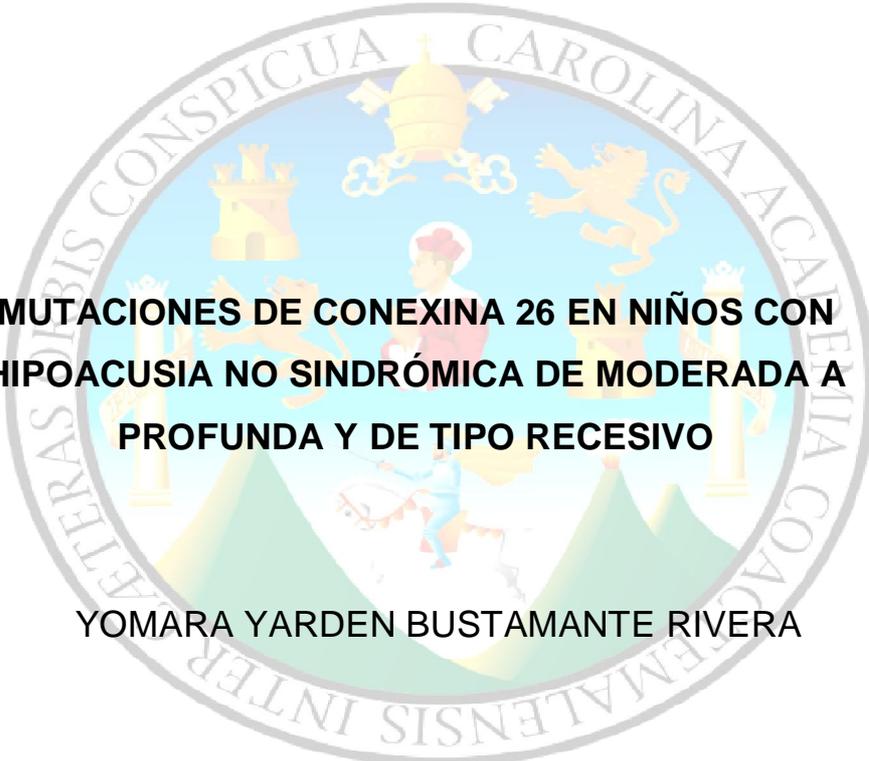


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a woman in a red dress and white shawl, holding a book. Above her is a golden crown. To the left is a golden castle, and to the right is a golden lion. The background is light blue with green hills at the bottom. The Latin motto "LITTERAS OBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACUMALENSIS INTER" is inscribed around the perimeter.

**MUTACIONES DE CONEXINA 26 EN NIÑOS CON  
HIPOACUSIA NO SINDRÓMICA DE MODERADA A  
PROFUNDA Y DE TIPO RECESIVO**

YOMARA YARDEN BUSTAMANTE RIVERA

Tesis

Presentada ante las autoridades de la  
Escuela de Estudios de Postgrado de la  
Facultad de Ciencias Médicas

Maestría en Pediatría

Para obtener el grado de

**Maestra en Pediatría**

Enero 2012

## **TÍTULO**

Mutaciones de Conexina 26 en niños con hipoacusia no  
sindrómica de moderada a profunda y de tipo recesivo.

## **SUBTÍTULO**

Estudio descriptivo a realizarse en el Departamento de Pediatría  
del Hospital Roosevelt del período de enero del 2008 a octubre  
del 2010.

## INDICE

I)	Resumen	página 1
II)	Introducción	página 2
III)	Antecedentes	página 4
IV)	Objetivos	página 6
V)	Materiales y Métodos	página 7
VI)	Resultados	página 11
VII)	Análisis de Resultados	página 16
VIII)	Conclusiones	página 17
IX)	Recomendaciones	página 18
X)	Referencias Bibliográficas	página 19
XI)	Anexos	página 21

## AGRADECIMIENTOS

- A Dios por haberme guiado y permitido estar alcanzando una meta más.
- A mis padres por todo el apoyo a lo largo de mi carrera. Muy en especial a mi mamá, a mi prima Vany y a mi amiga Lucía Silva por haberme acompañado en el trabajo de campo, sin su ayuda las cosas hubieran sido aún más difíciles.
- A la Universidad de San Carlos de Guatemala por ser mi casa de estudio y haber contribuido a mi formación.
- Al Hospital Roosevelt donde realicé mis estudios de Pediatría y donde se realizó la mayor parte del trabajo de campo.
- Al Dr. Daryl Armstrong Scott por su invaluable ayuda, guía y generosa secuenciación de las muestras.
- Al Dr. Gabriel de Jesús Silva Arévalo por ser un apoyo a nivel personal, como asesor de tesis, con el trabajo de laboratorio y los contactos necesarios para que se llevara a cabo la investigación.
- A la Licenciada Patricia Castellanos quien proporcionó la base de datos de todos los pacientes y sus audiometrías, sin su colaboración la investigación no se hubiera podido realizar.
- A INVEGEM y Genlab por el apoyo económico y científico a nivel del trabajo de laboratorio.
- A la Lic. Karen Sofía Hernández y al Lic. Andrés Ávalos por su trabajo con las muestras en el laboratorio.
- A la Familia Troncony Maltez, al Dr. Angel Chitay y al Dr. Rockael Hurtado por haberme prestado su casa o clínica para llevar a cabo la recolección de datos y toma de muestras en Escuintla, Zacapa y Chimaltenango respectivamente.

A todos muy agradecida ya que sin su ayuda esta investigación no se hubiera podido llevar a cabo.

## I) RESUMEN

La hipoacusia es el déficit sensorial más común en la población en general. Se realizó un estudio descriptivo en la Unidad de Audiología de la Clínica de Niño Sano del Departamento de Pediatría del Hospital Roosevelt en el período de enero del 2008 a octubre del 2010. El objetivo fue identificar las mutaciones más comunes de Conexina 26 (Cx26) en los pacientes con hipoacusia no sindrómica, de moderada a profunda y de tipo recesivo. Se incluyeron 65 pacientes a los cuales se les tomó una muestra de sangre para analizar el ADN en busca de las mutaciones de conexina 26 y las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Genética de UNICAR. Del total de pacientes estudiados, 53 (82%) tenían hipoacusia profunda, 10 (15%) tenían hipoacusia severa y solamente 2 (3%) tenían hipoacusia moderada. Fueron detectadas las mutaciones 35delG (4%), R127L (4%), 167delT (8%) y V27I (84%) siendo esta última y sus polimorfismos la más común.

## II) INTRODUCCIÓN

La audición normal se define como los umbrales auditivos entre 0-20 decibeles (dB) en el rango de 125 a 8,000 Herz (Hz). La pérdida de la audición (hipoacusia) se define como la pérdida de más de 20 dB. (1) Clínicamente la hipoacusia se clasifica en: leve (umbrales entre 20-40 dB), moderada (umbrales entre 40-60 dB), severa (entre 60-80 dB) o profunda (mayores de 80dB); sindrómica o no sindrómica; y dependiendo del patrón de herencia se clasifica en autosómica recesiva, dominante, ligada a X o por mutaciones mitocondriales. (1,2,3)

La hipoacusia es el déficit sensorial más común en la población en general y su prevalencia aumenta con la edad. (1,4,5) La hipoacusia no sindrómica es la pérdida de la audición no asociada a otros signos o síntomas. La mayor parte de las formas de hipoacusia no sindrómica se asocian a pérdida permanente de audición causada por daño en las estructuras del oído interno.

La hipoacusia puede ser adquirida, causada por factores ambientales o bien puede tener bases genéticas y resultar de una mutación. (6) Una mutación es un cambio permanente en la secuencia del ácido desoxirribonucleico (ADN) en un gen. Las mutaciones en las secuencias de ADN de un gen pueden alterar la secuencia del aminoácido de la proteína codificada por dicho gen. (7)

En los años noventa se hicieron enormes avances en la investigación de las bases genéticas de la hipoacusia. (8) Inicialmente sólo se habían localizado e identificado genes implicados en la hipoacusia sindrómica y hasta 1994 sólo se habían mapeado tres genes involucrados en la hipoacusia no sindrómica. (6,8) A la fecha se han identificado al menos 39 loci relacionados con la sordera no sindrómica recesiva. El descubrimiento más significativo ha sido el de la mutación en el gen GJB2 en el locus DFNB1 del cromosoma 13q12, este es la mayor causa de sordera prelingual profunda. (4,9)

El gen GJB2 codifica la proteína de unión gap, conexina 26 (Cx26), y las mutaciones en este gen han sido identificadas como el primer marcador genético de sordera hereditaria. El gen de la conexina 26 es expresado en muchos tejidos, pero en la cóclea del oído interno, este gen juega un papel importante en la audición normal al controlar la vía del reciclaje de potasio. El GJP2 formado por el gen conexina26 es utilizado para retornar los iones de potasio a la endolinfa, lo cual juega un papel clave en la función de audición neurosensorial. Por lo tanto cualquier mutación en este gen puede llevar a la disrupción de la función normal del oído interno y con ello causar hipoacusia. (9)

Las mutaciones del gen de la conexina 26 dan cuenta de 60% de las familias con sorderas neurosensoriales no sindrómicas autosómicas recesivas en poblaciones caucásicas, y del 20% de todas las sorderas infantiles. (9) El conocimiento acerca de los procesos moleculares de la sordera así como el entendimiento de las alteraciones de los procesos que llevan a la misma guiará a terapias para las mutaciones específicas. Esta terapia podría retrasar o prevenir cierto tipo de sordera genética al evitar por ejemplo el uso de aminoglucósidos en aquellos que posean ciertas

mutaciones específicas mitocondriales. (10) La progresiva identificación y el estudio de familias portadoras de las mutaciones ayudará a conocer mejor el mecanismo por el que se produce la pérdida auditiva, factores que influyen en su manifestación y permitirán desarrollar nuevos tratamientos frente a la hipoacusia. (11)

En otros países ya existen estudios que identifican las principales mutaciones causantes de sordera en sus habitantes. La mayoría de investigaciones se han realizado en India, Jordania, Pakistán, Hungría, Irán y en Latinoamérica se encuentra publicado un estudio de Cuba. En Guatemala aún no se ha realizado este tipo de investigación. Al realizarla se aportará información sobre la principal mutación responsable de la hipoacusia entre los habitantes del país, además se sentarán las bases para el inicio de un sistema de vigilancia epidemiológica para efectuar el diagnóstico temprano de la hipoacusia en los hospitales nacionales del país y poder establecer estrategias para su manejo.

### III) ANTECEDENTES

El gen GJB2 codifica la proteína de unión gap, conexina 26 (Cx26), y las mutaciones en este gen han sido identificadas como el primer marcador genético de sordera hereditaria. Esto fue reportado por primera vez en una familia de Túnez en 1994 y después en muchos países más. (9,12)

En 1999 se publicó en la Revista JAMA un artículo sobre las mutaciones de GJB2 como causa de hipoacusia congénita en el Medio Oeste de Estados Unidos. Se analizaron 52 sujetos con hipoacusia moderada a profunda no sindrómica que se limitara a una sola generación (no familiares con hipoacusia). De los 52 sujetos estudiados, 22 (42%) presentó mutaciones de GJB2. La mutación 35delG se identificó en 29 de los 41 alelos mutantes. Concluyeron que las mutaciones en GJB2 son la causa líder de la hipoacusia moderada a profunda en el Medio-Oeste de Estado Unidos. (13)

En Cuba se llevo a cabo el estudio de mutaciones del gen de la conexina26 (GJB2) en familias cubanas con sorderas no sindrómicas autosómicas recesivas. El estudio se realizó en el año 2001, estudiando a 47 individuos afectados con sordera neurosensorial no sindrómica de intensidad de severa a profunda pertenecientes a 15 familias. La mutación 35delG fue la más frecuente entre los portadores de las familias estudiadas. (9)

En el Noroeste de Hungría, en el 2003, se realizó un estudio en el que se relacionaron el genotipo y fenotipo de algunas de las formas de hipoacusia neurosensorial no sindrómica y autosómica recesiva y dominante. Este estudio concluyó que la mutación GJB2 más común en la población húngara es la 35delG. (14)

En la India dos estudios realizados en los años 2004 y 2005 concluyeron que las transiciones de nucleótidos en el gen conexina26 pueden jugar un papel importante en la expresión fenotípica de sordera neurosensorial recesiva en la población de ese país. (15,16)

En el año 2005 Hashemzadeh y colaboradores realizaron un estudio para caracterizar las mutaciones de conexina26 de más de 1,000 sujetos con hipoacusia no sindrómica autosómica recesiva en 10 provincias de Irán. Se incluyeron a 100 sujetos en el estudio con hipoacusia de moderada a profunda. Se detectaron siete diferentes variantes genéticas, la mutación más común fue la de 35delG encontrada en 5 de 79 familias. Las mutaciones de conexina26 relacionadas a sordera fueron encontradas en 12 de 158 cromosomas estudiados. (17)

En Turquía se publicó en el 2007 un estudio realizado en 95 pacientes con hipoacusia profunda y en 67 pacientes sanos control. Se encontraron 22 mutaciones de conexina 26 en el 14.7% de los pacientes, siendo la más común la 35delG. La prevalencia de las mutaciones de la conexina 26 en pacientes de Jordania con hipoacusia no sindrómicas fue publicada en el 2006 según un estudio realizado por el Departamento de Biotecnología e Ingeniería Genética de la Universidad de este país. Se tomaron

muestras de ADN de 152 pacientes con sordera y de 95 individuos sanos en busca de mutaciones en el gen *conexina26*. La frecuencia de la mutación 35delG entre la población sorda de Jordania (13.6%) es similar a la reportada en la población Palestina (14%) y menor que la reportada en la población de Líbano (94%) y de las poblaciones europeas (60-80%). (18)

Pocos estudios se han realizado en Latinoamérica con respecto a la identificación de mutaciones en hipoacusia. En Brasil se llevo a cabo un estudio con 67 familias para determinar la contribución de la mutación del gen *GJB3* concluyendo que dichas mutaciones son causa infrecuente de hipoacusia no sindrómicas. (5) En Guatemala no se cuenta aún con estudios acerca de la identificación de las mutaciones más comunes en pacientes con hipoacusia.

#### **IV) OBJETIVOS**

- Identificar las mutaciones más comunes de Conexina 26 (Cx26) en los pacientes con hipoacusia no sindrómica, de moderada a profunda y de tipo recesivo.

## V) MATERIALES Y MÉTODOS

### Tipo de estudio

Es un estudio descriptivo ya que se determinó la frecuencia de las mutaciones de la conexina 26 en la hipoacusia no sindrómica de moderada a profunda y de tipo recesivo en el Departamento de Pediatría del Hospital Roosevelt en el período de enero del 2008 a octubre del 2010.

### Población

La totalidad de los pacientes pediátricos del Hospital Roosevelt que presenten hipoacusia no-sindrómica del grado moderada a profundo de tipo recesivo diagnosticados o referidos a Niño Sano.

### Sujeto de estudio

Paciente pediátrico con hipoacusia no-sindrómica del grado moderada a profunda de tipo recesivo a quienes se les tomó muestra de sangre para analizar el ADN en busca de las mutaciones de conexina 26.

### Cálculo de la muestra

Se tomó el total de pacientes durante el período de estudio.

### Criterios de inclusión

Se incluyeron en el estudio a:

- Edad: pacientes de 0 a 12 años
- Con hipoacusia del grado moderado a profundo
- Que no estuviera relacionada con ningún síndrome
- y cuyos padres no presentaran problemas de audición y ésta sea recesiva.

### Criterios de exclusión

El presente estudio no tuvo criterios de exclusión.

#### Instrumentos a utilizar para recolección de información

Se utilizó una hoja para recolección de datos sobre la historia médica del paciente, historia familiar, así como examen físico completo para descartar anomalías asociadas y el grado de hipoacusia que presenta el paciente.

Se utilizó una hoja de consentimiento informado. La información de los pacientes se manejó únicamente por la investigadora y el asesor. En el laboratorio sólo se trabajó la muestra identificada con un número.

#### Procedimientos para la recolección de la información

A todo paciente pediátrico del Hospital Roosevelt identificado con hipoacusia moderada a profunda por medio de la audiometría o emisiones otoacústicas realizadas en Niño Sano o referido de cualquier otro centro público o privado con esos estudios ya realizados, se le solicitó su participación en el estudio por medio de una llamada telefónica. Se le explicó al paciente y familia en qué consistía el estudio, cuál era el objetivo y qué procedimiento se llevaría a cabo, así como también los beneficios que éste conllevaría. Si el paciente deseaba formar parte del estudio se le solicitó que firmara el consentimiento informado y se resolvieron dudas en caso de existir. Se procedió después a llenar un formulario con los datos principales como nombre, edad, historia médica, historia familiar; con el objetivo de descartar antecedentes de sordera en la familia, síndromes asociados, sordera adquirida; además se realizó un examen físico en el cual se descartaban anomalías menores o mayores que pudieran estar asociadas a sordera avalados por médico genetista, Dr.Silva, quien confirmó que los pacientes no tuvieran anomalías. Se le tomó la muestra de sangre para el análisis genético en las instalaciones del Hospital Roosevelt. Las citas se dieron a conveniencia de los padres. Al paciente se le recostó en una camilla y se le explicó el procedimiento de la toma de sangre. La muestra se tomó con la técnica vacutainer en los niños mayores puncionando la vena mediana basililar o mediana cefálica; si el niño era menor de 6 años se puncionaron las venas de la mano. La muestra se colocó en un tubo con anticoagulante, heparina sódica. Luego fue cultivada por 72 horas en un medio con RPMI 1640, penicilina, estreptomycinina, L-glutamina y citohematoglutinina para tener un medio de cultivo de 10cc. Posteriormente se analizó con la técnica de Reacción de

Cadena de Polimerasa para la identificación de mutaciones en el cromosoma 13q12, gen GJB2, Conexina26. Al finalizar el estudio se les informó a los participantes sobre los resultados obtenidos. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio GENLAB de UNICAR junto con el equipo del Dr. Silva y del Dr. Daryl Scott.

#### Análisis estadístico

Los datos obtenidos se vaciaron en una hoja de datos de Microsoft Excel XP y luego se obtendrán frecuencias, porcentajes, medidas de tendencia central y dispersión.

#### Recursos materiales y humanos

##### Humanos:

- Investigador.
- Asesor.
- Equipo de Laboratorio GENLAB, UNICAR.

##### Materiales:

- Instalaciones del Hospital Roosevelt, Niño Sano y Laboratorio de Genética de UNICAR.
- Consentimiento informado.
- Boleta de recolección de datos.
- Vacutainer.
- Tubos con heparina sódica.
- Algodón, alcohol, camilla o silla.
- Medios de cultivo.
- Aparato para realización de PCR.
- Hojas papel bond, lapiceros.
- Computadora, impresora.

## Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de Medición
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento	Edad de 0 a 12 años	Cuantitativa	Razón	Número de días, meses o años
Hipoacusia	Moderada: Pérdida de audición por debajo de los dB 40 y pero no menor a los dB 60 Severa :Pérdida de audición por debajo de los 60 a 80 dB Profunda :Pérdida de audición por debajo de los 80 dB	Hipoacusia determinada por medio de audiometría realizada por un técnico en Niño Sano o diagnosticada en cualquier otro centro y referida al hospital.	Cualitativa	Nominal	Decibeles
Mutaciones en Conexina26	Una mutación es un cambio permanente en la secuencia del ácido desoxirribonucleico (ADN) en un gen. El gen GJB2 codifica la proteína de unión gap, conexina 26 (Cx26), locus DFNB1 del cromosoma 13q12.	Alteración en los genes encontrada en las muestras de ADN a analizar.	Cualitativa	Nominal	V37I, L90P, S113R, M163V, R184**
Herencia Recesiva	Miembro de un par alélico imposibilitado de manifestarse en el fenotipo del individuo cuando el alelo dominante está presente. Para que este alelo se observe en el fenotipo el organismo debe poseer dos copias del mismo.	Al interrogar a los familiares se determinará que los padres no estén afectados fenotípicamente, no deberán tener hipoacusia.	Cualitativa	Nominal	Sí/ no
No-Sindrómico	Que no presenta anomalía alguna en otro órgano o sistema diferente al oído interno.	Se hará examen físico al paciente y éste no debe evidenciar anomalías menores (más de dos) ni mayores asociadas a la hipoacusia.	Cualitativa	Nominal	Sí/ no.

\*\*V37I, L90p, S113R, M163V,R184 son las principales mutaciones que se encuentran en la conexina 26

## VI) RESULTADOS

Tabla #1

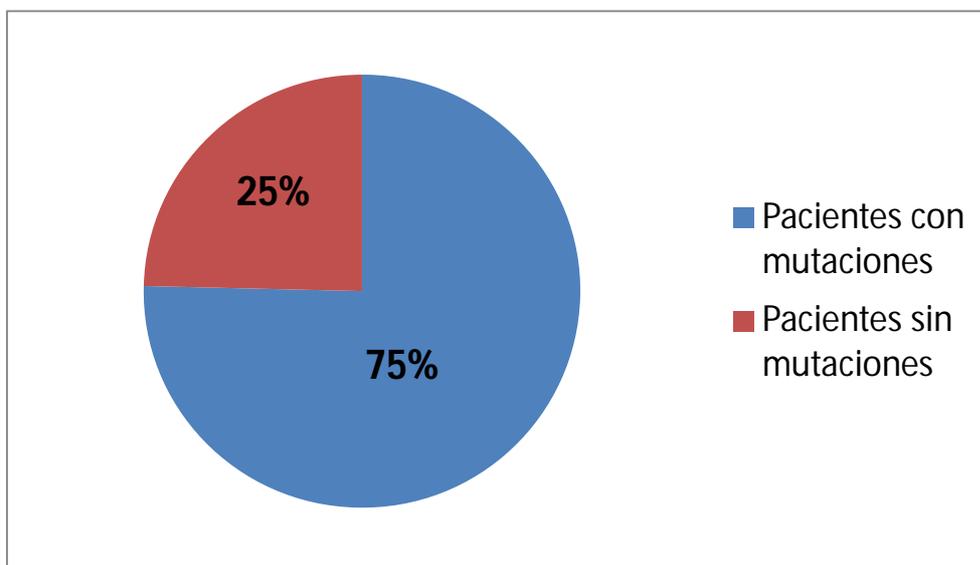
Número de pacientes con hipoacusia no sindrómica de moderada a profunda y de tipo recesivo estudiados en búsqueda de mutaciones

	Número	Porcentaje
<b>Pacientes con mutaciones</b>	49	75%
<b>Pacientes sin mutaciones</b>	16	25%
<b>Total de pacientes</b>	65	100%

Fuente: Informe del Laboratorio de Genética, GENLAB.

Gráfica #1

Número de pacientes con hipoacusia no sindrómica de moderada a profunda y de tipo recesivo estudiados en búsqueda de mutaciones



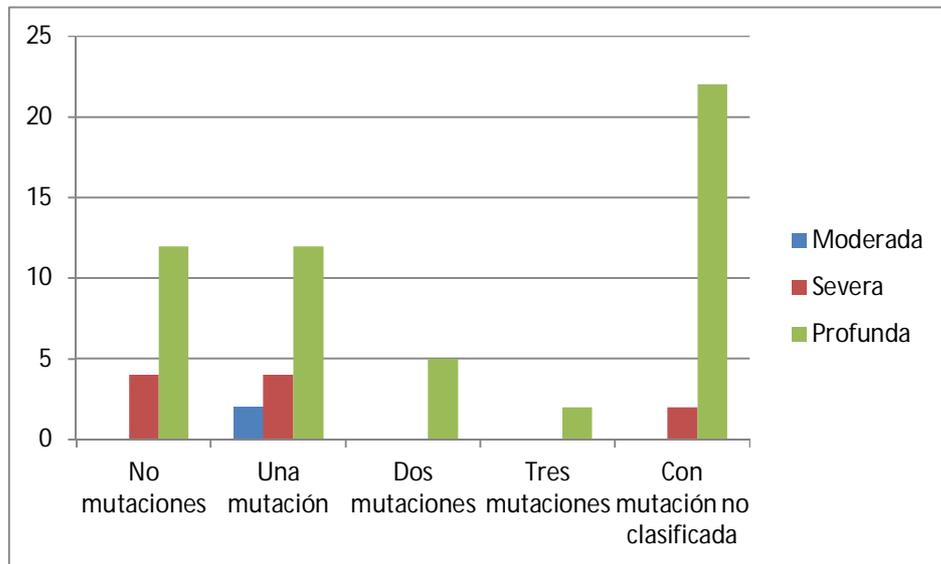
Fuente: Informe del Laboratorio de Genética, GENLAB.

**Tabla #2**  
**Distribución de mutaciones más comunes de conexina26 en pacientes con hipoacusia no sindrómica de moderada a profunda**

	No mutaciones	Una mutación	Dos mutaciones	Tres mutaciones	Con mutación no clasificada	Total
<b>Moderada</b>	--	2	--	--	--	2
<b>Severa</b>	4	4	--	--	2	10
<b>Profunda</b>	12	12	5	2	22	53
<b>Total</b>	16	18	5	2	24	65

Fuente: Informe del Laboratorio de Genética, GENLAB.

**Gráfica #2**  
**Distribución de mutaciones más comunes de conexina26 en pacientes con hipoacusia no sindrómica de moderada a profunda**



Fuente: Informe del Laboratorio de Genética, GENLAB.

**Tabla #3**

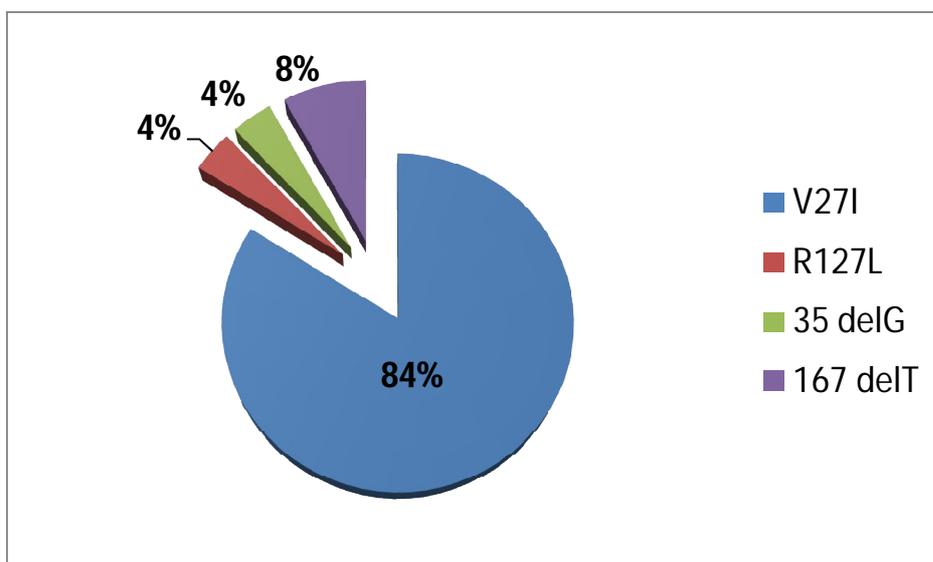
**Mutaciones más comunes de conexina26 en pacientes con hipoacusia no  
sindrómica de moderada a profunda y de tipo recesivo**

	<b>Número</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>V27I</b>	21	84%
<b>R127L</b>	1	4%
<b>35 delG</b>	1	4%
<b>167 delT</b>	2	8%
	25	100%

Fuente: Informe del Laboratorio de Genética, GENLAB.

**Gráfica #3**

**Mutaciones más comunes de conexina26 en pacientes con hipoacusia no  
sindrómica de moderada a profunda y de tipo recesivo**



Fuente: Informe del Laboratorio de Genética, GENLAB.

**Tabla # 4**

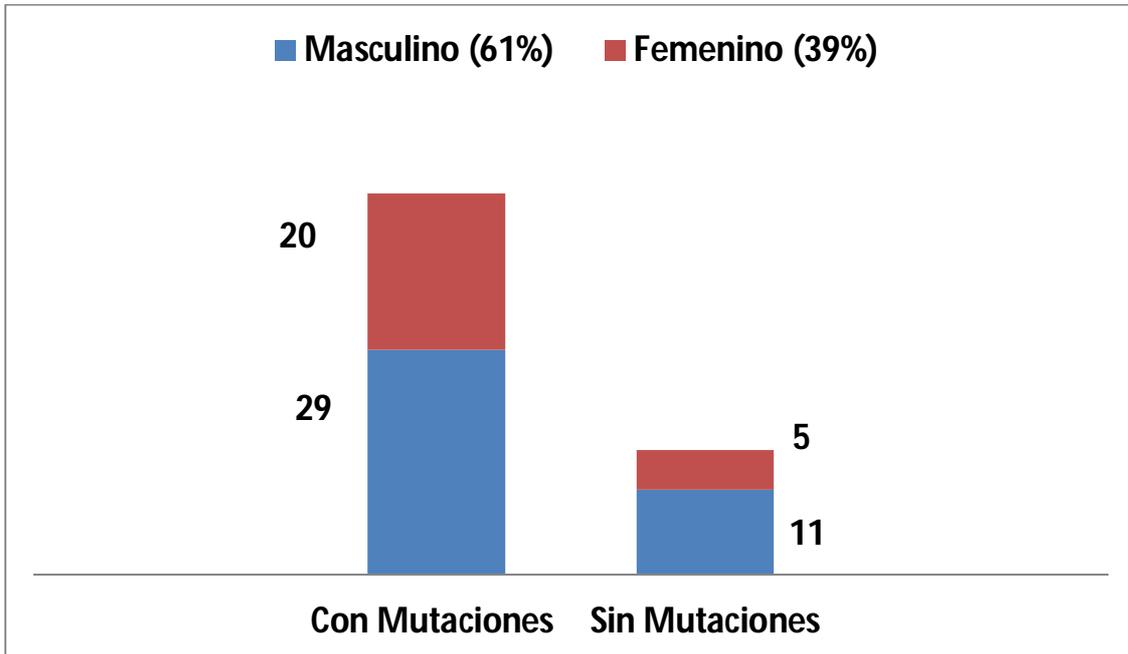
**Distribución por género de pacientes estudiados con hipoacusia no sindrómica de moderada a profunda y de tipo recesivo**

<b>Pacientes con mutaciones</b>		<b>Pacientes sin mutaciones</b>		<b>Total</b>
<b>Masculino</b>	<b>Femenino</b>	<b>Masculino</b>	<b>Femenino</b>	
29	20	11	5	65

Fuente: Informe del Laboratorio de Genética, GENLAB.

**Gráfica # 4**

**Distribución por género de pacientes estudiados con hipoacusia no sindrómica de moderada a profunda y de tipo recesivo**



Fuente: Informe del Laboratorio de Genética, GENLAB.

**Tabla # 5**

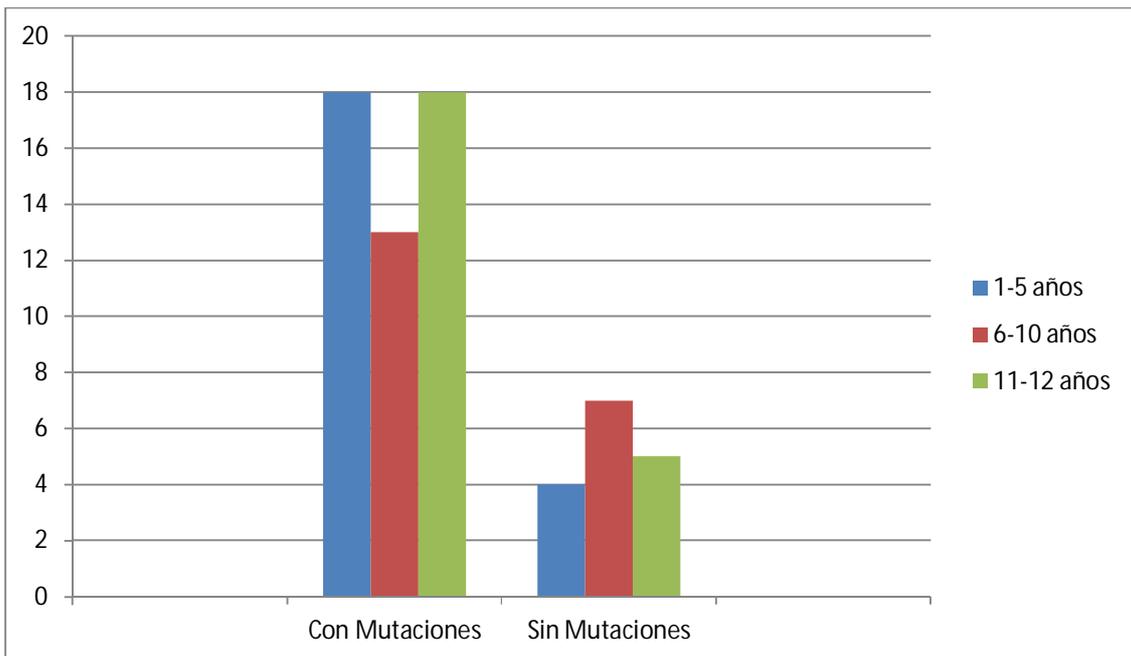
**Distribución por grupo etáreo de pacientes estudiados con hipoacusia no  
sindrómica de moderada a profunda y de tipo recesivo**

<b>Edad</b>	<b>Con Mutaciones</b>	<b>Sin Mutaciones</b>	<b>Total</b>
<b>1-5 años</b>	18	4	22
<b>6-10 años</b>	13	7	20
<b>11-12 años</b>	18	5	23
<b>Total</b>	49	16	65

Fuente: Informe del Laboratorio de Genética, GENLAB.

**Gráfica # 5**

**Distribución por grupo etáreo de pacientes estudiados con hipoacusia no  
sindrómica de moderada a profunda y de tipo recesivo**



Fuente: Informe del Laboratorio de Genética, GENLAB.

## VII) ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se analizaron las muestras de 65 pacientes con hipoacusia moderada a profunda, no sindrómica y de tipo recesivo. Las muestras de sangre fueron analizadas en búsqueda de mutaciones en *conexina26*. La importancia de estas mutaciones se debe a que son la principal causa de prevalencia de sordera congénita no sindrómica. Las mutaciones en el gen *GJB2* son responsables del 50% de la hipoacusia profunda no sindrómica, autosómica de tipo recesivo en ciertas poblaciones. (4,9)

La mayoría de casos estudiados fueron de hipoacusia profunda (75%), por lo que no se puede comparar ni concluir que sea en este tipo específico de hipoacusia donde se encuentren la mayor parte de mutaciones. Sin embargo llama la atención que hay 7 casos en los cuales se encontró más de una mutación. Entre las mutaciones adicionales encontradas figuró la W44X y sus polimorfismos los cuales no todos han sido detectados como causantes de hipoacusia. Se detectó además la mutación M34T como posible polimorfismo ya que en la comunidad científica no hay suficiente evidencia que apoye que sea causante de hipoacusia.(19)

Se detectaron 49 casos con mutaciones que representan el 75% de las muestras analizadas. La mutación 167delT, considerada la causa principal de sordera en judíos Ashkenazi, fue encontrada en dos pacientes. Un caso fue detectado de mutación 35delG la cual es la principal detectada en caucásicos descendientes de europeos nórdicos. En Estados Unidos se detectó que el 3% de la población estudiada es portadora de la mutación 35delG. En este estudio se nota un 4% del total de los casos analizados. De las 25 muestras con mutaciones clasificadas, 21(84%) de ellas presentan la mutación V27I, siendo ésta por tanto la más común en la población estudiada. Esta mutación no está reportada en la bibliografía entre las principales causas de sordera. Un tema de futura investigación sería analizar si éste puede ser un marcador potencial para un screening alelo-específico para la hipoacusia no sindrómica, autosómica recesiva en la población guatemalteca.

Existen 24 muestras pendientes de ser clasificadas sus mutaciones ya que ha habido dificultades para su amplificación, lo cual no es normal porque no sucedió con el resto de casos. Esto sugiere que los primers no encontraron un sitio adecuado por causa de alguna variación o deleción hacia alguno de los extremos del gen *GJB2*. Se deberá por tanto plantear un nuevo estudio donde el gen se analice de una forma alternativa, al menos para estos pacientes.

## VIII) CONCLUSIONES

- 1) La principal mutación encontrada es la V27I.
- 2) La mutación 35del G tiene una prevalencia similar a la encontrada en el estudio realizado en Estados Unidos, sin embargo no la más frecuente.
- 3) La mutación 167delT fue más común que la mutación 35delG.

## **IX) RECOMENDACIONES**

- 1)** Promover más estudios sobre genética en Guatemala para conocer las causas subyacentes de las principales enfermedades hereditarias.
  
- 2)** Investigar si la mutación V27I puede servir de screening en la población guatemalteca para detectar casos de hipoacusia no sindrómica, autosómica recesiva.
  
- 3)** Otorgar consejería a los padres de familia con pacientes que padecen enfermedades genéticas.
  
- 4)** Divulgar los avances tecnológicos que se logran obtener en el Instituto de Genética en Guatemala.

## X) REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) *Molecular testing in non-syndromic hearing loss* [en línea]. [Consulta: 23 septiembre 2008] Con la Colaboración del Departamento de Genética del Instituto de Salud Infantil de Atenas, Grecia.  
<http://www.gendia.net/Files/Guidelines/Guidelines%20Deafness.pdf>
- 2) *Nonsyndromic deafness*. [en línea] U.S.National Library of Medicine, Genetics Home Reference, July18 2008. [Consulta: 26 junio 2008]
- 3) SAHIN-CALAPOGLU, N. et.al. "Non-syndromic recessive hearing loss Linked to TMPRSS3 gene in the Turkish population" *S.D.U. Tip Fak, Derg.* 2005, 12(3):31-35
- 4) MAHASNEH, A. et.al. "Prevalence of Connexin26 Mutations in Patients from Jordan with Non Syndromic Hearing Loss" *Int J Hum Genet*, 2006, 6(2): 119-124
- 5) ALEXANDRINO, F. et.al. "Screening for Mutations in the GJB3 gene in Brazilian patients with nonsyndromic deafness" *J.Appl.Genet*, 2004, 45(2): 249-254.
- 6) WILLEMS, P. "Genetic Causes of Hearing Loss." *NEJM*, April 13 2000, 342(15): 1101-1109.
- 7) *What is a mutation?* [en línea] Última actualización septiembre 9,2008 Salt Lake City, Utah. [Consulta: 23 septiembre 2008]  
<http://learn.genetics.utah.edu/archive/mutations/>
- 8) STEEL, K. "A New Era in the Genetics of Deafness." *NEJM*, Nov.19 1998, 339(21): 1545-1547.
- 9) MENÉNDEZ, I. et.al. "Mutaciones del gen de la Conexina 26 (GJB2) en familias cubanas con sorderas no sindrómicas autosómicas recesivas" *Rev Cubana Invest Biomed*, 2001, 20(3):167-72
- 10) "Genetics Evaluation Guidelines for the Etiologic Diagnosis of Congenital Hearing Loss." *Genet Med*, 2002, 4(3): 162-171.
- 11) GALLO-TERÁN, J. et.al. "Prevalencia de las mutaciones 35delG en el gen GJB2, del(GJB6-D13S1830) en el gen GJB6, Q829X en el gen OTOF y A1555G en el gen del ARNr 12S mitocondrial en sujetos con hipoacusia neurosensorial no sindrómica de

- inicio congénito o en la infancia” *Acta Otorrinolaringol Esp*, 2005, 56:463-468
- 12) SHAHIN, H. et al. “Mutations in a Novel Isoform of TRIOBP That Encodes a Filamentous-Actin Binding Protein Are Responsible for DFNB28 Recessive Nonsyndromic Hearing Loss” *Am. J. Hum. Genet*, 2006, 78:144-152.
  - 13) SCOTT, D. et al. “Carrier Rates in the Midwestern United States for GJB2 Mutations Causing Inherited Deafness” *JAMA*, June 16 1999, 281(23): 2111-2216
  - 14) TÓTH, T. *Non-Syndromic Hereditary Hearing Impairment* Thesis for PH.D. Degree. University of Debrecen Medical and Health Science Center, Department of Otorhinolaryngology. Debrecen, 2003.
  - 15) RAMCHANDER, P. et al. “Prevalence of Cx26 (GJB2) Gene Mutations Causing Recessive Nonsyndromic Hearing Impairment in India.” *Int J Hum Genet*, 2005, 5(4):241-246.
  - 16) RAMCHANDER, P. et al. “Study of families of nonsyndromic hearing impairment segregating with mutations in Cx26 gene” *Indian Journal of Human Genetics*, Jul-Dec 2004, 10(2): 58-64.
  - 17) HASHEMZADEH, M. et al. “Autosomal Recessive and Sporadic Non Syndromic Hearing Loss and the Incidence of Cx26 Mutations in a Province of Iran” *Iranian J Publ Health*, 2006, 35(1):88-91.
  - 18) BAYSAL, E. et al. “GJB2 and mitochondrial A1555G gene mutations in nonsyndromic profound hearing loss and carrier frequencies in healthy individuals” *Journal of Genetics*, 2007, 87: 87-90
  - 19) KENNESON, A. et al. “GJB2 (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss” *Genet Med*, 2002, 4(4):258-274

## **XI) ANEXOS**

### **ANEXO # 1**

Universidad de San Carlos de Guatemala  
Hospital Roosevelt  
Departamento de Pediatría  
Área de Investigación

#### **CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Usted está siendo invitado a formar parte del estudio de investigación: "Mutaciones en conexina 26 en pacientes con hipoacusia no sindrómica de moderada a profunda y de tipo recesivo."

El presente formulario tiene como finalidad proporcionar la información necesaria acerca del estudio de investigación, las finalidades, el procedimiento, beneficios, riesgos, molestias y precauciones. Usted puede negarse a participar o retirarse del estudio cuando lo desee. Solicite al personal del estudio que le explique cualquier palabra que no comprenda, no debe firmar el formulario si tiene dudas que no hayan sido resueltas satisfactoriamente.

Usted o su hijo(a) tiene hipoacusia (sordera) clasificada de grado moderada, severa o profunda y ésta no se asocia a ningún otro síntoma o enfermedad. Se ha descubierto que este tipo de casos de sordera son causados por un cambio en las órdenes intrínsecas del organismo para producir una proteína, necesaria para la audición. La proteína se llama conexina 26 y algunas mutaciones (cambios) en ella son las causantes de la hipoacusia (sordera).

El estudio pretende identificar cuáles son las mutaciones en dicha proteína en la población guatemalteca con hipoacusia. Esto se llevará a cabo durante tres años y para ello se tomarán a 100 pacientes. Se incluirán en el estudio a todos los que cumplan con los requisitos de clasificación de hipoacusia (sordera) moderada, severa o profunda, no sindrómica y recesiva. A estos pacientes que deseen pertenecer al estudio se les tomará una muestra de sangre de la cual se analizará el ácido desoxirribonucleico (ADN) en busca de las alteraciones de los genes de la conexina 26.

1/2

Las muestras serán analizadas por el grupo de investigación del Laboratorio GENLAB de las instalaciones de UNICAR (Unidad Nacional de Cardiología).

Este tipo de estudio no representa riesgos, molestias o complicaciones para usted. La toma de muestra le causará un leve dolor en el lugar de punción. Su participación en este estudio es voluntaria. Usted puede decidir retirarse del estudio cuando lo desee sin ninguna penalidad ni pérdida de beneficios. Se le informa que su nombre no se divulgará y que su registro solamente podrá ser revisado por el personal médico y del cuerpo regulador (Comité de Ética).

No existe ninguna compensación de cualquier tipo por participar en este estudio y no se le cobrará absolutamente nada a usted por su participación.

Si desea formular preguntas respecto a su participación en este estudio, comuníquese con la Dra. Yomara Bustamante. Tel: 53829146 o con el Dr. Gabriel Silva. Tel: 53854403.

“He podido leer este formulario, y hacer preguntas. Mi participación en este estudio es totalmente voluntaria. Al firmar este consentimiento, reconozco que he sido informado de la naturaleza y propósito del estudio. Puedo negarme a participar en el estudio sin prejuicio alguno a mi persona.”

Consiento en participar en este estudio.

**Firma del consentimiento**

Nombre: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_  
Identificación: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**Testigo**

Nombre: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_  
Identificación: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**Persona que obtuvo el consentimiento**

Nombre y apellidos \_\_\_\_\_  
Firma: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

## ANEXO 2

### Boleta de Recolección de Datos

Hospital Roosevelt  
Departamento de Pediatría  
Investigación de Postgrado

#### **Mutaciones de Conexina 26 en niños con hipoacusia no sindrómicas de moderada a profunda y de tipo recesivo.**

Nombre: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Número de teléfono: \_\_\_\_\_

Tipo de hipoacusia: \_\_\_\_\_

Examen físico: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Árbol genealógico:

### ANEXO 3

#### Hallazgos de mutaciones en las muestras estudiadas

No	Genotipo	Mutation 1		Mutation 2		Mutation 3	
		Base and change	AA change	Base and change	AA change	Base and change	AA change
1	P						
2	Mut	PENDIENTE					
3	none	base 79, G to A	V27I hetero				
4	mut	None, but sequence is not best					
5	mut	base 79, G to A	V27I HOMO				
6	mut	167delT	167delT homo				
7	mut	base 79, G to A	V27I hetero				
8	mut	base 79, G to A	V27I HOMO				
9	none	base 79, G to A	V27I hetero	base 131, G to A	W44X hetero	base 515, G to A	W172X hetero
10	mut	None					
11	mut	base 79, G to A	V27I hetero	base 101, T to C	M34T hetero		
12	none	base 79, G to A	V27I hetero				
13	mut	None					
14	P	base 79, G to A	V27I hetero				
15	none	PENDIENTE					
16	P	None					
17	none	PENDIENTE					
18	mut	None					
19	P	base 79, G to A	V27I hetero	base 131, G to A	W44X hetero		
20	P	PENDIENTE					
21	mut	PENDIENTE					
22	none	base 79, G to A	V27I HOMO				
23	P	None					
24	P	PENDIENTE					
25	P	PENDIENTE					
26	P	PENDIENTE					
27	P	PENDIENTE					
28	P	PENDIENTE					
29	P	PENDIENTE					
30	P	PENDIENTE					
31	P	PENDIENTE					
32	P	PENDIENTE					
33	P	PENDIENTE					
34	P	PENDIENTE					
35	P	PENDIENTE					
36	P	PENDIENTE					
37	P	PENDIENTE					
38	P	PENDIENTE					
39	P	PENDIENTE					
40	mut	PENDIENTE					
41	none	base 79, G to A	V27I hetero				

42	P	None					
43	none	PENDIENTE					
44	none	None					
45	mut	None					
46	mut	base 79, G to A	V27I hetero				
47	none	base 79, G to A	V27I HOMO				
48	none	None					
49	mut	None					
50	mut	base 380, G to T	R127L hetero				
51	P	base 79, G to A	V27I HOMO				
52	none	PENDIENTE					
53	mut	None					
54	mut	35delG	35delg	base 439, G to A	E147K hetero		
55	mut	base 79, G to A	V27I hetero	base 94, C to T	R32C hetero	base 131, G to A	W44X hetero
56	mut	base 79, G to A	V27I hetero	base 439, G to A	E147K hetero		
57	mut	167delT	167delT	base 250, G to T	V84L hetero		
58	mut	base 79, G to A	V27I hetero				
59	none	base 79, G to A	V27I hetero				
60	mut	None					
61	mut	base 79, G to A	V27I HOMO				
62	none	base 79, G to A	V27I hetero				
63	none	None					
64	mut	None					
65	none	base 79, G to A	V27I hetero				

El autor concede permiso para reproducir total o parcialmente y por cualquier medio la tesis titulada: “*Mutaciones de Connexina 26 en niños con hipoacusia no sindrómica de moderada a profunda y de tipo recesivo.*” para propósitos de consulta académica. Sin embargo, quedan reservados los derechos de autor que confiere la ley, cuando sea cualquier otro motivo diferente al que se señala lo que conduzca a su reproducción o comercialización total o parcial.