. Wang A, Liang Y, Fridell R.A, Probst F.J, Wilcox E.R, Touchman J.W, Morton C.C, Morell R.J, Noben-Trauth K, Camper S.A, Friedman T.B. Association of unconventional myosin MYO15 mutations with human nonsyndromic deafness DFNB3. *Science*. 1998;280:1447-1451.
- ⁵⁷. Melchionda S, Ahituv N, Bisceglia L, Sobe T, Glaser F, Rabionet R, Arbones M.L, Notarangelo A, Di Iorio E, Carella M, Zelante L, Estivill X, Avraham K.B, Gasparini P. MYO6, the human homologue of the gene responsible for deafness in Snell's waltzer mice, is mutated in autosomal dominant nonsyndromic hearing loss. *Am J Hum Genet*. 2001;69:635-640.
- ⁵⁸. Ahmed Z.M, Morell R.J, Riazuddin S, Gropman A, Shaukat S, Ahmad M.M, Mohiddin S.A, Fananapazir L, Caruso R.C, Husnain T, Khan S.N, Riazuddin S, Griffith A.J, Friedman T.B, Wilcox E.R. Mutations of MYO6 are associated with recessive deafness, DFNB37. *Am J Hum Genet*. 2003;72:1315-1322.
- ⁵⁹. Walsh T, Walsh V, Vreugde S, Hertzano R, Shahin H, Haika S, Lee M.K, Kanaan M, King M.C, Avraham K.B. From flies' eyes to our ears: mutations in a human class III myosin cause progressive nonsyndromic hearing loss DFNB30. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:7518-7523.
- ⁶⁰. Lalwani A.K, Goldstein J.A, Kelley M.J, Luxford W, Castelein C.M, Mhatre A.N. Human nonsyndromic hereditary deafness DFNA17 is due to a mutation in nonmuscle myosin MYH9. *Am J Hum Genet*. 2000;67:1121-1128.
- ⁶¹. Lynch E.D, Lee M.K, Morrow J.E, Welch P.L, León P.E, King M.C. Nonsyndromic deafness DFNA1 associated with mutation of a human homolog of the *Drosophila* gene diaphanous. *Science*. 1997;278:1315-1318.

- ⁶². Bork J.M, Peters L.M, Riazuddin S, Bernstein S.L, Ahmed Z.M, Ness S.L, Polomeno R, Ramesh A, Schloss M, Srisailpathy C.R, Wayne S, Bellman S, Desmukh D, Ahmed Z, Khan S.N, Kaloustian V.M, Li X.C, Lalwani A, Riazuddin S, Bitner-Glindzicz M, Nance W.E, Liu X.Z, Wistow G, Smith R.J, Griffith A.J, Wilcox E.R, Friedman T.B, Morell R.J. Usher syndrome 1D and nonsyndromic autosomal recessive deafness DFNB12 are caused by allelic mutations of the novel cadherin-like gene CDH23. *Am J Hum Genet.* 2001;68:26-37.
- ⁶³. Verpy E, Masmoudi S, Zwaenepoel I, Leibovici M, Hutchin T.P, Del Castillo I, Nouaille S, Blanchard S, Lainé S, Popot J.L, Moreno F, Mueller R.F, Petit C. Mutations in a new gene encoding a protein of the hair bundle cause non-syndromic deafness at the DFNB16 locus. *Nat Genet.* 2001;29:345-349.
- ⁶⁴. Ouyang X.M, Xia X.J, Verpy E, Du L.L, Pandya A, Petit C, Balkany T, Nance W.E, Liu X.Z. Mutations in the alternatively spliced exons of USH1C cause non-syndromic recessive deafness. *Hum Genet.* 2002;111:26-30.
- ⁶⁵. Ahmed Z.M, Smith T.N, Riazuddin S, Makishima T, Ghosh M, Bokhari S, Menon P.S, Deshmukh D, Griffith A.J, Riazuddin S, Friedman T.B, Wilcox E.R. Nonsyndromic recessive deafness DFNB18 and Usher syndrome type IC are allelic mutations of USH1C. *Hum Genet.* 2002;110:527-531.
- ⁶⁶. Verhoeven K, Van Laer L, Kirschhofer K, Legan P.K, Hughes D.C, Schatteman I, Verstreken M, Van Hauwe P, Coucke P, Chen A, Smith R.J, Somers T, Offeciers F.E, Van de Heyning P, Richardson G.P, Wachtler F, Kimberling W.J, Willems P.J, Govaerts P.J, Van Camp G. Mutations in the human alpha-tectorin gene cause autosomal dominant non-syndromic hearing impairment. *Nat Genet.* 1998;19:60-62.
- ⁶⁷. Robertson N.G, Lu L, Heller S, Merchant S.N, Eavey R.D, McKenna M, Nadol J.B Jr, Miyamoto R.T, Linthicum F.H Jr, Lubianca Neto J.F, Hudspeth A.J, Seidman C.E, Morton C.C, Seidman J.G. Mutations in a novel cochlear gene cause DFNA9, a human nonsyndromic deafness with vestibular dysfunction. *Nat Genet.* 1998;20:299-303.
- ⁶⁸. Zwaenepoel I, Mustapha M, Leibovici M, Verpy E, Goodyear R, Liu X.Z, Nouaille S, Nance W.E, Kanaan M, Avraham K.B, Tekaia F, Loiselet J, Lathrop M, Richardson G, Petit C. Otoancorin, an inner ear protein restricted to the interface between the apical surface of sensory epithelia and their overlying acellular gels, is defective in autosomal recessive deafness DFNB22. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:6240-6245.
- ⁶⁹. de Kok Y.J, van der Maarel S.M, Bitner-Glindzicz M, Huber I, Monaco A.P, Malcolm S, Pembrey M.E, Ropers H.H, Cremers F.P. Association between X-linked mixed deafness and mutations in the POU domain gene POU3F4. *Science.* 1995;267:685-688.
- ⁷⁰. Vahava O, Morell R, Lynch E.D, Weiss S, Kagan M.E, Ahituv N, Morrow J.E, Lee M.K, Skvorak A.B, Morton C.C, Blumenfeld A, Frydman M, Friedman T.B, King M.C, Avraham K.B. Mutation in transcription factor POU4F3 associated with inherited progressive hearing loss in humans. *Science.* 1998;279:1950-1954.
- ⁷¹. Wayne S, Robertson N.G, DeClau F, Chen N, Verhoeven K, Prasad S, Tranebjärg L, Morton C.C, Ryan A.F, Van Camp G, Smith R.J. Mutations in the transcriptional activator EYA4 cause late-onset deafness at the DFNA10 locus. *Hum Mol Genet.* 2001;10:195-200.

- ⁷². Yasunaga S, Grati M, Cohen-Salmon M, El-Amraoui A, Mustapha M, Salem N, El-Zir E, Loiselet J, Petit C. A mutation in OTOF, encoding otoferlin, a FER-1-like protein, causes DFNB9, a nonsyndromic form of deafness. *Nat Genet.* 1999;21:363-369.
- ⁷³. Migliosi V, Modamio-Høybjør S, Moreno-Pelayo M.A, Rodríguez-Ballesteros M, Villamar M, Tellería D, Menéndez I, Moreno F, Del Castillo I. Q829X, a novel mutation in the gene encoding otoferlin (OTOF), is frequently found in Spanish patients with prelingual non-syndromic hearing loss. *J Med Genet.* 2002; 39:502-506.
- ⁷⁴. Rabionet R, Gasparini P, Estivill X. Molecular genetics of hearing impairment due to mutations in gap junction genes encoding beta connexins. *Hum Mutat.* 2000; 16:190-202.
- ⁷⁵. Furshpan E.J, Potter D.D. Transmission At The Giant Motor Synapses Of The Crayfish. *J Physiol.* 1959;145:289-325.
- ⁷⁶. Bevans CG, Kordel M, Rhee S.K, Harris A.L. Isoform composition of connexin channels determines selectivity among second messengers and uncharged molecules. *J Biol Chem.* 1998;273:2808–2816.
- ⁷⁷. Beyer E.C, Gemel J, Martínez A, Berthoud V.M, Valiunas V, Moreno A.P, Brink P.R. Heteromeric mixing of connexins: Compatibility of partners and functional consequences. *Cell Commun Adhes.* 2001;8:199–204.
- ⁷⁸. Forge A, Becker D, Casalotti S, Edwards J, Marziano N, Nickel R. Connexins and gap junctions in the inner ear. *Audiol Neurootol.* 2002;7:141–145.
- ⁷⁹. Forge A, Marziano N.K, Casalotti S.O, Becker D.L, Jagger D. The inner ear contains heteromeric channels composed of cx26 and cx30 and deafness-related mutations in cx26 have a dominant negative effect on cx30. *Cell Commun Adhes.* 2003;10:341–346.
- ⁸⁰. Saez J.C, Retamal M.A, Basilio D, Bukauskas F.F, Bennett M.V. Connexin-based gap junction hemichannels: gating mechanisms. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1711:215–224.
- ⁸¹. Yum S.W, Zhang J, Valiunas V, Kanaporis G, Brink P.R, White T.W, Scherer S.S. Human connexin26 and connexin30 form functional heteromeric and heterotypic channels. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007;293:C1032–1048.
- ⁸². Kudo T, Ikeda K, Kure S, Matsubara Y, Oshima T, Watanabe K, Kawase T, Narisawa K, Takasaka T. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) responsible for childhood deafness in the Japanese population. *Am J Med Genet.* 2000; 90:141-145.
- ⁸³. Morell R.J, Kim H.J, Hood L.J, Goforth L, Friderici K, Fisher R, Van Camp G, Berlin C.I, Oddoux C, Ostrer H, Keats B, Friedman T.B. Mutations in the connexin 26 gene (GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness. *N Engl J Med.* 1998;339:1500-1505.
- ⁸⁴. Alvarez A, del Castillo I, Villamar M, Aguirre L.A, González-Neira A, López-Nevot A, Moreno-Pelayo M.A, Moreno F. High prevalence of the W24X mutation in the gene encoding connexin-26 (GJB2) in Spanish Romani (gypsies) with autosomal recessive non-syndromic hearing loss. *Am J Med Genet A.* 2005;137:255-8.

- ⁸⁵. Wilch E, Zhu M, Burkhart K.B, Regier M, Elfenbein J.L, Fisher R.A, Friderici K.H. Expression of GJB2 and GJB6 is reduced in a novel DFNB1 allele. *Am J Hum Genet.* 2006;79:174-179.
- ⁸⁶. Wilch E, Zhu M, Burkhart K.B, Regier M, Elfenbein J.L, Fisher R.A, Friderici K.H. Low expression of GJB2 and GJB6 segregates with DFNB1 deafness and with a distant 131 kb deletion in an extended Michigan family, in: *Proceedings of the Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, New Orleans, Louisiana (Abstract 2006;1864).*
- ⁸⁷. Xia J.H, Liu C.Y, Tang B.S, Pan Q, Huang L, Dai H.P, Zhang B.R, Xie W, Hu D.X, Zheng D, Shi X.L, Wang D.A, Xia K, Yu K.P, Liao X.D, Feng Y, Yang Y.F, Xiao J.Y, Xie D.H, Huang J.Z. Mutations in the gene encoding gap junction protein beta-3 associated with autosomal dominant hearing impairment. *Nature Genet.* 1998;20: 370-373.
- ⁸⁸. Liu X.Z, Xia X.J, Xu L.R, Pandya A, Liang C.Y, Blanton S.H, Brown S.D, Steel K.P, Nance W.E. Mutations in connexin 31 underlie recessive as well as dominant non-syndromic hearing loss. *Hum. Molec Genet.* 2000;9:63-67.
- ⁸⁹. López-Bigas N, Olivé M, Rabionet R, Ben-David O, Martínez-Matos J.A, Bravo O, Banchs I, Volpini V, Gasparini P, Avraham K.B, Ferrer I, Arbonés M.L, Estivill X. Connexin 31 (GJB3) is expressed in the peripheral and auditory nerves and causes neuropathy and hearing impairment. *Hum. Molec. Genet.* 2001;10:947-952.
- ⁹⁰. Stojkovic T, Latour P, Vandenberghe A, Hurtevent J.F, Vermersch P. Sensorineural deafness in X-linked Charcot-Marie-Tooth disease with connexin 32 mutation (R142Q). *Neurology* 1999;52:1010-1014.
- ⁹¹. Denoyelle F, Marlin S. *Surdités de perception d'origine génétique.* EMC (Elsevier SAS, Paris), Oto-rhinolaryngologie, 20-191-A-10, 2005.
- ⁹². Marlin S, Feldmann D, Blons H, Loundon N, Rouillon I, Albert S, Chauvin P, Garabédian E.N, Couderc R, Odent S, Joannard A, Schmerber S, Delobel B, Leman J, Journel H, Catros H, Lemarechal C, Dollfus H, Eliot M.M, Delaunoy J.L, David A, Calais C, Drouin-Garraud V, Obstoy M.F, Goizet C, Duriez F, Fellmann F, Hélias J, Vigneron J, Montaut B, Matin-Coignard D, Faivre L, Baumann C, Lewin P, Petit C, Denoyelle F. GJB2 and GJB6 mutations: Genotypic and phenotypic correlations in a large cohort of hearing impaired patients. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005;131: 481-487.
- ⁹³. Liu X.Z, Xia X.J, Ke X.M, Ouyang X.M, Du L.L, Liu Y.H, Angeli S, Telischi F.F, Nance W.E, Balkany T, Xu LR. The prevalence of connexin 26 (GJB2) mutations in the Chinese population. *Hum Genet* 2002;111:394–397.
- ⁹⁴. Pandya A, Arnos K.S, Xia X.J, Welch K.O, Blanton S.H, Friedman T.B, Garcia Sanchez G, Liu X.Z, Morell R, Nance W.E. Frequency and distribution of GJB2 (connexin 26) and GJB6 (connexin 30) mutation in a large North American repository of deaf probands. *Genet Med.* 2003;5:295-303.
- ⁹⁵. Arnos K.S, Welch K.O, Tekin M, Norris V.W, Blanton S.H, Pandya A, Nance W.E. A comparative analysis of the genetic epidemiology of deafness in the United States in two sets of pedigrees collected more than a century apart. *Am. J. Hum. Genet.* 2008;83:200-207.

- ⁹⁶. Barashkov N.A, Dzhemileva L.U, Fedorova S.A, Teryutin F.M, Posukh O.L, Fedotova E.E, Lobov S.L, Khusnutdinova E.K. Autosomal recessive deafness 1A (DFNB1A) in Yakut population isolate in Eastern Siberia: extensive accumulation of the splice site mutation IVS1+1G-A in GJB2 gene as a result of founder effect. *J. Hum. Genet.* 2011;56: 631-639.
- ⁹⁷. Ben Arab S, Bonaiti-Pellie C, Belkahia A. An epidemiological and genetic study of congenital profound deafness in Tunisia (governorate of Nabeul). *J. Med. Genet.* 1990;190;27: 29-33.
- ⁹⁸. Brown K.A, Janjua A.H, Karbani G, Parry G, Noble A, Crockford G, Bishop D.T, Newton V.E, Markham A.F, Mueller R.F. Linkage studies of non-syndromic recessive deafness (NSRD) in a family originating from the Mirpur region of Pakistan maps DFNB1 centromeric to D13S175. *Hum. Molec. Genet.* 1996;5:169-173.
- ⁹⁹. Brownstein Z, Friedlander Y, Peritz E, Cohen T. Estimated number of loci for autosomal recessive severe nerve deafness within the Israeli Jewish population, with implications for genetic counseling. *Am J Med. Genet.* 1991;41: 306-312.
- ¹⁰⁰. Stein K, Jabaley R, Spitz R, Sotoakley D, Mcgee T. Rhe impairment infant: Patterns of identification and habilitation revised. *Ear Hear.* 1990;11:201-5.
- ¹⁰¹. Healthy people 2000. UA Department of Health and Human Services, Public Health Service. DHHS Publication No.91-50213, US, Government Pringing Office. Washington DC 20402,1990.
- ¹⁰². Huarte A. Diagnóstico Audiológico. En: Trinidad G, Jáudenes C (coord.): Sordera infantil. Del diagnóstico precoz a la inclusión educativa. Guía práctica para el abordaje multidisciplinar. Confederación Española de Familias de Personas Sordas. FIAPAS. Madrid, 2011;91-117.
- ¹⁰³. Núñez F. Diagnóstico Etiológico. En: Trinidad G, Jáudenes C (coord.): Sordera infantil. Del diagnóstico precoz a la inclusión educativa. Guía práctica para el abordaje multidisciplinar. Confederación Española de Familias de Personas Sordas. FIAPAS. Madrid, 2011;119-128.
- ¹⁰⁴. Kemp D.T. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J Acoust Soc Am.* 1978,64:1386-1391.
- ¹⁰⁵. Ken-Dror A, Pratt H, Zelser M. Auditory brainstem evoked potentials to clicks at differents presentation rates: Estimating maturation of preterm and full-term neonates. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology.* 1987;68:209-218.
- ¹⁰⁶. American Academy of Pediatrics. Task force on Newborn and Infant Hearing. Newborn and infant hearing loss. Detection an intervention. *Pediatrics.* 1999;103:527-530.

- ¹⁰⁷. Smith R, Van Camp C. Deafness and hereditary hearing loss overview En: Gene Review sat Gene Tests: Medical genetics information resource (en línea). Copyright. University of Washington, Seattle. 1999–2008. Disponible en: www.genetests.org (última revisión 4 de Julio 2011).
- ¹⁰⁸. Hilgert N, Smith R.J, Van Camp G. Forty-six genes causing non syndromic hearing impairment: Which ones should be analyzed in DNA diagnostics? *MutatRes*. 2009;681:189–196.
- ¹⁰⁹. Rehm H.L. A genetic approach to the child with sensorineural hearing loss. *Sem Perinatal*.2005;29:173–181.
- ¹¹⁰. Romo L.V, Casselman JW, Robson C.D. Temporal bone: Congenital anomalies. En: Som P.M, Curtin H.D, editors. *Head and Neck Imagin*, 4a ed. St.Louis, Missouri: Mosby; 2003.p.1109–1170.
- ¹¹¹. Preciado D.A, Lawson L, Madden C, Myer D, Ngo C, Bradshaw J.K, Choo D.I, Greinwald JH Jr. Improved diagnostic effectiveness with a sequential diagnostic paradigm in idiopathic pediatric sensorineural hearing loss. *Otol Neurotol*. 2005;26:610–615.
- ¹¹². American Academy of Pediatrics, Joint Committee on Infant Hearing. Year 2007 position statement: Principles and guidelines for early hearing detection and intervention programs. *Pediatrics*. 2007;120:898-921.
- ¹¹³. Manual técnico para la utilización de la guía para la valoración integral del niño con discapacidad auditiva. Ed. Real Patronato sobre Discapacidad. Comité Español de Audiofonología (CEAF) y Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales. Madrid. Polibea, S.L. 2007.
- ¹¹⁴. Ohlms L.A, Chen A.Y, Stewart M.G, Franklin D.J. Establishing the ethiology of Childhood hearing loss. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1999;120:159–163.
- ¹¹⁵. Chiang C.E, Roden D.M. The long QT syndromes: Genetic basis and clinical implications. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36:1–12.
- ¹¹⁶. Mafong D.D, Shin E.J, Lalwani A.K. Use of laboratory evaluation and radiologic imaging in the diagnostic evaluation of children with sensorineural hearing loss. *Laryngoscope*. 2002;112:1-7.
- ¹¹⁷. Jun A.I, McGuiert W.T, Hinojosa R, Green G.E, Fischel-Ghodsian N, Smith R.J. Temporal bone histopathology in connexin 26-related hearing loss. *Laryngoscope*. 2000;110:269–275.
- ¹¹⁸. Fugazzola L, Cerutti N, Mannavola D, Crino A, Cassio A, Gasparoni P, Vannucchi G, Beck-Peccoz P. Differential diagnosis between Pendred and pseudo-Pendred syndromes: Clinical, radiologic and molecular studies. *Pediatr Res*. 2002;51:479–484.
- ¹¹⁹. Simons J.P, Mandell D.L, Arjmand E.M. Computed tomography and magnetic resonance imaging in pediatric unilateral and asymmetric sensorineural hearing loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006;132:186-92.

- ¹²⁰. Antonelli P.J, Varela A.E, Mancuso A.A. Diagnostic yield of high-resolution computed tomography for pediatric sensorineural hearing loss. *Laryngoscope*. 1999;109:1642-7.
- ¹²¹. Lee K.H, Larson D.A, Shott G, Rasmussen B, Cohen A.P, Benton C, Halsted M, Choo D, Meinzen-Derr J, Greinwald J.H Jr. Audiologic and temporal bone imaging findings in patients with sensorineural hearing loss and GJB2 mutations. *Laryngoscope*. 2009;119:554-558.
- ¹²². Marlin S, Garabédian E.N, Roger G, Moatti L, Matha N, Lewin P, Petit C, Denoyelle F. Connexin 26 gene mutations in congenitally deaf children: Pitfalls for genetic counseling. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2001;127:927-933.
- ¹²³. Cabanillas Farpón R, Cadiñanos Bañales J. Hipoacusias hereditarias: Asesoramiento genético *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2012;63:218-229.
- ¹²⁴. Choi S.Y, Kim Y.E, Ahn D.B, Kim T.H, Choi J.H, Lee H.R, Hwang S.J, Kim U.K, Lee S.H. Construction of a DNA chip for screening of genetic hearing loss. *Clin Exp Otorhinolaryngol*. 2009;2:44-47.
- ¹²⁵. Gardner P, Oitmaa E, Messner A, Hoefsloot L, Metspalu A, Schrijver I. Simultaneous multigene mutation detection in patients with sensorineural hearing loss through a novel diagnostic microarray: a new approach for newborn screening follow-up. *Pediatrics*. 2006;118:985-994.
- ¹²⁶. Preciado D.A, Lim L.H, Cohen A.P, Madden C, Myer D, Ngo C, Bradshaw J.K, Lawson L, Choo D.I, Greinwald J.H Jr. A diagnostic paradigm for childhood idiopathic sensorineural hearing loss. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004;131:804-809.
- ¹²⁷. Manrique M, Huarte A, Morera C. Tratamiento médico-quirúrgico. En: Trinidad G, Jáudenes C (coord.): *Sordera infantil. Del diagnóstico precoz a la inclusión educativa. Guía práctica para el abordaje multidisciplinar*. Confederación Española de Familias de Personas Sordas. FIAPAS. Madrid, 2011;131-148.
- ¹²⁸. Manrique M, Huarte A, Molina M, Narbona J. Importancia del implante coclear temprano en el desarrollo lingüístico. En: Torres S, García-Orza J, eds. *Discapacidad y sistemas de comunicación. Teoría y aplicaciones*: Madrid. SIIS. Centro de documentación e información concertado con el Real Patronato,1998;173-185.
- ¹²⁹. Alonso L.J, Guntín M, Ibañez M.I, Martínez C, Valdivieso M.J. Adaptación protésica infantil. En: Trinidad G, Jáudenes C (coord.): *Sordera infantil. Del diagnóstico precoz a la inclusión educativa. Guía práctica para el abordaje multidisciplinar*. Confederación Española de Familias de Personas Sordas. FIAPAS. Madrid, 2011;149-162.
- ¹³⁰. Angulo A, Blanco JL, Mateo F. (1997). *Audioprótesis: Teoría y Práctica*. Barcelona: Masson.
- ¹³¹. Phonak. *Guía de amplificación pediátrica*. Disponible en: <http://www.phonak-pip.es> (Última consulta en septiembre de 2012).

- ¹³². Fry G.J. El examen del audifono digital. *Auditio* (Revista electrónica), 202. Disponible en: <http://www.auditio.com>. (última consulta noviembre de 2012)
- ¹³³. Ramos A, Cuyas J.M, Goenaga L. Criterios audiométricos. En: Manrique M y Huarte A. *Implantes Cocleares*. Ed. Masson.Barcelona 222,99-104.
- ¹³⁴. Morera C, Manrique M, Ramos A, Garcia-Ibanez L, Cavalle L, Huarte A, Castillo C, Estrada E. Advantages of binaural hearing provided through bimodal stimulation via a cochlear implant and a conventional hearing aid: a 6-month comparative study. *Acta Otolaryngol*. 2005;125:596-606.
- ¹³⁵. Morera C, Cavallé L. Indicaciones y contraindicaciones. En: Manrique M.J, Ramos A, López Villarejo P, García-Ibáñez E, editores. *Prótesis implantables en otocirugía*. Barcelona: SCM; 2003;155-160.
- ¹³⁶. Manrique M, Cervera-Paz F.J, Huarte A, Molina M. Advantages of cochlear implantation in prelingual deaf children before 2 years of age when compared with later implantation. *Laryngoscope*. 2004;114:1462-1469.
- ¹³⁷. Manrique M, Huarte A, Molina M, Cillero G. Ruiz de Erenchun I. Our experience with cochlear implantation in teenagers and prelingually deafened adults. En: *Advances in Cochlear Implants*. Editado por IJ Hochmair-Desoyer ES Hochmair. Mainz, Viena.1994:437-442.
- ¹³⁸. Niparko J.K, Dasey D.L, Cheng A.K, Francis H.W. Valoración del impacto en la calidad de vida y evaluación de los costes de la implantación coclear. En: Manrique M, Huarte A, editores. *Implantes cocleares*. Barcelona: Masson; 2002;337-349.
- ¹³⁹. Ramos A, Rodríguez C, Borkoski S, Cuyás JM, et al. Cochlear Implant In Hypoacusis With Alteration Of Connexin 26. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2007;58:198-201.
- ¹⁴⁰. Wiley S, Choo D, Meinzen-Derr J, Hilbert L, Greinwald J. GJB2 mutations and additional disabilities in a pediatric cochlear implant population. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2006; 70:493-500.
- ¹⁴¹. Connell S.S, Angeli S.I, Suarez H, Hodges A.V, Balkany T.J, Liu X.Z. Performance after cochlear implantation in DFNB1 patients. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2007;137:596-602.
- ¹⁴². Mesolella M, Tranchino G, Nardone M, Motta S, Galli V. Connexin 26 mutations in nonsyndromic autosomal recessive hearing loss: Speech and hearing rehabilitation. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2004;68:995–1005.
- ¹⁴³. Azaiez H, Smith R.J. In reference to temporal bone imaging in GJB2 deafness. *Laryngoscope*. 2007;117:1127.
- ¹⁴⁴. Propst E.J, Papsin B.C, Stockley T.L, Harrison R.V, Gordon K.A. Auditory responses in cochlear implant users with and without GJB2 deafness. *Laryngoscope*. 2006;116:317–327.
- ¹⁴⁵. Dalamón V, Lotersztejn V, Lipovsek M, Bèherán A, Mondino M.E, Diamante F, Pallares N, Diamante V, Elgoyhen A.B. Performance of speech perception after cochlear implantation in DFNB1 patients. *Acta Otolaryngol*. 2009;129:395-398.

- ¹⁴⁶. Cullen R.D, Buchman C.A, Brown C.J. Cochlear implantation for children with GJB2-related deafness. *Laryngoscope*. 2004;114:1415–1419.
- ¹⁴⁷. Bauer P.W, Geers A.E, Brenner C, Moog J.S, Smith R.J. The effect of GJB2 allele variants on performance after cochlear implantation. *Laryngoscope* 2003;113:2135–2140.
- ¹⁴⁸. Matsushiro N, Doi K, Fuse Y, Nagai K, Yamamoto K, Iwaki T, Kawashima T, Sawada A, Hibino H, Kubo T. Successful cochlear implantation in prelingual profound deafness resulting from the common 235delC mutation of the GJB2 gene in the Japanese. *Laryngoscope*. 2002;112:255–261.
- ¹⁴⁹. Green G.E, Scott D.A, McDonald J.M, Teagle H.F, Tomblin B.J, Spencer L.J, Woodworth G.G, Knutson J.F, Gantz B.J, Sheffield V.C, Smith R.J. Performance of cochlear implant recipients with GJB2-related deafness. *Am J Med Genet*. 2002;109:167–170.
- ¹⁵⁰. Fukushima K, Sugata K, Kasai N. Better speech performance in cochlear implant patients with GJB2-related deafness. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2002; 62:151-7.
- ¹⁵¹. Sinnathuray A.R, Toner J.G, Geddis A, Clarke-Lytle J, Patterson C.C, Hughes A.E. Auditory perception and speech discrimination after cochlear implantation in patients with connexin 26 (GJB2) gene related deafness. *Otol Neurotol* 2004; 25:930-934.
- ¹⁵². Sinnathuray A.R, Toner J.G, Clarke-Lytle J, Geddis A, Patterson C.C, Hughes A.E. Connexin 26 (GJB2) gene-related deafness and speech intelligibility after cochlear implantation. *Otol Neurotol*. 2004;25:935-42.
- ¹⁵³. Sacheli R, Delacroix L, Vandenackerveken P, Guyen L N, Malgrange B. Gene transfer in inner ear cells: a challenging race. *Gene Ther*. 2013;20:237-47.
- ¹⁵⁴. Staecker H, Brough D.E, Praetorius M, Baker K. Drug delivery to the inner ear using gene therapy. *Otolaryngol Clin North Am*. 2004;37:1091–1108.
- ¹⁵⁵. Staecker H, Praetorius M, Brough D.E. Development of gene therapy for inner ear disease: Using bilateral vestibular hypofunction as a vehicle for translational research. *Hear Res*. 2011;276:44–51.
- ¹⁵⁶. Hildebrand M.S, Newton S.S, Gubbels S.P, Sheffield A.M, Kochhar A, de Silva M.G, Dahl H.H, Rose S.D, Behlke M.A, Smith R.J. Advances in molecular and cellular therapies for hearing loss. *Mol Ther*. 2008;16:224–236.
- ¹⁵⁷. Derby M.L, Sena-Esteves M, Breakefield X.O, Corey D.P. Gene transfer into the mammalian inner ear using HSV-1 and vaccinia virus vectors. *Hear Res*. 1999;134:1–8.
- ¹⁵⁸. Izumikawa M, Minoda R, Kawamoto K, Abrashkin K.A, Swiderski D.L, Dolan D.F, Brough D.E, Raphael Y. Auditory hair cell replacement and hearing improvement by Atoh1 gene therapy in deaf mammals. *Nat Med*. 2005; 11:271–276.
- ¹⁵⁹. Lalwani A.K, Walsh B.J, Reilly P.G, Muzyczka N, Mhatre A.N. Development of in vivo gene therapy for hearing disorders: introduction of adeno-associated virus into the cochlea of the guinea pig. *Gene Ther*. 1996; 3:588–592.

- ¹⁶⁰. Lalwani A.K, Jero J, Mhatre A.N. Current issues in cochlear gene transfer. *Audiol Neurootol.* 2002; 7:146–151.
- ¹⁶¹. Jero J, Mhatre A.N, Tseng C.J, Stern R.E, Coling D.E, Goldstein J.A, Hong K, Zheng W.W, Hoque A.T, Lalwani A.K. Cochlear gene delivery through an intact round window membrane in mouse. *Hum Gene Ther.* 2001;12:539–548.
- ¹⁶². Praetorius M, Baker K, Weich C.M, Plinkert P.K, Staecker H. Hearing preservation after inner ear gene therapy: the effect of vector and surgical approach. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 2003;65:211–214.
- ¹⁶³. Yamasoba T, Yagi M, Roessler B.J, Miller J.M, Raphael Y. Inner ear transgene expression after adenoviral vector inoculation in the endolymphatic sac. *Hum Gene Ther.* 1999;10:769–774.
- ¹⁶⁴. Ahmad S, Tang W, Chang Q, Qu Y, Hibshman J, Li Y, Sohl G, Willecke K, Chen P, Lin X. Restoration of connexin26 protein level in the cochlea completely rescues hearing in a mouse model of human connexin30-linked deafness. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104:1337–1341.
- ¹⁶⁵. Cohen-Salmon M, Ott T, Michel V, Hardelin J.P, Perfettini I, Eybalin M, Wu T, Marcus D.C, Wangemann P, Willecke K, Petit C. Targeted ablation of connexin26 in the inner ear epithelial gap junction network causes hearing impairment and cell death. *Curr Biol.* 2002;12:1106–1111.
- ¹⁶⁶. Kudo T, Kure S, Ikeda K, Xia A.P, Katori Y, Suzuki M, Kojima K, Ichinohe A, Suzuki Y, Aoki Y, Kobayashi T, Matsubara Y. Transgenic expression of a dominant-negative connexin26 causes degeneration of the organ of Corti and non-syndromic deafness. *Hum Mol Genet.* 2003;12:995–1004.
- ¹⁶⁷. Bedrosian J.C, Gratton M.A, Brigande J.V, Tang W, Landau J, Bennett J. In vivo delivery of recombinant viruses to the fetal murine cochlea: transduction characteristics and long-term effects on auditory function. *Mol Ther.* 2006;14:328–335.
- ¹⁶⁸. Ballana E, Wang J, Venail F, Estivill X, Puel J.L, Arbones M.L, Bosch A. Efficient and specific transduction of cochlear supporting cells by adeno-associated virus serotype 5. *Neurosci Lett.* 2008;442:134–139.
- ¹⁶⁹. Brigande J.V, Gubbels S.P, Woessner D.W, Jungwirth J.J, Bresee C.S. Electroporation-mediated gene transfer to the developing mouse inner ear. *Methods Mol Biol.* 2009;493:125–139.
- ¹⁷⁰. Dazert S, Aletsee C, Brors D, Gravel C, Sendtner M, Ryan A. In vivo adenoviral transduction of the neonatal rat cochlea and middle ear. *Hear Res.* 2001;151:30–40.
- ¹⁷¹. Di Pasquale G, Kaludov N, Agbandje-McKenna M, Chiorini J.A. BAAV transcytosis requires an interaction with beta-1–4 linked- glucosamine and gp96. *PLoS One.* 2010;5:9336.
- ¹⁷². Ishimoto S, Kawamoto K, Stover T, Kanzaki S, Yamasoba T, Raphael Y. A glucocorticoid reduces adverse effects of adenovirus vectors in the cochlea. *Audiol Neurootol.* 2003;8:70–79.

- ¹⁷³. Ortolano S, Di Pasquale G, Crispino G, Anselmi F, Mammano F, Chiorini J.A. Coordinated control of connexin 26 and connexin 30 at the regulatory and functional level in the inner ear. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105:18776-18781.
- ¹⁷⁴. Shibata S.B, Di Pasquale G, Cortez S.R, Chiorini J.A, Raphael Y. Gene transfer using bovine adenoassociated virus in the guinea pig cochlea. *Gene Ther*. 2009;16:990-997.
- ¹⁷⁵. Coleman B, Fallon J.B, Pettingill L.N, de Silva M.G, Shepherd R.K. Auditory hair cell explant cocultures promote the differentiation of stem cells into bipolar neurons. *Exp Cell Res*. 2007;313:232-243.
- ¹⁷⁶. Reyes J.H, O'Shea K.S, Wys N.L, Velkey J.M, Prieskorn D.M, Wesolowski K, Miller J.M, Altschuler R.A. Glutamatergic neuronal differentiation of mouse embryonic stem cells after transient expression of neurogenin 1 and treatment with BDNF and GDNF: in vitro and in vivo studies. *J Neurosci*. 2008;28:12622-12631.
- ¹⁷⁷. Corrales C.E, Pan L, Li H, Liberman M.C, Heller S, Edge A.S. Engraftment and differentiation of embryonic stem cell-derived neural progenitor cells in the cochlear nerve trunk: growth of processes into the organ of Corti. *J Neurobiol*. 2006;66:1489-1500.
- ¹⁷⁸. Sekiya T, Holley M.C, Kojima K, Matsumoto M, Helyer R, Ito J. Transplantation of conditionally immortal auditory neuroblasts to the auditory nerve. *Eur J Neurosci*. 2007;25:2307-2318.
- ¹⁷⁹. Lang H, Schulte B.A, Goddard J.C, Hedrick M, Schulte J.B, Wei L, Schmiedt R.A. Transplantation of mouse embryonic stem cells into the cochlea of an auditory neuropathy animal model: effects of timing after injury. *J Assoc Res Otolaryngol*. 2008;9:225-240.
- ¹⁸⁰. Rask-Andersen H, Boström M, Gerdin B, Kinnefors A, Nyberg G, Engstrand T, Miller J.M, Lindholm D. Regeneration of human auditory nerve. In vitro/in vivo demonstration of neural progenitor cells in adult human and guinea pig spiral ganglion. *Hear Res*. 2005;203:180-191.
- ¹⁸¹. Chen W, Jongkamonwiwat N, Abbas L, Eshtan SJ, Johnson S.L, Kuhn S, Milo M, Thurlow J.K, Andrews P.W, Marcotti W, Moore H.D, Rivolta M.N. Restoration of auditory evoked responses by human ES-cell-derived otic progenitors. *Nature*. 2012;490:278-282.
- ¹⁸². Vega A, Álvarez Y, Blasco A, Torrico P, Serrano M.A, Trinidad G. Otoemisiones Acústicas Como Prueba de Cribado para la Detección Precoz de la Hipoacusia en Recién Nacidos. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2001;52:273-278.
- ¹⁸³. Early identification of Hearing Impairment in Infants and young Children. NIH Consensus Statement 1993; 11(1).
- ¹⁸⁴. Chiappa K.H. *Evoked Potentials in Clinical Medicine*. Raven Press, Ltd. (2.^a ed.). New York, 1990.
- ¹⁸⁵. Asociación Española de Audiología. *Normalización de las Pruebas Audiológicas*. 2008.

- ¹⁸⁶. Rockville M. Guidelines for manual pure-tone threshold audiometry. 2005. American Speech-Language-Hearing Association.
- ¹⁸⁷. American Speech-Language-Hearing Association. 1991. Sound Field Measurement Tutorial (Relevant Paper). Disponible en www.asha.org/policy.
- ¹⁸⁸. Cárdenas M.R y Marrero V. Cuaderno de logaudiometría. Madrid: UNED, 1994.
- ¹⁸⁹. Marazita M.L, Ploughman L.M, Rawlings B, Remington E, Arnos K.S, Nance W.E. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the U.S. school-age population. *Am. J. Med. Genet.* 1993;46:486–491.
- ¹⁹⁰. Van Camp G, Willems P.J, Smith R.J. Nonsyndromic hearing impairment: unparalleled heterogeneity. *Am J Hum Genet* 1997;60:758–764.
- ¹⁹¹. Hutchin T.P, Cortopassi G.A. Mitochondrial defects and hearing loss. *Cell Mol. Life Sci.* 2000;57:1927–1937.
- ¹⁹². Guilford P, Ben Arab S, 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. *Nat. Genet.* 1994;6:24–28.
- ¹⁹³. Chaib H, Lina-Granade G, Guilford P, Plauchu H, Levilliers J, Morgon A, Petit C. A gene responsible for a dominant form of neurosensory non-syndromic deafness maps to the NSRD1 recessive deafness gene interval. *Hum. Mol. Genet.* 1994;3:2219–2222.
- ¹⁹⁴. Denoyelle F, Lina-Granade G, Plauchu H, Bruzzone R, Chaib H, Levi-Acobas F, Weil D, Petit C. Connexin 26 gene linked to a dominant deafness. *Nature.* 1998;393:319–320.
- ¹⁹⁵. Kazazian H.H, Boehm C, Seltzer W.K. ACMG recommendations for standards for interpretation of sequence variation. *Genet. Med.* 2000;2:302–303.
- ¹⁹⁶. Ballana E, Ventayol M, Rabionet R, Gasparini P, Estivill X. Connexins and deafness Homepage. URL: <http://davinci.crg.es/deafness/>. (último acceso: 1 de noviembre de 2012).
- ¹⁹⁷. 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. *Genet. Test.* 2005;9:20-25.
- ¹⁹⁸. Kokotas H, van Laer L, Grigoriadou M, Iliadou V, Economides J, Pomoni S, et al. Strong linkage disequilibrium for the frequent GJB2 35delG mutation in the Greek population. *Am. J. Med. Genet.* 2008;146:2879-2884.
- ¹⁹⁹. Gabriel H, Kupsch P, Sudendey J, Winterhager E, Jahnke K, Lautermann J. Mutations in the connexin26/GJB2 gene are the most common event in non-syndromic hearing loss among the German population. *Hum. Mutat.* 2001;17:521-522.

- ²⁰⁰. Green G.E, Scott D.A, McDonald J.M, Woodworth G.G, Sheffield V.C, Smith R.J. Carrier rates in the midwestern United States for GJB2 mutations causing inherited deafness. *JAMA*. 1999;281:2211-2216.
- ²⁰¹. Loffler J, Nekahm D, Hirst-Stadlmann A, Gunther B, Menzel H.J, Utermann G, Janecke A.R. Sensorineural hearing loss and the incidence of Cx26 mutations in Austria. *Eur. J. Hum. Genet.* 2001;9:226–230.
- ²⁰². Zelante L, Gasparini P, Estivill X, Melchionda S, D'Agruma L, Govea N, Milá M, Monica M.D, Lutfi J, Shohat M, Mansfield E, Delgrosso K, Rappaport E, Surrey S, Fortina P. Connexin26 mutations associated with the most common form of nonsyndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans. *Hum. Mol. Genet.* 1997;6:1605–1609.
- ²⁰³. Yan D, Park H.J, Ouyang X.M, Pandya A, Doi K, Erdenetungalag R, Du L.L, Matsushiro N, Nance W.E, Griffith AJ, Liu XZ. Evidence of a founder effect for the 235delC mutation of GJB2 (connexin 26) in east Asians. *Hum. Genet.* 2003;114:44-50.
- ²⁰⁴. Han S.H, Park H.J, Kang E.J, Ryu J.S, Lee A, Yang Y.H, Lee K.R. Carrier frequency of GJB2 (connexin-26) mutations causing inherited deafness in the Korean population. *J.Hum. Genet.* 2008;53:1022-1028.
- ²⁰⁵. Brobby, G.W, Müller-Myhsok B, Horstmann R.D. Connexin 26 R143W mutation associated with recessive nonsyndromic sensorineural deafness in Africa. *N. Engl. J. Med.* 1998;338:548-550.
- ²⁰⁶. Maneshwari M, Vijaya R, Ghosh M, Shastri S, Kabra M, Menon P.S. Screening of families with autosomal recessive non-syndromic hearing impairment (ARNSHI) for mutations in GJB2 gene: Indian scenario. *Am. J. Med. Genet.* 2003;120:180-184.
- ²⁰⁷. RamShankar M, Girirajan S, Dagan O, Ravi Shankar H.M, Jalvi R, Rangasayee R. Contribution of connexin26 (GJB2) mutations and founder effect to non-syndromic hearing loss in India. *J. Med. Genet.* 2003;40:68.
- ²⁰⁸. Minárik G, Ferák V, Feráková E, Ficek A, Poláková H, Kádasi L. High frequency of GJB2 mutation W24X among Slovak Romany (Gypsy) patients with non-syndromic hearing loss (NSHL). *Gen. Physiol. Biophys.* 2003;22:549-556.
- ²⁰⁹. Seeman P, Malíková M, Rasková D, Bendová O, Groh D, Kubálková M. Spectrum and frequencies of mutations in the GJB2 (Cx26) gene among 156 Czech patients with pre-lingual deafness. *Clin. Genet.* 2004;66:152-157.
- ²¹⁰. Milunsky J.M, Maher T.A, Yosunkaya E, Vohr B.R. Connexin-26 gene analysis in hearing-impaired newborns. *Genet Test* 2000;4:345–349.
- ²¹¹. Green G.E, Smith R.J, Bent J.P, Cohn E.S. Genetic testing to identify deaf newborns. *JAMA* 2000;284:1245.
- ²¹². Salvador M.Q, Fox M.A, Schimmenti L.A, Telatar M, Yazdai S, Grody W.W. Homozygosity for the connexin 26 167delT mutation in an Ashkenazi Jewish family. *Am J Hum Genet* 2000;67:202.

- ²¹³. Orzan E, Polli R, Martella M, Vinanzi C, Leonardi M, Murgia A. Molecular genetics applied to clinical practice: the Cx26 hearing impairment. *Br J Audiol* 1999;33:291–295.
- ²¹⁴. Denoyelle F, Marlin S, Weil D, Moatti L, Chauvin P, Garabedian E.N, Petit C. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counselling. *Lancet*. 1999;353:1298–1303.
- ²¹⁵. Sobe T, Vreugde S, Shahin H, Berlin M, Davis N, Kanaan M, Yaron Y, Orr-Urtreger A, Frydman M, Shohat M, Avraham K.B. The prevalence and expression of inherited connexin 26 mutations associated with nonsyndromic hearing loss in the Israeli population. *Hum Genet*. 2000;106:50–57.
- ²¹⁶. Engel-Yeger B, Zaaroura S, Zlotogora J, Shalev S, Hujeirat Y, Carrasquillo M, Barges S, Pratt H. The effects of a connexin 26 mutation 35delG on oto-acoustic emissions and brainstem evoked potentials: homozygotes and carriers. *Hear Res*. 2002;163:93–100.
- ²¹⁷. Denoyelle F, Weil D, Maw M.A, Wilcox S.A, Lench N.J, Allen-Powell D.R, Osborn A.H, Dahl H.H, Middleton A, Houseman M.J, Dode C, Marlin S, Boulila-ElGaied A, Grati M, Ayadi H, BenArab S, Bitoun P, Lina-Granade G, Godet J, Mustapha M, Loiselet J, El-Zir E, Aubois A, Joannard A, Petit C. Prelingual deafness: High prevalence of a 30delG mutation in the connexin 26 gene. *Hum Mol Genet*. 1997;6:2173–2177.
- ²¹⁸. Lerer I, Sagi M, Malamud E, Levi H, Raas-Rothschild A, Abeliovich D. Contribution of connexin 26 mutations to nonsyndromic deafness in Ashkenazi patients and the variable phenotypic effect of the mutation 167delT. *Am J Med Genet*. 2000;95:53–56.
- ²¹⁹. Fuse Y, Doi K, Hasegawa T, Sugii A, Hibino H, Kubo T. Three novel connexin26 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic deafness. *Neuroreport* 1999;10:1853–1857.
- ²²⁰. Abe S, Usami S, Shinkawa H, Kelley P.M, Kimberling W.J. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese. *J Med Genet*. 2000;37:41–43.
- ²²¹. Morle L, Bozon M, Alloisio N, Latour P, Vandenberghe A, Plauchu H, Collet L, Edery P, Godet J, Lina-Granade G. A novel C202F mutation in the connexin26 gene (GJB2) associated with autosomal dominant isolated hearing loss. *J Med Genet*. 2000; 37:368–370.
- ²²². Tekin M, Arnos K.S, Xia X.J, Oelrich M.K, Liu X.Z, Nance W.E, Pandya A. W44C mutation in the connexin 26 gene associated with dominant non-syndromic deafness. *Clin Genet*. 2001;59:269–273.
- ²²³. Park H.J, Hahn S.H, Chun Y.M, Park K, Kim H.N. Connexin 26 mutations associated with nonsyndromic hearing loss. *Laryngoscope*. 2000;110:1535–1538.

- ²²⁴. Mueller R.F, Nehammer A, Middleton A, Houseman M, Taylor G.R, Bitner-Glindzciz M, Van Camp G, Parker M, Young I.D, Davis A, Newton V.E, Lench N.J. Congenital non-syndromal sensorineural hearing impairment due to connexin 26 gene mutations—molecular and audiological findings. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1999;50:3–13.
- ²²⁵. Wilcox S.A, Saunders K, Osborn A.H, Arnold A, Wunderlich J, Kelly T, Collins V, Wilcox L.J, McKinlay Gardner R.J, Kamarinos M, Cone-Wesson B, Williamson R, Dahl H.H. High frequency hearing loss correlated with mutations in the GJB2 gene. *Hum Genet.* 2000;106:399–405.
- ²²⁶. Dahl H.H, Saunders K, Kelly T.M, Osborn A.H, Wilcox S, Cone-Wesson B, Wunderlich J.L, Du Sart D, Kamarinos M, Gardner R.J, Dennehy S, Williamson R, Vallance N, Mutton P. Prevalence and nature of connexin 26 mutations in children with nonsyndromic deafness. *Med J Aust.* 2001;175:191–194.
- ²²⁷. Kenna M.A, Wu B.L, Cotanche D.A, Korf B.R, Rehm H.L. Connexin 26 studies in patients with sensorineural hearing loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2001 Sep;127:1037-1042.
- ²²⁸. Hilgert N, Huentelman M.J, Thorburn A.Q, Fransen E, Dieltjens N, Mueller-Malesinska M, Pollak A, Skorka A, Waligora J, Ploski R, Castorina P, Primignani P, Ambrosetti U, Murgia A, Orzan E, Pandya A, Arnos K, Norris V, Seeman P, Janousek P, Feldmann D, Marlin S, Denoyelle F, Nishimura C.J, Janecke A, Nekahm-Heis D, Martini A, Mennucci E, Tóth T, Sziklai I, Del Castillo I, Moreno F, Petersen M.B, Iliadou V, Tekin M, Incesulu A, Nowakowska E, Bal J, Van de Heyning P, Roux A.F, Blanchet C, Goizet C, Lancelot G, Fialho G, Caria H, Liu X.Z, Xiaomei O, Govaerts P, Grønsvov K, Hostmark K, Frei K, Dhooge I, Vlaeminck S, Kunstmann E, Van Laer L, Smith R.J, Van Camp G. Phenotypic variability of patients homozygous for the GJB2 mutation 35delG cannot be explained by the influence of one major modifier gene. *Eur. J. Hum. Genet.* 2009;17:517-524.
- ²²⁹. Kikuchi T, Kimura, R.S, Paul, D.L, Takasaka, T, Adams J.C. Gap junction systems in the mammalian cochlea. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 2000;32:163–166.
- ²³⁰. Lautermann J, ten Cate W.J, Altenhoff P, Grümmer R, Traub O, Frank H, Jahnke K, Winterhager E. Expression of the gap-junctions connexins 26 and 30 in the rat cochlea. *Cell Tissue Res.* 1998;294:415-420.
- ²³¹. Lautermann, J, Frank, H.G, Jahnke K, Traub O, Winterhager E. Developmental expression patterns of connexin26 and 30 in the rat cochlea. *Dev. Genet.* 1999;25:306-311.
- ²³². Xia A, Katori Y, Oshima T, Watanabe K, Kikuchi T, Ikeda K. Expression of connexin 30 in the developing mouse cochlea. *Brain Res.* 2001;898:364-367.
- ²³³. Dahl E, Manthey D, Chen Y, Schwarz H.J, Chang, Y.S, Lalley P. A. Molecular cloning and functional expression of mouse connexin-30, a gap junction gene highly expressed in adult brain and skin. *J. Biol. Chem.* 1996;271:17903-17910.

- ²³⁴. Grifa A, Wagner C.A, D'Ambrosio L, Melchionda S, Bernardi F, Lopez-Bigas N, Rabionet R, Arbones M, Monica M.D, Estivill X, Zelante L, Lang F, Gasparini P. Mutations in GJB6 cause nonsyndromic autosomal dominant deafness at DFNA3 locus. *Nat Genet.* 1999;23:16-18.
- ²³⁵. Teubner B, Michel V, Pesch J, Lautermann J, Cohen-Salmon M, Söhl G, Jahnke K, Winterhager E, Herberhold C, Hardelin J.P, Petit C, Willecke K. Connexin30 (GJB6) deficiency causes severe hearing impairment and lack endocochlear potential. *Hum Mol Genet.* 2003;12:13-21.
- ²³⁶. Lerer I, Sagi M, Ben-Neriah Z, Wang, T, Levi H, Abeliovic D. A deletion mutation in GJB6 cooperating with a GJB2 mutation in trans in non syndromic deafness: A novel founder mutation in Ashkenazi Jews. *Hum Mutat.* 2001;18:460.
- ²³⁷. Pallares-Ruiz N, Blanchet P, Mondain M, Claustres M, Roux A.F. A large deletion including most of GJB6 in recessive non syndromic deafness: a digenic effect? *Eur. J. Hum Genet.* 2002;10:72-76.
- ²³⁸. Bolz, H, Schade G, Ehmer S, Kothe C, Hess M, Gal, A. Phenotypic variability of non-syndromic hearing loss in patients heterozygous for both c.35delG of GJB2 and the 342-kb deletion involving GJB6. *Hear Res.* 2004;188: 42-46.
- ²³⁹. Erbe C.B, Harris K.C, Runge-Samuelson C.L, Flanary V. A, Wackym P. A. Connexin 26 and connexin 30 mutations in children with nonsyndromic hearing loss. *Laryngoscope.* 2004;114:607-611.
- ²⁴⁰. Feldmann D, Denoyelle F, Chauvin P, Garabédian E.N, Couderc R, Odent S, Joannard A, Schmerber S, Delobel B, Leman J, Journal H, Catros H, Le Maréchal C, Dollfus H, Eliot M.M, Delaunoy J.P, David A, Calais C, Drouin-Garraud V, Obstoy M.F, Bouccara D, Sterkers O, Huy P.T, Goizet C, Duriez F, Fellmann F, Hélias J, Vigneron J, Montaut B, Lewin P, Petit C, Marlin S. Large deletion of the GJB6 gene in deaf patients heterozygous for the GJB2 gene mutation: genotypic and phenotypic analysis. *Am. J. Med. Genet.* 2004;127:263-267.
- ²⁴¹. Gualandi E, Ravani A, Berto A, Burdo S, Trevisi P, Ferlini A, Martini A, Calzolari E. Occurrence of del(GJB6 D13S1830) mutation in Italian non-syndromic hearing loss patients carrying a single GJB2 mutated allele. *Acta Otolaryngol. Suppl* 2004;552:29-34.
- ²⁴². Common J.E, Bitner-Glindzicz M, O'Toole E.A, Barnes M.R, Jenkins L, Forge A, Kelsell DP. Specific loss of connexin 26 expression in ductal sweat gland epithelium associated with the deletion mutation del(GJB6-D13S1830). *Clin Exp Dermatol.* 2005;30:688-693.
- ²⁴³. Snoeckx R, Hassan D.M, Kamal N.M, Van Den Bogaert K, Van Camp G. Mutation analysis of the GJB2 (connexin 26) gene in Egypt. *Hum.Mutat.* 2005;26:60-61.
- ²⁴⁴. Murgia A, Orzan E, Polli R, Martella M, Vinanzi C, Leonardi E, Arslan E, Zacchello F. Cx26 deafness: Mutation analysis and clinical variability. *J Med Genet.* 1999;36:829-832.

- ²⁴⁵. Estivill X, Fortina P, Surrey S, Rabionet R, Melchionda S, D'Agruma L, Mansfield E, Rappaport E, Govea N, Milà M, Zelante L, Gasparini P. Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. *Lancet*. 1998;351:394–398.
- ²⁴⁶. Wilcox S.A, Osborn A.H, Allen-Powell D.R, Maw M.A, Dahl H.H, Gardner R.J. Connexin 26 deafness in several interconnected families. *J Med Genet*. 1999;36:383–385.
- ²⁴⁷. Griffith A.J, Chowdhry A.A, Kurima K, Hood L.J, Keats B, Berlin C.I, Morell R.J, Friedman T.B. Autosomal recessive nonsyndromic neurosensory deafness at DFNB1 not associated with the compound-heterozygous GJB2 (connexin 26) genotype M34T/167delT. *Am J Hum Genet*. 2000;67:745–749.
- ²⁴⁸. Kupka S, Mirghomizadeh F, Haug T, Braun S, Leistenschneider P, Schmitz-Salue C, Arold R, Blin N, Zenner HP, Pfister M. Mutational analysis of the connexin26 gene in sporadic cases of moderate to profound deafness. *HNO*. 2000;48:671–674.
- ²⁴⁹. Abe S, Kelley P.M, Kimberling W.J, Usami S.I. Connexin 26 gene (GJB2) mutation modulates the severity of hearing loss associated with the 1555A3G mitochondrial mutation. *Am J Med Genet*. 2001;103:334–338.
- ²⁵⁰. Geers A.E, Moog J.S. Predicting spoken language acquisition on profoundly hearing-impaired children. *J Speech Hear Disord* 1987;52:84–94.
- ²⁵¹. Liu X.Z, Pandya A, Angeli S, Telischi F.F, Arnos K.S, Nance W.E, Balkany T. Audiological features of GJB2 (connexin 26) deafness. *Ear Hear*. 2005;26:361–369.
- ²⁵². Manrique M.J. Edad y momento de aparición de la sordera. En: Manrique M, Huarte A, editores. *Implantes cocleares*. Barcelona: Masson; 2002. p.167-74.
- ²⁵³. Sainz M, Skarzynski H, Allum J.H, Helms J, Rivas A, Martin J, Zorowka P.G, Phillips L, Delauney J, Brockmeyer S.J, Kompis M, Korolewa I, Albegger K, Zwirner P, Van De Heyning P, D'Haese P; MED-EL. Assessment of auditory skill in 140 cochlear implant children using the EARS protocol. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 2003;65:91-6.
- ²⁵⁴. Marco J, Morant A, Martínez M.P, Pitarch M.I. Estructura de un programa de implantes cocleares. En: Manrique MJ, Ramos A, López Villarejo P, García-Ibáñez E, editores. *Prótesis implantables en otocirugía*. Barcelona: SCM; 2003. p. 149-53.
- ²⁵⁵. Ramos A, Goenaga L, Rivero J, Castillo C. Empleo de la telemetría en los implantes cocleares. En: Manrique M.J, Ramos A, López Villarejo P, García Ibáñez E, editores. *Prótesis implantables en otocirugía*. Barcelona: SCM; 2003. p. 195-201.
- ²⁵⁶. Taitelbaum-Swead R, Brownstein Z, Muchnik C, Kishon-Rabin L, Kronenberg J, Megirov L. Connexin-associated deafness and speech perception outcome of cochlear implantation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006;132:495-500