



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
SECRETARIA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN
ESPECIALIDAD EN:

OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGÍA DE CABEZA Y CUELLO

DETERMINACIÓN MOLECULAR DEL VIRUS DEL SARAMPIÓN
EN ESTRIBOS DE PACIENTES CON OTOESCLEROSIS DEL
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

T E S I S

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
MÉDICO ESPECIALISTA EN:
OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGÍA DE CABEZA Y CUELLO

P R E S E N T A :
MARÍA DE LOURDES FLORES GARCÍA

PROFESOR TITULAR
DR. MARIO S. HERNÁNDEZ PALESTINA

ASESOR
DR. RAFAEL FRANCO CANDEJAS



MÉXICO, D.F.

FEBRERO DE 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DRA. MATILDE L. ENRIQUEZ SANDOVAL
DIRECTORA DE ENSEÑANZA

DRA. XOCHIQUETZAL HERNÁNDEZ LÓPEZ
SUBDIRECTORA DE POSTGRADO Y EDUCACIÓN CONTÍNUA

DR. LUIS GÓMEZ VELÁZQUEZ
JEFE DE ENSEÑANZA MÉDICA

DR. MARIO S. HERNÁNDEZ PALESTINA
PROFESOR TITULAR

DR. ROBERTO SÁNCHEZ LARIOS
ASESOR CLÍNICO

DR. RAFAEL FRANCO CANDEJAS
ASESOR METODOLÓGICO

AGRADECIMIENTOS

Antes que nada, agradezco infinitamente a mi Maestro, el Dr. Mario S. Hernández Palestina, quien con toda su enseñanza, insistencia y dedicación hizo posible la realización de esta tesis y de gran parte de mi formación como otorrinolaringóloga. Gracias por impulsarme cada día para alcanzar el conocimiento, profesionalismo, compromiso y servicio que necesito para ser un buen médico.

Gracias a mis asesores el Dr. Roberto Sánchez Larios y el Dr. Rafael Franco Candejas, que siempre estuvieron pendientes del estudio y lo enriquecieron notablemente con su conocimiento y enseñanzas.

Gracias a todos mis compañeros de la residencia, que más que eso se han convertido en muy buenos amigos. Gracias a cada uno por la colaboración y apoyo que me brindaron en la realización de este trabajo.

Agradezco especialmente a la QFB Claudia Colin quien realizó un trabajo excelente en la metodología del estudio.

Gracias a todos los médicos adscritos del Instituto Nacional de Rehabilitación que colaboraron con la obtención de las muestras durante la cirugía de los pacientes estudiados.

Agradezco a Rinotec SA de CV por habernos apoyado económicamente para la realización del estudio.

Gracias a mi familia por su apoyo incondicional. En definitiva, la realización de este trabajo fue mucho más fácil con su ayuda, educación y cariño.

Por último, agradezco a Carlos Orcí Berea que a pesar de tener amplios conocimientos en leyes y casi nulos en medicina, me ayudó muchísimo en la elaboración de esta tesis con el amor que me alimenta diariamente en mente y espíritu.

Contenido

	Páginas
Resumen.....	1
Antecedentes.....	2
Justificación.....	9
Planteamiento del problema.....	9
Objetivos.....	10
Material y Métodos.....	10
Resultados.....	20
Discusión.....	23
Conclusiones.....	28
Bibliografía.....	29
Anexos.....	33

Resumen

La otosclerosis es un desorden de remodelación ósea que afecta la homeostasis de la cápsula ótica, causando hipoacusia conductiva y sensorineural progresivas.

Es considerada una enfermedad de etiología multifactorial; entre los factores involucrados se encuentran la herencia autosómica dominante de penetrancia incompleta, factores hormonales, etiología autoinmune, proteínas morfogenéticas del hueso y activinas, y por último la teoría de la etiología viral, que propone una reacción inflamatoria vascular de la cápsula ótica iniciada por el virus del sarampión, lo que corresponde al objetivo central del presente estudio.

Debido a que no existe dentro de la literatura nacional ningún estudio que haya hecho una determinación molecular del virus del sarampión en los estribos de pacientes con otosclerosis, se realizó un estudio transversal descriptivo en el periodo de marzo del 2011- abril 2012 en el que se analizaron los estribos de pacientes con diagnóstico de otosclerosis y que como parte de su tratamiento se sometieron a estapedectomía. El tejido obtenido se evaluó para determinar si existe la presencia de secuencias virales del sarampión por medio de reacción en cadena de polimerasa de transcriptasa reversa (RT-PCR) en tiempo real. Se obtuvieron 93 muestras, en las que se comprobó la viabilidad con la identificación del gen de RNAsaP y en ninguna de ellas se pudo evidenciar la presencia de material genómico viral . Al mismo tiempo, se evaluaron los niveles séricos de IgG anti-sarampión, el 43% tuvieron muestras positivas, 45% negativas y 11.8% indeterminadas; esta diversidad no apoya la relación que se había encontrado en trabajos previos de los niveles séricos de IgG contra sarampión y la otosclerosis.

Este estudio no valida la teoría del virus del sarampión como causante de la otoesclerosis. Es necesario investigar más sobre otras teorías causales de la otoesclerosis para esclarecer su etiología y actuar en la prevención de la enfermedad.

Antecedentes

La otoesclerosis es un desorden de remodelación ósea que afecta la homeostasis de la cápsula ótica, con una prevalencia de 0.3 a 0.4% en la población general¹, causando hipoacusia conductiva y sensorineural progresivas.

Es considerada una enfermedad de etiología multifactorial, causada por factores genéticos y ambientales. Se han postulado diversas teorías para explicar su etiología:

Teoría genética. Se han encontrado 9 loci cromosomales como genes candidatos para explicar la causa de esta patología y hoy en día se cree que el patrón de herencia es autosómica dominante con penetrancia incompleta y expresión variable.

Teoría hormonal. En donde las manifestaciones, se han visto relacionadas con el embarazo y la función anormal de las glándulas paratiroides teniendo una alteración en la resorción ósea.

Teoría autoinmune. Anticuerpos contra colágeno tipo II y remanentes cartilagosos embrionarios de la cápsula ótica.

Teoría de proteínas morfogenéticas del hueso (BMP's) y el factor de crecimiento transformante-beta (TGF- β) como responsables del metabolismo patológico de la remodelación ósea.

Teoría de desórdenes de tejido conectivo, similares a los encontrados en osteogénesis imperfecta.

Teoría de la etiología viral, ligada al virus del sarampión (paramixovirus), que corresponde al objetivo central del presente estudio.

Desde 1986, McKenna y colaboradores², postularon la teoría viral como causa de la otopresclerosis, cuando observaron por microscopía electrónica estructuras filamentosas similares a la nucleocápside del virus del sarampión en osteoblastos encontrados en lesiones otoprescleróticas de 2 pacientes.

Un año después, se reforzó la teoría al observar por inmunohistoquímica, concentraciones altas de IgG en lesiones otoprescleróticas activas en comparación con el tejido subyacente. Encontraron antígenos contra rubeola y sarampión expresados en los condrocitos de la capa endocondral y en los osteoclastos de los focos otoprescleróticos³⁻⁵.

Finalmente, Arnold y cols, en 1988 encontraron anticuerpos IgA, IgG e IgM contra rubeola, varicela y sarampión, que demostraban la expresividad antigénica de los osteocitos, osteoclastos y condrocitos presentes alrededor o en las zonas otoprescleróticas de 45 pacientes con otopresclerosis y compararon los resultados con un grupo control sano, sin encontrar depósito de anticuerpos o antígenos virales.^{6,7}

De acuerdo con los resultados anteriores, se favoreció la teoría de la etiología viral como una reacción inflamatoria vascular de la cápsula ótica iniciada por los virus del sarampión.

El virus del sarampión (VS) pertenece al género de los Morbillivirus el cual a su vez pertenece a la familia de los Paramixoviridae. Son virus RNA de una sola

cadena de polaridad negativa (complementaria a los RNA mensajeros) que forma una nucleocápside helicoidal recubierta de membrana de origen celular.

El genoma de los virus del sarampión es una molécula de RNA de 15.984 nucleótidos, que codifica por las proteínas estructurales: N (nucleocápside), P (fosfoproteína), L (polimerasa), M (matriz), H (hemaglutinina) y F (de fusión) que se incorporan a las partículas víricas, y otras no estructurales V y C que se encuentran solamente en las células infectadas. (Fig. 1)

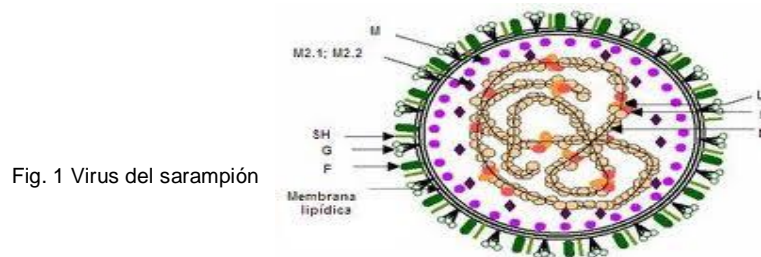


Fig. 1 Virus del sarampión

Es un virus de transmisión respiratoria del que no se han descrito serotipos. Es una enfermedad aguda, con síntomas prodrómicos de fiebre, conjuntivitis, coriza, tos y manchas de Koplik en la mucosa de la cara interna de las mejillas. Entre el tercero y el séptimo día aparece una erupción característica, con manchas rojas parduscas, que comienza en la cara y cuello y después se generaliza, durando cuatro a siete días. La enfermedad es más grave en los lactantes y en los adultos que en los niños. Las complicaciones incluyen neumonía, laringotraqueítis, diarrea, encefalitis, otitis media, alteraciones laberínticas e hipoacusias neurosensoriales uni o bilaterales que pueden ser aisladas o secundarias a la encefalitis. ⁸

En México, en la década de los cincuenta, el sarampión se encontraba dentro las primeras causas de morbilidad y mortalidad; en 1960 se iniciaron acciones de vacunación contra el sarampión y la tendencia de la enfermedad se modificó sustancialmente. En 1973 se inició formalmente el Programa Nacional de Inmunizaciones, se aplicaron 3.6 millones de dosis de esta vacuna. En 1996 se presentaron los dos últimos casos autóctonos en el país y posteriormente se

registró un periodo de cuatro años sin casos. En el año 2000 se reintrodujo el virus silvestre con la introducción de una cepa asiática genotipo H1 con presencia de 30 casos. Durante el 2003, 2004, 2005 y 2006 el Sistema de Vigilancia Epidemiológica confirmó 44, 64, 6 y 23 casos respectivamente.⁹

En los últimos años no se han notificado casos de sarampión, exceptuando los casos provenientes de Francia en el 2011 que fueron oportunamente detectados con un cerco epidemiológico y no se han detectado nuevos casos.

Existen varios tipos de vacuna contra el virus del sarampión entre los que se encuentran:

Las vacuna de virus muertos derivada de la cepa Edmonston B y la inactivada con formaldehído, fueron utilizadas de 1963 a 1967.

Dentro de las vacunas de virus vivos atenuados encontramos:

1. Vacuna Schwartz. Se desarrolló a partir de la cepa Edmonston mediante 85 pases adicionales en embrión de pollo a 32°C. Autorizada para su uso en 1965.

2. Vacuna Moraten. Es el resultado de pases adicionales de la cepa Edmonston B a 32°C. Autorizada en 1968 .

La administración de estas dos vacunas se ha asociado con menos efectos colaterales que la vacuna Edmonston B.

En 1971 se autorizó una vacuna trivalente que contiene al menos 1000 TCID₅₀ (50% de la dosis infectiva en cultivo de tejido) de la cepa Moraten contra el sarampión, 500 TCID₅₀ de la cepa Jeryl Lynn para parotiditis, y al menos 1000 TCID₅₀ de la cepa 27-3RA para rubéola.

3. Vacuna Edmonston Zagreb. Preparada en células diploides humanas derivada de la cepa Edmonston B con pases sucesivos en células WI -38.

La respuesta inmunitaria secundaria a la vacuna es muy similar a la producida por la enfermedad natural y es tanto humoral como celular. Los títulos de anticuerpos aparecen entre 12 y 15 días posteriores a la vacunación con un pico máximo entre los días 21 y 28; casi siempre los anticuerpos se presentan más tempranamente y en menor cantidad que en los casos secundarios a enfermedad natural.

Los anticuerpos que se encuentran son de la clase IgM de duración transitoria, detectables tanto en suero como en secreciones nasales, y anticuerpos de la clase IgG, cuyas concentraciones se reducen a niveles que pueden no ser detectables, con respuesta anamnésica y aumento en los títulos de anticuerpos de cuatro a más veces en caso de revacunación o exposición al virus salvaje, pero sin datos clínicos de infección. La eficacia estimada para las vacunas del sarampión es de 93 al 98%.

Se ha demostrado que con la cepa Edmonston Zagreb aplicada a lactantes de cuatro a seis meses de edad, la seroconversión es mayor que la encontrada en niños inmunizados inclusive a los nueve meses con la cepa Schwartz y Moraten.^{10,11}

En la actualidad, con la ayuda de la tecnología y las herramientas diagnósticas que hoy se tienen para el análisis molecular, se han sumado más estudios que apoyan la asociación viral con la otoesclerosis.

Esquema de vacunación contra el sarampión en México	
Edad	Vacuna
1 año	Triple Viral (Rubeola, Parotiditis y Sarampión)
6 años*	Triple Viral
13 años*	SR (Sarampión y Rubeola)
*Refuerzo	

(12)

Teoría viral de otoposclerosis:

En 1994, detectaron secuencias virales en fragmentos de platinas con la ayuda de la reacción en cadena de polimerasa de transcriptasa reversa (RT-PCR), lo que abrió la pauta para la realización de estudios similares y la comprobación de esta teoría. ^{13, 14}

De esta forma, no sólo se han podido detectar las secuencias virales, sino también cuantificar las IgG de virus de sarampión con ELISA en perilinfa que son altos en comparación con los del plasma. Identificar agentes transmembranales como CD51/61, C46 y citocinas como el factor de necrosis tumoral (TNF), mismos que se encuentra elevados en platinas positivas al virus del sarampión de pacientes con otoposclerosis en comparación con platinas de pacientes sanos. Así mismo, se ha podido evaluar actividad de la osteoprotegerina y la fosfatasa alcalina, demostrando las funciones activas de los osteoclastos y la vía inflamatoria por la que pasa la platina en asociación al virus del sarampión. ^{15,16,}

17 - 20

A su vez, se dictó con base al estudio de Wolfgang y colaboradores en el 2007, que con el programa de vacunación contra sarampión en Alemania, hubo una baja en la incidencia de otoposclerosis y que la edad de diagnóstico aumentó 54

años; con base en esto, Arnold y cols sugieren una asociación causal entre el virus y la otoesclerosis.²¹

Los niveles séricos de IgG para sarampión de pacientes con otoesclerosis, también ha tenido cabida en el diagnóstico, ya que se demostró que niveles bajos de IgG relacionados con hipoacusia conductiva tienen una gran especificidad y sensibilidad para la evaluación preoperatoria de la fijación del estribo por otoesclerosis. Los niveles bajos indican otoesclerosis, mientras que los altos se asocian con fijación de la cadena por alguna otra causa no otoesclerosa.²²

Con base a todos los estudios realizados, se propone que la otoesclerosis debe ser considerada como una enfermedad órgano específica inducida por el virus del sarampión.²³⁻²⁷

Hoy en día, el diagnóstico certero de otoesclerosis se realiza por histología de la platina removida durante la cirugía y conforme a los hallazgos, se ha postulado que la fijación de la platina se puede dividir en dos grupos: una que es debida a otoesclerosis, que se asocia a infección de la platina por virus sarampión en forma persistente, y la otra que es una pseudo-otoesclerosis la que se caracteriza por la degeneración de la platina sin infección del VS. La hipoacusia de conducción en la cual no se detecta el VS, es por fijación de la platina de etiología distinta a la otoesclerosis, tal como la calcificación secundaria a inflamación, timpanoesclerosis, acumulación de mucopolisacáridos en la submucosa del nicho de la ventana oval, fijación idiopática y otras.²⁸

Sin embargo los resultados de detección viral en estribos de pacientes con otoesclerosis no son claros ya que existen estudios que no validan la presencia del virus, como lo demostraron Grayeli y Komune en sus trabajos, en donde no se detectó ninguna evidencia del virus en muestras de estribos de pacientes con

otoesclerosis por PCR reversa o cultivos celulares, por lo que esta teoría aún continua incierta.^{29, 30}

Justificación

La otoesclerosis es una enfermedad progresiva incapacitante, por la hipoacusia que origina en varios grados.

En México no se conoce la prevalencia de esta enfermedad, sin embargo, en el INR, existen casos reportados y se le considera como una de las causas más frecuentes de hipoacusia adquirida.

Debido a que no se conoce el origen de la Otoesclerosis y muchos estudios sustentan la presencia genómica del virus del sarampión en platinas de los estribos de pacientes con esta enfermedad como agente causal, documentada con microscopía electrónica, estudios inmunohistológicos y reacción en cadena de polimerasa de transcriptasa reversa.

Este estudio pretende contribuir al conocimiento de la causa de la otoesclerosis, al detectar al virus del sarampión en platinas de pacientes con este padecimiento, con la finalidad de realizar una correlación entre estas dos enfermedades en la población mexicana, ya que no existe ningún estudio de este tipo dentro de la literatura nacional.

Planteamiento del Problema

¿En qué porcentaje se encontrará presente la secuencia genómica y la estructura viral distintiva del virus del sarampión en estribos de pacientes con otoesclerosis del Instituto Nacional de Rehabilitación?

Objetivo General

Detectar secuencias virales de sarampión en los estribos de pacientes con otoesclerosis intervenidos de cirugía de estribo, por medio de PCR-RT (transcriptasa reversa) en tiempo real para esclarecer la existencia de un vínculo entre el virus del sarampión y la etiopatogenia de esta enfermedad.

Objetivos Secundarios

- Detectar niveles serológicos de IgG en los pacientes estudiados
- Comparar la existencia del virus en los estribos obtenidos con platina y los que únicamente se obtenga la supraestructura

Material y Métodos

Diseño del estudio

- Transversal
- Descriptivo
- Observacional

Descripción del Universo de Trabajo

Todos los pacientes con otoesclerosis que cuenten con los criterios de inclusión, intervenidos de cirugía de estribo en el periodo comprendido entre marzo del 2011 - abril del 2012 en el Instituto Nacional de Rehabilitación

Criterios de Inclusión

- Pacientes con otoesclerosis intervenidos de cirugía de estribo en el Instituto Nacional de Rehabilitación

- Pacientes con y sin antecedente de enfermedad clínica de sarampión
- Que acepten participar voluntariamente en el estudio mediante la firma de un consentimiento informado.

Criterios de exclusión

- Fijación de estribo por otras causas
- Vacunación con esquema triple viral o SR en el último año

Criterios de Eliminación

- Pérdida durante el procedimiento quirúrgico del estribo
- Que el paciente decida voluntaria y libremente salirse del estudio

La detección de pacientes con otoesclerosis candidatos a cirugía de estribo, se realizó por:

- 1.- Historia de hipoacusia lentamente progresiva generalmente bilateral.
- 2.- En la exploración física, una otoscopía normal o si el paciente se encuentra en fase activa (fase de otoespongiosis) se puede observar el signo de Schwartz (coloración rojiza del promontorio y ventana oval que se transluce a través de la membrana)
- 3.- Valoración audiológica con una audiometría tonal con una hipoacusia conductiva o mixta con un nicho de Carhart y una brecha aéreo-ósea >20dB y reflejos estapediales ausentes.

A los pacientes identificados con otoesclerosis se les propuso tratamiento quirúrgico.

Técnica Quirúrgica

Se administra al paciente antes de la cirugía un sedante (midazolam o diazepam). Se coloca al paciente en posición supina en decúbito lateral. Se realiza asepsia y antisepsia de la región, se colocan campos estériles y se infiltrará 2ml de lidocaína al 2% con epinefrina 1:50,000 en los cuatro cuadrantes del conducto auditivo externo. Se realizan incisiones verticales que se juntan entre sí con una incisión horizontal con cuchillo de House a 6mm del annulus. Se eleva el colgajo simétricamente de lo lateral a medial con un elevador de canal o un cuchillo redondo. Al llegar al annulus se levanta con un elevador y se abordará el oído medio. Se localiza la cuerda del tímpano y se lleva hacia lo inferior. Se rebaja la porción ósea superior de la pared posterior del conducto con microfresa o cucharilla para visualizar la articulación incudo-estapedial y el canal del facial. Se utiliza un cuchillo derecho angulado para verificar la movilidad del martillo y separar la articulación incudo-estapedial de lo posterior a lo anterior sin levantar el yunque.

Se corta el tendón del estribo y se fracturan las cruras. Se mide la distancia de la platina a la apófisis lenticular del yunque y se le agregan 0.25 mm a la medición final para escoger la longitud de la prótesis.

Existen 3 formas de realizar el procedimiento:

1. Estapedotomía: se realiza un agujero en la unión del tercio medio y posterior de la platina con un punzón.
2. Hemiplatínectomía: resección de la mitad de la platina ya sea anterior o posterior con un pic.
3. Estapedectomía: resección total de la platina.

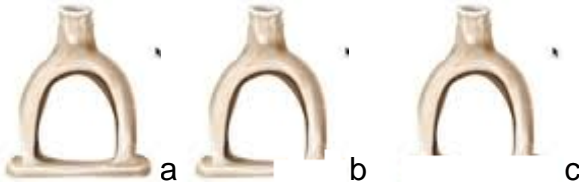


Fig. 2 Esquema representativo de lo que se obtiene en a) una estapedectomía b) hemiplatinectomía c) estapedotomía

Se inserta la prótesis hacia el laberinto y se fija en el yunque. Se sella la ventana oval con un coágulo de sangre y se realiza la prueba del cuchicheo. Se recoloca el colgajo en posición, se llena el conducto auditivo externo con gelfoam y se cubre con una torunda de algodón.³¹

Antes de la cirugía, fue tomada una muestra de sangre en un tubo SST vacutainer amarillo con agentes coagulantes y gel para separar el suero el cual se mantuvo en refrigeración hasta su transportación.

En cuanto a los estribos, fueron extraídos mediante la técnica de agujero pequeño, hemiplatinectomía o platinectomía total en el momento de realizar la estapedectomía. Las muestras se conservaron en un tubo de ensayo con medio viral y se transportaron al laboratorio de microbiología junto con las muestras de sangre al laboratorio de infectología para realizar lisis del estribo y centrifugación de la sangre para separar el suero.

Metodología experimental

a) Obtención de RNA viral

Se recolectó la muestra y se colocó inmediatamente en 2 mililitros de buffer de lisis (BioMérieux), y se transportó al laboratorio de infectología. El tejido permaneció en el buffer de lisis hasta que éste deshizo. El buffer contiene un estabilizador de RNA/DNA que permite que los ácidos nucleicos se preserven. Se extrajo el material genético en el equipo semiautomatizado NucliSENS

easyMAG (BioMérieux) siguiendo el protocolo estipulado para biopsias y eluyendo en un volumen de 50 microlitros. Se guardó la extracción a -70°C para resguardar el RNA.

b) Ensayo de RT-PCR tiempo real

El RT-PCR se llevó a cabo empleando el kit Superscript One-step RT-PCR con ADN polimerasa Taq Platinum (Invitrogen), 10 pmol de cada oligonucleótido y 5 microlitros del ARN extraído, la mezcla final de PCR fue de 25 microlitros. Las condiciones dentro del termociclador se aprecian en la tabla 1.

Paso del RT-PCR	Condiciones (°C/Tiempo)	Número de ciclos
Formación del cDNA	48°C durante 30 minutos	1
Activación de la DNA polimerasa	94°C durante 10 minutos	1
Amplificación	94°C durante 15 segundos 60°C durante un minuto	45

Tabla 1.

El ensayo se realizó en un termociclador 7500 PCR-tiempo real (Applied Biosystems), calculando el valor para Ct y se obtuvo el punto de corte para descartar las muestras negativas.

Se identificaron tres genes del virus del sarampión (MV, Measles virus), hemaglutinina (H), nucleoproteína (N) y proteína de fusión (F), así mismo se identificó el gen de RNAsa humana que fungió como control de la viabilidad de la muestra, además de apoyar a descartar posibles falsos positivos.

Los oligonucleótidos empleados para la identificación fueron publicados previamente (tabla 2).

Gen	Secuencia oligos y sonda	Tamaño (pb)
Hemaglutinina	5'-TTC ATC GGG CAG CCA TCT AC-3'	150
	5'-CTC TGA GGT GTC CTC AGG CC-3'	
	FAM-CCG CAG AGA TCC ATA AAA GCC TCA	
	GCA C-BHQ	
Nucleoproteína	5'-TCA GTA GAG CGG TTG GAC CC-3'	151
	5'-GGC CCG GTT TCT CTG TAG CT-3'	
	FAM-CAA ACA GAG TCG AGG AGA AGC CAG	
	GGA-BHQ	
Proteína de fusión	5'-TGA CTC GTT CCA GCC ATC AA-3'	150
	5'-TGG GTC ATT GCA TTA AGT GCA-3'	
	FAM-CTG CAC GAG GGT AGA GAT CGC AGA	
	ATA CAG-BHQ	
RNAsa P humana	5'-AGATTTGGACCTGCGAGCG-3'	
	5'-GAGCGGCTGTCTCCACAAGT-3'	
	FAM-TTCTGACCTGAAGGCTCTGCGCG-BHQ	

Tabla 2. Secuencia de los oligonucleótidos empleados en el ensayo de RT-PCR tiempo real. FAM, 6-carboxil fluoresceína; BHQ, quencher no fluorescente (blackholequencher). Hummel Et Al

c) Detección de IgG contra virus de sarampión

Se sensibilizaron las microplacas con el antígeno de virus de sarampión (NativEMeasles virus, Serotec) a una concentración de 3 µg/mL, se dejaron 18 horas a temperatura de 4°C para permitir que el antígeno se adhiriera a la microplaca.

Se preparó el antígeno con buffer de carbonatos (Na₂CO₃ 0.05M, pH 9.6). Pasado este tiempo, se lavó la placa tres veces con 300 microlitros de solución de NaCl y Tween 20 al 5% para eliminar por completo el remanente de antígeno.

Se bloquearon los espacios dónde el antígeno no se pegó, con una solución de albúmina sérica bovina y búfer salino de fosfatos (ASB-PBS 1%) y se incubó 1 hora. Pasado este tiempo, se lavó con 300 microlitros con solución de NaCl-Tween.

Se preparó la dilución de trabajo para los controles positivo y negativo (1:1000 para ambos controles). Se agregaron 100 microlitros del suero problema y de cada control a la placa previamente sensibilizada, se colocó una etiqueta adhesiva para evitar la evaporación. Se incubó a 37°C por 2 horas sin agitación y se lavó la placa seis veces con 300 microlitros de la misma solución de lavado antes mencionada.

Se diluyó el anticuerpo conjugado anti-IgG- Fosfatasa alcalina humano (DAKO) 1:1000 en albumina sérica bovina 0.5%, Tween 20 al 0.5%, Polietilenglicol 0.005%. Se añadió 100 microlitros del anticuerpo conjugado a cada pozo de la microplaca y se incubó a 37°C durante 2 horas. Se realizaron 6 lavados con 300 microlitros de la misma solución de lavado.

Se adicionaron 100 microlitros de solución de p-nitrofenilfosfato a cada pozo, se incubó una hora a 30 °C.

Se midió la densidad óptica en un espectrofotómetro (Biorad) a una longitud de onda de 405 nm.

La conversión de los resultados de IgG de diluciones a mIU/ml se realizó mediante el kit IBL International con la siguiente tabla:

Linearidad	Intervalo (mIU/mL)	Rango de Dilución (especifico de la muestra)	Rec. Intervalo (%)
	7 - 1181	1:4 - 1:128	83 - 119

Tabla 3. Pruebas funcionales de equivalencia de IgG en mIU/ml a dilución, validada con BEPIII, TRITURUS

Tamaño de muestra

El cálculo de la muestra se realizó utilizando la fórmula de sujetos a estudiar en una estimación de proporciones, asumiendo que la proporción conocida de otosclerosis secundaria a sarampión en reportes previos del 75%, con un error alfa de 0.05 (1.96) y con una precisión del 10%.

Se utilizó la fórmula del tamaño de la muestra para proporciones:

$$n = \frac{Z_{\alpha/2}^2 pq}{d^2}$$

Donde:

$$n = \frac{1.96^2 \times 0.75 \times 0.25}{0.10^2} = 72.03$$

Descripción de las variables de estudio y sus escalas de medición

- Amplificación del RNA viral por medio de PCR-TR en tiempo real, detección de proteínas virales por inmunohistoquímica
- El ácido nucléico (RNAm, RNAv, DNA) se extrajo de estribos congelados y pulverizados de pacientes con otosclerosis
- Se utilizaron primers de oligonucleótidos para sarampión.

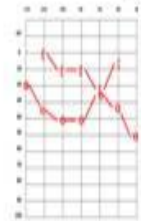
DEFINICIONES				
VARIABLE	CONCEPTUAL	OPERACIONAL	CATEGORÍA ESCALA	
Edad	Años de vida cronológica	Edad del paciente en años	Cuantitativa discreta	Años
Género	Sexo del paciente	Masculino o femenino	Cualitativa	M/F
Bilateralidad de la	Afección de uno o	Oído izquierdo,	Cualitativa	I/D/B

Otoesclerosis	ambos oídos	derecho o ambos		
Vacunación	Si cuentan o no con la vacuna del sarampión	Si o no	Cualitativa	S/N
Antecedente de Infección Clínica de Sarampión	Presentación clínica de la enfermedad como antecedente	Si o no	Cualitativa	S/N
Antecedente Familiar	Antecedente familiar de Otoesclerosis o sordera en edad temprana (joven o adulto joven)	Si o no	Cualitativa	S/N
Antecedente Hormonal	(Solo en caso de pacientes femeninos) Antecedente de aparición de la enfermedad o aumento en la severidad con el embarazo	Si o no	Cualitativa	S/N
Técnica de Cirugía del estribo	Que tipo de técnica quirúrgica se utilizó (estapedotomía, hemiplatinectomía o platinectomía)	Estapedotomía, hemiplatinectomía o platinectomía	Cualitativa	E/H/P

Flujograma de Metodología

	500	1000	2000	4000	8000	16000	32000
RT		NI	NI	NI	NI		
CONTRA		NI	NI	NI	NI		

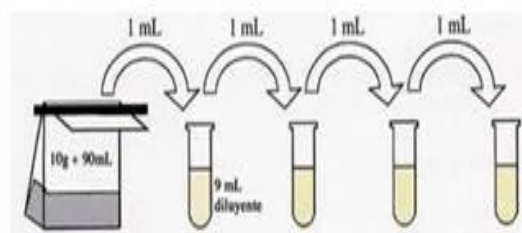
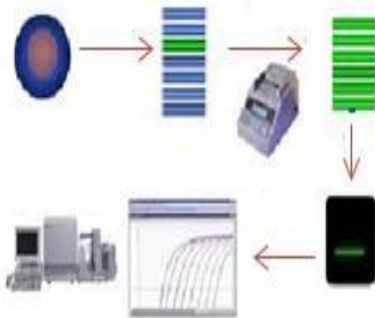
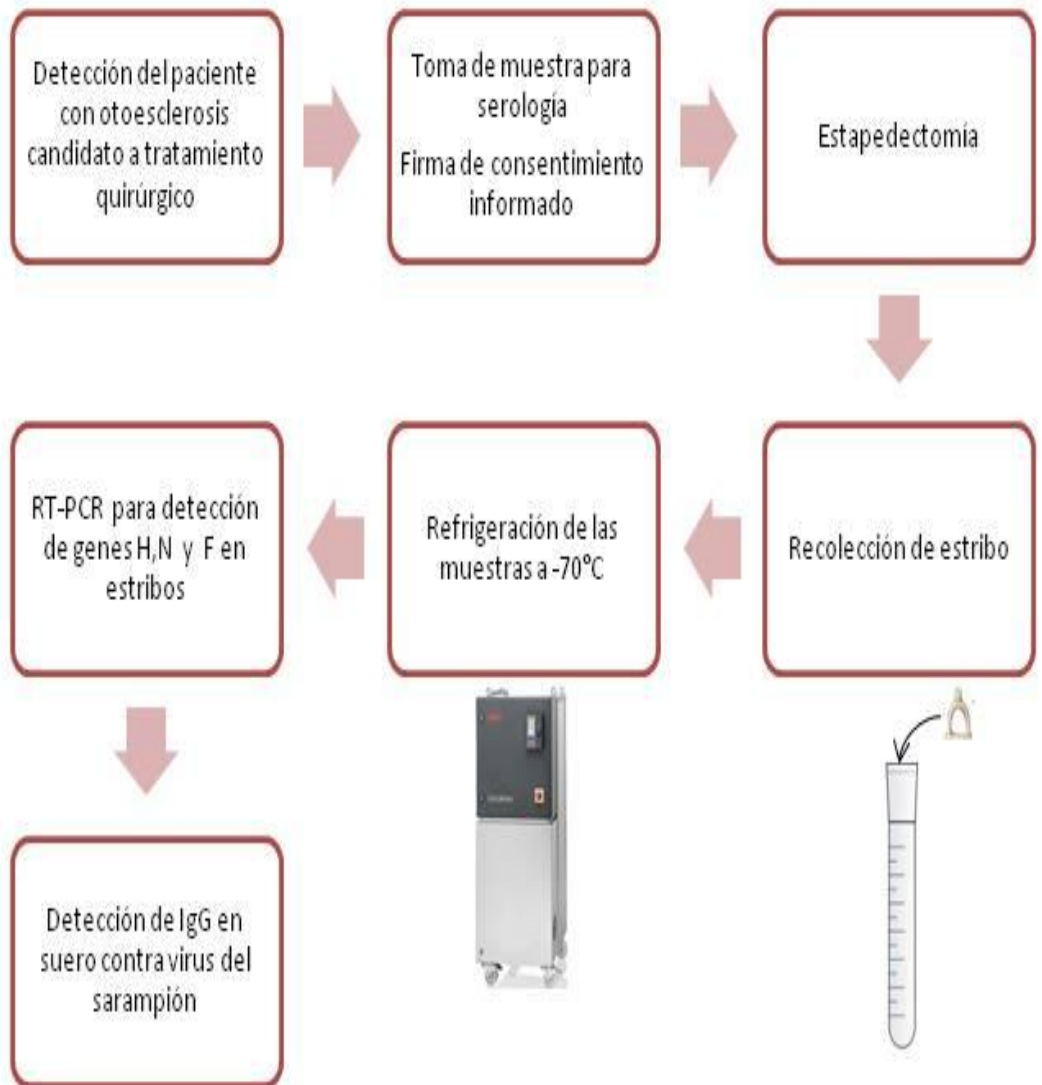
Reflejos estepeoiales a los rntes



Hipoacusía conductiva con brecha > 20dB



Otocolo normal



Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de los datos utilizando medidas de tendencia central y de dispersión (media \pm desviación estándar; mediana y valores mínimo-máximo) para las variables de tipo cuantitativo (continuas o dimensionales). En el caso de las variables cualitativas, se utilizaron frecuencias absolutas y relativas (porcentajes). Para la relación de variables cualitativas se utilizó Chi².

Resultados

Se evaluaron 93 pacientes con diagnóstico de otosclerosis en el Instituto Nacional de Rehabilitación en la Subdirección de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello de marzo del 2011 a abril del 2012.

83 tenían otosclerosis bilateral y 10 unilateral, de los cuales 57 eran mujeres y 36 hombres, con una mediana para la edad de 42 años (24 a 63 años).

El diagnóstico se realizó clínicamente, con el curso de la enfermedad, hipoacusia lentamente progresiva, otoscopia normal, audiometría tonal con hipoacusia mixta o conductiva con brecha >20 db y reflejos estapediales ausentes; el diagnóstico definitivo se realizó durante la cirugía al verificar la fijación del estribo con la inmovilidad del mismo.

La otosclerosis se confirmó en todos los pacientes, se retiró el estribo y se reemplazó por una prótesis de estapedectomía.

Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado para entrar en el estudio, el cual fue aprobado por la Comisión de Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación.

De los 93 pacientes estudiados, la otoesclerosis fue esporádica en 50 casos y 43 tenían algún antecedente heredofamiliar de otoesclerosis o hipoacusia en edad temprana.

25 (26.8%) tenían el antecedente de enfermedad clínica de sarampión, 27 (29%) no sabían y 41(44%) lo negaron.

Únicamente 2 (2.1%) de las mujeres tuvieron un aumento de la hipoacusia durante el embarazo.

55 pacientes (59%) fueron intervenidos de cirugía de estribo con técnica de agujero pequeño obteniendo en estos casos únicamente la supraestructura del mismo, 21 (22.5%) fue con hemiplatinectomía en donde se obtuvo la supraestructura con la mitad de la platina y en 17 (18.2%) se obtuvo el estribo en su totalidad al realizar platinectomía total.

Mediante RT-PCR se buscaron tres genes del virus del sarampión, hemaglutinina (H), nucleoproteína (N) y proteína de fusión (F) y todas las muestras fueron negativas para los 3 genes.

Se verificó la viabilidad de las muestras identificando el gen de RNAsaP humana el cual fue positivo para todas por lo que se comprobó la viabilidad de las muestras.

La medición serológica para IgG contra sarampión fue positiva para 40 muestras (43%), 28 negativas (30%), 14 indetectables (15%), que juntas sumarían 42 negativas (45%) y 11 indeterminadas (11.8%).

Se tomaron como valores de referencia positivo >1181mUI/ml, indeterminado 1181-590mUI/ml, negativo < 590mUI/ml.

De los 25 pacientes que tuvieron el antecedente de enfermedad clínica de sarampión, 12 (48%) tuvieron IgG's positivas, 8 (32%) negativas de las cuales 1 fue indetectable y 5 fueron indeterminadas. En cuanto a los 42 pacientes que negaron el antecedente de sarampión, 25 (59.5%) tuvieron IgG positivas y 13(30.9%) negativas de los cuales 9 fueron no detectables y 4 fueron indeterminadas, sin tener un valor estadístico significativo (p 0.07). Tabla 4

Los pacientes que nacieron antes de 1973 que fue la fecha en la que se inició la vacunación contra sarampión en México fueron 52 (55.9%) y los que nacieron después fueron 41 (44.1%).

De los que nacieron antes, 19 (36.5%) tienen IgG's positivas, 5 (9.61%) indeterminadas y 28(53.8%) negativas; de los que nacieron después, 20 (50%) tuvieron IgG's positivas, 6 (14.6%) indeterminadas y 15 (36.5%) negativas. Esta relación no resulta estadísticamente significativa (p 0.28). Tabla 5

Tabla 4

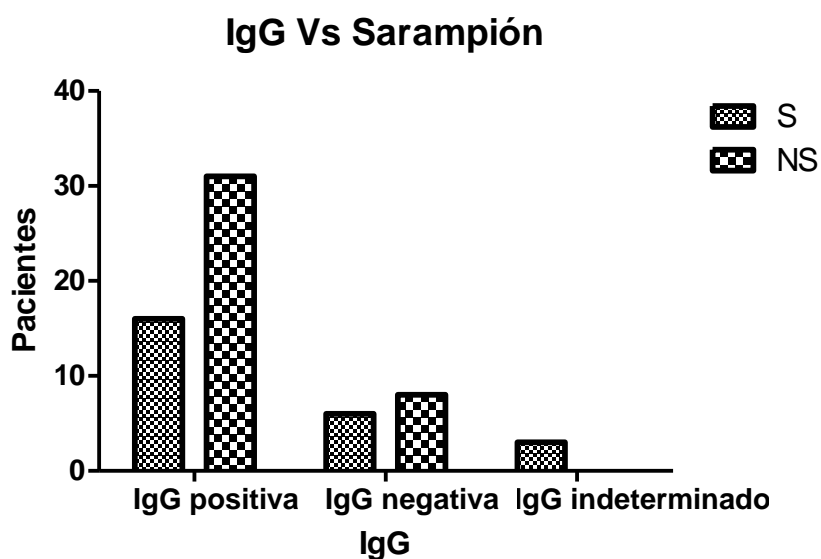
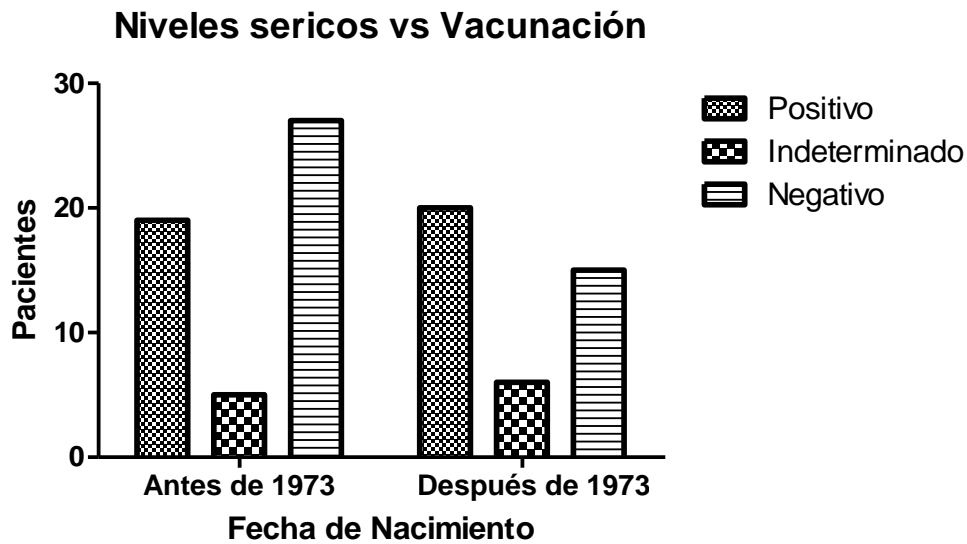


Tabla 5



Discusión

El genoma del virus del sarampión tiene 6 genes que codifican diferentes proteínas: nucleocápside (N), fosfoproteína (P), proteína de matriz (M), proteína de fusión (F), hemaglutinina (H) y proteínas grandes (L).

El virus es serológicamente monotípico, pero basados en las secuencias de los genes N y H, se clasifican 8 virus salvajes designados A, B, C, D, E, F, G y H. La observación de estructuras filamentosas morfológicamente similares a la nucleocápside viral en el retículo endoplásmico de células parecidas a osteoblastos en las lesiones osteoclásticas de los estribos de pacientes con otoesclerosis, llevaron a McKenna y colaboradores a la etiología viral de esta enfermedad.²

Desde entonces, un gran número de estudios han reportado la detección del virus del sarampión en muestras de estribos de pacientes con otoesclerosis con PCR reversa y análisis inmunohistoquímico.

Adicionalmente, Arnold y colaboradores analizaron a los pacientes con otoesclerosis hospitalizados en Alemania de 1993-2004 y concluyeron que existe una incidencia estadísticamente significativa menor de otoesclerosis en pacientes vacunados contra sarampión que los que no lo estaban.²¹

Sin embargo, nunca ha sido reportada la secuencia completa de mRNA del virus, ni tampoco se ha podido aislar el mismo.

Grayeli y colaboradores reportaron que no detectaron RNA del virus de sarampión en ninguna muestra de estribos de pacientes con otoesclerosis (n=35).³⁰ De igual forma, Komune y colaboradores no detectaron ninguna evidencia del virus en muestras de estribos de pacientes con otoesclerosis por RT-PCR en tiempo real o cultivos celulares.²⁹

En acuerdo con los trabajos previos, nosotros no pudimos detectar el RNA viral en las muestras de estribos por el método de RT-PCR en tiempo real que incluso tiene una sensibilidad más alta que el convencional que fue utilizado en otros estudios en donde si lo detectaron.^{17, 18, 23, 28}

Las muestras fueron procesadas con RT-PCR para 3 regiones genómicas del virus del sarampión que codifican para la proteína hemaglutinina, nucleoproteína y proteína de fusión, estas regiones son las más abundantes, menos sujetas a mutaciones y las que más se conservan, dentro de las proteínas que son responsables de producir la infección aguda o persistente del sarampión.

Para aumentar la sensibilidad de las mismas se amplificaron estas 3 regiones en 2 ciclos con una reproducibilidad completa.

Se utilizó el gen de RNAasa P como control para comprobar la viabilidad de las muestras y descartar la posibilidad de degradación del RNA viral y de la

muestra. En todos los casos, las muestras fueron viables por lo que los resultados son totalmente confiables.

Los grupos que han encontrado las secuencias genómicas, han amplificado la proteína N usando un gran número de ciclos de amplificación (35-40 ciclos), en estos casos las pruebas de amplificación se han repetido 2-3 veces para cada muestra con un bajo índice de reproducibilidad ^{4, 13, 15, 32}

Se puede argumentar que los títulos del virus del sarampión pueden ser muy bajos en el tejido otoescleroso para ser detectados, sin embargo, eso nos llevaría a preguntarnos si esa titulación tan baja para no poder ser detectada por PCR reversa puede producir una enfermedad crónica.

Por otra parte, la teoría del virus del sarampión no sustenta que la otoesclerosis es extremadamente rara en los africanos siendo que el sarampión es muy frecuente en dicha población. ³³

Adicionalmente, la localización de las partículas virales que reportó Mackenna en las células de tejido otoescleroso es muy diferente a la localización que tiene en células infectadas de otros tejidos que se encuentra en el citoplasma y no en el retículo endoplásmico como él los reportó. ²

Otras teorías que podrían sustentar la presencia del RNA viral detectado en otros estudios serían la genética y la autoinmune, pero en este caso, el virus no actuaría como un agente infectante, sino como un desencadenante autoinmune por un mimetismo molecular por predisposición genética, sin embargo, esto sería muy difícil de demostrar porque no existe ningún modelo animal para otoesclerosis.

Desde 1973 se comenzó a aplicar la vacuna contra sarampión cuando se inició el programa nacional de inmunizaciones en México, esto quiere decir que

desde entonces la población mexicana ha sido expuesta a la inmunidad contra el virus del sarampión, por lo que si el virus del sarampión tiene una relación causal con la otoesclerosis, en teoría la enfermedad debería de estar disminuyendo su incidencia, al menos en pacientes que hubieran nacido después de la aparición del programa y no ha sido así ya que 41 pacientes (44%) de nuestro estudio nacieron después y aún así tienen otoesclerosis.

En los resultados inmunológicos encontramos una gran diversidad en la titulación de IgG's, 40 muestras fueron positivas lo que significa que estos pacientes fueron vacunados o cursaron con la enfermedad clínica de sarampión, sin embargo, la relación entre la vacunación y el antecedente de enfermedad no es estadísticamente significativo, esto se puede explicar por la subjetividad que implica el antecedente de sarampión o de vacunación porque no hay forma de comprobar por este estudio si tuvieron la enfermedad o si fueron vacunados, ya que la mayoría no tienen la cartilla de vacunación.

41 muestras fueron negativas de las cuales 14 fueron indetectables y 27 tuvieron valores negativos, estos valores tampoco tienen una relación estadísticamente significativa con el antecedente de enfermedad y vacunación, sin embargo, al observar que 14 pacientes no tuvieron titulaciones detectables de IgG en suero, ponemos en duda la relación de la otoesclerosis con el sarampión porque no existe al menos en estos pacientes alguna prueba de contacto previo con el virus, por lo que no hay posibilidad de que en ellos el virus haya causado la otoesclerosis.

Karosi y colaboradores encontraron que niveles séricos bajos de IgG con un umbral de 12UI/ml confirman el diagnóstico de otoesclerosis en pacientes con hipoacusia conductiva, esto lo explican como una infección viral crónica que permite la replicación viral constante y que en consecuencia tienen una respuesta humoral baja; nosotros encontramos una gran diversidad de niveles séricos de IgG en nuestra población en donde sólo 1 muestra tuvo un valor

aproximado a 12UI/ml, 40 tuvieron valores mucho mayores y 42 menores ²². Lo anterior, no apoya la relación que los autores encontraron con las IgG's contra sarampión y la otoesclerosis y por lo consiguiente, reafirma la oposición con la teoría del sarampión.

Uno de los objetivos secundarios del estudio había sido el uso de microscopía electrónica para complementar el mismo y descartar la presencia de estructuras filamentosas del virus de sarampión, sin embargo, debido a cuestiones económicas no pudo realizarse, de cualquier forma, consideramos que la RT-PCR es altamente sensible para la detección de RNA viral y nos podía hacer prescindir de la microscopía electrónica.

Una de las limitantes del estudio es que no pudimos obtener perilinfa para medir las concentraciones de IgG, esto hubiera fortalecido más la validez del mismo. De igual forma, la medición de los receptores de sarampión CD46 hubiera sido muy útil para ver la correlación de los niveles y los resultados negativos del virus.

En cuanto a las demás teorías acerca de la etiología de la otoesclerosis, sería de gran interés investigar sobre la teoría genética debido al gran número de pacientes que tuvieron el antecedente heredofamiliar de hipoacusia, de esta forma se podría realizar la detección de los genes OTSC1–OTSC8 en las mismas muestras de nuestros pacientes e investigar más sobre la caracterización de éstos para entender mejor el tipo de herencia y la etiopatogenia.

Otro de los vínculos genéticos ha sido con la osteogénesis imperfecta, en donde la otoesclerosis se caracteriza como una expresión local de la enfermedad por lo que también es posible detectar anomalías en el gen COL1A1 de pacientes con otoesclerosis y compararlo con pacientes con las anomalías encontradas en osteogénesis imperfecta.

La teoría autoinmune puede ser comprobada con la medición de autoanticuerpos contra colágena en los sueros de los pacientes del estudio, de igual forma se podría realizar mediciones de factor de crecimiento tisular $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), factor de necrosis tumoral (TNF) y proteínas morfogenéticas del hueso (BMPs) en las muestras de los estribos para descartar causas locales del metabolismo óseo como causantes.

La teoría sobre los factores hormonales de los estrógenos, progesterona y prolactina que influyen en el metabolismo óseo queda en duda debido a que esta enfermedad afecta a hombres y a mujeres y que en nuestro estudio únicamente 2 mujeres relacionaron la hipoacusia o el aumento en su severidad con el embarazo.

Conclusiones

En conclusión, este estudio apoya que la otoesclerosis no está relacionada con la infección crónica por el virus del sarampión, concordando con el estudio de Grayeli y Komune.

Es necesario realizar nuevos estudios con para detectar las diferencias e investigar más sobre otras teorías causales de la otoesclerosis para esclarecer su etiología y actuar en la prevención de la enfermedad.

Bibliografía

1. K Markou, J Goudakos, An overview of the etiology of otosclerosis, *Eur Arch Otorhinolaryngol* (2009) 266:25–35
2. McKenna MJ, Mills BG, Galey FR, Linthicum FH Jr (1986) Filamentous structures morphologically similar to viral nucleocapsids in otosclerotic lesions in two patients. *Am J Otol* 7(1):25–28
3. Arnold W, Friedmann I (1990) Immunohistochemistry of otosclerosis. *Acta Otolaryngol Suppl* 470:124–128 discussion 128–129
4. McKenna MJ, Mills BG (1989) Immunohistochemical evidence of measles virus antigens in active otosclerosis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 101(4):415–421
5. Roald B, Storvold G, Mair IW, Mjoen S (1992) Respiratory tract viruses in otosclerotic lesions. An immunohistochemical study. *Acta Otolaryngol* 112(2):334–338
6. Arnold W, Friedmann I (1987) Detection of measles and rubella specific antigens in the endochondral ossification zone in otosclerosis. *Laryngol Rhinol Otol (Stuttg)* 66(4):167–171
7. Arnold W, Friedmann I (1988) Otosclerosis—an inflammatory disease of the otic capsule of viral etiology? *J Laryngol Otol* 102(10):865–871
8. Rota JS, Heath JL, Rota PA, King GE, Celma ML, Carabaña R, Fernández-Muñoz R, Brown D, Jin L and Bellini WJ. Molecular Epidemiology of Measles Virus: Identification of pathways of transmission and implications for measles elimination. *J Infect Dis* 1998. 173: 32-37.
9. Secretaría de Salud, Dirección General de Epidemiología: Manuales Simplificados Enfermedades Prevenibles por Vacunación. México,D.F. SSA, 2005.
10. Centers for Disease Control and Prevention: Measles United States, 1999. *MMWR. Morb Mortal Wkly Rep* 2000; 49: 557-600

11. Rodríguez WM, Macías PM, Hernández PM, Sarampión en Macías Parra M, editor. Inmunizaciones. Temas de Pediatría. Asociación Mexicana de Pediatría AC. México, Nueva Editorial Interamericana, 1995. Pp 33-37.
12. Cartilla Nacional de Vacunación 2011
13. Niedermeyer H, Arnold W, Neubert WJ, HoXer H Evidence of measles virus RNA in otosclerotic tissue. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 56(3):130–132, 1994
14. McKenna MJ KA Isolation and identification of nucleic acid sequences from celloidin embedded human bone sections using polymerase chain reaction. *Proceedings of the fourth international academic conference on immunobiology in otology, rhinology and laryngology*, Kugler, New York, pp 283–288, 1994.
15. Niedermeyer HP, Arnold W Otosclerosis: a measles virus associated inflammatory disease. *Acta Otolaryngol* 115(2):300– 303, 1995.
16. Niedermeyer HP, Arnold W, Neubert WJ, Sedlmeier R, Persistent measles virus infection as a possible cause of otosclerosis: state of the art. *Ear Nose Throat J* 79(8):552–554 556, 558 passim, 2000.
17. Karosi T, Konya J, Szabo LZ, Pytel J, Jori J, Szalmas A, Sziklai I Codetection of measles virus and tumor necrosis factoralpha mRNA in otosclerotic stapes footplates. *Laryngoscope* 115(7):1291–1297, 2005.
18. Karosi T, Jokay I, Konya J, Szabo LZ, Pytel J, Jori J, Szalmas A, Sziklai I (2006) Detection of osteoprotegerin and TNF-alpha mRNA in ankylotic Stapes footplates in connection with measles virus positivity. *Laryngoscope* 116(8):1427–1433.
19. Karosi T, Jokay I, Konya J, Petko M, Szabo LZ, Pytel J, Jori J, Sziklai I (2006) Activated osteoclasts with CD51/61 expression in otosclerosis. *Laryngoscope* 116(8):1478–1484.
20. Karosi T, Jokay I, Konya J, Petko M, Szabo LZ, Sziklai I (2007) Expression of measles virus receptors in otosclerotic, non-otosclerotic and in normal stapes footplates. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 264(6):607–613.

21. Arnold W, Busch R, Arnold A, Ritscher B, Neiss A, Niedermeyer HP
The influence of measles vaccination on the incidence of otosclerosis in Germany. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 264(7):741–748, 2007.
22. Karosi T, Konya J, Petko M, Szabo LZ, Pytel J, Jori J, Sziklai I (2006)
Antimeasles immunoglobulin g for serologic diagnosis of otosclerotic hearing loss. *Laryngoscope* 116(3):488–493.
23. Karosi T, Konya J, Szabo LZ, Sziklai I (2007) Measles virus prevalence in otosclerotic foci. *Adv Otorhinolaryngol* 65:93–106.
24. Karosi T, Konya J, Szabo LZ, Sziklai I (2004) Measles virus prevalence in otosclerotic stapes footplate samples. *Otol Neurotol* 25(4):451–456.
25. Karosi T, Konya J, Petko M, Sziklai I (2005) Histologic otosclerosis is associated with the presence of measles virus in the stapes footplate. *Otol Neurotol* 26(6):1128–1133.
26. Niedermeyer HP, Gantumur T, Neubert WJ, Arnold W (2007) Measles virus and otosclerosis. *Adv Otorhinolaryngol* 65:86–92.
27. Lolov S, Edrev G, Kyurkchiev S (2007) Antimeasles immunoglobulin G and virus-neutralizing activity in sera of patients with otosclerosis. *Adv Otorhinolaryngol* 65:107–113.
28. Karosi T, Konya J, Petko M, Szabo LZ, Pytel J, Jori J, Sziklai I (2005) Two subgroups of stapes Fixation: otosclerosis and pseudo-otosclerosis. *Laryngoscope* 115(11):1968–1973.
29. N Komune, M Ohashi, N Matsumoto, T Kimitsuki, S Komune y Y Yanagi (2011) No Evidence for an Association between Persisten Measles Virus Infection and Otosclerosis amgon Patients with Otosclerosis in Japan. *Journal of Clinical Microbiology* 626-632.
30. A Grayeli, P. Palmer, P. Tran Ba Huy, J Soudant, O Sterkers, P Lebon, E Ferrary, (2000) No Evidence of Measles Virus in Stapes Samples from Patients with Otosclerosis, *Journal of Clinical Microbiology*, 38:2655–2660
31. Antonio De La Cruz, Md, Sujana S. Chandrasekhar, Mechanical Small Fenestra Stapedotomy, *Operative Techniques in Otolaryngology--Head And Neck Surgery*, Vol 9, No 1 (Mar), 1998: pp 33-37.

32. McKenna, M. J., A. G. Kristiansen, and J. Haines. (1996). Polymerase chain reaction amplification of a measles virus sequence from human temporal bone sections with active otosclerosis. *Am. J. Otol.* 17:827–830.
33. Tshifularo MI, Joseph Ca. (2005) Otosclerosis among South African Indigenous Blacks. *East Afr. Med J.* 82:223-225.

Anexos

Anexos relacionados con formatos de recolección de datos.

Fecha evaluación (___/_____/_____) Sujeto |__|__|__|

1. Criterios de inclusión

Paciente con otosclerosis intervenido de cirugía de estribo Si No

Consentimiento informado firmado Si No

2. Criterios de exclusión

Fijación del estribo por otra causa Si No

Vacunación con esquema triple viral o SR en el último año Si No

3. Datos demográficos

Nombre y apellidos del paciente:

Número de expediente |__|__|__|__|__|__|/|__|__| Género: Masculino

2 Femenino

Edad (años cumplidos): |__|__|

4. Antecedentes

Antecedente familiar de otosclerosis o hipoacusia en edad temprana Si No

Antecedente de enfermedad clínica del sarampión Si No

Esquema de vacunación completo Si No

Vacunas aplicadas recientemente Si No

¿Cuál?

En caso de que sea mujer ¿Hubo relación de la hipoacusia con el embarazo?

Si No

5. Datos quirúrgicos en el INR

Fecha quirúrgica: (___/___/___) Cx

realizada:|_____|

Lateralidad de la Enfermedad Bilateral Unilateral

Oído Intervenido Derecho Izquierdo

Cirujano: _____

¿Qx planeada = Qx realizada? Si No

Técnica de Estapedectomía Platinectomía Hemiplatinectomía

Agujero Pequeño

Parte del estribo obtenida Supraestructura

Platina completa

Supraestructura con hemiplatina

Hemiplatina

Supraestructura con platina completa



INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN
SUBDIRECCIÓN DE OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGÍA DE CABEZA Y
CUELLO

CARTA DE DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

DETERMINACIÓN MOLECULAR DEL VIRUS DEL SARAMPIÓN EN PLATINAS
DE PACIENTES CON OTOESCLEROSIS DEL INSTITUTO NACIONAL DE
REHABILITACIÓN

Usted que padece sordera a causa de una mala transmisión del sonido por fijación de uno de los huesos del oído (otoesclerosis), le invitamos a participar en un estudio clínico, en el cual se evaluará la presencia del virus del sarampión en el hueso del oído que se encuentra fijo (estribo), para determinar si este es uno de los causantes de la enfermedad. Su participación es completamente voluntaria. Nadie puede inducirlo o forzarlo para que participe. Por favor, lea la información siguiente; si no le es posible, alguien más puede leérsela. Revísela con cuidado y si existe cualquier duda o pregunta, hágalo saber a la persona que está revisando este documento con usted.

¿Por qué se hace este estudio?

Existen varias teorías sobre la causa de la otoesclerosis, como la hereditaria, hormonal, del sistema de defensa, desordenes del hueso y la viral, sin embargo, no existe ninguna totalmente comprobada como única causante por lo que se realiza este estudio para descartar o reafirmar una de la teorías causales, como es que la presencia del virus del sarampión en la parte interna de su oído (sitio en donde se origina la otoesclerosis) produce una reacción inflamatoria que causa esta enfermedad.

¿Quién está haciendo este estudio?

Este estudio se lleva a cabo en el Instituto Nacional de Rehabilitación, justo donde se encuentra hospitalizado. En este hospital, los responsables del estudio es el Dr. Roberto Sánchez Larios, a quién puede contactar para cualquier duda o aclaración en el teléfono 59991000 ext. 18119 o 18270.

¿Qué se le hará a usted en este estudio?

Usted recibirá el tratamiento quirúrgico recomendado para el tratamiento de la otoparesclerosis, antes de la cirugía se le tomará una muestra de sangre para analizar por esta vía si usted a tenido contacto con el virus del sarampión, la muestra será tomada antes de que se le ponga el suero por lo que no se le dará un piquete adicional.

Convencionalmente durante la cirugía se retira uno de los huesos del oído, que es sustituido posteriormente por una prótesis, este se mandará a analizar para descartar la presencia del virus.

¿Qué se hará con las muestras?

Las muestras tomadas para conocer la presencia del virus del sarampión(muestra de sangre y hueso del oído) se analizarán con pruebas moleculares y se realizará una base de datos con los resultados.

¿Cuáles son los riesgos que tengo por participar?

No existen riesgos adicionales al de la propia cirugía por participar en este estudio.

¿Cuáles son los beneficios de participar?

El participar en el estudio puede beneficiar de forma directa a usted y su familiares ya que tendremos un mejor conocimiento de este padecimiento lo que nos ayudará a mejorar el tratamiento de los pacientes afectados en el futuro.

No se ofrece ningún pago a los participantes durante el estudio.

¿Puedo retirarme del estudio?

Si, puede pedir que sea retirado/a, de forma libre en el momento que lo decidiera y el Comité de Ética del Instituto tiene la obligación de detener el estudio en cualquier momento cuando considere que se están afectando los derechos de los pacientes.

¿Qué sucede si decido no participar o si posteriormente decido retirarme del estudio?

No existe ningún problema. Los médicos respetarán su decisión y continuarán ofreciéndole el tratamiento y atención acostumbrados en el hospital.

Confidencialidad.

Toda la información acerca de usted se mantendrá confidencial y no se compartirá con ninguna persona que no sea responsable de su cuidado médico. El expediente médico será revisado por personas que trabajan dentro del estudio, incluyendo monitores, y puede ser revisado por autoridades regulatorias y el Comité de Ética. El nombre no será utilizado en ningún reporte de la información generada en este estudio. Todos los documentos de investigación y muestras se identificarán utilizando un número clave. El nombre no aparecerá en ningún reporte o publicación científica relacionada con el estudio.

¿A quién puedo contactar si tengo preguntas o quejas?

Si tienen cualquier pregunta acerca del estudio, puede hablar con el investigador principal, Dr. Roberto Sánchez Larios o si tiene dudas en relación al proceso de consentimiento informado, con el coordinador el Comité de Ética de su hospital.

