

PERFIL AUDITIVO DE LA MUTACIÓN A1555G EN EL DNA MITOCONDRIAL

Lema " Las alas son para volar" .

Autor: Dra. Margarita Mesa Marrero

Introducción

La hipoacusia neurosensorial (HNS) es una patología que tiene una elevada prevalencia en cualquier sociedad y que plantea un problema médico-social a nivel mundial. Afecta aproximadamente al 10% de la población general, al 23% de individuos entre 65 y 75 años y al 30-40% de individuos mayores de 75 años en población norteamericana (1, 2). En pacientes adultos la presbiacusia es la causa más frecuente de déficit auditivo (2,3). En recién nacidos la prevalencia de hipoacusia es de al menos 0'8-1/ 1000 neonatos. Se considera que aproximadamente el 50% de las hipoacusias profundas de la infancia se deben a factores genéticos (4,5).

La hipoacusia de causa genética comprende un grupo altamente heterogéneo de enfermedades (6,7) y se clasifica según las manifestaciones clínicas, el patrón de herencia y el locus afecto.

Desde el punto de vista clínico en la mayoría de los casos (70%) el déficit auditivo no está asociado a otras patologías, y se denomina como no sindrómico (8), el 30% restante se asocia a otros tipos de manifestaciones clínicas y son llamados sindrómicos. Están descritas cerca de 400 síndromes en los que puede existir déficit auditivo asociado a déficit en otros órganos.

Desde el punto de vista del patrón de herencia las hipoacusias genéticas se dividen en autosómicas recesivas (77-88%) que son las más frecuentes, autosómicas dominantes (10-20%), y ligadas al cromosoma X (1-2%) (9). La frecuencia de la

hipoacusia de transmisión mitocondrial es bastante variable y comprende un rango que va desde menos del 1% a más del 20% en algunas poblaciones.

Por último las hipoacusias se pueden clasificar desde el punto de vista genético según el locus y el gen implicado; en el genoma nuclear (autosómico o sexual) han sido mapeados al menos 79 loci causantes de hipoacusia no sindrómica y al menos han sido identificados 31 de los genes causales (10). Este modo de clasificación será en un futuro el más específico y el tenderá a generalizarse su utilización a medida que se conozcan más genes implicados en la hipoacusia.

Aunque el mtDNA fue descubierto en 1963 (11), hasta 1988 no fueron encontradas mutaciones con trascendencia patológica, o sea que sólo hace 15 años que estamos en la era de la “medicina mitocondrial” y son muchos los aspectos aún desconocidos (12).

Las mutaciones en los genes del mtDNA se han identificado como causa de HNS tanto sindrómica, como es el caso del síndrome MELAS (encefalopatía, acidosis láctica, crisis epilépticas) que presenta una alta incidencia de HNS o del síndrome de Kearns-Sayre y también como causa de HNS no sindrómica (13,14).

En otros casos, se observan variaciones fenotípicas intrafamiliares e interfamiliares, o sea, una misma mutación origina casos de hipoacusia no sindrómica o sindrómica en una misma familia o en familias no relacionadas que presenten la mutación. Este es el caso de la mutación A7445G en el nucleótido adyacente al gen de tRNA Ser (UCN) y que era descrita en tres familias independientes, primero en Escocia (15) y luego confirmada en Nueva Zelanda y Japón (16,17) y en las que se vieron casos de hipoacusia de aparición normalmente en la segunda década de la vida y no asociada a otra manifestación clínica y una variante en la que la hipoacusia se asociaba a queratoderma palmoplantar. La penetrancia variable de esta mutación y su asociación

variable con el queeraterma queda aún sin explicar. Otro ejemplo es la Cins7442 (inserción de una citosina en la posición 7442) en el tRNA Ser (UCN) que fue descrita en 1995 como causa sindrómica de hipoacusia asociada a ataxia, mioclonos y artropatía (18) y más recientemente en una familia alemana como causa de hipoacusia no sindrómica (19).

Finalmente, otras mutaciones del mtDNA son solamente causa de hipoacusia, dos en el gen tRNA Ser (UCN), la T7510C (20) y la T7511C (21) y dos en el gen que codifica el 12s rRNA, que son la T1095C (22) y la A1555G (23). En los últimos 10 años se han descubierto todas las alteraciones del mtDNA conocidas como causa de HNS aislada y queda un amplio camino por recorrer en su conocimiento.

La frecuencia de las mutaciones mitocondriales difiere mucho de un país a otro. La mayoría de mutaciones que causan hipoacusia neurosensorial no sindrómica han sido descritas en un pequeño número de familias. Sin embargo, la mutación A1555G parece ser más frecuente que las otras (24). La prevalencia de dicha mutación en población europea con hipoacusia neurosensorial (HNS) varía del 0'5% al 2'4% según diversos estudios (25, 26, 27, 28). La prevalencia en población española con HNS familiar no sindrómica, independientemente del modo de herencia y de la edad de inicio es más alta que la de los otros países del continente citándose frecuencias del 15% (29,30), 27'1% (31), y 28'5% (32). Por lo tanto, esta mutación es una causa frecuente de HNS en nuestro medio y también parece serlo en países asiáticos. En Japón la mutación A1555G en el gen 12s rRNA del mtDNA fue encontrada en aproximadamente el 3% de pacientes con HNS y en el 10% de individuos en los que fue llevado a cabo un implante coclear por estar afectados de HNS profunda de aparición precoz (33), se ha encontrado en el 7'7% de estudiantes de un colegio para sordos de Mongolia (34) y en el 5'3% de población Indonesa con HNS (35). En contraste, la mutación no fue encontrada en 106

pacientes hipoacúsicos en Grecia (36) o en 202 enfermos con HNS no sindrómica de inicio precoz en el Reino Unido (37). Por tanto, la prevalencia real de la mutación es aún incierta.

Se sabe que la mutación A1555G del mtDNA tiene una distribución mundial, con más de 120 familias conocidas portadoras de la mutación, detectadas en los 5 continentes. Afecta a todas las razas sin un haplogrupo/os común/es (31, 38, 39) por lo que no parece haber ninguna explicación de su alta frecuencia en España o en países asiáticos.

La mutación se produce por la sustitución de una base nucleotídica, la adenina, por otra, la guanina, en el gen 12s RNA ribosomal en el DNA mitocondrial, ha sido ampliamente descrita como causa de HNS no sindrómica, pero también se ha publicado su asociación a otras manifestaciones clínicas diferentes de forma hereditaria en 2 familias independientes en las que la pérdida auditiva se asocia en un caso a enfermedad de Parkinson (40) y en la otra familia a miocardiopatía (41).

La primera identificación de esta mutación, que a su vez era el primer defecto molecular causante de HNS no sindrómica identificado, fue en 1993 (23), hace sólo 10 años, en una familia árabe-israelí muy grande, en la que se observó una HNS no sindrómica con un patrón de herencia claramente matrilineal; muchos de los miembros de esta familia tenían una HNS severa o profunda de comienzo en la infancia, unos pocos en la adolescencia y los menos en la edad adulta, con un porcentaje no despreciable de parientes con una audición normal. Esta expresión clínica tan variada de la alteración genética sugirió 2 modelos de transmisión, uno de herencia mitocondrial y otro de herencia recesiva. El gen mitocondrial afecto fue identificado pero aún no se ha logrado descubrir el gen autosómico recesivo nuclear al que se considera modulador de

la expresión fenotípica de la mutación mitocondrial, se sabe que alrededor del marcador D8S277 podría haber un candidato (42).

Ha sido demostrado por numerosos estudios que la A1555G del mtDNA hace al individuo susceptible a la ototoxicidad inducida por los aminoglucósidos (23, 31,43, 44, 45,46,47) a dosis que normalmente no producirían daño coclear. Pero estos antibióticos no son indispensables para el desarrollo del déficit auditivo, sino que la HNS se puede desarrollar sin la necesidad de la exposición a este tipo de medicamentos (20,31,33,39, 47) con una expresión fenotípica muy variable que va desde la normalidad auditiva hasta hipoacusias precoces y profundas. Esta mutación supone un ejemplo de cómo los factores ambientales influyen en la expresión clínica de una alteración genética. Sin embargo, la relación entre mutación mitocondrial-genes nucleares moduladores-factores ambientales no ha sido aún aclarada.

En España hay trabajos (31, 32) sobre la expresión de la mutación en pacientes con HNS que revelan que dicha mutación es una causa común de hipoacusia postlocutiva. Sin embargo el significado patológico de esta alteración génica aún no está bien entendido. Parece claro que los aminoglucósidos (AG) aceleran el desarrollo del déficit auditivo pero tampoco queda clara la patogénesis de dicho proceso; la mutación A1555G que ocurre en el gen 12s rRNA mitocondrial está en la misma región que el homólogo 16s en la bacteria E. coli, donde las mutaciones le confieren resistencia a la estreptomicina. Ha sido demostrado que una mutación en esa misma zona confiere a E. coli resistencia antibiótica a los AG. Por lo tanto existe la hipótesis de que la mutación A1555G cambia el ribosoma humano y lo hace más parecido al homólogo bacteriano susceptible a AG de la E.coli con el consiguiente efecto tóxico ante la toma de este tipo de fármaco. Pero esta hipótesis haría pensar que el daño coclear sólo ocurriría asociado al uso de AG y que si no hay exposición no hay patología coclear (23). La aparición de

hipoacusia en ausencia de este tipo de medicamentos podría estar explicada porque la región 12s rRNA mitocondrial es una zona altamente conservada donde el mRNA es decodificado, y al existir la mutación se produce un déficit traslacional del mRNA que se manifiesta en un déficit de la capacidad reparadora del daño coclear producido por cualquier causa, ya sea ruido, edad, toma de AAS; llevando a la muerte celular (48). Esta sería la “teoría del déficit reparador” que podría explicar la variedad fenotípica encontrada en los pacientes portadores de la mutación.

Otra posible explicación es la “teoría energética” que se deriva de que el aporte energético del órgano de Corti (células ciliadas) y de la estría vascular tiene como origen la fosforilación oxidativa mitocondrial, de tal forma que las mutaciones del DNA mitocondrial producen un déficit de energía en forma de ATP y esto lleva a la muerte celular (49). Las células que mayor número de mitocondrias tienen a nivel coclear son las células ciliadas externas del órgano de Corti y las células intermedias de la estría vascular que parecen ser las primeras en afectarse ante una alteración del DNA mitocondrial o ante cualquier déficit energético o daño ótico. Las mitocondrias pueden dividirse y multiplicarse según los requerimientos de la célula, independientes de la división celular, o sea son como pequeños organismos vivos dentro de la propia célula, de tal forma que en estados de máxima actividad aumentan su número para producir mayor cantidad de energía y cubrir los requerimientos de la celulares. Se ha observado que las células ciliadas externas de la espira basal del caracol contienen mayor número de mitocondrias lo que explicaría que las primeras frecuencias en afectarse en las alteraciones genéticas mitocondriales sean las altas, aún así son muchas las lagunas que quedan por dilucidar en cuanto al mecanismo de producción de la hipoacusia por parte de las mutaciones del DNA mitocondrial.

Nuestro estudio tiene como objetivo estudiar la prevalencia de la mutación A1555G en el gen 12s rRNA del DNA mitocondrial en una población previamente seleccionada en la que los pacientes padezcan HNS postlocutiva hereditaria con un patrón de de transmisión materno compatible con herencia mitocondrial y con al menos 2 familiares afectados. Y después determinar las características audiométricas de las familias positivas a la mutación.

Pacientes y métodos

Pacientes y familias

Nosotros estudiamos inicialmente la mutación A1555G del mtDNA en 15 pacientes pertenecientes a 15 familias no consanguíneas y no relacionadas a partir de un caso índice por familia que fue un paciente que acudió al hospital por diferentes patologías otorrinolaringológicas (vértigo, hipoacusia, insuficiencia respiratoria nasal) y que al preguntar por su historia otológica hallamos una HNS postlocutiva familiar con un patrón de herencia matrilineal. En todos estos pacientes iniciales hicimos un árbol genealógico lo más completo posible. Los criterios de inclusión de estos pacientes a demás obligaban a que la HNS fuera no sindrómica y a que en la familia hubiera al menos dos miembros afectados.

Resultaron positivos para la mutación buscada 7 casos de los 15 iniciales. Se hicieron detecciones de la mutación a todos los parientes de los casos positivos que acudieron a nuestra consulta (total 18 familiares). En los 8 casos negativos para la mutación A1555G mtDNA buscamos otras posibles mutaciones menos frecuentes del mtDNA: A7445G y Cins7442 en el gen del tRNA Ser(UCN).

Métodos

Tanto en los casos índice positivos como en sus familiares se realizó una historia clínica preguntando siempre el antecedente de toma de aminoglucósidos, el uso o exposición habitual a otros agentes ototóxicos (AAS, ruido), edad de comienzo de la hipoacusia. Se preguntó por otra clínica otológica a parte de la hipoacusia como los acúfenos y vértigo. A todos los pacientes se les realizó una exploración otomicroscópica y una audiometría tonal liminar por vía ósea y aérea. Se valoró el tipo de curva audiométrica y en los pacientes con déficit auditivo se calculó el grado de pérdida.

Se consideró que estaban afectados de hipoacusia si tenían un umbral en tonos puros por debajo de 20 dB en alguna de las frecuencias estudiadas.

Una audiometría era considerada simétrica si la configuración en los dos oídos era igual y la diferencia del valor medio entre ambos oídos en cada frecuencia era menor de 15 dB.

Se determinó el tipo de curva audiométrica según la clasificación de Liu y Xu (50) en:

- Rápidamente descendente
- Descendente
- Residual
- Plano
- En “U”
- Ascendente

La intensidad de la hipoacusia se registró mediante la siguiente clasificación audiométrica de las deficiencias auditivas:

- Ligera (21-40 dB)
- Moderada (41-60 dB)

- Severa (61-80 dB)
- Profunda (81-100 dB)
- Cofosis (>100 dB)

Y el cálculo del grado de déficit auditivo según la tabla publicada por la AMA.

A todos los individuos se les hizo firmar un consentimiento informado antes de la extracción de sangre y en caso de menores de edad se hizo firmar al mayor de edad responsable directo.

El estudio de DNA se realizó a partir de una muestra de sangre periférica. Se realiza una extracción de 10-15 ml de sangre en un tubo con EDTA a todos los pacientes. De cada muestra sanguínea se extrae el DNA total mediante un método clásico con fenol/cloroformo/isoamilalcohol y se amplifica por medio del sistema de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) conteniendo el fragmento de PCR la región de interés del gen ribosomal 12S utilizando primers específicos (forward: nt 1450-1470; reverse: nt 1721-1741).

Los fragmentos de PCR se purificaron y se secuenciaron en un secuenciador automático ABI Prism 410, utilizando la química del Big-Dye terminator. La secuencia de DNA se analizó manualmente y automáticamente y los cambios nucleotídicos se compararon con la secuencia de referencia del DNA mitocondrial humano para detectar la mutación, el cambio de la base nucleotídica adenina en la posición 1555 del DNA mitocondrial por una guanina (Figura 1).

En caso de resultado negativa se realizó la búsqueda de las mutaciones A7445G y Cins7442 en el gen del tRNA Ser (UCN).

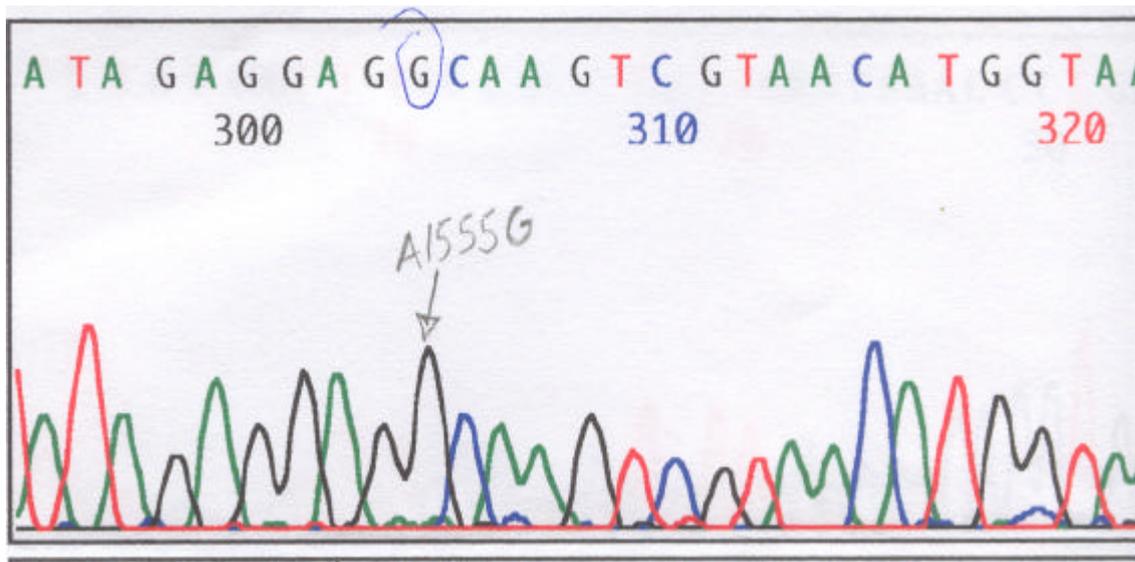


Figura 1: Análisis de la secuencia de DNA donde se observa la sustitución de el nucleótido adenina por una guanina.

Resultados

De las 15 casos índice estudiados de las 15 familias con hipoacusia neurosensorial postlocutiva con un patrón de herencia mitocondrial, 7 resultaron positivos para la mutación A1555G del gen 12s rRNA del mtDNA (figura 2). Las mutaciones A7445G y Cins7442 en el gen del tRNA Ser (UCN) estudiadas en los pacientes negativos a la A1555G también resultaron negativas.

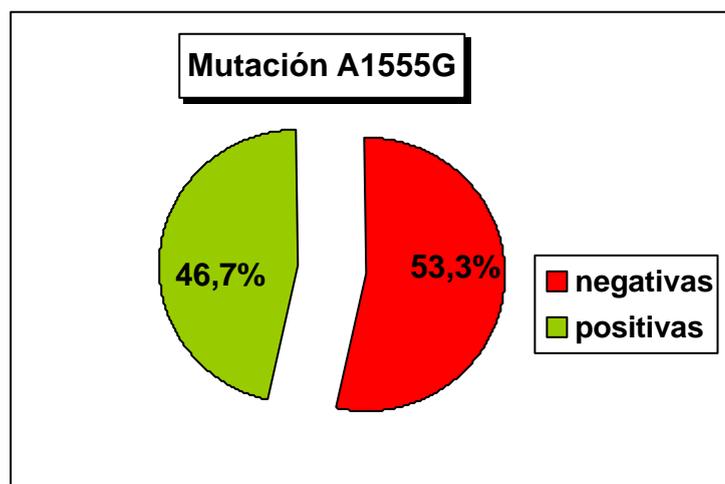


Figura 2. Siete de las 15 familias estudiadas (46'7%) presentan la mutación A1555G mtDNA.

De las 7 familias positivas para la mutación se estudiaron un total de 25 individuos (7 casos “índice” y 18 parientes). Esta nueva población a estudio consta de 21 mujeres y 4 hombres con un rango de edad de 7-84 años con una media de 37’5 años. Las familias procedían de distintas regiones de España aunque los casos “índice” residían todos en Cataluña. Los 7 casos “índice” acudieron a la consulta con diferentes patologías (1 consultó por vértigo, 1 por insuficiencia respiratoria nasal y los 5 restantes por hipoacusia) pero al preguntarles por la patología auditiva todos padecían de HNS postlocutiva y al indagar en sus antecedentes familiares y realizar el árbol genealógico descubríamos el patrón hereditario materno que nos condujo en un inicio a incluirlos en nuestra investigación.

Del total de 18 parientes estudiados, según la técnica antes descrita para la mutación A1555G mtDNA, ésta es detectada sólo en 16 pacientes. Si se confirma por técnicas avanzadas (biopsia de piel o músculo y estudio del DNA en estos tejidos) que estos dos individuos no son portadores de la mutación estaríamos ante el primer caso descrito en la literatura de negatividad de la mutación en familiares directos (hijos) de una mujer portadora. Hay que señalar que nosotros hacemos la determinación sobre leucocitos de sangre periférica, pues no es posible el análisis desde hueso temporal en individuos vivos, y esto puede que no sea reflejo directo del mtDNA coclear, aunque es bien conocido que la acumulación de las mutaciones del mtDNA ocurre frecuentemente en tejidos estables como el encéfalo o la cóclea de ahí que supongamos que el nivel de mutación en cóclea debe ser aún mayor (51).

De estos 18 parientes encontramos 7 pacientes con hipoacusia (38’89%), todas postlocutivas. En los casos que presentaron déficit auditivo encontramos una población con un rango de 25-78 años y una media de 45’6 años. Y aún es más joven la población que no presentó hipoacusia con un rango de edad de 7-44 años con una media de 20

años. Por lo tanto parece que hay un factor edad dependiente en la penetrancia de la mutación, de tal forma que a mayor edad mayor probabilidad de estar afecto de HNS.

Los pacientes que presentaron antecedente de uso de aminoglucósidos fueron 9 (tomando como cierta el antecedente de administración si el paciente refiere pérdida de audición en los días posteriores al uso de un medicamento aunque no sepan con certeza cual fue, como ocurre en 2 de los casos). 2 familias del total de las 7 familias a estudio no tienen ningún familiar que conozca el antecedente de toma de aminoglucósidos y las otra 5 sí. De los pacientes que conocen la administración del fármaco 4 son casos “índice” y 5 son familiares. Los pacientes de los que se conoce la edad de la toma del fármaco son 4 con hipoacusias inmediatas tras la administración a la edad de 6, 17, 28 y 33 años, de estos datos se deriva que la administración de estos fármacos lleva a una hipoacusia a edades precoces de la vida con una media en nuestro estudio de 23’5 años.

Como síntomas otológicos asociados 5 pacientes de los 25 totales presentaron acúfenos que en todos los casos fueron de tonalidad grave y de localización bilateral y el 100% de estos pacientes reconocían la toma de aminoglucósidos como causa de este síntoma acompañante. 6 de los 25 pacientes presentaron vértigo periférico y sólo 3 pacientes tenían el antecedente de los AG por lo que el daño vestibular no parece estar relacionado con su toxicidad.

La HNS es por tanto la manifestación clínica más frecuente, a nivel ótico, en estos pacientes (14 casos), con una hipoacusia de percepción bilateral postlocutiva, simétrica en todos los pacientes salvo en una mujer de 78 años que presenta el antecedente de cirugía otológica, según la explicación de la misma paciente se le realizó un “injerto para escuchar más” (¿estapedectomía?) existiendo ahora una asimetría en el tipo de curva audiométrica pero no en la intensidad de pérdida auditiva entre ambos

oídos. Las frecuencias afectas varían pero siempre incluyen las más altas, que su vez son las que presentan mayores porcentajes de pérdida auditiva.

Las curvas audiométricas patológicas que más frecuentemente encontramos son las descendentes (total de 11) seguidas de las residuales. No se observan curvas ascendentes o en “U” que parece demostrar que las frecuencias graves o medias nunca están afectas si están los tonos altos conservados. Es también importante citar el porcentaje de curvas normales (11 en total). Figura 3.

Si observamos el tipo de curva audiométrica, dividiéndola en pacientes que han tomado o no aminoglucósidos detectamos que en pacientes con toma del antibiótico (9 casos) las curvas son todas patológicas, con 4 pacientes con curvas residuales, 3 con curvas rápidamente descendentes y 2 con curvas moderadamente descendentes, siempre con mayor afectación de frecuencias agudas. En pacientes en los que no se documenta la administración de antibióticos (16 pacientes) la mayoría de curvas son planas coincidiendo todos con individuos de audición normal. Hay un individuo con una curva descendente pero con un porcentaje de déficit auditivo comprendido en los rangos de audición normal. Los pacientes con hipoacusia sin AG (5 casos) presentan en dos casos una curva rápidamente descendente y otros dos una curva moderadamente descendente. Hay por último una paciente con una asimetría en la curva audiométrica, que ya expliqué anteriormente, moderadamente descendente en oído derecho y residual en oído izquierdo que tampoco recuerda el antecedente de AG.

Por lo tanto en individuos que no han tomado AG la mayoría de curvas son normales, pero si existe hipoacusia la afectación mayor se produce en las frecuencias agudas. Todos los pacientes que recibieron AG tienen una curva patológica. Figura 4.

Normal-Plana	10
Rápidamente descendente (RD)	6
Moderadamente descendente	5
Residual	5
En "U"	0
Ascendente	0

Figura 3: clasificación del perfil audiométrico.

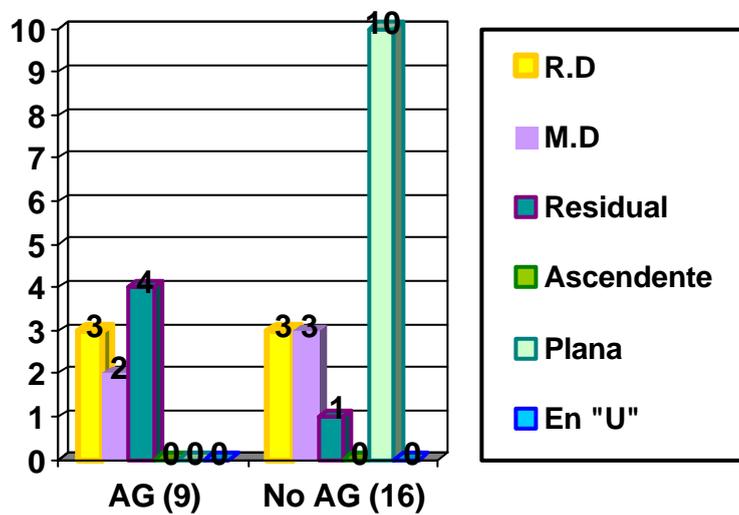


Figura 4. Gráfico que expresa el tipo de curva audiométrica según el antecedente de toma de aminoglucósidos.

Si valoramos el grado o porcentaje de pérdida auditiva nos encontramos con 11 pacientes con audición normal del total de 25 (44%), 3 pacientes cofóticos, 5 con HNS profunda, 4 grado severo y 2 leve. No hay ningún grado moderado. Figura 5.

Normal	11 (44%)
Leve	2 (8%)
Moderada	0 (0%)
Severa	4 (16%)
Profunda	5 (20%)
Cofosis	3 (12%)

Figura 5: clasificación de la intensidad de pérdida auditiva

Según la toma o no de aminoglucósidos nos encontramos que los pacientes con antecedente de AG presentan hipoacusia todos: 3 pacientes con cofosis, 3 con HNS profunda, 2 con HNS severa y uno con una pérdida leve. Si observamos aquellos sin dicho antecedente observamos como precisamente lo más frecuente es una audición normal (11 de los 16 pacientes) y de los 5 pacientes que tienen pérdida 2 en dos casos se trata de una pérdida profunda y 2 severa. Un único paciente tiene una pérdida auditiva leve. Figura 6.

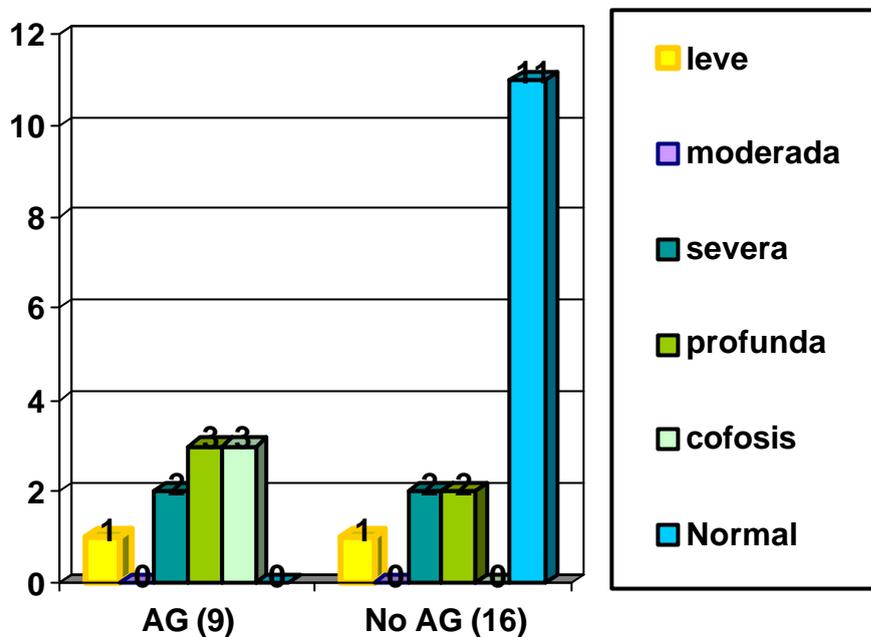


Figura 6. Intensidad de la pérdida auditiva según la toma o no de aminoglucósidos

Observamos que de los individuos con audición normal, el 90' 9 % tienen una edad inferior a 24 años y la edad entre los que presentan pérdida auditiva se encuentra entre los 25 y 84 años. Si todos los individuos con toma de AG presentaron pérdida auditiva, y algunos de ellos en edad infantil y otros en edades menores a estos 24 años, parece clara la deducción de que en nuestra población la pérdida auditiva, dependiente de la mutación, no tiene una edad de presentación en la niñez ni en la adolescencia salvo que el individuo sea expuesto a la administración de este tipo de antibióticos. Sin embargo, ninguno de nuestros casos presenta una audición normal a la edad de 45 años y parece evidente que la hipoacusia aparece de manera más precoz que en población general en estos individuos, independientemente del antecedente de AG, como si se tratara de una presbiacusia precoz.

Discusión

El DNA mitocondrial es transmitido sólo por mujeres, ya que las mitocondrias, con su material genético, son organelas citoplasmáticas y durante la fecundación es el

óvulo el que aporta el citoplasma y sus organelas al cigoto; el espermatozoide se limita a transmitir el DNA nuclear. De esta forma los varones recibirán el material genético mitocondrial de sus madres pero ellos no lo transmitirán a su descendencia por lo que aunque son portadores no transmiten la mutación.

Nosotros preseleccionamos a las familias a estudio incluyendo sólo aquellas con un patrón de transmisión de la HNS no sindrómica compatible con herencia mitocondrial y en esta población detectamos la mutación en 7 familias de las 15 estudiadas (46,7%) lo que demuestra la alta frecuencia de esta mutación en la población española. Otros autores ya han publicado que la HNS debida a la mutación A1555G del gen 12S rRNA del mtDNA presenta una alta prevalencia en nuestro medio, en pacientes con HNS, 15-30% (29, 30, 31, 32). La mayor prevalencia encontrada por nosotros podría estar justificada por el hecho de que realizamos el screening mutacional sólo en aquellas familias cuyo pedigrí ya nos sugiere la transmisión matrilineal de la patología.

Los aminoglucósidos son un grupo de antibióticos que se introdujeron en el mercado en los años 50. Son unos antibióticos relativamente baratos que continúan siendo fármacos de primera línea en algunas enfermedades que presentan una amplia distribución mundial, como la TBC (OMS: Estreptomina como fármaco de primera línea y la Kanamicina y Amikacina son antituberculosos de 2ª línea) también se siguen utilizando como profilaxis antibiótica postquirúrgica o tratamiento de infecciones quirúrgicas de manera generalizada. Son muchas las publicaciones que han indicado la ototoxicidad de los aminoglucósidos en pacientes con la mutación A1555G del mtDNA (23, 31,43, 44, 45, 46, 47), sin embargo, el mecanismo de acción de los mismos en la producción de hipoacusia no ha sido dilucidado. Parece que hay, por lo menos, dos mecanismos de producción de ototoxicidad diferentes: uno dosis dependiente, y otro que es el que hace susceptibles a los individuos portadores de la mutación que no es

dosis dependiente, sino que es capaz de producir la alteración auditiva desde la primera dosis. El 100% de los pacientes de nuestro estudio que tomaron AG presentaron HNS bilateral permanente y progresiva. Existe la hipótesis de que la mutación A1555G cambia el ribosoma humano y lo hace más parecido al homólogo bacteriano susceptible a AG con el consiguiente efecto tóxico ante su administración.

El hecho de que el 100% de los pacientes con antecedente de toma de AG tengan una hipoacusia y que éstas, salvo en un caso, sean de grado severo, profundo y cofosis nos plantea la pregunta: ¿se debe realizar de manera sistemática el screening de la mutación antes de la administración de AG? La prevalencia de la mutación en nuestra población de estudio (casi del 50%) parece indicar que al menos se debería preguntar al paciente por antecedentes familiares de hipoacusia y realizar un árbol genealógico de la transmisión de dicha patología y si existe la sospecha de un patrón materno aconsejaría el cambio de grupo de antibióticos, si el caso lo permite, o la realización de la detección de la mutación pre-tratamiento, si se pudiera.

Hay que pensar que muchas de las familias con un patrón de herencia mitocondrial son confundidas con frecuencia con herencia autosómica dominante y que ,por otra parte, no se conoce la prevalencia real de la mutación por lo que parece aún difícil poder indicar en qué población se debería realizar el screening; si realizarlo de manera universal al nacimiento, si sólo hacerlo antes de administrar AG, si únicamente antes de administrar AG en pacientes con HNS genética con cualquier patrón hereditario o si se debiera limitar a aquellos en que el pedigrí sea compatible con una herencia matrilineal.

Son necesarios nuevos estudios para valorar el coste-eficacia de los métodos de screening y buscar técnicas de detección rápida.

Por otra parte se desconoce el porqué los AG dañan la célula coclear y dejan ilesos otros órganos como el riñón, músculo o SNC afectados en otro tipo de patologías mitocondriales y/o en la ototoxicidad por AG dosis-dependiente.

Otra pregunta que queda por contestar es por qué los AG no generan daño a nivel vestibular como a nivel coclear. Ha sido citado el daño vestibular de estos antibióticos en animales de experimentación y en humanos y algunos antibióticos como la estreptomicina ha sido descrita más como vestíbulo-tóxica que como cócleo-tóxica (52). En nuestro estudio encontramos 3 pacientes con clínica vertiginosa y antecedente de toma de AG pero en ninguno de ellos parece haber relación directa entre la administración del fármaco y la clínica. Sin embargo, 5 pacientes tuvieron acúfenos bilaterales de tonalidad grave y persistentes, el 100% lo relatan en relación directa con la toma de AG y con la hipoacusia consecuente.

Pero la hipoacusia también aparece en 5 pacientes de manera independiente a los AG y sólo 1 refiere el antecedente de otro ototóxico (toma habitual de pequeñas dosis de AAS). La mutación también parece expresarse clínicamente de manera precoz en esta población. Entre los individuos con audición normal, el 90' 9 % tienen una edad inferior a 24 años, sin embargo entre estos pacientes parece haber algunas curvas audiométricas que sin poderse considerar deficitarias apuntan descensos no propios en edades tempranas.

Este gen parece tener una penetrancia edad-dependiente con una edad de aparición de la hipoacusia temprana, <40 años en el 82'5% de los casos (31). En nuestros pacientes parece clara también la influencia de la edad en la manifestación de la clínica, la penetrancia en >45 años era del 100%, esto parece demostrar la presencia de factores modificadores ya sea genéticos o ambientales que influyen en la expresión fenotípica.

Por otra parte ningún paciente con hipoacusia independiente de AG presentó acúfenos, frente a los 5 que los presentaron en los que habían tomado AG. Esta diferencia queda sin explicar, dado el tamaño de la muestra no se pueden sacar conclusiones a este respecto.

Parece ser que la ototoxicidad de los AG en sí mismos y la mutación A1555G sigan diferentes caminos patogénicos que convergen en la muerte de las células ciliadas y en la expresión en el fenotipo de sordera. Faltan estudios que expliquen las diferencias interindividuales en la expresión de la mutación en miembros de una misma familia o las diferencias en la expresividad del gen entre una familia y otra.

Hay dos de nuestros hallazgos que necesitan una investigación más profunda para poderle dar una explicación. Por una parte, los dos hijos negativos a la mutación de una paciente portadora de la misma y con una HNS bilateral de intensidad severa, en los que si se confirma la negatividad sería el primer caso de no transmisión de la mutación madre-descendencia y por otro lado el caso de la paciente con asimetría de la curva audiométrica (no del porcentaje de pérdida) que refiere haber sido intervenida quirúrgicamente de una supuesta otosclerosis, enfermedad en la que ya se ha reconocido una posible herencia poligénica y uno de los posibles genes implicados podría ser el A1555G 12S rRNA del mt DNA.

Los primeros implantes cocleares han sido probados con éxito en pacientes portadores de la mutación y con HNS profunda tanto prelocutiva como postlingual (53, 54).

La negatividad de las mutaciones A7445G y Cins7442 en el gen del tRNA Ser (UCN) demuestra la escasa frecuencia de las mismas frente a la alta frecuencia de la A1555G del gen 12S rRNA.

Conclusiones

La mutación A1555G del mtDNA tiene una gran frecuencia en población española. Es importante el preguntar los antecedentes personales y familiares de hipoacusia realizando un árbol genealógico antes de la administración de AG. Los AG producen en pacientes portadores de la mutación una HNS bilateral con un alto grado de déficit desde la primera dosis, es decir, no es dosis dependiente. También se produce HNS progresiva de inicio temprano en estos pacientes aunque no es rara la presencia de individuos con un fenotipo normal. Las características audiométricas de la mutación son las de una hipoacusia neurosensorial bilateral, simétrica con mayor afectación de frecuencias agudas y con mayor grado de pérdida en pacientes con el antecedente de toma de AG.

Es importante remarcar la importancia de la sospecha clínica para la realización de un correcto diagnóstico de esta patología y destacar el carácter preventivo que adquiere dicho diagnóstico permitiendo la realización del consejo genético así como evitar la toma de aminoglucósidos en familiares portadores de la mutación y no afectados de hipoacusia.

Bibliografía

1. Johns, M.; Brackmann, D.; Kimmelman, C.; et al. —Goals and mechanisms for training otolaryngologists in the area of geriatric medicine. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 100 (4):262-65. 1989.
2. Nadol, JB. —Hearing loss. *N Engl J Med.* 329:1092-102. 1993.
3. Gorlin, RJ.; Toriello, HV.; Cohen, MM Jr (eds). —Heredity hearing loss and its syndromes. New York: Oxford University Press. 43-61, 1995.
4. Brown, KS. —Genetic and environmental factors in profound prelingual deafness. *Med Clin North Am.* 53:741-72. 1969.
5. Morton, NE. —Genetic epidemiology of hearing impairment. *Ann N Y Acad Sci.* 630: 16-31. 1991
6. Fischel-Ghodsian, N. —Mitochondrial deafness mutations reviewed. *Hum Mutat* 13:261-70. 1999.
7. Van Camp, G.; Smith, RjH. —Maternally inherited hearing impairment. *Clin Gene.t* 57:409-14. 2000.
8. Cohen, MM.; Gorlin, RJ. —Epidemiology, etiology and genetic patterns. In: Gorlin, RJ.; Toriello, HV.; Cohen, MM Jr (eds). Heredity hearing loss and its syndromes. New York: Oxford University Press. 9-21, 1995.
9. Rose, SP.; Conneally, MP.; Nance, WE. —Genetic analysis of childhood deafness. In: Bess FH, editor. Childhood Deafness. New York: Grune & Stratton. 19-35, 1977.
10. Hereditary Hearing Loss home page (Van Camp, G.; Smith, RjH.)
<http://www.uia.ac.be/dnalab/hhh>.
11. Nass, S.; Nass, M. —Intramitochondrial fibers with DNA characteristics. *J Cell Biol.* 19:593-629. 1963.
12. Holt, IJ.; Harding, AE.; et al. —Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature.* 331:717-19. 1988.
13. Goto, Y.; Nonaka, I, et al. —A mutation in the tRNA leu(uur) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalopathies. *Nature* 348:651-3. 1990.
14. Yamasoba, T.; Oka, Y.; Tsukuda, K.; et al. —Auditory findings in patients with maternally inherited diabetes and deafness harbouring a point mutation in the mitochondrial transfer RNA leu (UUR) gene. *Laryngoscope.* 106:49-53. 1996.
15. Reid, FM.; Vernham, GA.; Jacobs, HT. —A novel mitochondrial point mutation in a maternal pedigree with sensorineural deafness. *Hum mut.* 3: 243-47. 1994.
16. Fischel-Ghodsian, N.; Prezant, TR.; Fournier, P.; Stewart, IA.; Maw, M. — Mitochondrial tRNA mutation associated with non-syndromic deafness. *Am J Otolaryngol.* 6:403-408. 1995.
17. Seviour, KB.; Hatamochi, A.; Stewart, IA.; Bykhovskaya, Y.; Allen-Powell, DR.; Fischel-Ghodsian, N.; Maw, MA. —Mitochondrial A7445G mutation in two pedigrees with palmoplantar Keratoderma and deafness. *Am J Med Genet.* 75:179-185. 1998.
18. Tiranti, V.; Chariot, P.; Carella, F.; Toscana, A.; Saliveri, P.; Girlanda, P.; Coni, F.; Fratta, GM.; Reid, FM.; Mariotti, C.; Zeviani, M. et al. —Maternally inherited hearing loss, ataxia and myoclonus associated with a new point mutation in mitochondrial tRNA^{(Ser)UCN} gene. *Hum Mol Genet.* 4:1421:27. 1995.
19. Verhoeven, K.; Ensink, RJH.; Tiranti, V.; Huygen, P.; Johnson, DF.; Schatteman, I.; Van Laer, I.; Verstreken, M.; Van de Heyning, P.; Fischel-Ghodsian, N.; Zeviani, M.; Cremers, CWRJ.; Willems, PJ.; Van Camp, G. —Different penetrance of neurological symptoms associated with a mutation in the mitochondrial tRNA Ser(UCN) gene. *Eur J Hum Genet* (in press). 1998.
20. Hutchin, TP.; Parker, MJ.; Young, ID.; Davis, AC.; Pulleyn, U.; Deeble, J.; Lench, NJ.; Markham, AF.; Mueller, RF. —A novel mutation in the mitochondrial tRNA^{(Ser)UCN}

- gene in a family with a non-syndromic sensorineural hearing impairment. *J Med Genet.* 37:692-4. 2000.
21. Sue, CM.; Tanji, K.; Hadjigeorgiou, G.; Andreu, AL.; Nishino, I.; Krishna, S.; Bruno, C.; Hirano, M.; Shanske, S.; Bonilla, E.; Fischel-Gohsian, N.; DiMauro, S.; Friedman, R. —Maternally inherited hearing loss in a large kindred with a novel T7511C mutation in the mitochondrial DNA tRNA^{(Ser)UCN} gene. *Neurology.* 52: 1905-8. 1999.
 22. Tessa, A.; Gionnotti, A.; Tieri, L.; Vilarinho, L.; Marotta, G.; Santorelli, FM. — Maternally inherited deafness associated with a T1095C mutation in the mtDNA *Eur J Hum Genet.* 9:147-9. 2001.
 23. Prezant, TR.; Agapian, JV.; Bohlman, MC.; Bu, X.; Öztas, S.; Qiu, WQ.; Arnos, KS.; Cortopassi, GA.; Jaber, L.; Ratter, JI.; Shohat, M.; Fischel-Ghodsian, N. — Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet.* 4: 289-94. 1993.
 24. Lethonen, MS.; Uimonen, S.; Hassinen, IE.; Majamaa, K. —Frequency of mitochondrial DNA point mutations among patients with familial sensorineural hearing impairment. *Eur J Hum Genet.* 8:315-18. 2000.
 25. Scrimshaw, BJ.; Faed, JM.; Tate, WP.; Yun, K.; —Rapid identification of an A1555G in human mitochondrial DNA implicated in aminoglycoside-induced ototoxicity. *J Hum Genet.* 44:388-90. 1999.
 26. Kupka, S.; Toth, T.; Wrobel, M.; Zeissler, U.; Szyfter, W.; Szyfter, K.; Niedzielska, G.; Bal, J.; Zenner, HP.; Sziklai, I.; Blin, N.; Pfister, M. —Mutation A1555G in the 12s rRNA gene and its epidemiological importance in German, Hungarian, and Polish patients. *Hum Mutat.* 19:308-309. 2002.
 27. Ostergaard, E.; Montserrat-Sentis, B.; Gronskov, K. ; Brondum-Nielsen, K. —The A1555G mtDNA mutation in Danish hearing-impaired patients : frequency and clinical signs. *Clin Genet.* 62:303-5. 2002.
 28. Tekin, M.; Duman, T.; Bogoclu, G.; Incesulu, A.; Comak, E.; Fitoz, S.; Yilmaz, E.; Ilham, I.; Akar, N. —Frequency of mtDNA A1555G and A7445G mutations among children with prelingual deafness in Turkey. *Eur J Pediatr.* 162:154-58. 2003.
 29. Sarduy, M.; del Castillo, I.; Villamar, M.; Romero, L.; Herraiz, C.; Hernández, FJ.; Tapia, MC.; Magariño, C.; Méndez del Castillo, D.; Menéndez-Alejo, I.; Ramírez Camacho, R.; Arellano, B.; Morales, C.; Bellón, J.; Moreno, F. —Genetic study of mitochondrially inherited sensorineural hearing impairment in eight large familias from Spain and Cuba. In: Stephens, D.; Read, A.; Martín, A.; eds. *Developments in genetic hearing impairment.* London: Whurr Publishers, 121-5. 1998.
 30. Morales, C.; Del Castillo, I.; et al. —Hipoacusia familiar no sindrómica transmitida por herencia mitocondrial. *Acta Otorrinolaring Esp.* 50:93-9. 1999.
 31. Estivill, X.; Govea, N.; Barceló, A.; Perelló, E.; Badenas, C.; Romero, E.; Moral, L.; Scorazzi, R.; D'Urbano, L.; Zeviani, M.; Torroni, A. —Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA A1555G mutation and is enhanced by treatment with aminoglycosides. *Am J Hum Genet.* 62:27-35. 1998.
 32. Gallo, J.; Morales, C.; Del Castillo, I.; et al. —Incidencia de las mutaciones A1555Gen el ADN mitocondrial y 35delG en el gen GJB2 (conexina 26) en familias con hipoacusia neurosensorial postlocutiva no sindrómica en Cantabria. *Acta Otorrinolaring Esp.* 53:563-71. 2002.
 33. Usami, SI.; Abe, S.; Akita, J.; Nambs, A.; Shinhawa, H.; Ishii, M.; Iwasaki, S.; Hoshino, T.; Ito, J.; Doi, K.; Kubo, T.; Nakagawa, T.; Komiyama, S.; Tono, T.; Komune, S. —Prevalence of mitochondrial gene mutations among hearing impaired patients. *J Med Genet.* 37:38-40. 2000.
 34. Pandya, A.; Xia, XJ.; Erdenetungalag, R Amendola, M.; Landa, B.; Radnaabazar, J.; Dangaasuen, B.; Van Tuyle, G.; Nance, WE. —Heterogeneous point mutations in the mitochondrial tRNA Ser(UCN) precursor coexisting with the A1555G mutation in deaf students from Mongolia. *A J Hum Genet.* 65:1803-6. 1999.

35. Malik, SG.; Pieter, N.; Sudoyo, H.; Kadir, A.; Marzuki, S. —Prevalence of the mitochondrial DNA A1555G mutation in sensorineural deafness patients in island Southeast Asia. *J Hum Genet.* 48:480-83. 2003.
36. Kleomitis, E.; Iliadis, T.; Voyiatzis, N.; Economides, J.; Neou, P.; Apostolopoulos, N.; Grigoriadou, M.; Pampanos, A.; Skevas, A.; Petersen, MB. —Analysis of the A1555G mtDNA mutation in Greek patients with sensorineural deafness. *Am J Hum Genet.* 67:1879. 2000.
37. Hutchin, TP.; Thompson, KR.; Parker, MJ.; Newton, V.; Bitner-Glindzics, M.; Mueller, RF. —Prevalence of mitochondrial DNA mutations in childhood/congenital onset non-syndromal sensorineural hearing impairment. *J Med Genet.* 38:229-31. 2001.
38. Abe, S.; Usami, S.; Shinkawa, H.; Weston, MD.; Overbeck, LD.; Hoover, DM.; Kenyon, JB.; Horai, S.; Kimberling, WJ. —Phylogenetic analysis of mitochondrial DNA in Japanese pedigrees of sensorineural hearing loss associated with the A1555G mutation. *Eur J Hum Genet.* 6:563-69. 1998.
39. Casano, RAMS.; Bykhovskaya, Y.; Johnson, DF.; Hamon, M.; Torricelli, F.; Bigozzi, M.; Fischel-Ghodsian, N. —Hearing Loss Due to the Mithocondrial A1555G Mutation in Italian Families. *Am J Med Genet.* 79:388-91. 1998.
40. Shoffer, JM.; Brown, MD.; Hauponen, K.; Stugard, C.; Koontz, D.; Kaufman, A.; Graham, J.; Juncus, J.; Watts, RL.; Wallace, DC. A mitochondrial DNA mutation associated with maternally inherited deafness and Parkinson's disease. *Neurology.* 46:S31.002. 1999.
41. Santorelli, FM.; Tanji, K.; Manta, P.; Casali, C.; Krishna, S.; Hays, AP.; Mancini, DM.; DiMauro, S.; Hirano, M. —Maternally inherited cardiomyopathy: an atypical presentation of the mtDNA 12S rRNA gene A1555G mutation. *Am J Hum Genet.* 64: 295-300. 1999.
42. Bykhovskaya, Y.; Estivill, X.; Taylor, K.; Hang, T.; Hamon, M.; Casano, RA.; Yang, H.; Rotter, JI.; Shohat, M.; Fischel-Ghodsian, N. —Candidate locus for a nuclear modifier gene for maternally inherited deafness. *Am J Hum Genet.* 66:1905-10. 2000.
43. Fischel-Ghodsian, N.; Prezant, TR.; Bu, X.; Ostaz, S. — Mitochondrial ribosomal RNA gene mutation in a patient with sporadic aminoglycoside ototoxicity. *Am J Otolaryngol.* 14:399-403. 1993.
44. Hutchin, TP.; Haworth, I.; Higashi, k.; Fischel-Ghodsian, N.; Stoneking, M.; Saha, N.; Arnos, C.; Cortopassi, G. —A molecular basis for human hypersensitivity to aminoglycoside antibiotics. *Nucleic Acids Res.* 21:4174-9. 1993.
45. Pandya, A.; Xia, XJ.; Radnaabazar, J.; et al. —Two families from Mongolia with matrilineal aminoglycoside ototoxicity carry the 1555 A-to-G substitution in the mitochondrial 12s rRNA gene. In: Proceedings: the Molecular Biology of hearing and Deafness. Bethesda, MD.; 104. 1995.
46. Usami, S.; Abe, S.; Kasai, M.; et al. —Genetic and clinical features of sensorineural hearing loss associated with the 1555 mitochondrial mutation. *Laryngoscope.* 107:483-90. 1997.
47. Matthijs, G.; Claes, S.; Longo-Mbenza, B.; Cassiman, JJ. —Non-syndromic deafness associated with a mutation and polymorphism in the mitochondrial 12s ribosomal RNA gene in a large Zairean pedigree. *Eur j Hum Genet.* 4:46-51. 1996.
48. Hyde, G.; Rubel, E. —Mitochondrial role in hair cell survival after injury. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 113:530-40. 1995.
49. Wallace, DC. —Diseases of the mitochondrial DNA. *Annu Rev Biochem.* 61:1175-212. 1992.
50. Liu, X.; Xu, L. —Non-syndromic hearing loss: an analysis of audiograms. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 103: 428-33. 1994.
51. Bai, U.; Seidman, MD.; Hinojosa, R.; et al. —Mitochondrial DNA deletions associated with aging and possibly presbycusis: a human archival temporal bone study. *Am J Otol.* 18:449-53. 1997.
52. Anniko, M. —Principles in cochlear toxicity. *Arch toxicol.*8:221-39. 1985.

53. Tono, T.; Ushisako, Y.; Kiyomizu, K.; Usami, SI.; Abe, S.; Shinkawa, H.; Komune, S. —Cochlear Implantation in a Patient With profound Hearing Loss With the A1555G Mitochondrial mutation. *Am J Otol.* 19: 754-57. 1998.
54. Sinnathuray, AR.; Raut, V.; Awa, A.; Magee, A.; Toner, JG. —A Reiew of Cochlear Implantation in Mitochondrial Sensorineural Hearing Loss. *Otol Neurotol.* 24: 418-26. 2003.