



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS RS 1800012 Y 2141279 DE COL1A1 EN  
PACIENTES MEXICANOS CON DIAGNÓSTICO DE OTOESCLEROSIS

GRADUACIÓN POR TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA

CECILIA ELENA URQUIJO TORRES

TUTOR DE TESIS  
D. EN C. MARÍA DE LA LUZ ARENAS SORDO  
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN  
ASESORA TECNOLÓGICA

D. EN C. LEONORA CASAS ÁVILA  
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

MÉXICO D.F., ENERO 2016



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.

INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

“Asociación de los polimorfismos rs 1800012 y 2141279 de COL1A1 en pacientes Mexicanos con Diagnóstico de Otoesclerosis”

---

**Número de acuerdo de subcomité académico AA42-(CM/SCA/SO149/13)**

**Dra. Cecilia Elena Urquijo Torres**

**13/05/2015**

Asesor de Tesis: Dra. María de la Luz Arenas Sordo.



**VoBo.**

## **Agradecimientos**

Dra. Margarita Valdés Flores, Dra. Laura Hernández Gómez, Dr. Rafael Franco, Dra. María de la Luz Arenas Sordo, Dra. Leonora Casas Ávila, a todos mis maestros, todos los pacientes, amigos, familiares y compañeros trabajadores del Instituto Nacional de Rehabilitación que me apoyaron para la realización de este proyecto, les agradezco infinitamente, sin su ayuda, paciencia y enseñanzas no se podría haber llevado a cabo este proyecto.

## Índice

Resumen.....	5
I. Antecedentes.....	7
II. Planteamiento del problema.....	12
II.I Justificación.....	13
III. Hipótesis.....	13
IV. Metodología.....	14
V. Objetivos.....	20
VI. Diagrama de flujo.....	21
VII. Procedimiento.....	22
VIII. Análisis estadístico.....	23
IX. Resultados.....	24
X. Discusión.....	44
XI. Conclusiones.....	47
XII. Bibliografía.....	48
XIII. Índice de tablas.....	53
Anexos .....	54

## Resumen

La otoesclerosis es un desorden local del metabolismo óseo del hueso que se caracteriza por reabsorción y depósito de hueso en forma anómala, denominado otoespongiosis.<sup>1,2</sup>

La prevalencia es de 0.3% a 0.4% en la población general, 5-7%, incidencia en población caucásica<sup>3</sup>, 5-9% de pacientes con hipoacusia y 18-22% en hipoacusia conductiva.<sup>4</sup> El 60% cuenta con historia familiar positiva (agregación). Este padecimiento es más frecuente en el sexo femenino con una proporción de 2:1.

Genéticamente se considera de origen multifactorial poligénico, aunque existen casos familiares con herencia autosómica dominante, aparentemente monogénicos.

Dentro de los genes que se han estudiado como susceptibles para desarrollar Otoesclerosis, se encuentran los polimorfismos de *COL1A1* debido a la similitud que existe entre las lesiones de Otoesclerosis y las de Osteogénesis Imperfecta a nivel auditivo.

Los SNP de *COL1A1*: Sp1, posición +11126 G/T (TTGGG) rs1800012 y SNP rs 2141279 (C/T) se han relacionado con una actividad de transcripción aumentada in vitro y por lo tanto como factores de susceptibilidad.<sup>5</sup>

## Objetivo

Búsqueda de la asociación de los polimorfismos SNP rs1800012 y rs2141279 en pacientes con otoesclerosis

## Metodología

Estudio de casos y controles.

## Pacientes y métodos

Se incluyeron 85 sujetos de ambos sexos con edades comprendidas entre los 23 y 71 años con diagnóstico de Otoesclerosis y 86 sujetos controles pareados por edad y sexo. Se determinó la presencia de los polimorfismos rs1800012 y rs2141279 así como sus variantes alélicas.

## Análisis estadístico

Descriptivo: Medidas de tendencia central: moda, media y mediana. Desviación estándar. Rango para algunas medidas. Para las variables cualitativas se realizó chi - cuadrada de independencia. Para las variables cuantitativas, dependiendo de su distribución normal o no, se analizaron con t de Student o U de Mann-Whitney.

Se obtuvo la razón de momios no-ajustada para las diferentes variables. Para el análisis multivariado se empleó la regresión logística para obtener las razones de momios ajustadas. Los modelos de regresión logística se obtuvieron ingresando las variables con  $p < 0.1$  en el análisis bivariado. Se consideró significativa cuando presentó una  $p < 0.05$ . El análisis se llevó a cabo con el programa Stata/SE 8.0 y SPSS 17.

Se realizó la prueba de Hardy Wienberg para saber si la distribución de los polimorfismos en la población estudiada se encontraba en equilibrio.

## **Resultados**

Se eligieron todos los casos 85 (49.7%) y se parearon por edad y sexo con 86 (50.3%) controles, quedando una muestra total de 171, 126 (73.7%) eran del sexo femenino, 45 (26.3%) del sexo masculino para una proporción 2.8:1, con edades comprendidas entre los 23 y 71. Edad de inicio de Otoesclerosis mínima de 8 y máxima de 58 con una media de 33.21. Presentación temprana de la Otoesclerosis en 69 (81.2%) de los casos. La forma de presentación de la Otoesclerosis fue bilateral en 74 casos representando el 87.1%. En cuanto a los casos, 15 tienen familiares con diagnóstico confirmado de Otoesclerosis y 34 sujetos sospechosos del mismo diagnóstico en conjunto representan el 57.64%.

La presentación del polimorfismo rs1800012 de COL1A1 en la población estudiada, la proporción de casos que presentaron el polimorfismo rs 1800012 fue la misma proporción en que los controles presentaron el polimorfismo, se aplicó Chi cuadrada para saber si existía relación entre la presentación del polimorfismo rs1800012 en casos y controles. Resultando una  $p$  de 1.000, mayor a 0.05, por lo que concluimos que no existe relación entre la presentación del polimorfismo rs 1800012 y el diagnóstico de Otoesclerosis. Se realizó la misma prueba en el caso del polimorfismo rs2141279, resultando una  $p$  no significativa mayor a 0.05, 0.301, por lo que concluimos que no existía relación entre el polimorfismo y el diagnóstico de Otoesclerosis, tampoco existió una asociación entre la presentación de los polimorfismos y el sexo de los individuos.

Se requiere de una muestra mayor para dar obtener resultados definitivos, sobre todo porque con la muestra recabada, pareciera que el polimorfismo rs214679 no se encuentra en equilibrio en nuestra población.

## Antecedentes

La Otoesclerosis es un desorden local del metabolismo óseo del hueso endocranal avascular del oído medio, que se caracteriza por reabsorción y depósito de hueso en forma anómala, denominado otoespongiosis.<sup>1,2</sup> Esta remodelación puede conducir a la fijación del estribo debido a la invasión de focos otoscleróticos en la articulación estapedio-vestibular, lo que resulta en pérdida de la audición de tipo conductivo. En el 10% de los casos existe pérdida de la audición neurosensorial de inicio. A la Otoesclerosis de tipo conductivo puede agregarse de manera secundaria hipoacusia neurosensorial.<sup>3</sup>

Tiene una prevalencia de 0.3% a 0.4% en la población general, 5-7% de incidencia en población caucásica;<sup>3</sup> 5-9% de pacientes con hipoacusia general y 18-22% de los individuos con hipoacusia conductiva. El 60% de los individuos diagnosticados con Otosclerosis, cuenta con historia familiar positiva para este padecimiento.<sup>4</sup>

El grado de penetrancia y la expresividad son variables lo cual podría estar relacionado con la distribución de las lesiones otoscleróticas en la cápsula ótica, ya que estas lesiones se han reportado en sitios que podrían no causar síntomas clínicos, ya que se han encontrado en sujetos sin síntomas de Otoesclerosis como hallazgo post mortem. La pérdida de la audición a menudo comienza entre los 15 y 45 años de edad, con una edad media a los 33 años. Tiene una mayor incidencia en mujeres con una relación 2:1 siendo esta preponderancia femenina atribuible a factores hormonales.<sup>3</sup> Es más frecuente de forma bilateral que unilateral (89 vs 65%).<sup>6</sup>

Se ha asociado la presencia de Otoesclerosis con el aumento de IgG para el virus del Sarampión,<sup>7</sup> presuponiendo que el virus del sarampión favorecería una mutación en el gen *COL1A1*, afectando la transcripción del colágeno tipo I y por otras vías alteraría también la transcripción de la colágena tipo III.<sup>8</sup> En 1989 Gordon predijo que podría deberse a una alteración en el brazo largo del cromosoma 17 en el gen *COL1A1* debido a la semejanza con las lesiones observadas en pacientes con diagnóstico de Osteogénesis imperfecta.

Desde un punto de vista genético, la otosclerosis es usualmente considerada como una enfermedad de tipo multifactorial; sin embargo, se han reportado familias con herencia autosómica dominante de tipo monogénico<sup>1,9</sup> para la cual se han encontrado varias regiones aunque aún no se han identificado genes, los loci de estas regiones son: *OTSC1* en el cromosoma 15q25-q26,<sup>10</sup> *OTSC2* en el cromosoma 7q34-36,<sup>11</sup> *OTSC3* en el cromosoma 6p21.3-p22.3,<sup>12</sup> *OTSC4*



16q21-23.2,<sup>13</sup> *OTSC5* en el cromosoma 3q22-q24,<sup>14</sup> *OTSC7* en el cromosoma 6q13-16.1,<sup>15</sup> *OTSC8* 9p13.1-9q21.11<sup>16</sup> y *OTSC10* 1q41-44.<sup>17</sup> Es interesante resaltar que los loci identificados en estudios familiares y los genes localizados en estudios de asociación, no se sobrelapan.<sup>18</sup> Se han relacionado también otros genes como el gen de la reelina (*RELN*),<sup>19,20</sup> el *TGFB1*,<sup>21</sup> el *BMP2* y *BMP4*,<sup>22</sup> el *ACE* y el *AGT*.<sup>23</sup>

En el año 2010, Megan Ealy, Richard J.H. Smith, realizaron un resumen que incluía todos los loci hasta ese momento relacionados con la Otoesclerosis de tipo familiar en diferentes poblaciones.<sup>18</sup> (Tabla 1).

**Tabla 1. Loci identificados que contribuyen a la Otoesclerosis familiar y poblaciones en las que fueron estudiados<sup>18</sup>**

Locus	Posición	Origen de familia estudiada
OTSC1	15q25-q26	India Túnez
OTSC2	7q34-36	Bélgica Gran Bretaña
OTSC3	6p21-22.3	Chipre Túnez
OTSC4	16q21-23.2	Israel
OTSC5	3q22-24	Holanda
OTSC6	-	-
OTSC7	6q13-16.1	Grecia Holanda
OTSC8	9p13.1-9q21.11	Túnez

Tabla tomada de artículo Megan Ealy, Richard J.H. Smith, Review The Genetics of otosclerosis, Hear Res. 266 (2010) 266: 70–74

Para la Otoesclerosis de tipo multifactorial se han realizado varios estudios de asociación, dentro de los que se han estudiado polimorfismos en genes probablemente susceptibles. Como *COL1A1*, *COL1A2*, y *COL2A1*,<sup>24</sup> los cuales fueron seleccionados por la llamativa similitud patológica entre la otosclerosis y la Osteogénesis imperfecta que es causada por mutaciones en estos genes.<sup>25</sup> Por

otra parte se pensó en el gen *COL2A1* debido a que se expresa de manera abundante en la cápsula óptica.<sup>26,27</sup>

Mckeen *et al.* [1998], encontraron una asociación estadísticamente significativa entre el gen *COL1A1* y la otoesclerosis, pero no se encontró ninguna asociación entre *COL1A2* y *COL2A1*.<sup>24</sup>

La proteína colágena tipo I madura está formada por un heterotrímero de 2 cadenas alfa 1 (producidas por el gen *COL1A1*), y una cadena alfa 2 producidas por el gen *COL2A1*.<sup>28-35</sup>

En 1998, M.J. McKenna y colaboradores, realizan un estudio de asociación entre el polimorfismo rs 1800012 y la presentación esporádica y familiar de Otoesclerosis, reportando una asociación significativa en ambos casos, en este caso, los controles eran pacientes con diagnóstico de Degeneración Macular asociada a la edad (AMD en sus siglas en inglés) ya que por la edad en que esta enfermedad se presenta, mayores a 60 años, era poco probable que desarrollaran otoesclerosis en el futuro.<sup>24</sup> (Tabla 2 y Tabla 3). En 2004, encuentran la asociación del polimorfismo rs1800012 de *COL1A1* y la Otoesclerosis de presentación familiar y esporádica e infieren de manera indirecta la asociación de Otoesclerosis con Osteoporosis debido a que dicho polimorfismo se reporta con la misma frecuencia en ambos padecimiento.

**Tabla 2. Comparación de la frecuencia alélica entre casos familiares y esporádicos de Otoesclerosis rs 1800012<sup>24</sup>**

	SS	Ss	ss	Total de pacientes
OS Familiar	22 (44%)	25 (50%)	3 (6%)	50
OS Esporádica	21 (42%)	25 (50%)	4 (8%)	50

$$\chi^2 = 0.166, df = 2, p = 0.920$$

OS, otoesclerosis

S Alelo normal, s alelo con polimorfismo (G/T)
--

Tabla tomada de M.J. McKenna, A.G. Kristiansen, M.L. Bartley, J.J. Rogus, J.L. Haines, Association of COL1A1 and otosclerosis. Evidence for a shared genetic etiology with mild osteogenesis imperfecta, Am. J. Otol. (1998) 19: 604–610.

**Tabla 3. Comparación entre pacientes con Otoesclerosis y Controles de rs 1800012<sup>24</sup>**

	SS	Ss	ss	Total de Pacientes
Otoesclerosis	43(43%)	50 (50%)	3 (3%)	100
AMD	88 (81%)	20 (19%)	0 (0%)	108

$\chi^2=32.06$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0.0001$  AMD, Degeneración Macular asociada con la edad

S alelo normal, s polimorfismo , \* Los controles tenían diagnóstico de **AMD** (Degeneración Macular asociada con la edad)

Tabla tomada de M.J. McKenna, A.G. Kristiansen, M.L. Bartley, J.J. Rogus, J.L. Haines, Association of COL1A1 and otosclerosis. Evidence for a shared genetic etiology with mild osteogenesis imperfecta, Am. J. Otol. (1998) 19: 604—610.

Chen *et al.* [2007], mediante un estudio de casos y controles, investigaron la asociación entre los genes de colágena tipo I y la otosclerosis. Identificaron haplotipos de susceptibilidad y protección en *COL1A1*, que fueron significativamente asociados con la otosclerosis en la población caucásica. Estos haplotipos alteran la actividad del gen reportero en la línea celular de osteoblastos afectando la unión de los factores de transcripción a los elementos que actúan en *cis*. Sus datos sugieren que cantidades aumentadas de homotrímeros de colágena (I), son causalmente relacionados con el desarrollo de otosclerosis. El SNP: Sp1, posición +11126 G/T (TTGGG) rs1800012 y SNP rs2141279 intrón 15(en población belga y holandesa) , se relacionaron con una actividad de transcripción aumentada in vitro y por lo tanto como factor de susceptibilidad.<sup>5</sup> Otros SNP reportados de COL1A asociados a Otoesclerosis son SNPs rs1107946 (5' río arriba cambio de G/T), rs2269336 (5' río arriba cambio de C/G), SNP rs2586498 (en el intrón 5) y SNP PCOL1 -1782 T/delección de T (G delección TCAT) rs11327935 .<sup>36</sup>

En el año, 2012, Schrauwen I y colaboradores realizaron un meta análisis con toda los estudios hasta entonces realizados en asociación de polimorfismos de COL1A1 y COL2A2 y otosclerosis.<sup>49</sup> (Tabla 4 y 5)

**Tabla 4. Comparación de frecuencias de los SNPs en COL1A1 y COL2A2 en población Estadounidense y Alemana<sup>49</sup>**

	Nombre de SNP	Posición de SNP	# rs en dbSNP	Valor p de HW	AO vs CEPH Caucásicos controles	GO vs Alemanes Caucásicos controles	AO vs GO
							p (prueba de $\chi^2$ )
COL1A1	Up1	- 6895 C/T	169700	1	0.077	0.762	0.729
	PCOL2	- 2116G/T	1107946	0.94	0.209	0.213	0.283
	PCOL1	- 1782T/ $\Delta$ T	11327935	0.37	0.097	<b>0.032</b>	0.866
	PCOL3	- 1482 C/G	2269336	1	0.117	0.110	0.445
	Int1	+ 368 A/G	98988186	0.54	0.027	0.328	0.869
	Sp1	+ 1126 G/T	1800012	0.37	<b>0.004</b>	0.374	0.689
	Int5	+ 2623 C/T	7406586	0.55	<b>0.003</b>	0.340	0.382
	Int30	+ 9573 C/T	2857396	0.99	0.811	0.503	0.55
	Int44	+ 13449 C/T	2886488	0.23	0.746	0.965	0.146
	Ex52/3'UTR	+ 16100 C/T	1061237	0.06	0.723	0.068	0.151
COL1A2	Pro1	- 2869 C/T	3763469	0.06	0.992	0.544	0.217
	Pro2	- 1929 G/T	6962524	0.41	0.557	0.408	0.166
	Int1	+ 1581 A/G	3888625	0.64	0.88	0.899	0.313
	Ext52/3'UTR	+ 36166 G/T	1062394	0.57	0.946	0.854	0.866

**AO**, pacientes con Otoesclerosis de EUA; **GO** pacientes con Otoesclerosis de Alemania; **HW** Hardy Weinberg; **p value** valor de p de Pearson en  $\chi^2$ . **UTR** región no traducida; **CEPH** Centre d'Etude du Polymorphisme, <sup>a</sup> Cálculo de Alelo menor A combinado con alelo menor C.

Khalfalla *et al.* [2011], reportaron en un estudio con población tunecina, una fuerte relación entre el SNP rs11327935 y la otosclerosis, pero además, que ésta era una asociación sexo específica, siendo más frecuente en la población femenina.<sup>36</sup>

**TABLA 5.**

**Asociación de polimorfismos de COL1A1 en población caucásica Belga, holandesa y suiza<sup>49</sup>**

SNP	Nombre de SNP	Posición	Valor-p
Belgas-			
Holandeses			
rs16970089	Up1	5' río arriba	0.604
rs11327935	Pcol1	5' río arriba	0.659
rs9898186	Int1	Intrón 1	0.699
rs1800012	Sp1	Intrón 1	0.963
rs25866498	Int5/rs7406586	Intrón 5	0.453
rs2075555		Intrón 11	0.771
rs17639446		Intrón 12	0.428
rs2141279		Intrón 15	<b>0.022</b>
rs26966247		Intrón 28	0.642
rs2857396	Int30	Intrón 30	0.826
rs2075559		Intrón 36	0.771
rs2586488	Int44	Intrón 44	0.919
rs1061237	Ex51/3'UTR	3'UTR	0.757
rs909102		3' río abajo	0.958
Suizos			
rs1800012	Sp1	Intrón 1	0.262

## II. Planteamiento del Problema

La Otoesclerosis es una enfermedad caracterizada por una remodelación ósea desordenada en la cápsula ótica. Tiene una prevalencia de 0.3% a 0.4% en la población general, 5-9% de pacientes con hipoacusia y 18-22% de los individuos con hipoacusia conductiva. Se han identificado algunos polimorfismos en el gen de *COL1A1* asociados a Otoesclerosis afectando de manera negativa la expresión del fenotipo, sin embargo hasta el momento no se ha realizado ningún estudio que reporte estos cambios en la población mexicana.

## **II.I Justificación**

Se trata de una de las causas más frecuentes de consulta por hipoacusia de tipo conductivo no congénito en adultos en el servicio de Audiología. En la casuística del Instituto Nacional de Rehabilitación la Otoesclerosis tiene el segundo lugar en frecuencia de atención en la consulta y representa el 6% de todas las patologías del oído, presentándose cerca de 500 consultas al año.

Debido a que no se conoce la etiología de la Otoesclerosis y existen algunos estudios que sustentan la etiología genética como principal factor causal, este estudio pretende contribuir al conocimiento del origen de esta enfermedad, al detectar la presencia de los polimorfismos rs1800012 y rs2141279 del gen *COL1A1* en pacientes con otosclerosis, con la finalidad de realizar una correlación entre estas entidades en población mexicana, ya que hasta la fecha no existe algún estudio similar en la literatura nacional.

En caso de existir una asociación de estos polimorfismos en nuestra población ayudaría a determinar un factor genético más, como riesgo de padecer Otoesclerosis en la población mexicana.

## **Pregunta de Investigación**

¿Existe asociación entre los polimorfismos SNP rs1800012 y rs2141279 del gen *COL1A1* y la Otoesclerosis en pacientes mexicanos?

## **III. Hipótesis**

Los polimorfismos tipo SNP: rs1800012 y rs2141279 del gen *COL1A1* están asociados con la enfermedad Otoesclerosis en pacientes mexicanos.

## **IV. Metodología**

### **Tipo de Estudio y diseño en general**

Casos y controles

### **CASOS**

#### **Selección de los sujetos de estudio**

Pacientes que acudan a consulta del Instituto Nacional de Rehabilitación a los que ya se les ha realizado el diagnóstico de Otoesclerosis mediante Audiometría pudiéndose tratar de casos incidentes o casos prevalentes.

#### **Criterios de inclusión**

Sujetos de cualquier sexo con edades comprendidas entre los 18 y 80 años al momento del estudio con diagnóstico Otoesclerosis mediante audiometría.

- Sujetos que cuenten con el antecedente de por lo menos 3 generaciones nacidas en México y cuyos apellidos sean de origen español o prehispánico.
- Sujetos que acepten participar en el estudio y firmen la carta de consentimiento informado. (Anexo 1).

#### **Criterios de exclusión**

- Familiares en cualquier grado de sujetos que estén participando en el estudio.  
Pacientes con antecedentes de ruptura de tendón de Aquiles, tendón rotuliano o ruptura del manguito rotador.

#### **Criterios de eliminación**

- Sujetos en los que por cualquier razón no se logre analizar la muestra (DNA insuficiente, muestra de mala calidad.)

## **CONTROLES**

### **Selección de controles**

Sujetos que asistan a cualquier servicio del Instituto Nacional de Rehabilitación que sean acompañantes de pacientes, familiares de pacientes o personal del Instituto y cuya asistencia al instituto no se deba al diagnóstico de Otoesclerosis.

### **Criterios de Inclusión**

Sujetos de cualquier sexo con edades comprendidas entre 18-80 años.

- Sujetos sin antecedentes familiares de Otoesclerosis.
- Sujetos con antecedente de por lo menos 3 generaciones nacidas en México, con apellidos de origen español o prehispánico.

### **Criterios de Exclusión**

- Sujetos con antecedentes de ruptura de tendón de Aquiles, tendón rotuliano o ruptura del manguito rotador.

### **Criterios de Eliminación**

- Sujetos en las que por cualquier razón (DNA insuficiente, muestra inadecuada, etc) no sea posible el análisis de la muestra.

## **Variables**

**Variable independiente:** Polimorfismos SNP: rs1800012 y rs2141279 del gen *COL1A1*

**Variable dependiente:** Otoesclerosis

**Variables Universales:** Edad, sexo, talla, peso, lugar de origen.

**Otras variables:** Presencia de endogamia, coeficiente de consanguinidad, inicio de presentación de síntomas de Otoesclerosis, bilateralidad de hipoacusia secundaria a Otosclerosis, número y



grado de familiares afectados, antecedente de Sarampión, antecedente de consumo de hormonales.

DEFINICIONES				
VARIABLE	CONCEPTUAL	OPERACIONAL	CATEGORÍA	ESCALA
Edad	Años de vida cronológica	Se resta a la fecha actual la fecha de nacimiento	Cuantitativa de intervalo	Años
SEXO	Sexo del paciente Diferencias fenotípicas	OBSERVACIÓN	Cualitativa dicotómica nominal	1Masc 2Fem
Bilateralidad de la Otoesclerosis	Afección de uno o ambos oídos	Oído izquierdo, derecho o ambos	Cualitativa nominal	1. Izq 2Derec 3Bilate
Edad de inicio de enfermedad	Años de vida al inicio de la enfermedad	Edad del paciente en años	Cuantitativa Continua de intervalo	Años
Antecedente Familiar sospechoso	Antecedente de familiar con sospecha clínica de Otoesclerosis o sordera en edad temprana (joven o adulto joven)	Si o no	Cualitativa dicotómica nominal	1.Sí 2. No
Antecedente Familiar confirmado	Antecedente familiar de Otoesclerosis diagnosticada (joven o adulto joven)	Si o no	Cualitativa dicotómica nominal	S/N***
Familiar afectado 1º grado	Antecedente de familiar con otoesclerosis, o sordera en edad temprana (joven o	Número de familiares de 1º grado afectados	Cuantitativa discreta	Número de familiares es

	adulto joven)			
Familiar afectado 2º grado	Antecedente de familiar con otoesclerosis, o sordera en edad temprana (joven o adulto joven)	Número de familiares de 2º grado afectados	Cuantitativa discreta	Número de familiares
Familiar afectado 3º grado	Antecedente de familiar con otoesclerosis, o sordera en edad temprana (joven o adulto joven)	Número de familiares de 3º grado afectados	Cuantitativa discreta	Número de familiares
Familiar afectado 4º grado	Antecedente de familiar con otoesclerosis, o sordera en edad temprana (joven o adulto joven)	Número de familiares de 4º grado afectados	Cuantitativa discreta	Número de familiares
Antecedente de consanguinidad	Antecedente familiar de relación familiar	Si o no	Cualitativa dicotómica nominal	S/N
Antecedente de endogamia	Antecedente familiar de origen de comunidad pequeña	Si o no	Cualitativa dicotómica nominal	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 dicotómica nominal	S/N***

PCR-RT rs 1800012	Presencia de polimorfismo detectado mediante PCR-RT	Si o no	Cualitativa dicotómica nominal	S/N***
PCR-RT Rs2141279	Presencia de polimorfismo detectado mediante PCR-RT	Si o no	Cualitativa dicotómica nominal	S/N***

### Definiciones conceptuales

**Polimorfismo:** Son cambios en la secuencia del DNA que se presentan en más de 1% de la población y que pueden en ocasiones alterar la susceptibilidad o expresión de un fenotipo.<sup>14-22</sup>

**SNP:** Polimorfismo de un solo nucleótido (**SNP**, *Single Nucleotide Polymorphism*). Cambio de un solo nucleótido en la secuencia del DNA presente en por lo menos el 1% de la población.<sup>37-45</sup>

**OTOESCLEROSIS:** Desorden local del metabolismo óseo del hueso endocranal avascular que se caracteriza por reabsorción y depósito de hueso en forma anómala, denominado oteospongiosis.

### Definiciones Operativas

**SNP:** Amplificación positiva de la secuencia de interés del gen *COL1A1* con una sonda TaqMan específica para los polimorfismos rs1800012 y rs11327935 mediante técnica de PCR en tiempo real.

**Otosclerosis:** Uno o más de los siguientes datos audiométricos en pacientes adultos con hipoacusia progresiva no congénita:

La otosclerosis clínica se diagnostica mediante los siguientes criterios:

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

En otosclerosis coclear: Audiometría con componente sensorineural de pérdida en todas las frecuencias, o en las frecuencias altas con curvas de tipo planas, ascendentes o en "muesca".

5.- Historia familiar de la enfermedad

6.-Antecedente de mayor progresión con el embarazo en caso de tratarse de paciente del sexo femenino.

7.- Generalmente sin antecedentes de cuadros infecciosos óticos. <sup>46</sup>

El diagnóstico clínico basado en la historia, examen físico y audiometría puede ser apoyado por estudios de imagen. La tomografía computada de alta resolución (HRCT de las siglas en inglés) es la modalidad de elección, debido a la capacidad de detectar lesiones óseas patológicas dentro y alrededor de la platina, cóclea y laberinto. La otosclerosis en la imagen tomográfica se identifica como un foco hipodenso dentro de la cápsula ótica, más comúnmente anterior a la ventana oval, otros hallazgos por tomografía incluyen a la platina engrosada, estrechamiento del nicho de la ventana oval o redonda y signo del doble halo (lesión hipodensa rodeando la cóclea).

Varios autores han evaluado la sensibilidad de la tomografía para diagnosticar otosclerosis en las últimas décadas. Estudios recientes han reportado una sensibilidad por encima del 90% utilizando tomografía de alta resolución, sin embargo al comparar los hallazgos tomográficos con los histopatológicos existe una tasa significativa de falsos negativos en la tomografía. Desde que se introdujo la tomografía computada a la otología ha mostrado ser un instrumento útil para el diagnóstico de múltiples enfermedades sin embargo no es una herramienta que se utilice de rutina en la otosclerosis ya que el diagnóstico generalmente es clínico. <sup>47, 48</sup>

a) **Otoesclerosis estapedial:** Hipoacusia conductiva de bajas frecuencias y presencia del nicho de Carhart.

b) **Otoesclerosis coclear:** Audiometría con componente sensorineural de pérdida en todas las frecuencias, o en las frecuencias altas con curvas de tipo planas, ascendentes o en “muesca”.

## V. Objetivos

### Objetivo General

Buscar si existe asociación de los SNP rs1800012 y rs2141279 del gen *COL1A1* con la Otoesclerosis en pacientes mexicanos.

### Objetivos específicos

- Identificar frecuencia y variantes alélicas de los polimorfismos rs1800012 y rs11327935 en los sujetos con y sin diagnóstico de Otosclerosis.

### Tamaño de la muestra:

El tamaño de la muestra se calculó con la ecuación de Schlesselman para casos y controles:

$$N = \left[ z_{\alpha} \sqrt{(1 + 1/C) * (P_n * Q_n)} + z_{\beta} \sqrt{(P_1 * Q_1) + (P_0 * Q_0 / C)} \right]^2 / (P_1 - P_0)^2$$

Se toma en cuenta tomando en cuenta la prevalencia de los polimorfismos informados previamente en otras poblaciones, pareando 1 control por caso

Considerando:

$$z_{\alpha} = 1.96$$

$$z_{\beta} = 0.84$$

$$C = 1$$

$$R = 2$$

$P_0$  = Prevalencia de exposición en controles

$$Q_0 = 1 - P_0$$

$$P_n = (P_1 + C * P_0) / (1 + C)$$

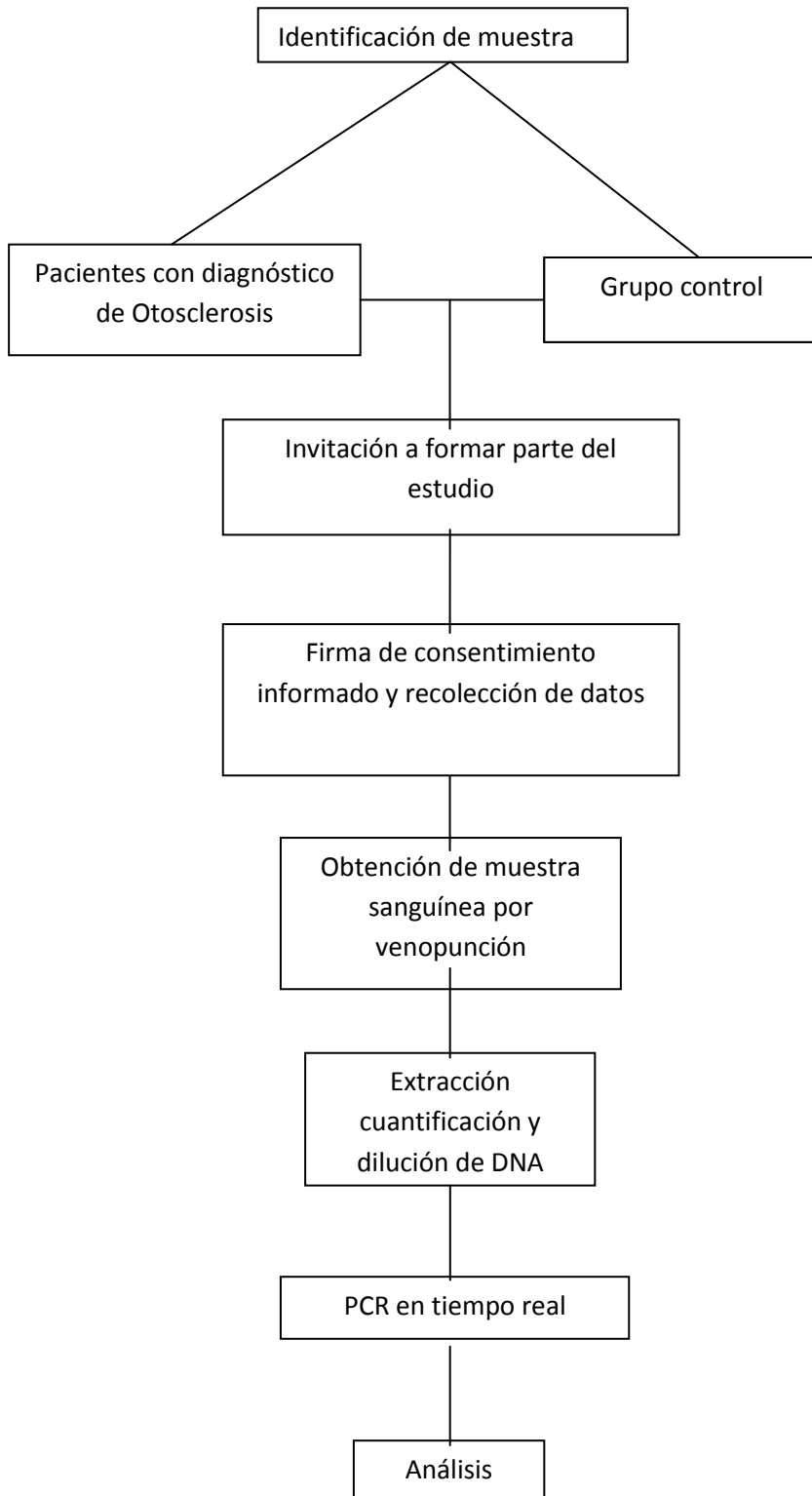
$$Q_n = 1 - P_n$$

$$P_1 = P_0 * R / [1 + P_0(R - 1)]$$

R = razón de momios a demostrar.

El resultado fue 134 casos y 134 controles

## VI. Diagrama de Flujo



## **VII. Procedimiento**

1. Selección de sujetos con diagnóstico clínico de Otosclerosis.
2. Selección de sujetos control
3. Firma de consentimiento informado
4. Análisis riguroso de antecedentes familiares de Otosclerosis.
5. Se obtendrán muestras de sangre venosa periférica.
6. Extracción de DNA de muestras de sangre venosa periférica.
7. Amplificación de regiones de interés rs1800012 y rs2141279 del gen *COL1A1* mediante técnica de PCR en tiempo real.
8. Análisis de resultados.

## VIII. Análisis Estadístico

Descriptivo: Medidas de tendencia central: moda, media y mediana. Desviación estándar. Rango para algunas medidas.

Para las variables cualitativas se realizará chi - cuadrada de independencia.

Para las variables cuantitativas, dependiendo de su distribución normal o no, se analizarán con t de student o u de mann-withney.

Se obtendrá la razón de momios no-ajustada para las diferentes variables. Para el análisis multivariado se empleará la regresión logística para obtener las razones de momios ajustadas. Los modelos de regresión logística se obtendrán ingresando las variables con  $p < 0.1$  en el análisis bivariado.

Se considerará significativa una  $p < 0.05$

Prueba de Hardy- Weinberg para saber si los polimorfismos se encuentran equilibrio dentro de la población estudiada.

El análisis se llevará a cabo con el programa Stata/SE 8.0 y SPSS 21



## IX Resultados

Se reunió una muestra total de 241 sujetos, 90 casos y 151 controles a los cuales se les extrajo 3ml de sangre mediante venopunción para extracción de DNA. Se extrajo y cuantificó DNA y durante este proceso se perdieron 12 muestras por mala técnica de extracción (1 caso, 11 controles), se decidió eliminar 7 muestras más de ADN por no lograr reunir todos los datos necesarios para el análisis de este estudio, en este caso, todos controles, quedando en ese momento un total de 222 sujetos, 89 casos 133 controles. Al realizar técnica de PCR en tiempo real no fue posible obtener el resultado de ninguno de los dos polimorfismos estudiados de 9 muestras, 4 casos y 5 controles. Por lo que se eliminaron antes de realizar el análisis de resultados.

En dos muestras más sólo se pudo obtener el resultado de 1 polimorfismo.

El análisis por lo tanto se realizó con 213 muestras restantes.

Obteniendo:

Se analizaron 213 sujetos, 161 de sexo femenino (75.6%) y 52 del sexo masculino (24.4%), para una proporción de 3:1. Reuniendo 128 controles (60.1%) y 85 casos (39.9%) para una proporción de 1.5:1 con edades comprendidas entre los 17 y 71 años, con una media de edad de 44.35 y una desviación estándar de 11.54.

SEXO				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Masculino	52	24.4	24.4	24.4
Válidos Femenino	161	75.6	75.6	100.0
Total	213	100.0	100.0	

Estadísticos descriptivos							
	N	Rango	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.	Varianza
Edad años	213	54	17	71	44.35	11.540	133.182
N válido (según lista)	213						

**Caso ó control**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Caso	85	39.9	39.9	39.9
Válidos Control	128	60.1	60.1	100.0
Total	213	100.0	100.0	

La edad de inicio de Ootosclerosis fue mínima de 8 y máxima de 58 con una media de 33.21.

**Estadísticos descriptivos**

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.	Varianza
Inicio años	85	8	58	33.21	10.514	110.550
N válido (según lista)	85					

Para saber si la distribución de edad de inicio seguía una distribución normal, se aplicó la prueba de Kolmogorov- smirnov para 1 muestra resultando una p mayor a 0.05, por lo que concluimos con datos estadísticos que la edad de inicio sigue una distribución normal.

**Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra**

		Inicio años
N		85
Parámetros normales <sup>a,b</sup>	Media	33.21
	Desviación típica	10.514
Diferencias más extremas	Absoluta	.079
	Positiva	.079
	Negativa	-.052
Z de Kolmogorov-Smirnov		.727
Sig. asintót. (bilateral)		.667

a. La distribución de contraste es la Normal.

b. Se han calculado a partir de los datos.

Se aplicó T de student para muestras independientes para saber si había diferencia en la edad de inicio entre sexos. Con una media de edad de inicio de 31.39 y desviación estándar de 8.805 en

sexo masculino y de 33.89 con desviación estándar de 11.071 en sexo femenino y una p de Levene de 0.210, varianzas iguales, y una p bilateral de 0.334, por lo que no existen evidencias estadísticamente significativas para afirmar que existe diferencia entre la edad de inicio de presentación entre sexos.

**Estadísticos de grupo**

	SEXO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Inicio años	Masculino	23	31.39	8.805	1.836
	Femenino	62	33.89	11.071	1.406

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
Inicio años	Se han asumido varianzas iguales	1.597	.210	-972	83	.334	-2.496	2.568	-7.603	2.612
	No se han asumido varianzas iguales			-1.079	49.262	.286	-2.496	2.312	-7.142	2.151

En cuanto a la presentación temprana de la Otoesclerosis, igual o menor a 40 años, 69 (81.2%) de los casos tuvieron un inicio temprano de la enfermedad.

**Temprano**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos Sí	69	81.2	81.2	81.2
No	16	18.8	18.8	100.0
Total	85	100.0	100.0	

La presentación de la Otoesclerosis fue bilateral en 74 (87.1%), izquierda en 7 (8.2%) y derecha en 4 (4.7%) de los casos.

**Presentación de la enfermedad**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Derecha	4	4.7	4.7
	Izquierda	7	8.2	12.9
	Bilateral	74	87.1	100.0
	Total	85	100.0	100.0

15 (17.6%) de los casos tuvieron familiares con diagnóstico confirmado de Otoesclerosis, 34 (40%) con familiares sospechosos de tener Otosclerosis.

No hubo casos ni controles que presentaran consanguinidad o endogamia.

**Familiares confirmados por audiometría**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Sí	15	17.6	17.6
	No	70	82.4	100.0
	Total	85	100.0	100.0

**Familiares sospechosos (sin audiometría)**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Sí	34	40.0	40.0
	No	51	60.0	100.0
	Total	85	100.0	100.0

El polimorfismo rs1800012 del gen (cambio de T/G) de COL1A1 no se pudo analizar en 2 muestras (0.9%) y en las 211 muestras restante tuvo una prevalencia de 21.327% (43 participantes), 95.5% de forma heterocigota (GT) y 4.44% de forma homocigota (2 participantes) el resto de los participantes 78.67% (166 sujetos) no presentaron este SNP y fueron homocigotos para el alelo silvestre (wild type) del gen (GG).

**rs1800012**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Sin datos	2	.9	.9	.9
Válidos GG	166	77.9	77.9	78.9
TT	2	.9	.9	79.8
GT	43	20.2	20.2	100.0
Total	213	100.0	100.0	

En cuanto al polimorfismo rs 2141279 del gen de COL1A1, no se obtuvieron datos en 2 muestras (0.9%) y en el resto 211, se tuvo una prevalencia 35.55% (75 sujetos) todos de manera heterocigota y el resto de los participantes 136 (64.45%) presentó el alelo silvestre de forma homocigota.

**rs2141279**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
sin datos	2	.9	.9	.9
Válidos CC	136	63.8	63.8	64.8
CT	75	35.2	35.2	100.0
Total	213	100.0	100.0	

Se aplicó el test de Kolmogorov-Smirnov para una muestra (por tener una muestra mayor a 50), para saber si la distribución de la edad era normal.

Se obtuvo:

**Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra**

		Edad años
N		213
Parámetros normales <sup>a,b</sup>	Media	44.35
	Desviación típica	11.540
	Absoluta	.078
Diferencias más extremas	Positiva	.078
	Negativa	-.073
Z de Kolmogorov-Smirnov		1.142
Sig. asintót. (bilateral)		.147

a. La distribución de contraste es la Normal.

b. Se han calculado a partir de los datos.

Una Z de K-S de 1.142 no significativa mayor a 0.05 lo cual nos indicó que la distribución que seguía la edad en la muestra era normal. Por lo que se aplicó estadística paramétrica.

**Teorema del límite central**

Promedio	1.96 DS	95 %	
44.35	+ 11.54 x 1.96 =	66.9684	Límite superior
44.35	- 11.54 x 1.96 =	21.7316	Límite inferior

$$EE = DS / \sqrt{n}$$

$$EE = 11.54 / \sqrt{213} = 0.79$$

$$IC\ 95\% = \text{Estimador} \pm Z (EE)$$

$$IC\ 95\% = 44.35 \pm 1.96 (0.79)$$

$$IC\ 95\% = 44.35 \pm 1.5484$$

$$\text{Límite superior } 45.8984$$

$$\text{Límite inferior } 42.8016$$

Para saber si la distribución de la edad era igual entre casos y controles se aplicó T de student para muestras independientes.

**Estadísticos de grupo**

	Caso ó control	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Edad años	Caso	85	47.82	9.864	1.070
	Control	128	42.05	12.023	1.063

La prueba de Levene para la igualdad de varianzas fue de 0.009

**Prueba de muestras independientes**

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
								Inferior	Superior
Edad años	6.899	.009	3.682	211	.000	5.777	1.569	2.684	8.869
Edad años			3.831	201.675	.000	5.777	1.508	2.803	8.750

Debido a la diferencia de varianza de edad entre casos y controles y para un mejor análisis de la muestra, se eligieron todos los casos 85 (49.7%) y se parearon por edad y sexo con 86 (50.3%) controles, quedando una muestra total de 171.

De los cuales 126 (73.7%) eran del sexo femenino, 45 (26.3%) del sexo masculino para una proporción 2.8:1, con edades comprendidas entre los 23 y 71 años, con una media de 47.40 y una desviación estándar de 10.15.

#### SEXO

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos Masculino	45	26.3	26.3	26.3
Femenino	126	73.7	73.7	100.0
Total	171	100.0	100.0	

#### Estadísticos descriptivos

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.	Varianza
Edad años	171	23	71	47.40	10.150	103.030
N válido (según lista)	171					

#### Caso ó control

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos Caso	85	49.7	49.7	49.7
Control	86	50.3	50.3	100.0
Total	171	100.0	100.0	

En cuanto al polimorfismo rs 1800012, (cambio de T/G), se pudo encontrar en 34 (19.8%) muestras: 33 (19.35) en forma heterocigota, 1 (0.6%) de forma homocigota; el resto, 136 (79.5%) presentó el genotipo silvestre de forma homocigota. No se pudo obtener datos de 1 (0.6%) muestra.



1800012

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Sin datos	1	.6	.6	.6
Válidos GG	136	79.5	79.5	80.1
TT	1	.6	.6	80.7
GT	33	19.3	19.3	100.0
Total	171	100.0	100.0	

Aplicamos la prueba de Hardy Weinberg para saber si los polimorfismos se encontraban en equilibrio en la población que dice.

$$(AA)p^2 + 2pq (2Aa) + q^2 = 1$$

$$p = \frac{2 \times AA + Aa}{2 \times (AA+Aa+aa)}$$

$$2 \times (AA+Aa+aa)$$

Para rs 1800012

Genotipo GG 136, GT 33, TT 1

$$p = \frac{2 \times (136) + (33)}{2 \times (136+ 33+ 1)}$$

$$2 \times (136+ 33+ 1)$$

$$p = 305/340 = 0.89705882$$

$$q = 1 - p$$

$$q = 1 - 0.89705882$$

$$q = 0.10294118$$

Valores esperados de HW

$$AA = p^2n = 0.89705882^2 \times 171 = 137.606185$$

$$Aa = 2pqn = 2 \times 0.89705882 \times 0.102941118 \times 171 = 31.58$$

$$Aa = q^2n = 0.10294118^2 \times 171 \leq 1.812$$

$$\text{Aplicamos la } \chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

$$\chi^2 = \frac{(136-137.60618)^2}{137.60618} + \frac{(33-31.58)^2}{31.58} + \frac{(1-1.812)^2}{1.812}$$

$$137.60618 \quad 31.58 \quad 1.812$$

$$\chi^2 = \frac{(-1.61)^2}{137.60618} + \frac{(1.42)^2}{31.58} + \frac{(-0.81)^2}{1.812}$$

$$= \frac{2.59}{137.60618} + \frac{2.02}{31.58} + \frac{0.66}{1.812}$$

$$\chi^2 = 0.02 + 0.06 + 0.36 = 0.44$$

$$\chi^2 = 0.02 + 0.06 + 0.36 = 0.44$$

$$\chi^2 = 0.02 + 0.06 + 0.36 = 0.44$$

Hay 1 grado de libertad. El nivel de significancia para un grado de libertad = 3.84, con una  $\chi^2$  de 0.44, menor a 3.84, se acepta que la población tiene proporciones de HW, está en equilibrio.

Referente al polimorfismo 2141279 el polimorfismo (cambio de C/T) se presentó en 56 (32.75%) de forma heterocigota, en el resto, 113 (66.1%) se presentó el wildtype de forma homocigota. No se pudieron obtener datos de 2 muestras (1.2%).

**2141279**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
sin datos	2	1.2	1.2	1.2
Válidos CC	113	66.1	66.1	67.3
CT	56	32.7	32.7	100.0
Total	171	100.0	100.0	

Se aplicó la prueba de HW para saber si la distribución del polimorfismo rs 2141279 se encontraba en equilibrio en nuestra población.

Genotipo CC113, CT 56, TT 0

$$(AA)p^2 + 2pq (2Aa) + q^2 = 1$$

$$p = \frac{2 \times AA + Aa}{2 \times (AA + Aa + aa)}$$

$$2 \times (AA + Aa + aa)$$

$$p = \frac{2 \times (113) + (56)}{2 \times (113 + 56 + 0)}$$

$$2 \times (113 + 56 + 0)$$

$$p = \frac{282}{338}$$

$$338$$

$$p = 0.83431953$$

$$q = 1 - p$$

$$q = 1 - 0.83431953$$

$$q = 0.16568047$$

Valores esperados de HW

$$AA = p^2 n = 0.83431953^2 \times 169 = 0.69608913 \times 169 = 117.639055$$

$$Aa = 2pqn = 2 \times 0.83431953 \times 0.16568047 \times 169 = 46.7219012$$

$$aa = q^2 n = 0.16568047^2 \times 169 = 0.02745002 \times 169 \leq 4.63905507$$

Aplicamos la  $\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$

$$\chi^2 = (113 - 117.639055)^2 / 117.639055 + (56 - 46.7219012)^2 / 46.7219012 + (0 - 4.63905507)^2 / 4.63905507$$

$$\chi^2 = (-4.639055)^2 / 117.639055 + (9.2780988)^2 / 46.7219012 + (-4.6390551)^2 / 4.63905507$$

$$\chi^2 = 21.5208313 / 117.639055 + 86.0831173 / 46.7219012 + 21.5208322 / 4.63905507$$

$$\chi^2 = 0.18293995 + 1.8424575 + 4.63905513$$

$$\chi^2 = 6.66445258$$

Hay 1 grado de libertad. El nivel de significancia para 1 grado de libertad = 3.84, con  $\chi^2$  de 6.66445258, mayor a  $\chi^2$ , no se puede aceptar que la población tenga proporciones de HW.

Posteriormente se aplicó el test de Kolmogorov-Smirnov para una muestra (por ser una muestra mayor a 50), para saber si la distribución de la edad era normal, obteniendo una Z de K-S de 0.823, mayor a 0.05, por lo que concluimos que la distribución de edad en los 171 sujetos es normal.

**Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra**

		Edad años
N		171
Parámetros normales <sup>a,b</sup>	Media	47.40
	Desviación típica	10.150
	Absoluta	.063
Diferencias más extremas	Positiva	.041
	Negativa	-.063
Z de Kolmogorov-Smirnov		.823
Sig. asintót. (bilateral)		.507

a. La distribución de contraste es la Normal.

b. Se han calculado a partir de los datos.

Posteriormente para comprobar promedio de edad entre grupos se aplicó un T de student para muestras independientes. Obteniendo una p en la prueba de Levene de 0.697, mayor a 0.05, por lo que asumimos que las varianzas de edad entre grupos es la misma y por lo tanto podemos compararlos, una vez asumiendo que las varianzas son iguales obtuvimos una p bilateral de 0.592, con lo que pudimos concluir que no existían diferencias de edad entre grupos.

**Estadísticos de grupo**

	Caso ó control	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Edad años	Caso	85	47.82	9.864	1.070
	Control	86	46.99	10.467	1.129

**Prueba de muestras independientes**

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
Edad años	Se han asumido varianzas iguales	.152	.697	.537	169	.592	.835	1.556	-2.236	3.906
	No se han asumido varianzas iguales			.537	168.618	.592	.835	1.555	-2.235	3.905

Se decidió ver la distribución de edad por sexo era similar se realizó una T de Student para muestras independientes con una media de 44.80 en el sexo masculino y de 48.33 en el sexo femenino, obteniendo una p de Levene de 0.096, asumimos que las varianzas son iguales y con una p bilateral para la prueba T de igualdad de medias de 0.045, asumimos que existe diferencia en la distribución de edad entre SEXO, teniendo una media de edad mayor en el sexo femenino.

**Estadísticos de grupo**

	SEXO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Edad años	Masculino	45	44.80	11.379	1.696
	Femenino	126	48.33	9.552	.851

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas	Prueba T para la igualdad de medias								
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
Edad años	Se han asumido varianzas iguales	2.804	.096	-2.023	169	.045	-3.533	1.747	-6.982	-.085
	No se han asumido varianzas iguales			-1.862	67.428	.067	-3.533	1.898	-7.321	.254

**Tabla. Asociación entre Polimorfismo rs 180012 del gen COL1A1 con Otoesclerosis**

Polimorfismo 180012 del gen	Casos Columna 1	Controles Columna2	Total
Sí Renglón 1	17(Casilla A)	17 (Casilla B)	34(marginal n1)
NO Renglón 2	68 (Casilla C)	68 (Casilla D)	136 (marginal n2)
Total	85 (marginal n3)	85 (marginal n4)	170 (N)

AxD/BxC=OR

OR=1

La proporción de casos que presentaron el polimorfismo rs 180012 fue la misma proporción en que los controles presentaron el polimorfismo.

Aplicamos Chi cuadrada (ya que nuestra muestra era mayor a 40 y ninguna frecuencia era menor a 5) para saber si existía relación entre la presentación del polimorfismo rs180012 y casos y

controles. Resultando una p de 1.000, mayor a 0.05. (por lo que concluimos que no existe relación entre la presentación del polimorfismo rs 1800012 y el diagnóstico de Otoesclerosis.

**Tabla de contingencia 1800012 \* Caso ó control**

			Caso ó control		Total
			Caso	Control	
1800012	Sí	Recuento	17	17	34
		Frecuencia esperada	17.0	17.0	34.0
	No	Recuento	68	68	136
		Frecuencia esperada	68.0	68.0	136.0
Total	Recuento	85	85	170	
	Frecuencia esperada	85.0	85.0	170.0	

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	.000 <sup>a</sup>	1	1.000		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	.000	1	1.000		
Razón de verosimilitudes	.000	1	1.000		
Estadístico exacto de Fisher				1.000	.576
Asociación lineal por lineal	.000	1	1.000		
N de casos válidos	170				

a. 0 casillas (0.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 17.00.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Se realizó la misma prueba en el caso del polimorfismo rs2141279, resultando una p no significativa mayor a 0.05, 0.301, por lo que concluimos que no existía relación entre el polimorfismo y el diagnóstico de Otoesclerosis.

**Tabla. Asociación entre Polimorfismo rs 2141279 del gen COL1A1 con Otoesclerosis**

Polimorfismo 2141279 del gen	Casos Columna 1	Controles Columna2	Total
Sí Renglón 1	31(Casilla A)	25 (Casilla B)	56(marginal n1)
NO Renglón 2	53 (Casilla C)	60(Casilla D)	113(marginal n2)
Total	84 (marginal n3)	85 (marginal n4)	169 (N)

OR= 1.4

Los casos presentaron 1.4 más veces el polimorfismo que los controles, sin embargo este resultado es menor a 3, por lo que no existe evidencia estadísticamente significativa para considerarlo un factor de riesgo.

**Tabla de contingencia 2141279 \* Caso ó control**

		Caso ó control		Total	
		Caso	Control		
2141279	Sí	Recuento	31	25	56
		Frecuencia esperada	27.8	28.2	56.0
	No	Recuento	53	60	113
		Frecuencia esperada	56.2	56.8	113.0
Total	Recuento	84	85	169	
	Frecuencia esperada	84.0	85.0	169.0	

**Pruebas de chi-cuadrada**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrada de Pearson	1.071 <sup>a</sup>	1	.301		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	.759	1	.384		
Razón de verosimilitudes	1.072	1	.300		
Estadístico exacto de Fisher				.330	.192
Asociación lineal por lineal	1.064	1	.302		
N de casos válidos	169				

a. 0 casillas (0.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 27.83.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Se realizó una chi cuadrada para ver si existía relación entre la presentación de los polimorfismos rs 1800012 y 2141279 y el sexo, resultando en ambos casos p no significativas mayores a 0.05, por lo que concluimos que no existía evidencia estadística significativa para aceptar que existía una relación entre el sexo y los polimorfismos estudiados.

**Tabla de contingencia 1800012 \* SEXO**

			SEXO		Total
			Masculino	Femenino	
1800012	Sí	Recuento	6	28	34
		Frecuencia esperada	9.0	25.0	34.0
	No	Recuento	39	97	136
		Frecuencia esperada	36.0	100.0	136.0
Total	Recuento	45	125	170	
	Frecuencia esperada	45.0	125.0	170.0	



**Pruebas de chi-cuadrada**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrada de Pearson	1.700 <sup>a</sup>	1	.192		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	1.181	1	.277		
Razón de verosimilitudes	1.815	1	.178		
Estadístico exacto de Fisher				.277	.138
Asociación lineal por lineal	1.690	1	.194		
N de casos válidos	170				

a. 0 casillas (0.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 9.00.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

OR de 0.595 y chi cuadrada de 0.138, por lo que no existe asociación estadísticamente significativa.

**Tabla de contingencia 2141279 \* SEXO**

		SEXO		Total	
		Masculino	Femenino		
2141279	Sí	Recuento	14	42	56
		Frecuencia esperada	14.9	41.1	56.0
	No	Recuento	31	82	113
		Frecuencia esperada	30.1	82.9	113.0
Total		Recuento	45	124	169
		Frecuencia esperada	45.0	124.0	169.0

**Pruebas de chi-cuadrada**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrada de Pearson	.114 <sup>a</sup>	1	.736		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	.023	1	.879		
Razón de verosimilitudes	.114	1	.735		
Estadístico exacto de Fisher				.854	.443
Asociación lineal por lineal	.113	1	.737		
N de casos válidos	169				

- a. 0 casillas (0.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 14.91.
- b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

OR de 0.75 y chi cuadrada mayor a 0.05 por lo que no encontramos asociación estadísticamente significativa.

Para conocer la relación entre el sarampión entre casos y controles realizamos una tabla de contingencia

**Tabla de contingencia Caso ó control \* Presentó Sarampión**

			Presentó Sarampión		Total
			Sí	No	
Caso ó control	Caso	Recuento	32 <sub>a</sub>	53 <sub>a</sub>	85
		Frecuencia esperada	28.8	56.2	85.0
	Control	Recuento	26 <sub>a</sub>	60 <sub>a</sub>	86
		Frecuencia esperada	29.2	56.8	86.0
Total	Recuento	58	113	171	
	Frecuencia esperada	58.0	113.0	171.0	

Cada letra de subíndice indica un subconjunto de Presentó Sarampión categorías cuyas proporciones de columna no difieren significativamente entre sí en el nivel .05.

Con una OR de 1.39 lo cual quiere decir que los casos tenían 1.39 más probabilidades de haber estado expuestos al Sarampión, realizamos una chi cuadrada que fue mayor a 0.05, por lo que no existe un nivel de significancia estadística para decir que exista una asociación entre el sarampión y la Otoesclerosis.

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	1.049 <sup>a</sup>	1	.306		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	.744	1	.388		
Razón de verosimilitudes	1.050	1	.306		
Estadístico exacto de Fisher				.335	.194
Asociación lineal por lineal	1.042	1	.307		
N de casos válidos	171				

- a. 0 casillas (0.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 28.83.
- b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Realizamos estos mismos pasos para conocer si existía relación entre los polimorfismos que estudiamos y el antecedente de Sarampión:

**Tabla de contingencia 1800012 \* Presentó Sarampión**

		Presentó Sarampión		Total	
		Sí	No		
1800012	Sí	Recuento	14 <sub>a</sub>	20 <sub>a</sub>	34
		Frecuencia esperada	11.6	22.4	34.0
	No	Recuento	44 <sub>a</sub>	92 <sub>a</sub>	136
		Frecuencia esperada	46.4	89.6	136.0
Total		Recuento	58	112	170
		Frecuencia esperada	58.0	112.0	170.0

Cada letra de subíndice indica un subconjunto de Presentó Sarampión categorías cuyas proporciones de columna no difieren significativamente entre sí en el nivel .05.

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	.942 <sup>a</sup>	1	.332		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	.590	1	.442		
Razón de verosimilitudes	.922	1	.337		
Estadístico exacto de Fisher				.419	.220
Asociación lineal por lineal	.937	1	.333		
N de casos válidos	170				

a. 0 casillas (0.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 11.60.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Una OR de 1.46, lo que quiere decir que las personas que tuvieron Sarampión tenían 1.46 veces más posibilidades de presentar el polimorfismo rs 1800012, sin embargo es menor a 3 y con una chi cuadrada mayor a 0.05 por lo cual no encontramos relación estadísticamente significativa.

**Tabla de contingencia 2141279 \* Presentó Sarampión**

		Presentó Sarampión		Total	
		Sí	No		
2141279	Sí	Recuento	17 <sub>a</sub>	39 <sub>a</sub>	56
		Frecuencia esperada	18.9	37.1	56.0
	No	Recuento	40 <sub>a</sub>	73 <sub>a</sub>	113
		Frecuencia esperada	38.1	74.9	113.0
Total	Recuento	57	112	169	
	Frecuencia esperada	57.0	112.0	169.0	

Cada letra de subíndice indica un subconjunto de Presentó Sarampión categorías cuyas proporciones de columna no difieren significativamente entre sí en el nivel .05.

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	.426 <sup>a</sup>	1	.514		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	.230	1	.631		
Razón de verosimilitudes	.430	1	.512		
Estadístico exacto de Fisher				.605	.318
Asociación lineal por lineal	.423	1	.515		
N de casos válidos	169				

a. 0 casillas (0.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 18.89.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Con una OR de 1.25 y una chi cuadrada mayor de 0.05 sin significancia estadística, por lo que no existe asociación entre el Sarampión y el polimorfismo rs2141279.

## X. Discusión

La Otoesclerosis es un padecimiento que frecuentemente se presenta en más de un miembro en una familia<sup>4</sup>, por lo que el involucro genético es inobjetable.<sup>36</sup> Debido a que su expresión y grado de penetrancia es muy variable, es difícil establecer un patrón de herencia en todos los casos.<sup>54</sup> La etiología de la Otoesclerosis es desconocida y se considera una enfermedad genética compleja con intervención de factores epigenéticos y medioambientales no conocidos.<sup>56</sup> Se han sugerido como posibles factores para el desarrollo de esta condición: los hormonales<sup>3</sup>, endócrinos, autoinmunes, genéticos y virales.<sup>56</sup>

Una razón por la cual se ha pensado que puede estar relacionado con factores hormonales es que desde 1978 Tamar Schaap reportaba que la Otoesclerosis es dos o tres veces más frecuente en mujeres que en hombres<sup>58</sup> y que en 30 a 60% de las mujeres previamente diagnosticadas con Otoesclerosis esta condición progresaba de manera importante durante el embarazo.<sup>3,56</sup> Los resultados de nuestro estudio concuerdan con esta información ya que de los 126 casos estudiados (73.7%) eran del sexo femenino, 45 (26.3%) del sexo masculino para una proporción 2.8:1. No recabamos datos con respecto al progreso de la enfermedad durante el embarazo.

Según el estudio de Chen en 2007,<sup>62</sup> el polimorfismo rs1800012 es más frecuente en el sexo femenino independientemente de la presentación de Otoesclerosis, en nuestro estudio, realizamos tablas de contingencia y chi cuadrada para ver si existía asociación entre la presentación de los polimorfismos rs 1800012 y 2141279 y el sexo, resultando en el caso de rs1800012: sexo masculino con el polimorfismo 6, sexo femenino 28; sin el polimorfismo 45 del sexo masculino y 125 del sexo femenino con una OR 0.593 y chi cuadrada 0.138, por lo que no existe evidencia estadísticamente significativa que asocie el sexo con el polimorfismo rs1800012. Los resultados del polimorfismo rs2141279: sexo masculino con este polimorfismo 14, sexo femenino con este polimorfismo 42, sin el polimorfismo 31 del sexo masculino y 82 del sexo femenino, OR 0.75 y chi cuadrado de 0.443, por lo que no encontramos asociación entre el polimorfismo rs2141279 y el sexo en la población estudiada.

La Otoesclerosis también se ha asociado con factores virales y autoinmunes, ya que se han encontrado elementos de virus de sarampión en restos de tejidos otoescleróticos. Se asume que el factor principalmente involucrado es la respuesta inmunológica secundaria inducida por una

infección de sarampión persistente. El virus podría inducir una respuesta autoinmune secundaria.<sup>63-66</sup>. Realizamos tablas de contingencia y chi cuadrada para conocer si en la población estudiada existía alguna asociación entre el antecedente de sarampión y los polimorfismos rs1800012 y rs2141279. Encontramos 32 casos y 26 controles con antecedente de Sarampión y 53 casos y 60 controles sin antecedentes de Sarampión. OR de 1.39 y chi cuadrada de 0.194 por lo que no existe asociación entre el antecedente de Sarampión y la Otoesclerosis en la población estudiada.

También realizamos tablas de contingencia con los polimorfismos rs1800012 y rs2141279 para ver si existía asociación entre la presencia de estos polimorfismos y el antecedente de Sarampión, encontrando OR no significativas y p mayores a 0.05 por lo que no existió asociación con el antecedente de sarampión y estos polimorfismos en la población estudiada.

Existen varios reportes de la asociación entre la Otoesclerosis y polimorfismos del gen *COL1A1*.<sup>5-9,18,24,36,49,52,53</sup> El sitio de unión de Sp1 es en el primer intrón de COL1A1 y el cambio de una guanina por timina, rs1800012, favorece la unión de un factor de transcripción en este sitio, provocando una mayor afinidad de lo normal, resultando en una transcripción 3 veces mayor de la proteína de este gen, por lo que no es difícil pensar que pudiera estar implicado en el desarrollo de la Otoesclerosis.<sup>55</sup>

Se demostró asociación del polimorfismo rs1800012 en dos estudios realizados por McKeena en 1998 y 2004, ambos en población estadounidense.<sup>24,60</sup> Esta asociación también se demostró en población alemana.<sup>49</sup>

El polimorfismo 2141279 ha sido menos estudiado y se demostró su asociación con Otoesclerosis en población belga, holandesa y alemana.<sup>49</sup>

En nuestro estudio, no encontramos asociación entre los polimorfismos rs1800012 y 2141279, con OR 1 y chi cuadrada de 0.576 y OR 1.4 y chi cuadrada de 0.192 respectivamente.

Sin embargo los estudios realizados por Chen<sup>62</sup>, Khalfalla<sup>36</sup>, Rodríguez<sup>59</sup> y Schrawen<sup>49</sup> en poblaciones estadounidenses, tunecinas, y europeas (Alemana, sueca, españoles del norte), no demostraron asociación entre la otoesclerosis con uno o ambos polimorfismos.

La población mexicana tiene un porcentaje importante de ancestros europeos, en especial, de origen español, por lo que es relevante que en el único estudio realizado con estos polimorfismos en población española del norte por Rodríguez, no se haya encontrado asociación de los polimorfismos de COL1A1 y la otoesclerosis, lo cual pudiera tener una relación con nuestros resultados.<sup>59</sup>

En parte esto se explica por la heterogeneidad ancestral mexicana, que según el estudio realizado por Irma Silva-Solezzi y su grupo de colaboradores en el 2009, los promedios de origen ancestral de la población mestiza mexicana son: de una proporción que va de 55-15% de origen amerindio, de 41-15% de origen europeo, de 1.8-3.5% origen africano y de 1.2-1.8% origen asiático oriental, por lo que a pesar del importante porcentaje de origen europeo y asiático, (poblaciones en las que los polimorfismos rs1800012 y 2141279 de COL1A1 presentaron asociación con la otoesclerosis), es también posible que el gran porcentaje de origen amerindio de la población, haya influido en que no exista asociación de los polimorfismos estudiados y nuestra población.

Una tercera hipótesis es que no haya existido asociación debido a como Stankovic, y su grupo de colaboradores demostraron, realizando un estudio de expresión génica en el hueso de la cápsula ótica, que la expresión del gen *COL1A1* es mucho menor en esta región que otros sitios<sup>55</sup>, por lo cual es posible que los polimorfismos de este gen no tengan un papel tan importante en el desarrollo de esta enfermedad, no son necesarios ni suficientes para el desarrollo de la Otoesclerosis.

Otros estudios han demostrado que existe evidencia de que más de una vía de señalización involucradas en esta enfermedad, las cuáles podrían estar más frecuentemente afectadas en nuestra población.<sup>57</sup>

El hecho de que cada día se describen más vías de señalización posiblemente implicadas en el desarrollo de la Otoesclerosis, el involucro del medio ambiente para el desarrollo de Otoesclerosis, así como la heterogeneidad genética de los habitantes de México, complican el estudio genético de esta enfermedad en nuestra población. Sin embargo es importante continuar realizando este

tipo de estudios para con un diagnóstico precoz prevenir realizar una profilaxis y tratamiento temprano y evitar sus secuelas.

## **XI. Conclusiones**

No existe asociación entre los polimorfismos rs1800012 y 2141279 de COL1A1 y la Otopresclerosis en la población estudiada.

No encontramos asociación entre el antecedente de Sarampión y la presencia de los polimorfismos estudiados, pero debido a que esta información fue recabada mediante un cuestionario aplicado a los sujetos de estudio, es probable que se pudiera haber caído en un sesgo de memoria, por lo que recomendamos para un mejor resultado, el estudio de tejido otopresclerótico extraído durante la estapedectomía.

No encontramos diferencia entre la presentación de estos polimorfismos y el sexo de los individuos estudiados.

Las diferencias poblacionales pueden ser la clave para lo encontrado en nuestra población.

Por nuestros resultados, el polimorfismo rs214179 del gen de COL1A1, pareciera no encontrarse en equilibrio en la población estudiada.

Se requiere de una muestra mayor y de diversas regiones y poblaciones del país para poder emitir conclusiones definitivas.



## XII. Bibliografía

1. De la Cruz A, Linthicum FH. Otoesclerosis: Patología y tratamiento. La Cóclea 2003; 179-89.
2. Carlos Stott C, Patricia Arteaga J, Leonor Moyano S, ¿Qué sabemos de otoesclerosis? Aspectos anatomopatológicos, Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello 2005; 65: 179-186
3. Jurado Hernández *et al.* Diagnóstico y tratamiento de otoesclerosis, México: Secretaria de Salud 2011.
4. Tamás Karosi, István Sziklai, Etiopathogenesis of otosclerosis, Eur Arch Otorhinolaryngol (2010) 267:1337–1349
5. Shrauwen *et al.* COL1A1 Association and Otosclerosis: A Meta-Analysis, Am J Med Genet. 2012, 158(A):1066–1070.
6. Declau F, Van Spaendonk M, Timmermans JP *et al.* Prevalence of otosclerosis in an unselected series of temporal bones. Otol Neurotol. 2001; 22:596-602.
7. House JW. Otoesclerosis. Otolaryngol Clin North Am 1995; 26: 3-10
8. Gordon MA. The genetics of otosclerosis: A review. Am J Otol 1989; 10: 425-38.
9. Iliadou V, *et al.* Monogenic nonsyndromic otosclerosis: Audiological and linkage analysis in a large Greek pedigree. Int J Pediatr Otorhinolaryngol (2006) 70, 631—637
10. M.S. Tomek, M.R. Brown, S.R. Mani, A. Ramesh, C.R.S. Srisailapathy, P. Coucke, *et al.* Localization of a gene for otosclerosis to chromosome 15q25—q26, Hum. Mol. Genet. (1998) 7: 285—290.
11. K. Van Den Bogaert, P.J. Govaerts, I. Schatteman, M.R. Brown, G. Caethoven, F.E. Offeciers, *et al.* A second gene for otosclerosis, OTSC2, maps to chromosome 7q34—36, Am. J. Hum. Genet. (2001) 68: 495—500.
12. W. Chen, C.A. Campbell, G.E. Green, K. Van Den Bogaert, C. Komodikis, L.S. Manolidis, *et al.* Linkage of otosclerosis to a third locus (OTSC3) on human chromosome 6p21.3—22.3, J. Med. Genet. (2002) 39: 473—477.
13. Brownstein, Z., Goldfarb, A., Levi, H., Frydman, M., Avraham, K.B., Chromosomal mapping and phenotypic characterization of hereditary otosclerosis linked to the OTSC4 locus. Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. 2006, 132: 416–424.
14. K. Van Den Bogaert, E.M.R. De Leenheer, W. Chen, Y. Lee, P. Nurnberg, R.J.E. Pennings, *et al.* A fifth locus for otosclerosis, OTSC5, maps to chromosome 3q22—24, J. Med Genet. 41 (2004) 41: 450—453.

15. Thys, M., *et al.* A seventh locus for otosclerosis, OTSC7, maps to chromosome 6q13–16.1. *Eur. J. Hum. Genet.* 2007, 15: 362–368.
16. Bel Hadj Ali, *et al.* A new locus for otosclerosis, OTSC8, maps to the pericentromeric region of chromosome 9. *Hum. Genet.* 2008, 123:267–272
17. Cremmers *et al.* A new locus for otosclerosis, OTSC10, maps to chromosome 1q41–44, *Clin Genet* 2011, 79: 495–497
18. Megan Ealy, Richard J.H. Smith, Review The Genetics of otosclerosis, *Hear Res.* 266 (2010) 266: 70–74
19. Schrauwen, I., Ealy, M., Huentelman, M. J., *et al.* A genome-wide analysis identifies genetic variants in the RELN gene associated with otosclerosis. *Am J Hum Genet* 2009 (B) 84: 328–338.
20. Khalfallah, Schrauwen, *et al.* Genetic variants in *RELN* are associated with otosclerosis in a non-European population from Tunisia. *Annals of Human Genetics* (2010) 74,399–405
21. Thys, M., Schrauwen, I., Vanderstraeten, *et al.* The coding polymorphism T263I in TGF- $\beta$ 1 is associated with otosclerosis in two independent populations. *Hum Mol Genet.* 2007,(A) 16: 2021–2030
22. Schrauwen, I., Thys, M., Vanderstraeten, *et al.* Association of bone morphogenetic proteins with otosclerosis. *J Bone Miner Res.* 2008, 23: 507–516.
23. Imauchi, Y., Jeunemaitre, X., Boussion, *et al.* Relation between renin-angiotensinaldosterone system and otosclerosis: A genetic association and in vitro study. *Otol Neurotol.* 2008, 29:295–301.
24. M.J. McKenna, A.G. Kristiansen, M.L. Bartley, J.J. Rogus, J.L. Haines, Association of COL1A1 and otosclerosis. Evidence for a shared genetic etiology with mild osteogenesis imperfecta, *Am. J. Otol.* (1998) 19: 604–610.
25. F. Rauch, F.H. Glorieux, Osteogenesis imperfecta, *Lancet* (2004) 363: 1377–1385.
26. N.B. Slepecky, J.E. Savage, T.J. Yoo, Localization of type II, IX and V collagen in the inner ear, *Acta Otolaryngol.* (1992) 112: 611–617.
27. T.J. Yoo, J.J. Shea Jr., R.A. Floyd, Enchondral cartilage rests collagen-induced autoimmunity: a possible pathogenetic mechanism of otosclerosis, *Am. J. Otolaryngol.* (1987) 8: 317–324.
28. Makareeva E, Cabral WA, Marini JC, Leikin S. Molecular mechanism of alpha 1(I)-osteogenesis imperfecta/Ehlers-Danlos syndrome: unfolding of an N-anchor domain at the N-terminal end of the type I collagen triple helix. *J Biol Chem.* 2006 Mar 10;281(10):6463-70.
29. Nuytinck L, Freund M, Lagae L, Pierard GE, Hermanns-Le T, De Paepe A. Classical Ehlers-Danlos syndrome caused by a mutation in type I collagen. *Am J Hum Genet.* 2000 Apr;66(4):1398-402. Epub 2000 Mar 17.

30. Pollitt R, McMahon R, Nunn J, Bamford R, Afifi A, Bishop N, Dalton A. Mutation analysis of COL1A1 and COL1A2 in patients diagnosed with osteogenesis imperfecta type I-IV. *Hum Mutat.* 2006 Jul;27(7):716.
31. Venturi G, Tedeschi E, Mottes M, Valli M, Camilot M, Viglio S, Antoniazzi F, Tatò L. Osteogenesis imperfecta: clinical, biochemical and molecular findings. *Clin Genet.* 2006 Aug;70(2):131-9. Erratum in: *Clin Genet.* 2006 Nov;70(5):455.
32. Shimizu A, O'Brien KP, Sjöblom T, Pietras K, Buchdunger E, Collins VP, Heldin CH, Dumanski JP, Ostman A. The dermatofibrosarcoma protuberans-associated collagen type I $\alpha$ 1/platelet-derived growth factor (PDGF) B-chain fusion gene generates a transforming protein that is processed to functional PDGF-BB. *Cancer Res.* 1999 Aug 1;59(15):3719-23.
33. Simon MP, Navarro M, Roux D, Pouysségur J. Structural and functional analysis of a chimeric protein COL1A1-PDGFB generated by the translocation t(17;22)(q22;q13.1) in Dermatofibrosarcoma protuberans (DP). *Oncogene.* 2001 May 24;20(23):2965-75.
34. Gensure RC, Mäkitie O, Barclay C, Chan C, Depalma SR, Bastepe M, Abuzahra H, Couper R, Mundlos S, Sillence D, Ala Kokko L, Seidman JG, Cole WG, Jüppner H. A novel COL1A1 mutation in infantile cortical hyperostosis (Caffey disease) expands the spectrum of collagen-related disorders. *J Clin Invest.* 2005 May;115(5):1250-7.
35. Suphapeetiporn K, Tongkobpetch S, Mahayosnond A, Shotelersuk V. Expanding the phenotypic spectrum of Caffey disease. *Clin Genet.* 2007 Mar;71(3):280-4.
36. Ayda Khalfallah, Isabelle Schrauwen, Malek Mnejja, *et al.* Association of *COL1A1* and *TGFB1* Polymorphisms with Otosclerosis in a Tunisian Population, *Annals of Human Genetics.* 2011;75: 598–604
37. Cosío Villegas Emmanuel Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones, *Rev Inst Nal Enf Resp* 2007 20 (3): 213-221.
38. Botstein D, Risch N. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. *Nat Genet* 2003;33 Suppl:228-237.
39. Lin MT, Storer B, Martin PJ, et al. Relation of an interleukin 10 promoter polymorphism to graft versus host disease and survival after hematopoietic cell transplantation. *N Engl J Med* 2003;349:2201-2210
40. Betticher DC, Thatcher N, Altermatt HJ, Hoban P, Ryder WD, Heighway J. Alternate splicing produces a novel cyclin D1 transcript. *Oncogene* 1995; 11:1005-1011.
41. Duan J, Wainwright MS, Comeron JM, et al. Synonymous mutations in the human dopamine receptor D2 (DRD2) affect mRNA stability and synthesis of the receptor. *Hum Mol Genet* 2003;12:205-216.
42. Cargill M, Altshuler D, Ireland J, et al. Characterization of single nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. *Nat Genet* 1999;22:231-238.

43. ST Sherry *et al.* dbSNP: the NCBI data base of genetic variation, *Nucleic Acid Research* 2001, 29 (1): 308-311.
44. Sherry *et al.*, dbSNP Database for Single Nucleotide Polymorphism and Other Classes of Minor Genetic Variation, *Genome Res.* 1999 9: 677-679.
45. Pritchard JK, Rosenberg NA. Use of unlinked genetic markers to detect population stratification in association studies. *Am J Hum Genet* 1999;65:220-228.
46. Lee T.C, Aviv RI *et al.* CT gradinf of otosclerosis. *Am J Neuroradiol.* 2009;30:435-39. Sakai O. Curtin HD, Hasso AN *et al.* Otosclerosis and dysplasias of the temporal bone. *Head Neck Surg* 2003;1245-73.
47. Quensel A. Moonis G. *Et al* correlation of computed tomography with histopathology in otosclerosis. *Otol Neurotol.* 2012;34:22-28.
48. Lagleyre S. Sorentino T. *et al.* Reliability of high-reolution CT scarn in diagnosis of otosclerosis. *Otol Neurotol* 2009;30
49. Schrauwen I, *et al.* COL1A1 association and otosclerosis: A meta-analysis. *Am J Med Genet Part A* 2012, 158A:1066–10
50. Diagnóstico y Tratamiento de Otoesclerosis, México: Secretaria de Salud, 2011.
51. Silva-Zolezzi I, Hidalgo Miranda A, Estrada Gil1 J, Fernández López JC, Uribe Figueroa L, Contreras A, Balam Ortiz E, del Bosque Plata L, Lara C, Velázquez Fernández D, Goya R, Hernández Lemus E, Dávila C, Barrientos E, March S, Jiménez-Sánchez G: Análisis de la diversidad genómica en las poblaciones mestizas mexicanas para desarrollar medicina genómica en México. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009, 106(21):8611-8616.
52. Menger DJ, Tange RA. The etiology of otosclerosis, a review of the literature. *Clin Otolaryngology* 2003; 28:112–20.
53. Moumoulidis I, Axon P, Baguley D, *et al.* A review on the genetics of otosclerosis. *Clin Otolaryngol* 2007;32:239–47.
54. Omer Cagatay Ertuga, Pinar Ata, Cigdem Kalaycik Ertugay, Kerem Sami Kaya, Arzu Tatlipinar, Semra Kulekci, Association of COL1A1 polymorphism in Turkish patients with otosclerosis, *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2013, 34: 403-406
55. Konstantina M. Stankovica, Osamu Adachia, Kunikazu Tsujic , Arthur G. Kristiansena, Joe C. Adamsa, Vicki Rosenc , Michael J. McKenna, Differences in gene expression between the otic capsule and other bones, *Hear Res.* 2010 June 14; 265(1-2): 83–89. doi:10.1016/j.heares.2010.02.006.
56. José Antonio López-Escamez, Papel de la medicina genómica en las enfermedades del oído medio e interno, *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2012;63(6):470-479.

57. Megan Ealy, Wenjie Chen, Gi-Yung Ryu, Jae-Geun Yoon, D. Bradley Welling, Marlan Hansen, Anup Madan, Richard J.H. Smith, Gene expression analysis of human otosclerotic stapedial footplates, *Hear Res.* 2008 June ; 240(1-2): 80–86. doi:10.1016/j.heares.2008.03.001.
58. Tamar Schaap, Boris Gapany-Gapanavicius, The Genetics of Otosclerosis. I. Distorted Sex Ratio, *Am J Hum Genet* 30:59- 64, 1978.
59. Rodríguez Laura, Rodríguez Luis, Hermida Juan, Frade Carlos, Sande Esther, Visedo Guillermo, Martín Carlos, Zapata Carlos, Proposed association between the *COL1A1* and *COL1A2* genes and otosclerosis is not supported by a case-control study in Spain, *Am J Med Gen* 128A:19-22 (2004).
60. McKenna MJ, Nguyen-Huynh AT, Kristiansen AG. Association of otosclerosis with Sp1 binding site polymorphism in *COL1A1* gene: evidence for a shared genetic etiology with osteoporosis. *Otol Neurotol* 2004;25:447–450.
61. Isabelle Schrauwen, Guy Van Camp, The Etiology of Otosclerosis: A Combination of Genes and Environment, *Laryngoscope* 2010, 120: 1195-1202.
62. Chen W, Meyer NC, McKenna MJ, Pfister M, McBride DJ Jr, Fukushima K, Thys M, Camp GV, Smith RJ, Single-nucleotide polymorphisms in the *COL1A1* regulatory regions are associated with otosclerosis. *Clin Genet.* 2007 May;71(5):406-14.
- 63.
64. Niedermeyer HP, Arnold W, Neubert WJ, Sedlmeier R (2000) Persistent measles virus infection as a possible cause of otosclerosis: state of the art. *Ear Nose Throat J* 79:552–561
65. Karosi T, Kónya J, Szabó LZ, Pytel J, Jóri J, Szalmás A, Sziklai I (2005) Codetection of measles virus and tumor necrosis factor-alpha mrna in otosclerotic stapes footplates. *Laryngoscope* 115:1291–1297.
66. Arnold W, Niedermeyer HP, Lehn N, Neubert W, Hofler H (1996) Measles virus in otosclerosis and the specific immune response of the inner ear. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 116:705–709.

### **XIII. Índice de Tablas**

Página 8 . **Tabla 1. Loci identificados que contribuyen a la Otoesclerosis familiar y poblaciones en las que fueron estudiados** , Megan Ealy, Richard J.H. Smith, Review The Genetics of otosclerosis, Hear Res. 266 (2010) 266: 70–74

Página 9. **Tabla 2. Comparación de la frecuencia alélica entre casos familiares y esporádicos de Otoesclerosis** , M.J. McKenna, A.G. Kristiansen, M.L. Bartley, J.J. Rogus, J.L. Haines, Association of COL1A1 and otosclerosis. Evidence for a shared genetic etiology with mild osteogenesis imperfecta, Am. J. Otol. (1998) 19: 604—610.

Página 10. **Tabla 3. Comparación de la frecuencia alélica entre paciente con Otoesclerosis y controles**, M.J. McKenna, A.G. Kristiansen, M.L. Bartley, J.J. Rogus, J.L. Haines, Association of COL1A1 and otosclerosis. Evidence for a shared genetic etiology with mild osteogenesis imperfecta, Am. J. Otol. (1998) 19: 604—610.

Página 11. **Tabla 4. Comparación de frecuencias de los SNPs en COL1A1 y COL2A2 en población Estadounidense y Alemana**, Chen *et al.* Single-nucleotide polymorphisms in the COL1A1 regulatory regions are associated with otosclerosis. Clin Genet 2007, 71: 406–414

Página 12. **Tabla 5. Asociación de polimorfismos de COL1A1 en población caucásica Belga, holandesa y suiza** Schrauwen I, *et al.* COL1A1 association and otosclerosis: A meta-analysis. Am J Med Genet Part A 2012, 158A:1066–10

Anexos  
Anexo 1



**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO (PACIENTE)**

México, D.F. a                    de                    de 201

A quien corresponda:

Por medio de la presente, hago de su conocimiento que he dado mi consentimiento para participar en el estudio *“Asociación de los polimorfismos rs 1800012 y 2141279 de COL1A1 en pacientes Mexicanos con Diagnóstico de Otoesclerosis”*, a cargo de la Dra. María de la Luz Arenas Sordo, que se realizará en el Instituto Nacional de Rehabilitación, lo cual he aceptado de forma libre y voluntaria.

Previamente, se me ha explicado en forma satisfactoria que la finalidad es saber si existen los polimorfismos en el gen *COL1A1*. Para tal efecto es necesaria la toma de muestra de 5-10ml de sangre por medio de punción venosa.

Entiendo que de esta investigación se derivará como beneficio el mejor conocimiento de la enfermedad, Otoesclerosis, que se me informará sobre el resultado del estudio pero no se me entregarán resultados escritos.

Asimismo, se me ha explicado que me es posible solicitar información adicional acerca de mi participación, y que estoy en libertad de negarme a participar en el presente estudio, en tal caso la atención que recibo de esta Institución no de verá afectada.

Puedo, si así lo deseo, obtener una copia de esta carta.

-----  
Nombre y firma de Participante del estudio

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de Testigo I

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma testigo 2

---

Nombre y firma de encargado del estudio



## CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO (CONTROLES)

México, D.F. a                    de                    de 201

A quien corresponda:

Por medio de la presente, hago de su conocimiento que he dado mi consentimiento para participar en el estudio *“Asociación de los polimorfismos rs 1800012 y 2141279 de COL1A1 en pacientes Mexicanos con Diagnóstico de Otoesclerosis”*, a cargo de la Dra. María de la Luz Arenas Sordo, que se realizará en el Instituto Nacional de Rehabilitación, lo cual he aceptado de forma libre y voluntaria.

Previamente, se me ha explicado en forma satisfactoria que la finalidad es saber si existen los polimorfismos citados en el gen *COL1A1*. Para tal efecto es necesaria la toma de muestra de 5-10ml de sangre por medio de punción venosa.

Comprendo que mi participación será para formar parte del grupo de pacientes que no cursan con diagnóstico de Otoesclerosis, pero que de esta investigación se derivará como beneficio el mejor conocimiento de esta enfermedad, que se me informará sobre el resultado del estudio pero no se me entregarán resultados escritos.

Asimismo, se me ha explicado que me es posible solicitar información adicional acerca de mi participación, y que estoy en libertad de negarme a participar en el presente estudio, en tal caso la atención que recibo de esta Institución no de verá afectada.

Puedo, si así lo deseo, obtener una copia de esta carta.

-----  
Nombre y firma de Participante del estudio

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de Testigo I

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de encargado del estudio



**Hoja de Recolección de datos**

CASO \_\_\_\_\_ CONTROL \_\_\_\_\_

**DATOS GENERALES**

NOMBRE \_\_\_\_\_ FECHA \_\_\_\_\_

EDAD \_\_\_\_\_ SEXO \_\_\_\_\_ FECHA DE NACIMIENTO \_\_\_\_\_

LUGAR DE PROCEDENCIA \_\_\_\_\_ N. HABITANTES \_\_\_\_\_

CONSANGUNIDAD \_\_\_\_\_ GRADO \_\_\_\_\_ ENDOGAMIA \_\_\_\_\_

NÚMERO DE GENERACIONES EN MÉXICO \_\_\_\_\_

**PERSONALES PATOLÓGICOS**

SARAMPIÓN \_\_\_\_\_ OSTEOPOROSIS \_\_\_\_\_

RUPTURA DE TENDÓN DE AQUILES O ROTULIANO \_\_\_\_\_

OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA \_\_\_\_\_

RUPTURA DEL MANGUITO ROTADOR \_\_\_\_\_

HIPOACUSIA \_\_\_\_\_

DIAGNOSTICO DE OTOSCLEROSIS Y FORMA DE DIAGNÓSTICO \_\_\_\_\_

TRANSFUSIONES SANGUINEAS \_\_\_\_\_

TRANSPLANTE DE MÉDULA ÓSEA \_\_\_\_\_

ANTECEDENTES FAMILIARES DE OTOSCLEROSIS \_\_\_\_\_

GRADO FAMILIAR \_\_\_\_\_

ANTECEDENTES FAMILIARES DE OTRO TIPO DE HIPOACUSIA

\_\_\_\_\_

GRADO FAMILIAR \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES

## Técnica de Extracción de DNA

Para la extracción se utiliza el sistema automatizado NucliSENS easyMAG (BioMerieux, Holanda).

### Preparación del equipo

Limpiar y descontaminar las áreas de trabajo, pipetas y centrifugas con una solución de cloro al 5% (pueden usarse reactivos como “DNAzap” o “RNase AWAY”) para minimizar el riesgo de contaminación con ácidos nucleicos.

### Material y Equipo

- Equipo de extracción NucliSens easyMAG
- Pipetas de transferencia
- Puntas con filtro de 20-200  $\mu$ l
- Micropipeta de 20-200  $\mu$ l
- Tubos estériles libres de nucleasas de 1.5 ml
- Tubos estériles libres de nucleasas de 0.5 ml
- Tubos de poliestireno desechables de 4 ml
- Buffer de lisis Nuclisens
- Sílica magnética MagSIL Nuclisens
- Proteinasa K  $\geq 20$  Units/mg
- H<sub>2</sub>O libre de DNAsas y RNAsas
- Guantes desechables libres de talco y polvo

### *Pre-tratamiento*

1. Adicionar 25  $\mu$ l de proteinasa K al tubo con la muestra, homogenizar.
2. Incubar 15 min a 55 °C.

### *Extracción*

3. Adicionar la muestra tratada con proteinasa K a 2 ml de buffer de lisis NucliSens, homogenizar.
4. Incubar 10 minutos a temperatura ambiente, homogenizar. Durante el tiempo de lisis, los ácidos nucleicos se preservan ya que de acuerdo al protocolo descrito por BioMérieux, las únicas moléculas que sufren degradación son proteínas y lípidos, conservando el material genético hasta su extracción, siempre y cuando no exceda el tiempo de lisis, dicho búfer contiene un estabilizador de RNA/DNA del cual no se tiene muchas especificaciones debido a la patente de dicha técnica.
5. Transferir la muestra lisada a los contenedores del equipo NucliSens easyMAG y adicionar 100 µl de sílica magnética MagSIL (50 ul de sílica + 50 ul de H<sub>2</sub>O libre de DNasas y RNasas) a cada muestra, homogenizar.
6. Proceder con la extracción automatizada de acuerdo a las instrucciones del equipo.
7. Eluir los ácidos nucleicos con 60 µl de buffer de elución. Transferir a tubos de 0.5 ml y guardar a -70°C.

### **CONCEPTOS BASICOS AUDIOMETRÍA**

**a. Audiómetro de Tono Puro:** Instrumento electroacústico, equipado con auriculares que proporciona tonos puros de frecuencias especiales a niveles de presión sonora conocidos, adicionalmente, el instrumento puede estar equipado con un vibrador óseo y/o un sistema de enmascaramiento.

**b. Audiómetro Manual:** Audiómetro en que la presentación de la señal, selección de frecuencia,

nivel de presión sonora y registro de los resultados se efectúan manualmente.

**c. Conducción Aérea o Conducción por vía aérea:** Transmisión del sonido a través del oído externo y medio, hacia el oído interno.

**d. Nivel de Audición de un tono puro:** Para una frecuencia específica, para un tipo específico de transductor y para una forma específica de aplicación, es el nivel de presión sonora (o nivel de fuerza vibratoria) de un tono puro, producido por el transductor en un oído artificial o acoplado acústico (o acoplado mecánico) especificados, menos el nivel de presión sonora umbral equivalente de referencia (o nivel de fuerza umbral equivalente de referencia) correspondiente. Su unidad de medición es el dB.

**e. Umbral de audición:** Es el nivel de presión sonora o nivel de fuerza vibratoria más bajo, para el cual en condiciones específicas, una persona entrega un porcentaje predeterminado de respuestas de detección correctas de pruebas repetidas.

**f. Nivel Umbral de Audición de un oído dado:** El umbral de audición, es una frecuencia expresado como nivel de audición (en una frecuencia especificada y para un tipo específico de transductor).

**g. Audiograma de tono puro de un sujeto:** Presentación gráfica o en forma tabulada de los umbrales de audición, determinados bajo condiciones específicas y por métodos específicos en función de la frecuencia estudiada.

**h. Audiometría:** Permite obtener un diagnóstico respecto al tipo de hipoacusia que presenta el sujeto. Consiste en realizar un estudio completo (umbrales aéreos, óseos logo-audiometría) y exámenes auditivos complementarios si fuera necesario.

**i. Diapasones:** Aparatos metálicos que al vibrar producen un tono puro. Cada diapasón produce un tono determinado, dicho tono dependerá del grosor, según este vibrará más rápido o más lento, determinando cierta frecuencia de sonido que va desde los 128 a 2048 ciclos por segundos, los más usados son los que registran 256 y 512 Hz.

**j. Cámara o Cabina Audiométrica:** Es el lugar especialmente diseñado para proporcionar en su

interior un ambiente de insonoridad para la ejecución de exámenes de tipo audiométrico. El nivel del ruido de fondo en su interior no debe exceder los criterios establecidos según la especificidad de la audiometría, debiendo estar equipada con un sistema de ventilación que permita la renovación de aire en su interior. Tanto la sala y cabina audiométrica, deberán ser acreditadas o certificadas por el ente competente en normalización nacional o internacional.

**k. Sala de Audiometría:** Sala acondicionada y destinada en forma exclusiva a la ejecución de exámenes audiométricos y en cuyo interior se ubica una cámara audiométrica.

#### **REQUISITOS BASICOS DEL OPERADOR.**

- a. Médico especialista en audiología debidamente entrenado.
- b. Médico Otorrinolaringólogo debidamente entrenado
- c. Enfermera debidamente entrenada
- d. Técnico debidamente entrenada
- e. Médico debidamente entrenado

#### **REQUISITOS PARA LOS AUDIOMETROS.**

El audiómetro debe cumplir como mínimo con los requerimientos técnicos para un audiómetro de tipo 2, según norma oficial de salud.

a. Revisiones de Rutina del Audiómetro: El chequeo rutinario tiene como finalidad detectar los sonidos indeseables generados por éste, incluyendo los auriculares, además de mantener en buen estado todos sus accesorios. Las revisiones deberán ser periódicas y se lleva un registro semanal, con un perfil conocido de un sujeto de prueba cuyo umbral no exceda de los 25 dB HL. Si los resultados indican diferencias en el nivel umbral de audición superior a 10 dB HL en cualquier frecuencia, el audiómetro se deberá someter a una calibración básica área y ósea de todo los parámetros especificados. Esta calibración debe efectuarse cada cuatro años como mínimo, o cuando se juzgue necesario como resultado de las revisiones periódicas señalizadas anteriormente.

## **REQUISITOS PARA LAS CAMARAS AUDIOMETRICAS.**

La cámara audiométrica, equipada con un sistema de ventilación que permita la renovación del aire en su interior. Para la determinación de los niveles de ruido ambiental al interior de la cámara en las condiciones usuales de funcionamiento, se deberá tomar como referencia la norma oficial.

## **CONDICIONES DEL LABORATORIO AUDIOLOGICO.**

Deberá mantener una condición adecuada de insonorización, de tal forma que no afecte los niveles de ruido de fondo que debe tener la cabina audiométrica según lo establecido en la norma en mención.

### **Procedimiento de la evaluación audiométrica:**

**a. Otoscopia:** Al paciente se le debe practicar una otoscopia, para verificar que sus conductos se encuentren permeables y no existan patología de los mismos.

Si se comprueba la presencia de tapón de cerumen, inflamación o supuración del conducto y/u oído medio, no se realizará el examen audiométrico y el paciente deberá ser derivado al otorrinolaringólogo para su tratamiento.

**b. Diapasones:** Al paciente también se le realizará el examen con diapasones de 250, 500 y 1000 Hz., pruebas de Rinne y Weber. Determinando un diagnóstico previo del estado de los oídos.

**c. Evaluación Audiométrica:** La evaluación propiamente dicha se iniciará con las indicaciones e instrucciones que se le impartirá al paciente evaluado:

**c.1.** Indicar al sujeto que en cada oído y por separado oirá diferentes sonidos así como cuál oído será estudiado primero, ante dichos sonidos él deberá manifestar que los escucha, hasta los más tenues que sea capaz de oír.

**c.2.** La forma de respuesta de su percepción sonora será oprimiendo el botón de respuesta del equipo o en todo caso se le indicará que la respuesta debe ser levantado el brazo del lado del oído estudiado cada vez que escuche el sonido, esto dependiendo del tipo de respuesta que el evaluador crea conveniente o también según sea el equipo utilizado.

**c.3.** Una vez instalado los auriculares en los oídos del paciente y consultado acerca de si los siente confortables, éste debe tener claro que no debe manipularlos durante toda la prueba. Por protocolo se utilizará el color rojo para el lado derecho y el color azul para el lado izquierdo.

c.4. Se señalará al paciente que recibirá un tono de prueba para familiarizarlo con las características de los sonidos que escuchará, solicitándole mantener al máximo su grado de atención ante los sonidos que escucha.

c.5. Se pedirá al paciente que evite durante la evaluación movimientos innecesarios de su cuerpo, con el propósito de disminuir ruidos ajenos al procedimiento que dificulte su percepción.

c.6. Consultar al paciente si tuviera dudas de lo explicado e instruido de la evaluación si tuviera dudas deberá explicarle la paciente al respecto.

**d. Procedimiento durante la evaluación:** El estudio audiométrico se iniciará por el oído subjetivamente mejor que señale el sujeto durante la anamnesis y que esté relacionado con la prueba de diapasones.

Se realizará la obtención de los umbrales aéreos y óseos según método ascendente que comienza a nivel infra umbral y se comienza a ascender de 5 en 5 dB hasta que el sujeto indica oír el estímulo de las cinco veces presentes en el mismo nivel.

Método descendente se comienza a nivel supra umbral y se comienza a descender de 5 en 5 dB hasta que el sujeto indica oír tres de las cinco veces presentadas en el mismo nivel.

Método mixto se comienza a nivel supra umbral y se comienza a descender de 10 en 10 dB hasta que el sujeto indica no oír, allí se comienza a ascender de 5 en 5 dB hasta que el sujeto indica oír, se procede a descender nuevamente de 10 en 10 dB, hasta que el sujeto indica oír el estímulo 3 de las cinco veces presentes en el mismo nivel.

Los umbrales auditivos se determinarán para cada frecuencia y oído, incluyendo obligatoriamente para la vía aérea las frecuencias 125, 250, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 6000 y 8000 Hz y las frecuencias de 250, 500, 1000, 2000, 3000 y 4000 Hz para la vía ósea.

Debe existir un correcto enmascaramiento de acuerdo a la obtención de los umbrales y una coherencia audiológica entre los mismos, es decir, deben corresponder a patologías otoneurológicas según sea el caso.

A si mismo se deberá realizar una logaudiometría que permitirá evaluar las habilidades del sujeto para entender la palabra y a partir de esto, aproximadamente a la habilidad comunicacional que el individuo posee.

Dentro de estas pruebas a evaluar tendremos:

**e. Umbrales de Detección de la Palabra (SDT):** el cual indica el nivel mínimo de intensidad al cual el sujeto detecta 2 veces la voz, de 3 o 4 palabras, sin discriminar. Se relaciona con los umbrales de sensibilidad de tonos puros de las dos mejores frecuencias 250 y 4000 Hz. La técnica recomendada es el método descendente.

**f. Umbrales de Reconocimiento de la Palabra (SRT):** el cual determina el mínimo nivel de

intensidad al cual el sujeto repite correctamente el 50% de las palabras presentadas (disílabos o palabras compuestas). Se sugiere considerar un criterio de 2 de 4 palabras repetidas correctamente. La técnica puede ser descendente o ascendente. Las utilidades del SRT son:

Corroborar los umbrales de tonos puros, determinar un índice de sensibilidad auditiva para la palabra y determinar los niveles para aplicar las pruebas supraumbrales de discriminación de la palabra.

**g. Umbrales de Máxima Discriminación (UMD):** Se determina el nivel de intensidad al cual se obtiene el máximo de discriminación del sujeto y se expresa en el porcentaje de las palabras repetidas correctamente de una lista de palabras. La técnica es usar 20 - 30 dB sonora el SRT, dependiendo del perfil audiométrico.








**h. De los Resultados:** Las mediciones serán consignadas en la Audiometría, en original y copia, sustentados y firmados por el operador que realizó la evaluación y remitidas al expediente electrónico.

Los resultados obtenidos en la audiometría deben tener concordancia con la historia audiológica del sujeto, de lo contrario, se revisara lo realizado. (SO 6189-1983 Acoustics-Pure tone air conduction threshold audimetry

for hearing conservation purposes.

(1. ANSI S3.6 – 1996 Specification for Audiometers. 2. NCh 2509/1. of 2001 “Audiómetros parte1: Audiómetros de tonos puros” (norma homóloga de IEC 60645-1:2001: “Audiometers – Part 1: Pure Tone Audiometers. 3. ISO 8253-1:1989 Acoustics- Audiometrics test methods. Part 1: basic pure tone air and bone conduction threshold audiometry.4. ISO 389-1: 1998: Acoustics-Reference zero for the calibration of audiometric equipment. 5. NIOSH, National institute Safety and health Administration. Criteria for a recommended standard. Ocupacional Noise Exposure. Publication N° 98-126, 1998.)



SIMBOLO	SIGNIFICADO	
	Umbral aéreo oído derecho	Indica el nivel de audición del oído cuando el sonido ha entrado por el conducto auditivo externo y ha llegado hasta el oído interno
	Umbral aéreo oído izquierdo	
	Umbral aéreo oído derecho enmascarado	Indica el nivel de audición cuando ha sido necesario enmascarar el oído contra lateral para asegurarse de que el umbral medido corresponde al umbral del oído que se está examinando
	Umbral aéreo oído izquierdo enmascarado	
	Vía ósea oído derecho sin enmascarar	Indica el nivel de audición del oído cuando la cóclea es estimulada por vía ósea, es decir el sonido no pasa por oído externo y medio
	Vía ósea oído izquierdo sin enmascarar	
	Vía ósea oído derecho enmascarada	En este caso para medir el nivel de audición por vía ósea, fue necesario poner un ruido en el oído contra lateral para asegurarse que el umbral medido corresponde al umbral del oído examinado
	Vía ósea oído izquierdo enmascarada	
	Umbral de molestia de oído derecho	Indica el nivel de sonido que le resulta molesto al paciente según oído, la prueba se llama LDL del inglés Loudness Discomfort Level
	Umbral de molestia del oído izquierdo	
	No existe el umbral en oído derecho	Cuando uno de los símbolos aparece con una flecha, como la indicada, significa que a la intensidad en que está anotado el umbral, el sujeto no responde
	No existe el umbral en oído izquierdo	

Fuente: GUÍA PRÁCTICA PARA LA INTERPRETACIÓN DE EXÁMENES AUDITIVOS Prof. T.M. CORINA FARFÁN REYES Mg SP; Chile 2007

Otoscopía y/o otomicroscopía cuidadosa, suele encontrarse la tríada de Holmgren (sequedad de piel con ausencia de cerumen, hiposensibilidad táctil y ausencia de reflejo vascular). Eventualmente se puede visualizar el signo de Schwartz (hipervascularidad del promontorio).

La Acumetría con diapasones que incluye las pruebas de Rinne, Weber y Schwabach, realizadas con diapasones de 128 Hertz (Hz), 256 y 512Hz. Una respuesta de Rinne negativo en los diapasones de frecuencia de 128 y 256 Hz es característica de la mayoría de los pacientes con otosclerosis incipiente.

El paciente con otosclerosis requiere una valoración audiológica completa, la cual incluye: audiometría con vía ósea y aérea, logó-audiometría, reflejo estapedial (impedanciometría) y timpanometría. El reflejo estapedial es una medida sensible para valorar la movilidad del estribo. En presencia de otosclerosis el reflejo está ausente. En la fijación temprana del estribo, el reflejo será anormal presentándose de forma difásica On-Off siendo este un signo temprano de otosclerosis.

Progresivamente el reflejo reduce su amplitud, y eleva su umbral, inicialmente ipsilateral y posteriormente contralateral, hasta que finalmente desaparece como signo de fijación incudo-estapedial.

---

Vo. Bo Tutor principal

D en C María de la Luz Arenas Sordo

---

Vo.Bo Reponsable de Entidad Académica

D en C Margarita Valdés Flores

---

Alumna

Cecilia Elena Urquijo Torres