

Eliara Pinto Vieira Biaggio¹
Marisa Frasson de Azevedo²
Maria Cecilia Martinelli Lório²
Maria Carolina Costa Melo Svidnicki³
Edi Lúcia Satorato³

Descritores

Perda auditiva
Potenciais evocados auditivos
Auxiliares de audição
Criança
Genética

Keywords

Hearing loss
Evoked potentials, auditory
Hearing aids
Child
Genetics

Endereço para correspondência:

Eliara Pinto Vieira Biaggio
R. Dr Bozano, 629/502, Bomfim, Santa
Maria (RS), Brasil, CEP: 97015-001.
E-mail: eliarapv@yahoo.com.br

Recebido em: 27/9/2011

Aceito em: 12/6/2012

Associação entre fenótipo, desempenho com próteses auditivas e genótipo da deficiência auditiva infantil em crianças com e sem alteração genética

Association between phenotype, performance with hearing aids, and genotype of childhood hearing loss in children with and without genetic alteration

RESUMO

Objetivo: Estabelecer a frequência de mutações genéticas relacionadas à deficiência auditiva neurosensorial (DANS); verificar se há associação entre grau da DANS e presença de alteração genética e verificar se os Níveis Mínimos de Resposta (NMR) com próteses auditivas variam em função da alteração genética. **Métodos:** Foram avaliadas 30 crianças, com idades entre 8 e 111 meses, usuárias de próteses auditivas. Os procedimentos de avaliação utilizados foram: audiometria tonal e resposta auditiva de estado estável (RAEE) em campo livre, com e sem as próteses auditivas e estudo genético da DANS. **Resultados:** Foram diagnosticadas três mutações genéticas: 35delG, A1555G e A827G, sendo que as crianças com tais mutações apresentaram maior grau de DANS. Não houve diferença entre os padrões genéticos em relação ao grau de DANS, com exceção dos pacientes com mutação mitocondrial A827G, pois todos com essa mutação eram portadores de DANS de grau profundo. A diferença entre os NMR obtidos sem e com o uso da amplificação, considerando a presença de mutação e grau de DANS, foi maior nas crianças portadoras de DANS de grau moderado sem alteração genética, tanto na avaliação comportamental quanto na eletrofisiológica. **Conclusão:** As mutações genéticas foram encontradas em 36,7% da amostra, o que justifica a importância do rastreamento genético no processo de habilitação auditiva. Crianças com mutações genéticas apresentam o maior grau de DANS. Os diferentes padrões de mutações não determinam diretamente o grau da DANS. Os melhores limiares com o uso da amplificação foram encontrados nas crianças com DANS moderada, sem alteração genética.

ABSTRACT

Purpose: To establish the frequency of genetic mutations related to sensorineural hearing loss (SNHL); to verify if there is association between the degree of SNHL and the presence of genetic alteration; and to verify if the Minimal Response Levels (MRL) with hearing aids vary according to the genetic alteration. **Methods:** Thirty hearing aids users with ages between 8 and 111 months were evaluated. The evaluation procedures used were: pure-tone audiometry; the auditory steady state response (ASSR) on sound field, with and without hearing aids; and genetic study of the hearing loss. **Results:** Three genetic mutations were diagnosed: 35delG, A1555G and A827G, and the children with these mutations showed higher degree of SNHL. There was no difference between the genetic patterns regarding the degree of SNHL, except for patients with A827G mitochondrial mutation, because all subjects with this mutation had profound SNHL. The difference between the MRL obtained with and without amplification, considering the presence of mutation and the degree of SNHL, was higher in children with moderate SNHL without genetic alterations, both in behavioral and electrophysiological evaluations. **Conclusion:** Genetic mutations were found in 36.7% of the sample, justifying the importance of genetic tracking in the hearing habilitation process. Children with genetic mutations showed higher degrees of hearing loss. The different mutation patterns do not directly determine the degree of hearing loss. The best thresholds with amplification were found in children with moderate hearing loss without genetic alterations.

Trabalho realizado no Núcleo Integrado de Assistência, Pesquisa e Ensino em Audição (NIAPEA), Departamento de Fonoaudiologia, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.

(1) Departamento de Fonoaudiologia, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM – Santa Maria (SP), Brasil.

(2) Departamento de Fonoaudiologia, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.

(3) Laboratório de Genética Humana, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP – Campinas (SP), Brasil.

Conflito de interesses: Não

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos presenciou-se um aperfeiçoamento das técnicas de diagnóstico audiológico e da pesquisa etiológica da deficiência auditiva (DA) na população pediátrica, pois a detecção e a intervenção precoce dos distúrbios auditivos são de fundamental importância para prevenir alterações no desenvolvimento infantil.

Em relação à etiologia da deficiência auditiva infantil, esta pode ser classificada em dois grupos: adquirida e genética. O estudo das causas genéticas da DA avançou significativamente e muitos genes relacionados a este déficit sensorial têm sido identificados^(1,2). Há um crescente interesse no estudo da deficiência auditiva não-sindrômica recessiva, principalmente no gene GJB2, que codifica a proteína conexina 26 (Cx26), pois esta é a responsável pela maior parte dos casos de perdas auditivas de origem genética⁽³⁾.

O rastreamento das mutações genéticas deveria ser incluído na bateria de exames de investigação da deficiência auditiva, pois auxilia na elucidação da etiologia e possibilita, em caso de positividade, o aconselhamento genético⁽²⁾.

Acrescenta-se que a importância do conhecimento das hipóteses diagnósticas da deficiência auditiva está diretamente relacionada ao planejamento da reabilitação auditiva.

Assim que o diagnóstico audiológico for estabelecido, o foco do atendimento fonoaudiológico passa a ser o processo de seleção e adaptação de próteses auditivas, mesmo que a hipótese etiológica não tenha sido estabelecida.

Alguns estudos buscam esclarecer a relação entre o uso de próteses auditivas (desempenho e benefício), desenvolvimento de linguagem e percepção de fala com as diferentes manifestações da deficiência auditiva hereditária⁽⁴⁻⁶⁾. Outros autores⁽⁷⁻¹⁰⁾ estudaram o desempenho de pacientes com implante coclear conforme a etiologia de sua deficiência auditiva, observando que crianças com alterações genéticas apresentam maior benefício com implante coclear.

Muitas pesquisas estudaram a relação entre genótipo das mutações da conexina 26 e fenótipo audiológico (configuração e grau da perda auditiva), considerando os resultados da audiometria tonal liminar, das Emissões Otoacústicas (EOA) e dos Potenciais Auditivos Evocados Auditivos de Tronco Encefálico (PEATE)^(11,12). Entretanto, não foram encontrados estudos que relacionassem os achados na pesquisa da Resposta Auditiva de Estado Estável (RAEE) e a etiologia da deficiência auditiva, em especial a genética.

A RAEE é um procedimento de avaliação audiológica importante, pois apresenta maior facilidade e eficiência para a obtenção de respostas, objetividade na análise dos registros, seletividade das frequências das respostas, além da maior detecção de respostas auditivas do que outros métodos objetivos, como por exemplo, o PEATE⁽¹³⁾. Tais achados justificam a importância da RAEE, pois as crianças pequenas podem não cooperar durante a avaliação auditiva comportamental e este procedimento se torna muito útil na determinação dos limiares auditivos, uma vez que há uma relação próxima entre os limiares eletrofisiológicos obtidos por meio da RAEE e os limiares comportamentais⁽¹⁴⁾.

Além disso, tem sido destacado o uso da RAEE com prótese auditiva em campo livre, com o objetivo de avaliar a audibilidade de sons fracos^(15,16).

Nota-se um crescente interesse na investigação genética da deficiência auditiva e no aprimoramento dos procedimentos de avaliação auditiva infantil. Do mesmo modo, no meio científico nacional não se tem conhecimento de estudos que relacionem etiologia da deficiência auditiva e resultados da RAEE com prótese auditiva na população pediátrica.

Diante do exposto, os objetivos deste estudo foram: (1) estabelecer a frequência de mutações genéticas relacionadas à deficiência auditiva neurosensorial na amostra; (2) verificar se há associação entre grau da perda auditiva e presença de alteração genética e (3) verificar se os NMR com próteses auditivas variam em função da variável alteração genética.

MÉTODOS

Esta pesquisa foi um estudo clínico transversal de crianças atendidas no Núcleo Integrado de Assistência, Pesquisa e Ensino em Audição (NIAPEA) da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Teve aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa da instituição, sob o número CEP 1828/09. Os pais e/ou responsáveis assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foram estabelecidos os seguintes critérios de inclusão para o presente estudo: crianças com idades entre 6 meses e 10 anos de ambos os gêneros; com deficiência auditiva neurosensorial bilateral simétrica de grau leve a profundo⁽¹⁷⁾; usuárias de próteses auditivas com adaptação bilateral há no mínimo três meses e terem sido inseridas em programas de estimulação auditiva (fonoterapia) em algum momento do processo de habilitação auditiva. Foram excluídas desta pesquisa as crianças que apresentaram comprometimento neurológico evidente e/ou deficiências associadas; comprometimento condutivo; perda auditiva neurosensorial assimétrica e portadoras do espectro da neuropatia auditiva.

A seleção da amostra foi realizada por meio da pesquisa no banco de dados do NIAPEA, sendo que 552 crianças nascidas entre os anos de 2000 a 2009 faziam gênero parte do banco. Deste total, 123 crianças possuíam avaliação audiológica completa e considerando todos os critérios de elegibilidade, foram encontradas 58 crianças. Cabe ressaltar que 28 crianças não concluíram todas as etapas do presente estudo e desta forma a amostra foi constituída por 30 crianças, de ambos os gêneros, com faixa etária variando de 8 a 111 meses.

A amostra foi constituída por 30 crianças, sendo 20 (66,7%) do gênero feminino e 10 (33,3%) do gênero masculino, com idades entre 8 meses e 111 (meses).

Em relação ao grau da deficiência auditiva neurosensorial, a amostra foi composta por 12 crianças com DANS de grau moderado (40% da amostra), quatro crianças com DANS severa (13,3%) e 14 com DANS profunda (46,7%).

Realizou-se a avaliação auditiva com e sem o uso da amplificação sonora por meio de avaliação comportamental e eletrofisiológica, além do estudo genético.

A avaliação auditiva foi constituída pela Audiometria Tonal

Liminar (ATL) e pela Pesquisa das Respostas Auditivas de Estado Estável (RAEE), ambas em campo livre. Primeiramente os dois procedimentos foram realizados na situação sem o uso das próteses auditivas.

O equipamento utilizado para a realização da audiometria em campo livre foi um audiômetro, marca Interacoustics®, modelo AC33. Os estímulos foram calibrados com equipamento adequado. Foram adotados três procedimentos diferentes de realização de audiometria tonal liminar em campo livre, de acordo com a idade cronológica, o desenvolvimento e a capacidade da criança de responder aos estímulos sonoros: a audiometria de reforço visual (ARV); audiometria lúdica e a audiometria convencional.

Por meio destes três procedimentos buscou-se a pesquisa dos níveis mínimos de resposta (NMR), intensidade mínima na qual a criança apresenta resposta para um estímulo sonoro⁽¹⁸⁾, neste primeiro momento sem o uso da amplificação sonora. Cabe ressaltar que, por se tratar de uma avaliação em campo livre, obteve-se as respostas da orelha com melhor reserva coclear.

A pesquisa dos NMR foi efetuada com tons puros modulados em frequência *warble*, nas frequências de 500 Hz, 1, 2 e 4 kHz. Os estímulos foram apresentados inicialmente de forma descendente e posteriormente ascendente. Os estímulos sonoros foram apresentados com níveis máximos de até 100 dBNA para todas as frequências. O protocolo utilizado neste estudo foi baseado em estudo anterior⁽¹⁹⁾.

Os NMR foram obtidos em dBNA, entretanto, foram convertidos em dBNPS. Sendo assim, foram utilizados os valores mensurados da diferença entre o dBNA no *dial* do audiômetro e o dBNPS medido na distância e grau de posicionamento da criança em relação ao alto-falante. O Quadro 1 apresenta os valores de correção obtidos por frequência nos diferentes graus e distâncias para os equipamentos utilizados neste estudo.

Quadro 1. Diferença em dB por frequência e azimute para a conversão do dBNA em dBNPS

	500 Hz	1 kHz	2 kHz	4 kHz
0° azimute	+8,6 dB	-3,9 dB	-6,5 dB	-10,9 dB

O segundo procedimento da avaliação auditiva foi a RAEE, também realizado em campo livre, com o equipamento Smart EP da Intelligent Hearing System®, de um canal. Os estímulos foram calibrados em dBNPS seguindo as recomendações do fabricante do equipamento. Foi realizada uma medição destes estímulos.

As avaliações foram realizadas em sala acusticamente tratada, sendo que a criança estava posicionada a 70 cm do alto falante a 0° azimute deste. Todas as avaliações foram realizadas com as crianças em sono natural, independente da idade da criança avaliada.

Manteve-se a escolha da orelha avaliada na avaliação comportamental, por também tratar-se de uma avaliação em campo livre, sendo que o modo de apresentação desta forma foi ipsilateral. Além disso, as mesmas frequências foram avaliadas, porém a intensidade máxima foi 90 dBNPS (por limitações do alto falante utilizado neste estudo).

Os parâmetros adotados para tal avaliação estão expostos no Quadro 2.

Quadro 2. Parâmetros da pesquisa das RAEE

Frequências portadoras: 500 Hz, 1 kHz, 2 kHz e 4 kHz
Frequências moduladoras: orelha esquerda – 77, 85, 93 e 101 Hz orelha direita – 79, 87, 95, 103 Hz
Estímulo: <i>tone pips</i> (tons breves de curta duração)
Eletrodos e montagens: eletrodo negativo na orelha testada; eletrodo terra na orelha não testada e eletrodo positivo na frente
Impedância abaixo de 3 kohm
Amplificadores e filtros: amplificação de 100.000 vezes, com filtros passa-alto de 30 Hz e passa-baixo de 300 Hz
Promediações: até 600 para cada intensidade, com varreduras a cada 20
Intensidades apresentadas em modo descendente, com variação de 10 dBNPS, a fim de detectar o limiar auditivo eletrofisiológico
Intensidade de início: 20 dB acima do limiar comportamental
Detecção das respostas: técnica estatística F

Após a avaliação audiológica estar concluída, avaliou-se os NMR com o uso das próteses auditivas, isto é, repetiu-se os mesmos procedimentos anteriores (audiometria tonal e RAEE), porém agora com as crianças adaptadas com as suas próteses auditivas.

Antes do início de tal avaliação, foi feita uma verificação do funcionamento das próteses auditivas, além dos moldes auriculares.

E finalmente para investigar a possibilidade da perda auditiva ser de origem genética não-sindrômica foi feito o estudo genético. O sangue coletado foi acondicionado em tubo de ensaio contendo EDTA como anticoagulante e foi enviado para o Laboratório de Genética Molecular Humana do Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética (CBMEG) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

O DNA foi extraído e analisado por métodos adaptados do CBMEG. Inicialmente foi rastreada a mutação 35delG no gene da conexina 26 (GJB2) por método de PCR alelo-específico. Posteriormente foram analisadas por PCR-multiplex as deleções envolvendo o gene da conexina 30 (GJB6), del (GJB6-D13S1830) e del (GJB6-D13S1854). De acordo com os resultados obtidos foi então realizado o sequenciamento completo do gene GJB2.

Também foram analisadas as mutações mitocondriais A1555G e A827G no gene 12S rRNA. A mutação A1555G foi rastreada por análise de restrição e a mutação A827G por sequenciamento direto.

Após a realização do estudo genético no grupo estudado encontrou-se três mutações: 35delG, A1555G e A827G. Estas mutações foram diagnosticadas em 11 crianças (36,7% da amostra). A partir desta avaliação, a amostra foi distribuída em dois grupos conforme sua condição genética: com alteração genética (n=11 crianças) e sem alteração genética (n=19 crianças).

Em relação aos testes estatísticos adotados, para avaliar a correlação entre os NMR comportamentais e eletrofisiológicos

em campo livre, nas duas condições estudadas (sem e com próteses auditivas) utilizou-se a Correlação de Spearman. Outros testes estatísticos foram também utilizados para a análise dos dados obtidos nesta pesquisa: teste de Correlação, Igualdade de Duas Proporções, Wilcoxon, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney Intervalo de Confiança para Média e o cálculo do “valor de p”. Em cada teste de hipótese foi fixado nível de significância de 0,05. Os valores significantes foram assinalados com asterisco. Todos os intervalos de confiança construídos ao longo do trabalho foram construídos com 95% de confiança estatística.

RESULTADOS

Em relação às crianças que apresentaram as mutações genéticas estudadas, 45% destas apresentaram a mutação 35delG, 22% a A1555G e 33% a A827G.

O grau da DA nos dois grupos, com e sem alteração genética está apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição da amostra conforme a variável grau de DANS nos grupos com e sem alteração genética

Grau da DANS	Com alteração genética		Sem alteração genética	
	n	%	n	%
Moderada	4	36,4	8	42,1
Severa	0	0	4	21,1
Profunda	7	63,6	7	36,8
Total	11	100	19	100

Legenda: DANS = deficiência auditiva neurosensorial

Notou-se que no grupo amostral com alteração genética, o grau de DANS mais prevalente foi o grau profundo em 63,6% (7/11), com diferença significativa.

Fez-se uma análise do grupo das crianças com alteração genética, considerando a distribuição do grau de DANS para as três principais mutações genéticas estudadas: 35delG, A1555G e A827G. Não houve diferença significativa entre os padrões heterozigoto ($p=0,248$) e homozigoto ($p=0,157$) da mutação 35delG em relação ao grau de DANS. Também não houve diferença significativa entre os graus de DANS para os pacientes com mutação mitocondrial A1555G. Houve diferença significativa entre os graus de DANS para os pacientes com mutação mitocondrial A827G, sendo que todos os pacientes com essa mutação eram portadores de DANS de grau profundo.

Prosseguindo, avaliou-se os NMR obtidos nos dois procedimentos sem e com o uso da amplificação, considerando as seguintes variáveis: grupo e grau de perda (Tabelas 2, 3, 4 e 5).

Como uma grande parte da amostra é portadora de DANS de grau profundo, houve muitos NMR ausentes em ambos os procedimentos (avaliação comportamental e eletrofisiológica). Nestes casos como não se teve informação, não foi possível realizar a análise, para marcar esta ausência de NMR inseriu-se o símbolo “- x -”.

DISCUSSÃO

A amostra foi constituída por 30 crianças com perda auditiva neurosensorial de grau moderado a profundo, com idades

entre 8 meses e 9 anos usuárias de próteses auditivas atendidas no NIAPEA.

A distribuição das crianças conforme a variável grau de deficiência auditiva evidenciou que o grau de maior ocorrência foi o profundo, seguido do moderado e do severo. Alguns autores⁽²⁰⁾ elaboraram um estudo com o objetivo de descrever as características audiológicas de crianças, atendidas em um Programa de Saúde Auditiva semelhante ao do NIAPEA, e observaram que 46% das crianças apresentavam perda auditiva profunda; dado este muito próximo ao do presente trabalho.

Realizou-se um rastreamento genético para a investigação das principais mutações genéticas não-sindrômicas recessivas, sendo diagnosticadas as mutações 35delG, A1555G e A827G. Do total de 30 crianças, 19 (63,3%) não apresentaram nenhuma mutação genética e 11 (36,7%) apresentaram algum tipo de mutação genética.

No grupo formado por crianças com alteração genética, destaca-se a existência de dois irmãos, que apresentam a mesma mutação genética (35delG em heterozigose). Este é um dado frequentemente referenciado na literatura, pois nestes casos os autores consideram a família e não o indivíduo. Estes dois irmãos possuem as mesmas informações genéticas, porém considerou-se dois sujeitos visto que uma das preocupações deste estudo foi relacionar o genótipo ao fenótipo. Ressalta-se que eles possuíam diferentes desempenhos com o uso das próteses auditivas.

O foco do rastreamento genético foi o estudo das mutações recessivas, pois dentre os padrões de herança, a autossômica recessiva é a mais frequente⁽²¹⁾. Merece destaque a mutação 35delG, por se tratar de causa mais frequente de DANS autossômica recessiva⁽¹⁾. Sucintamente, o extrato fisiopatológico da DA causada em consequência da mutação 35delG está relacionado a alterações no funcionamento das junções *gap* e na manutenção de altas concentrações de potássio intracelular, que prejudicam o mecanismo de resposta rápida das células ciliadas ao novo estímulo sonoro, e desta forma resulta em uma deficiência auditiva^(22,23).

Considerando os resultados dos diferentes estudos realizados no Brasil, observa-se uma variação grande em relação à proporção da mutação 35delG, variando desde 5,3%⁽²⁾ até 45% da amostra que apresenta mutações (presente estudo). Este achado pode ser justificado, pela miscigenação tão significativa que o Brasil apresenta. A população brasileira teve uma interação de diferentes raças e etnias, principalmente a integração genética de povos europeus, em especial italianos, espanhóis e portugueses. Outra alteração genética pesquisada foi a A1555G, pois esta é a mutação no ácido desoxirribonucleico (DNA) mitocondrial mais frequente, sendo esta associada a uma maior sensibilidade às drogas ototóxicas, em especial ao uso de aminoglicosídeos⁽²⁴⁾. No grupo formado por crianças com alterações genéticas, duas delas eram portadoras deste tipo de mutação, o que representa 22% da amostra.

Assim como a mutação mitocondrial A1555G, a mutação A827G, no gene 12S rRNA, foi inicialmente associada à suscetibilidade à perda auditiva induzida por aminoglicosídeos⁽²⁵⁾. E 33% das crianças no grupo das crianças com alterações genéticas apresentavam esta mutação mitocondrial. Entretanto,

Tabela 2. Comparação dos NMR comportamentais (dBNPS) sem e com próteses auditivas no grupo sem alteração genética, considerando a variável grau de DANS

Audiometria		Média	Mediana	DP	Q1	Q3	n	IC	Valor de p	
Moderada	500 Hz	Sem AASI	67,1	71,1	16,8	52,2	79,4	8	11,6	0,011*
		Com AASI	43,4	45,8	11,2	35,7	53,2	8	7,8	
	1 kHz	Sem AASI	64,3	68,6	11,9	54,9	71,1	8	8,3	0,011*
		Com AASI	36,1	33,7	14,2	26,1	41,1	8	9,8	
	2 kHz	Sem AASI	65,9	66,0	10,7	58,5	70,8	8	7,4	0,012*
		Com AASI	38,4	34,3	15,2	32,3	43,9	8	10,5	
	4 kHz	Sem AASI	65,2	65	11,3	59,1	69,6	7	8,4	0,026*
		Com AASI	44,4	39,1	24,5	28,5	56	8	17	
Profunda	500 Hz	Sem AASI	90,4	91,8	5,8	85,2	93,6	6	4,7	0,027*
		Com AASI	61,9	63,6	14,2	53,3	65,8	7	10,5	
	1 kHz	Sem AASI	84,4	86,1	12,6	78,6	91,1	3	14,2	0,109
		Com AASI	54	51,1	19,2	43,6	61,2	7	14,2	
	2 kHz	Sem AASI	78,5	78,5	21,2	71	86	2	29,4	0,180
		Com AASI	62	58,5	23,7	51	80	7	17,6	
	4 kHz	Sem AASI	81,1	81,1	9,9	77,6	84,6	2	13,7	0,180
		Com AASI	47,4	49,1	12,6	41,6	54,1	3	14,2	
Severa	500 Hz	Sem AASI	82,1	83,3	6,1	80,7	84,7	4	5,9	0,066
		Com AASI	53,3	55,8	10,5	49,9	59,3	4	10,3	
	1 kHz	Sem AASI	77,4	78,7	8,6	73,6	82,5	4	8,4	0,066
		Com AASI	47,4	48,7	12,5	42,4	53,7	4	12,3	
	2 kHz	Sem AASI	78	76,8	9,3	72,3	82,5	4	9,1	0,066
		Com AASI	44,3	49,3	14,5	39,6	53,9	4	14,2	
	4 kHz	Sem AASI	79,6	79,6	13,4	71,6	87,5	4	13,1	0,068
		Com AASI	62,1	57,1	17	49,1	70,	4	16,7	

* Valores significativos ($p \leq 0,05$) – Teste de Wilcoxon**Legenda:** DP = desvio-padrão; Q1 = 1º quartil; Q3 = 3º quartil; IC = intervalo de confiança; DANS = deficiência auditiva neurosensorial; AASI = aparelho de amplificação sonora individual; NMR = níveis mínimos de resposta**Tabela 3.** Comparação dos NMR comportamentais (dBNPS) sem e com próteses auditivas no grupo com alteração genética, considerando a variável grau de DANS

Audiometria		Média	Mediana	DP	Q1	Q3	n	IC	Valor de p	
Moderada	500 Hz	Sem AASI	69,7	71,1	8,3	66,1	74,7	4	8,2	0,066
		Com AASI	46	48,3	4,9	45,7	48,6	4	4,8	
	1 kHz	Sem AASI	64,9	68,6	17,1	59,8	73,6	4	16,8	0,068
		Com AASI	36,2	38,7	7,1	33,6	41,2	4	7	
	2 kHz	Sem AASI	65,2	63,5	12,6	58,5	71	3	14,2	0,102
		Com AASI	36,4	36,8	6,7	32,3	40,9	4	6,6	
	4 kHz	Sem AASI	60,7	59	22,6	49	71,6	3	25,6	0,109
		Com AASI	41,8	39,6	20,9	31	50,4	4	20,5	
Profunda	500 Hz	Sem AASI	90,3	91,1	6,1	84,9	93,6	6	4,8	0,027*
		Com AASI	60,7	58,6	11,4	53,6	70,8	7	8,5	
	1 kHz	Sem AASI	89,4	93,6	8,8	83,6	96,1	6	7	0,026*
		Com AASI	51,1	51,1	15,8	38,6	56,1	7	11,7	
	2 kHz	Sem AASI	87,3	91	9,5	84,8	93,5	4	9,3	0,066
		Com AASI	55,1	53,5	13,4	53,5	63,5	7	9,9	
	4 kHz	Sem AASI	81,6	79,1	5	79,1	81,6	4	4,9	0,066
		Com AASI	58,4	61,6	13,8	55,4	64,1	6	11	

* Valores significativos ($p \leq 0,05$) – Teste de Wilcoxon**Legenda:** DP = desvio-padrão; Q1 = 1º quartil; Q3 = 3º quartil; IC = intervalo de confiança; DANS = deficiência auditiva neurosensorial; AASI = aparelho de amplificação sonora individual; NMR = níveis mínimos de resposta

Tabela 4. Comparação dos NMR eletrofisiológicos (dNPS) sem e com próteses auditivas no grupo sem alteração genética, considerando a variável grau de DANS

RAEE		Média	Mediana	DP	Q1	Q3	n	IC	Valor de p	
Moderada	500 Hz	Sem AASI	67,9	65	8,6	62,5	70	7	6,4	0,017*
		Com AASI	45,7	40	7,9	40	50	7	5,8	
	1 kHz	Sem AASI	71,9	72,5	14,6	60	82,5	8	10,1	0,011*
		Com AASI	41,3	35	14,6	30	50	8	10,1	
	2 kHz	Sem AASI	77,5	80	11,3	73,8	82,5	8	7,9	0,011*
		Com AASI	45,6	45	14	35	56,3	8	9,7	
	4 kHz	Sem AASI	74,3	80	14,3	72,5	80	7	10,6	0,018*
		Com AASI	55,6	55	18,8	40	67,5	8	13	
Profunda	500 Hz	Sem AASI	- x -	- x -	- x -	- x -	- x -	0	- x -	- x -
		Com AASI	67	60	14	60	70	5	12,2	- x -
	1 kHz	Sem AASI	90	90	- x -	90	90	1	- x -	- x -
		Com AASI	58,6	55	15,7	47,5	62,5	7	11,7	- x -
	2 kHz	Sem AASI	90	90	- x -	90	90	1	- x -	- x -
		Com AASI	65	60	15,8	55	72,5	7	11,7	- x -
	4 kHz	Sem AASI	- x -	- x -	- x -	- x -	- x -	0	- x -	- x -
		Com AASI	66	60	15,2	60	70	5	13,3	- x -
Severa	500 Hz	Sem AASI	83,8	82,5	4,8	80	86,3	4	4,7	0,066
		Com AASI	52,5	52,5	6,5	48,8	56,3	4	6,3	
	1 kHz	Sem AASI	85	85	5	82,5	87,5	3	5,7	0,102
		Com AASI	53,8	55	7,5	48,8	60	4	7,3	
	2 kHz	Sem AASI	87,5	87,5	3,5	86,3	88,8	2	4,9	0,180
		Com AASI	57,5	60	9,6	52,5	65	4	9,4	
	4 kHz	Sem AASI	85	85	5	82,5	87,5	3	5,7	0,109
		Com AASI	60	55	14,1	50	65	4	13,9	

* Valores significativos ($p \leq 0,05$) – Teste de Wilcoxon**Legenda:** DP = desvio-padrão; Q1 = 1º quartil; Q3 = 3º quartil; IC = intervalo de confiança; DANS = deficiência auditiva neurosensorial; AASI = aparelho de amplificação sonora individual; NMR = níveis mínimos de resposta; RAEE = resposta auditiva de estado estável**Tabela 5.** Comparação dos NMR eletrofisiológicos (dBNPS) sem e com próteses auditivas no grupo com alteração genética, considerando a variável grau de DANS

RAEE		Média	Mediana	DP	Q1	Q3	n	IC	Valor de p	
Moderada	500 Hz	Sem AASI	80	82,5	12,2	72,5	90	4	12	0,066
		Com AASI	52,5	52,5	2,9	50	55	4	2,8	
	1 kHz	Sem AASI	78,3	75	10,4	72,5	82,5	3	11,8	0,102
		Com AASI	47,5	47,5	6,5	43,8	51,3	4	6,3	
	2 kHz	Sem AASI	75	75	1	70	80	3	11,3	0,109
		Com AASI	43,8	42,5	8,5	38,8	47,5	4	8,4	
	4 kHz	Sem AASI	76,7	75	12,6	70	82,5	3	14,2	0,102
		Com AASI	51,3	47,5	14,4	40	58,8	4	14,1	
Profunda	500 Hz	Sem AASI	90	90	- x -	90	90	1	- x -	- x -
		Com AASI	70	70	14,1	60	80	7	10,5	- x -
	1 kHz	Sem AASI	90	90	- x -	90	90	1	- x -	- x -
		Com AASI	60,7	60	11,3	55	60	7	8,4	- x -
	2 kHz	Sem AASI	- x -	- x -	- x -	- x -	- x -	0	- x -	- x -
		Com AASI	65,7	65	5,3	62,5	67,5	7	4	- x -
	4 kHz	Sem AASI	- x -	- x -	- x -	- x -	- x -	0	- x -	- x -
		Com AASI	75,7	75,0	4,5	72,5	80	7	3,3	- x -

Teste de Wilcoxon ($p \leq 0,05$)**Legenda:** DP = desvio-padrão; Q1 = 1º quartil; Q3 = 3º quartil; IC = intervalo de confiança; DANS = deficiência auditiva neurosensorial; AASI = aparelho de amplificação sonora individual; NMR = níveis mínimos de resposta; RAEE = resposta auditiva de estado estável

ainda é controverso o efeito dessa alteração, sendo que alguns autores acreditam que essa mutação trata-se de um simples polimorfismo, não justificando a perda de audição nos indivíduos que apresentam essa alteração.

Foi estudado também o grau da DANS nas crianças, considerando a distribuição da amostra em dois grupos: com e sem alteração genética (Tabela 1). Os resultados evidenciaram que no grupo de crianças com alterações genéticas houve um predomínio da DANS de grau profundo (63,6%), já no grupo das crianças sem alterações genéticas não houve diferença significativa entre os três graus de DANS (moderado, severo e profundo).

Vários estudos descrevem as características audiológicas relacionadas às DANS de origem genética recessiva, que na maior parte dos casos é caracterizada por uma deficiência auditiva de grau severo a profundo, porém uma minoria pode apresentar perda auditiva de grau moderado^(4,24,26), assim como foi observado do presente estudo.

A seguir analisou-se o grupo das crianças com alteração genética, considerando a distribuição do grau de DANS para as três principais mutações genéticas estudadas: 35delG, A1555G e A827G.

Nas crianças com a mutação 35delG não houve diferença significativa entre os padrões heterozigoto e homozigoto da mutação 35delG em relação ao grau de DANS. A questão heterozigoto ou homozigoto é bastante estudada na literatura^(1,9). Os autores consideram que é necessário que o indivíduo herde dois alelos mutados, sendo um do pai e outro da mãe, para que se expresse a deficiência auditiva (homozigose). Sendo assim, há a impossibilidade de a conexina 26 ser codificada pelo gene GJB2 alterado, o que causaria a DANS. Quando a criança apresenta a mutação 35delG em heterozigose, significa que há mutação em apenas um dos alelos, sendo possível que o outro alelo codifique a proteína. Isso implicaria em um menor número de conexina 26 codificada. Desta forma, a mutação 35delG em heterozigose não diagnostica a causa da surdez, apenas comprova que o paciente é portador dessa mutação.

Não houve diferença significativa entre os graus de DANS para os pacientes com mutação mitocondrial A1555G. Um autor⁽²⁷⁾ referencia que o fenótipo audiológico, nos sujeitos portadores da mutação mitocondrial A1555G, pode variar consideravelmente até entre membros da mesma família, sendo que o grau da DANS pode ser de moderado a profundo.

Houve diferença significativa entre os graus de DANS para os pacientes com mutação mitocondrial A827G, sendo que todos os pacientes com essa mutação eram portadores de DANS de grau profundo. Entretanto, outros autores⁽²⁵⁾ referenciam que o grau da deficiência auditiva pode ser desde um grau leve até profundo. Segundo os autores supracitados, fatores agravantes da deficiência seriam o tempo de uso de aminoglicosídeos, o uso associado deste tipo de droga, a idade da criança quando fez o uso dos aminoglicosídeos, entre outros.

Avaliou-se também os NMR obtidos nos dois procedimentos sem e com o uso da amplificação, considerando as seguintes variáveis: grupo e grau de DA (Tabelas 2, 3, 4 e 5). Nesta análise, o dado que merece maior relevância, é o fato de que apenas as crianças portadoras de DANS de grau moderado sem

alteração genética, tanto na avaliação comportamental quanto eletrofisiológica, apresentarem diferença significativa entre as avaliações sem e com próteses auditivas.

Alguns autores estudaram a relação entre o uso de próteses auditivas (desempenho e benefício), desenvolvimento de linguagem e percepção de fala com as diferentes manifestações da DA de origem genética⁽⁴⁻⁶⁾. Os resultados dos três estudos citados convergem para um achado semelhante, as mutações genéticas não determinam diretamente o benefício com a amplificação sonora. Todavia, a maior incidência de DANS mais severa em crianças com mutações genéticas, leva a um impacto negativo sobre os benefícios das próteses auditivas para estas crianças. Os autores destacaram que o desempenho linguístico e auditivo estaria correlacionado à severidade da DANS, idade do diagnóstico e intervenção, qualidade da terapia fonoaudiológica, entre outros.

Os achados do presente estudo, nas crianças sem alteração genética, concordam com os autores anteriormente citados, uma vez que as crianças que apresentaram diferença significativa nos NMR sem e com o uso da amplificação sonora são as portadoras de DANS de grau moderado. Entretanto, as crianças com alteração genética mesmo com DA moderada não apresentam diferenças significativas, apenas uma tendência, que talvez pudesse ser significativa se o número amostral fosse maior. O maior benefício com as próteses auditivas estaria relacionado ao menor comprometimento coclear.

Outra possível hipótese para este achado é a questão das ausências de NMR, principalmente na condição sem próteses auditivas, uma vez que as crianças com DANS severa e profunda possuem um alto índice de respostas ausentes no nível de pressão sonora máximo avaliado. O nível máximo em que foi pesquisado o NMR eletrofisiológico foi 90 dBNPS, por uma limitação do alto-falante utilizado neste estudo. Talvez se este fosse maior e se obtivesse um maior número de NMR presentes, uma análise mais conclusiva poderia ser efetuada.

A questão de relacionar as manifestações da DA genética com o desempenho auditivo com o uso do implante coclear (IC) também é uma preocupação de muitos estudiosos⁽⁷⁻¹⁰⁾. E ao contrário dos achados com próteses auditivas, as crianças com mutações genéticas possuem, em geral, um benefício maior com o IC quando comparadas às crianças sem tais mutações. Isto aconteceria, pois a DANS em decorrência de mutações da Cx26 causam alterações que não afetam as células do gânglio espiral, que são os elementos neurais estimulados pelo implante, favorecendo assim melhores resultados. Desta forma, em pacientes implantados a etiologia genética seria um bom indicador de sucesso no desempenho linguístico e auditivo.

CONCLUSÃO

A análise dos dados permitiu concluir que as mutações genéticas foram encontradas em 11 crianças (36,7% da amostra), sendo três mutações diagnosticadas: 35delG, A1555G e A827G. Além disso, as crianças com as alterações genéticas estudadas apresentaram maior grau de DANS. Conclui-se também que os NMR comportamentais e eletrofisiológicos de crianças com DANS de grau moderado sem alteração genética foram menores

dos que os das crianças com alteração genética e também portadoras de DANS de grau moderado, o que indicaria um melhor desempenho com prótese das crianças sem alteração genética.

REFERÊNCIAS

1. Wilcox SA, Saunders K, Osborn AH, Arnold A, Wunderlich J, Kelly T, et al. High frequency hearing loss correlated with mutations in the *GJB2* gene. *Hum Genet.* 2000;106(4):399-405.
2. Pfeilsticker LN, Stole G, Satorato EL, Delfino D, Guerra AT. A investigação genética na surdez hereditária não-sindrômica. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2004;70:182-6.
3. Guilford P, Ben Arab S, Blanchard S, Levilliers J, Weissenbach J, Belkahlia A, et al. A non-syndromic form of neurosensory, recessive deafness maps to the pericentromeric region of chromosome 13q. *Nat Genet.* 1994;6(1):24-8.
4. Mesolella M, Tranchino G, Nardone M, Motta S, Galli V. Connexin 26 mutations in nonsyndromic autosomal recessive hearing loss: speech and hearing rehabilitation. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2004;68(8):995-1005.
5. Dahl HH, Wake M, Sarant J, Poulakis Z, Siemering K, Blamey P. Language and speech perception outcomes in hearing-impaired children with and without connexin 26 mutations. *Audiol Neurootol.* 2003;8(5):263-8.
6. Matsunaga T, Hirota E, Bito S, Niimi S, Usami S. Clinical course of hearing and language development in *GJB2* and non-*GJB2* deafness following habilitation with hearing aids. *Audiol Neurootol.* 2006;11(1):59-68.
7. Green GE, Scott DA, McDonald JM, Teagle HF, Tomblin BJ, Spencer LJ et al. Performance of cochlear implant recipients with *GJB2*-related deafness. *Am J Med Genet.* 2002;109(3):167-70
8. Sinnathuray AR, Toner JG, Clarke-Lytle J, Geddis A, Patterson CC, Hughes AE. Connexin 26 (*GJB2*) gen-related deafness and speech intelligibility after cochlear implantation. *Otol Neurotol* 2004;25(4):935-42.
9. Bernades R, Bortoncello S, Christiani TV, Satorato EL, César e Silva R, Porto PR. Estudo molecular em crianças candidatas e submetidas ao implante coclear. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2006;72(3):333-6.
10. Wu CC, Lee YC, Chen PJ, Hsu CJ. Predominance of genetic diagnosis and imaging results as predictors in determining the speech perception performance outcome after cochlear implantation in children. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2008;162(3):269-76.
11. Batissoaco AC, Abreu-Silva RS, Braga MC, Lezirovitz K, Della-Rosa Vet al. Prevalence of *GJB2* (connexin-26) and *GJB6* (connexin-30) mutations in a cohort of 300 Brazilian hearing-impaired individuals: implications for diagnosis and genetic counseling. *Ear Hear.* 2009 Feb;30(1):1-7.
12. Cordeiro-Silva Mde F, Barbosa A, Santiago M, Provetti M, Rabbi-Bortolini E. Prevalence of 35delG/*GJB2* and del (*GJB6*-D13S1830) mutations in patients with non-syndromic deafness from a population of Espírito Santo – Brazil. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2010;76(4):428-32.
13. Dimitrijevic A, John MS, Picton TW. Auditory steady-state responses and word recognition in normal-hearing and hearing-impaired adults. *Ear Hear.* 2004;25(1):68-84.
14. Ferraz OB, Freitas SV, Marchiori LL. Análise das respostas obtidas por potenciais evocados auditivos de estado estável em indivíduos normais. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2002;68(4):480-6.
15. Donini TS. A utilização do potencial evocado auditivo de estado estável no processo de indicação do aparelho de amplificação sonora individual em crianças com deficiência auditiva [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Pontifícia Universidade Católica de São Paulo; 2007.
16. Rodrigues GR, Lewis DR. Potenciais evocados auditivos de estado estável em crianças com perdas auditivas cocleares. *Pro Fono.* 2010;22(1):37-42.
17. Organização Mundial da Saúde (World Health Organization). Prevention of blindness and deafness: grades of hearing impairment. 1997. [internet]. http://www.who.int/pbd/deafness/hearing_impairment_grades/en/. Acesso em: 15/11/2010.
18. American Speech Language Hearing Association. Guidelines for the audiologic assessment of children from the birth through 36 months of age. *ASHA.* 1991;33(5):37-43.
19. Azevedo MF. Avaliação subjetiva da audição no primeiro ano de vida. *Temas desenvolv.* 1991;1(3):11-4.
20. Lanzetta BP, Frota S, Goldfeld M. Acompanhamento da adaptação de próteses auditivas em crianças surdas. *Rev. CEFAC [online].* 2010;12(3):360-70.
21. Bitner-Glindzicz M. Hereditary deafness and phenotyping in humans. *Br Med Bull.* 2002;63:73-94.
22. Mueller R. Connexin 26 (*GJB2*) deafness homepage. In: Martini A, Mazzoli M, Stephens D, Read A. Definitions, Protocols and Guidelines in Genetic Hearing Impairment. London: Whurr Publishers Ltd; 2001. p. 176-80.
23. Shibata Y, Kumai M, Nishi K, Nakamura K. Diversity and molecular anatomy of gap junctions. *Med Electron Microsc.* 2001;34(3):153-9.
24. Cryns K, Van Camp, G. Deafness genes and their diagnostic applications. *Audiol Neurootol.* 2004;9(1):2-22.
25. Li R, Greinwald JH Jr, Yang L, Choo DI, Wenstrup RJ, Guan MX. Molecular analysis of the mitochondrial 12SrRNA and tRNASer (UNC) genes in pediatric subjects with non-syndromic hearing loss. *J Med Genet.* 2004;41(8):615-20.
26. Hisim BO, Yilmaz ST, Incesulu A, Tekin M. Effects of *GJB2* genotypes on the audiological phenotype: variability is present for all genotypes. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2006;70(10):1687-94.
27. Del Castillo FJ, Rodriguez-Ballesteros M, Martin Y, Arellano B, Gallo-Teran J, Morales-Angulo C, et al. Heteroplasmy for the 1555AG mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene in six Spanish families with non-syndromic hearing loss. *J Med Genet.* 2003;40(8):632-6.