

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA

UNIDAD DOCENTE “VALL D’HEBRÓN”



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

**RELACIÓN ENTRE EL HAPLOGRUPO DEL ADN
MITOCONDRIAL Y LA SORDERA POR
CISPLATINO.**

Tesis presentada por **DOMINGO JESUS GRATEROL TORRES** para
optar al grado de doctor.

Director:

Prof. Juan Lorente Guerrero.

AGRADECIMIENTOS

A todos los pacientes y a sus familiares porque a pesar de su estado, nos regalaron su tiempo y estuvieron dispuestos a participar en este estudio contribuyendo así, al desarrollo de nuevas líneas de investigación para minimizar los efectos colaterales de terapias oncológicas.

A todos los colaboradores del estudio, especialmente, al servicio de oncología del Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona.

Al Dr. Juan Lorente Guerrero, ejemplo de constancia y dedicación.

A la Dra. Ana María García Arumí, por su valiosa colaboración.

A mis padres, por enseñarme el camino mil veces. Por ayudarme a levantar otras mil. Por creer en mí y brindarme todo su amor y apoyo incondicional.

A mi mujer, porque sin ti nada tendría sentido.

A Lucia y Nico, motores de mi vida. Motivo de felicidad. Me dais la fuerza necesaria para continuar.

A ti, aunque ya no estés con nosotros sigues influyendo en cada paso que doy. Sin duda este trabajo también es tuyo.

ÍNDICE

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	8
2. ESTADO ACTUAL DEL TEMA.	
2.1 OTOTOXICIDAD.....	10
2.1.1 Definición.....	10
2.1.2 Características clínicas.....	10
2.1.3 Principales fármacos y sustancias ototóxicas.....	10
2.1.4 Otros factores relacionados con pérdida auditiva.....	15
2.2 OTOTOXICIDAD POR CISPLATINO.....	15
2.2.1 Cisplatino y sus aplicaciones.....	15
2.2.2 Mecanismo de acción.....	17
2.2.3 Ototoxicidad.....	18
2.2.4 Factores de riesgo.....	21
2.2.5 Manifestaciones clínicas.....	22
2.2.6 El papel de la mitocondria.....	23
2.2.7 Papel de la genética en la ototoxicidad.....	24
2.3 HAPLOGRUPOS DEL ADN MITOCONDRIAL.....	26
2.3.1 ADN mitocondrial.....	26
2.3.2 Polimorfismos.....	28
2.3.3 Haplogrupos del ADN mitocondrial.....	30
2.3.4 Haplogrupos y enfermedad.....	36
2.3.5 Haplogrupos y ototoxicidad.....	37

2.3.6 Utilidad del análisis del haplotipo.....	40
2.3.7 Distribución de los haplogrupos en España.....	41
3. HIPÓTESIS.....	43
4. OBJETIVOS.	
4.1. OBJETIVO PRINCIPAL.....	45
4.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	45
5. MATERIAL Y MÉTODO.	
5.1 POBLACIÓN DE REFERENCIA Y ESTUDIO.....	47
5.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	47
5.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	47
5.4 MUESTRA.....	48
5.5 DISEÑO DEL ESTUDIO.....	48
5.6 VARIABLES ESTUDIADAS.....	48
5.7 RECOGIDA DE DATOS Y FUENTE DE INFORMACIÓN.	
5.7.1 Estudio auditivo.....	50
5.7.2 Cálculo de la pérdida auditiva global en la ATL.....	50
5.7.3 Extracción del ADN mitocondrial.....	50
5.7.4 Tratamiento quimioterápico.....	53
5.7.5 Análisis de datos y tratamiento estadístico de las variables.....	53
5.8 LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	54
5.9 ASPECTOS ÉTICOS.....	55

6. RESULTADOS.

6.1. CARACTERÍSTICA DE LA MUESTRA.....	57
6.1.1. Edad.....	57
6.1.2. Sexo.....	57
6.1.3. Antecedentes médicos.....	57
6.1.4. Localización de la neoplasia.....	59
6.1.5. Hábitos tóxicos.....	59
6.1.6. Otros factores relacionados con pérdida auditiva.....	60
6.1.7. Pérdida auditiva.....	60
6.1.8. Haplogrupos del ADN mitocondrial.....	61
6.2. PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS SEXO Y EDAD.....	61
6.3. PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS ANTECEDENTES MÉDICOS.....	64
6.4. PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS HÁBITOS TÓXICOS.....	67
6.5. PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS OTROS FACTORES RELACIONADOS CON PÉRDIDA AUDITIVA.....	70
6.6. HAPLOGRUPOS VERSUS PÉRDIDA AUDITIVA.....	71
6.7. HAPLOGRUPOS VERSUS PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS SEXO Y EDAD.....	73
6.8. HAPLOGRUPOS VERSUS PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS ANTECEDENTES PATOLÓGICOS.....	75
6.9. HAPLOGRUPOS VERSUS PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS HÁBITOS TÓXICOS Y OTROS ANTECEDENTES.....	77

7. DISCUSIÓN.

7.1. CARACTERÍSTICA DE LA MUESTRA.....	83
7.1.1. Edad y sexo.....	83

7.1.2. Antecedentes médicos	83
7.1.3. Hábitos tóxicos.....	84
7.1.4. Otros factores asociados a pérdida auditiva.....	84
7.1.5. Pérdida auditiva.....	85
7.1.6. Haplogrupos.....	86
7.2. PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS CARACTERÍSTICA DE LA MUESTRA.	
7.2.1. Pérdida auditiva versus edad y sexo.....	87
7.2.2. Pérdida auditiva versus antecedentes médicos.....	88
7.2.3. Pérdida auditiva versus hábitos tóxicos.....	88
7.2.4. Pérdida auditiva versus otros factores relacionados con pérdida auditiva	88
7.3. PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS HAPLOGRUPOS.....	89
7.4. PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS HAPLOGRUPOS VERSUS CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA.....	90
8. CONCLUSIONES.....	91
9. BIBLIOGRAFÍA	93
10. TABLAS Y FIGURAS.....	105
11. ANEXOS.....	108

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Es conocido que algunos fármacos pueden lesionar el epitelio sensorial del oído interno, produciendo pérdida auditiva y/o alteraciones del equilibrio, que en algunos casos puede ser de tipo severo e irreversible.

Como factores relacionados con este efecto nocivo se señalan la permanencia del fármaco en el oído interno que depende del tiempo que permanece en la sangre, la cual a su vez depende de la duración de la administración y dosis administrada y de los mecanismos renales de eliminación.

Pero también se sabe que existe una predisposición personal a dichos efectos tóxicos probablemente por mecanismos genéticos que en los últimos años están siendo objeto de investigación.

El cisplatino, es un fármaco utilizado en oncología que puede secundariamente afectar diferentes órganos y al igual que los aminoglucósidos, actúa negativamente sobre las células sensoriales auditivas produciendo daños irreversibles.

Existe una importante variabilidad en el desarrollo de ototoxicidad por cisplatino, y hasta la fecha, no es posible predecir quienes la desarrollarán. Tampoco está claro cuáles son los factores de riesgo para la pérdida auditiva por cisplatino.

En el caso de los aminoglucósidos, se ha demostrado que la ototoxicidad está vinculada a la mutación A1555G, la cual se ha sugerido se expresaría con mayor o menor severidad fenotípica según el haplogrupo del ADN mitocondrial. Se desconoce si esta relación se presenta en el caso de quimioterápicos como el cisplatino.

Por ello, la realización de nuevas investigaciones que aporten evidencias sobre el tema podrían permitir en caso afirmativo identificar a la población susceptible y ofrecer a este grupo alternativas terapéuticas menos lesivas.

2. ESTADO ACTUAL DEL TEMA

2.1. OTOTOXICIDAD.

2.1.1. Definición.

La ototoxicidad se define como las alteraciones transitorias o definitivas de la función auditiva, vestibular o de ambas, provocadas por determinados fármacos o por diversas sustancias químicas no farmacológicas (1,2).

2.1.2. Características clínicas de la ototoxicidad.

Las drogas ototóxicas pueden causar síntomas cocleares y/o vestibulares. La clínica habitual incluye acúfenos y/o hipoacusia inicialmente en la región de frecuencias desde 4000 a 8000 Hz, aunque también puede extenderse a las frecuencias del habla (2).

En algunos casos se pueden presentar síntomas vestibulares acompañando o posterior a los síntomas auditivos. En caso de afectación vestibular, la exploración de tipo calórico o rotatorio evidencia una respuesta disminuida o ausente del laberinto afectado (1,2).

2.1.3. Principales fármacos ototóxicos.

Los productos ototóxicos pueden ser de uso farmacológico y no farmacológico.

Entre los primeros destacan los antibióticos, especialmente los de la familia de los aminoglucósidos (estreptomina, gentamicina, tobramicina, neomicina y kanamicina). También hay que destacar otros antibióticos como la polimixina, la minociclina y la vancomicina (1,2). La figura 1, muestra los principales fármacos ototóxicos.

AMINOGLUCÓSIDOS.

La estreptomina y la gentamicina ejercen su efecto tóxico sobre todo a nivel del sistema vestibular, teniendo un efecto tóxico moderado sobre la cóclea, mientras que la neomicina, kanamicina y amikacina afectan preferentemente a esta última.

Familia de compuestos	Agente	Afección sobre:
Antibióticos aminoglucósidos	Estreptomina Dihidroestreptomina Capreomicina Framicetina Neomicina Gentamicina Tobramicina Amikacina Netilmicina Espectinomicina Kanamicina Paromomicina	Cóclea y vestíbulo En algunos casos, nervio auditivo
Antibióticos macrólidos y afines	Eritromicina Azitromicina Claritromicina Clindamicina Lincomicina	Cóclea
Antibióticos glucopeptídicos	Vancomicina Teicoplanina	Nervio auditivo y vestíbulo
Otros antibióticos	Minociclina Clorafenicol Cefalexina Teicoplanina...	Coclear y/o vestibular
Diuréticos	Furosemda Bumetanida Piretanida Torasemida	Cóclea
Salicilatos	Ácido acetil salicílico Otros salicilatos	Cóclea
Antimaláricos	Quinina Cloroquina Hidroxicloroquina y Primaquina Pirimetamina	Coclear y/o vestibular
Citostáticos	Bleomicina Cisplatino Vincristina Misonidazol Carboplatino Ciclofosfamida Ifosfamida Metotrexato Dactinomicina Droloxifeno	Coclear y/o vestibular
Bloqueadores Beta -	Propanolol Practolol	Coclear
Adrenérgicos		
Otros	Desferroxiamina Dextropropoxifeno Nortriptilina Imipramina Qunidina	Coclear y/o vestibular

Figura 1. Principales fármacos ototóxicos.

El mecanismo de acción de la ototoxicidad de los aminoglucósidos se relaciona con la capacidad de acumularse en los fluidos del oído interno gracias a un proceso de transporte activo a través de la estría vascular, siendo su vida media en los líquidos laberínticos (10-12 horas) muy superior a la del plasma (2-3 horas) (1).

Sin embargo esta acumulación no se ha podido correlacionar con la ototoxicidad por lo que debe existir una sensibilidad especial de las células sensoriales. Las personas con la mutación A1555G (gen ARNr 12S) son más susceptibles de daño coclear. Esta área es homóloga al área de unión entre bacteria y aminoglucósido (1).

Las células ciliadas externas son las primeras en afectarse y el daño progresa desde la base hacia el ápex y desde la fila interna a la externa de estas células. Después se lesionan las células ciliadas internas, las de sostén y retrógradamente el nervio auditivo (1,2).

A nivel vestibular las células ciliadas tipo I son más sensibles que las de tipo II y progresan de forma similar en las máculas y en las crestas.

MACRÓLIDOS.

Pueden provocar una hipoacusia reversible. Suele afectar simultáneamente las frecuencias conversacionales y las frecuencias más agudas, por lo tanto el paciente puede detectar más precozmente cambios auditivos, en contraposición a lo que sucede con los aminoglucósidos. Su efecto tóxico guarda relación con la dosis, que no debe ser mayor de 1,5 gr/día si las cifras de creatinina son mayores de 180 mol/l, siendo factor de riesgo la insuficiencia renal o hepática (1).

DIURÉTICOS DE ASA.

Los diuréticos tipo ácido etacrínico y furosemida son otros fármacos potencialmente peligrosos para el oído. A dosis elevadas, esencialmente en pacientes con una función renal alterada, pueden producir también hipoacusia. Los dos efectos electrofisiológicos sobre el sistema endolinfático son: la inhibición del transporte activo a partir de la negativización del potencial endococlear y una disminución de la permeabilidad de las membranas que

supone un incremento en la concentración de Na^+ en la endolinfa junto con una disminución del K^+ , y que es dosis dependiente (1,2).

SALICILATOS.

El ácido acetil-salicílico y sus derivados tienen una moderada acción ototóxica, precisándose dosis altas y mantenidas en el tiempo para que produzcan sordera. Estudios histológicos han demostrado la presencia de hemorragias en los conductos semicirculares y en el Órgano de Corti, vasoconstricción de los capilares de la estría vascular y edema de las células endoteliales. Además se ha evidenciado destrucción de las células ciliadas externas y alteraciones mitocondriales de las células estriales (1).

ANTIMALÁRICOS.

Los fármacos antipalúdicos o antimaláricos, están indicados en el tratamiento de la malaria en individuos con infección presuntiva o confirmada, así como para la prevención de la infección en las personas sin inmunidad que visitan una región del mundo donde el paludismo es endémico (2).

Los antipalúdicos también se indican para el tratamiento intermitente de rutina de ciertos grupos en regiones endémicas. Algunos agentes antimaláricos, particularmente la cloroquina y la hidroxicloroquina, también se utilizan en el tratamiento de la artritis reumatoide y artritis asociada a lupus eritematoso sistémico (1,2).

TABACO.

El tabaco es considerado un ototóxico aunque el mecanismo de acción no está del todo claro. La teoría más aceptada es la que relaciona a los efectos oxidantes del tabaco con el daño en el sistema auditivo. Por otro lado, el tabaco presenta relación directa con enfermedades vasculares y este aspecto también podría tener su relación con la pérdida auditiva (1,2).

ALCOHOL.

En algunos estudios como el de Rosenhall et al. (3), se describe la relación entre el consumo excesivo de alcohol y la pérdida auditiva. Su acción ototóxica puede relacionarse con el deterioro de las células ciliadas internas de la cóclea, aunque su mecanismo exacto aún está sin determinar.

OTRAS DROGAS

Las mostazas nitrogenadas, la bleomicina y el cisplatino, todos ellos fármacos antitumorales, también producen ototoxicidad (1,2). La figura 2 muestra el lugar y mecanismo de acción de algunos ototóxicos.

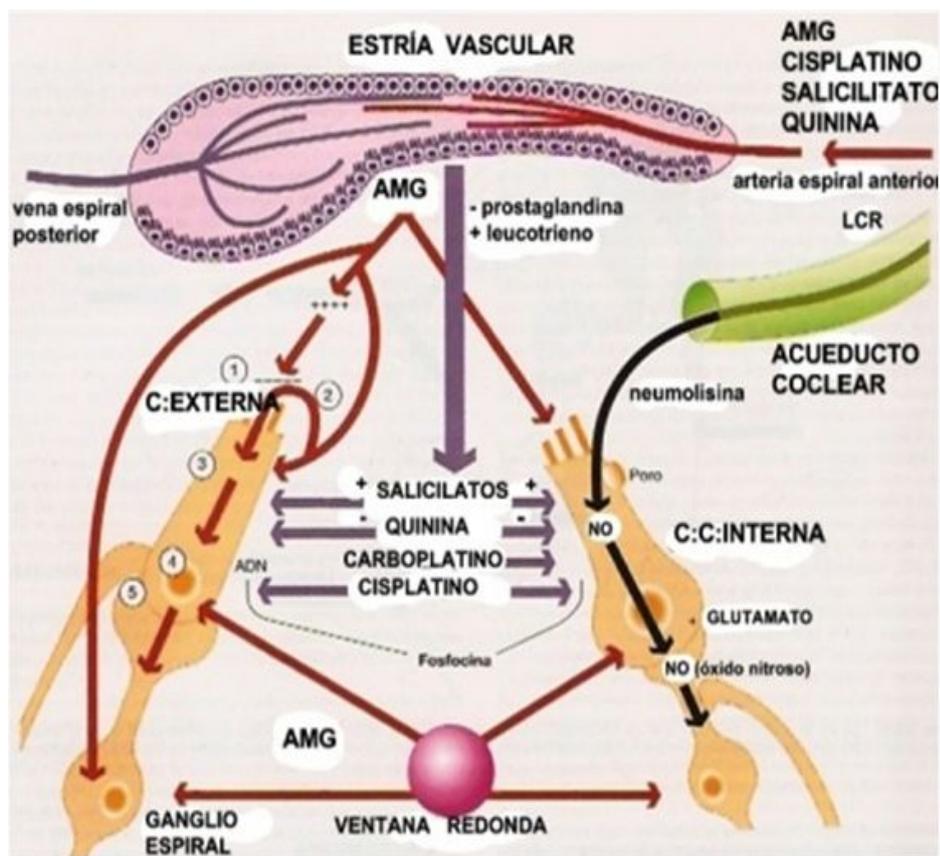


Figura 2. Vías y lugar de acción de algunos ototóxicos.

2.1.4. Otros factores relacionados con pérdida auditiva.

RUIDO AMBIENTAL.

La exposición al ruido es considerado un factor de riesgo importante para pérdida auditiva. Son numerosas las investigaciones en animales y observacionales en humanos que han evidenciado la relación directa entre el daño producido en el oído interno y la frecuencia, intensidad y duración de la exposición al ruido (1,2).

2.2 OTOTOXICIDAD POR CISPLATINO.

2.2.1. Cisplatino y sus aplicaciones.

El cisplatino es el compuesto inorgánico cis-diamino-dicloroplatino (figura 3) en el que el platino se encuentra en estado de oxidación +2, es decir, tiene cuatro enlaces dirigidos hacia las cuatro esquinas de un cuadrado en cuyo centro se encuentra el átomo metálico, formándose así un complejo planar (4,5).



Figura 3. Molécula del Cisplatino.

El platino forma enlaces covalentes, por lo que sus reacciones se asemejan en cierto modo a las reacciones de sustitución del carbono, especialmente a las reacciones de alquilación (5,6).

En el ambiente acuoso de la solución del cisplatino, como se encuentra en los líquidos orgánicos, el platino debe formar enlace covalente con el H₂O, que sustituye así a un Cl⁻, formándose un derivado «acu» (5,6).

En la concentración de Cl⁻ que existe en el plasma, el cisplatino se puede encontrar en varias formas: dicloro, cloroacu (clorohidroxi) y diacu (dihidroxi) e incluso se pueden formar dipolímeros (5,6).

Cualquiera de estas formas tiene capacidad para reaccionar con los productos nucleofílicos que se encuentran en las células. La reacción directa puede ser importante sólo para los grupos biológicos tio, mientras que los grupos amino reaccionan sólo a través del compuesto acu (5, 6, 7).

El cisplatino es un agente quimioterápico usado frecuentemente para el tratamiento de un amplio espectro de tumores. Sin embargo, la efectividad terapéutica de esta droga está limitada por sus efectos colaterales, principalmente insuficiencia renal, neuropatías periféricas y ototoxicidad (5, 6, 7).

El cisplatino es particularmente útil en el carcinoma de testículo y de ovario, en combinación con otros productos. Tiene cierta actividad en otros carcinomas, como el de células pequeñas del pulmón, estómago, coriocarcinoma, vejiga urinaria, mama, corteza suprarrenal, cuello uterino, útero, cabeza y cuello, pulmón, linfoma no hodgkiniano y osteosarcoma (6,7).

Si se da solo, se administra la dosis de 100 mg/m²; puede hacerse de una vez o repartido en 5 días, repitiéndose los ciclos cada 3 semanas (6,7).

Si se da en combinación con otros antineoplásicos, la dosis puede reducirse a 20-30 mg/m² (6,7).

2.2.2. Mecanismo de acción.

El mecanismo de acción antitumoral del cisplatino (figura 4) implica su captación por la célula cancerígena y su reacción con blancos intracelulares (5, 6, 7).

En la sangre, donde la concentración de cloruro es relativamente alta, el cisplatino se encuentra principalmente en la forma dicloro neutra (6).

En el interior de la célula, la baja concentración de cloruro favorece el remplazo de una o ambas fracciones cloruro por agua, resultando una molécula cargada positivamente, cuyo átomo de platino forma enlaces covalentes con los sitios nucleofílicos de las guaninas y adeninas del ADN (3), específicamente en la posición N7 (6,7).

Lo anterior favorece la formación de entrecruzamientos intrahebra e interhebras en el ADN, correlacionándose la toxicidad del cisplatino con la formación de estos aductos.

Algunos de ellos pueden ser reparados por el mecanismo de reparación por escisión de nucleótidos (NER), pero otros no (6,7).

Estas lesiones del ADN por el platino alteran la función de la hebra, bloqueando la replicación del ADN, inducen la detención del ciclo celular en G₂, inhiben la transcripción del ARN y, finalmente, promueven la muerte celular, principalmente a través de la apoptosis, aunque las células tumorales pueden sufrir necrosis *in vitro* cuando son expuestas a altas concentraciones de cisplatino (6, 7, 8).

Si bien existe evidencia de que el mecanismo de muerte tumoral es a través de estos puentes en el ADN, la sensibilidad celular a las drogas con platino no siempre se correlaciona con la formación de los aductos (9).

Es más, los efectos colaterales agudos no están del todo comprendidos, lo que significa que existen otros mecanismos implicados en la toxicidad de la droga (9,10).

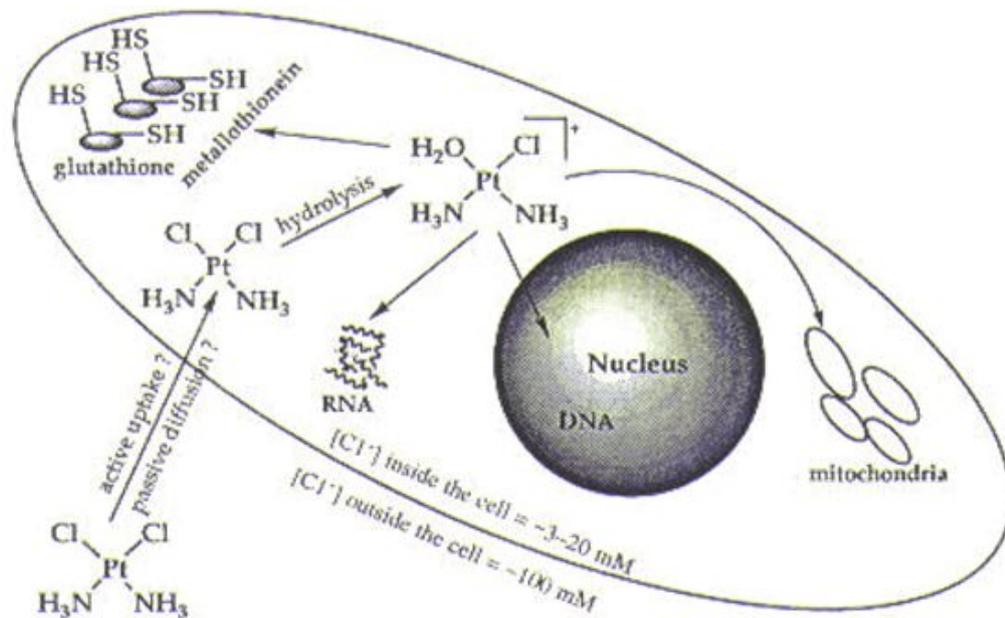


Figura 4. Captación celular del cisplatino y sus objetivos.

2.2.3 Ototoxicidad.

La ototoxicidad inducida por cisplatino se observa aproximadamente en un 15-40% de los pacientes que reciben esta droga, dependiendo de la dosis, duración y circunstancias y es una de las causas más frecuentes de suspensión del tratamiento (8, 9, 10, 11, 12).

La ototoxicidad puede desarrollarse en horas o días después de recibido el tratamiento con cisplatino (11,12)

Tradicionalmente se ha aceptado que el principal blanco coclear en la ototoxicidad coclear por cisplatino son las células ciliadas externas, observándose inicialmente la pérdida de la tercera fila de estereocilios de las células ciliadas externas de la espira basal tras la administración de la droga (13,14).

Estudios en animales muestran daño a nivel de la estría vascular y en la vaina de mielina de las células tipo I del ganglio espiral (15).

Sin embargo, un estudio en ratas ha demostrado daño morfológico en las células de sostén, células de Deiter y de Hensen (figura 5). Al parecer, estas células son más sensibles que las células ciliadas externas y la alteración de la ultraestructura de las células de sostén, consistente en microperforaciones irregulares que coalescen hasta formar perforaciones completas, precede a los cambios detectables en las células ciliadas externas (16).

Se observó, además, que los cambios funcionales, valorados mediante PEATC, se asociaban con la presencia temprana de lesiones apoptóticas en la superficie cuticular de las células de Deiter, respetando las células ciliadas externas que mostraron cambios degenerativos en los estereocilios en animales con una mayor supervivencia a lo largo del estudio (17).

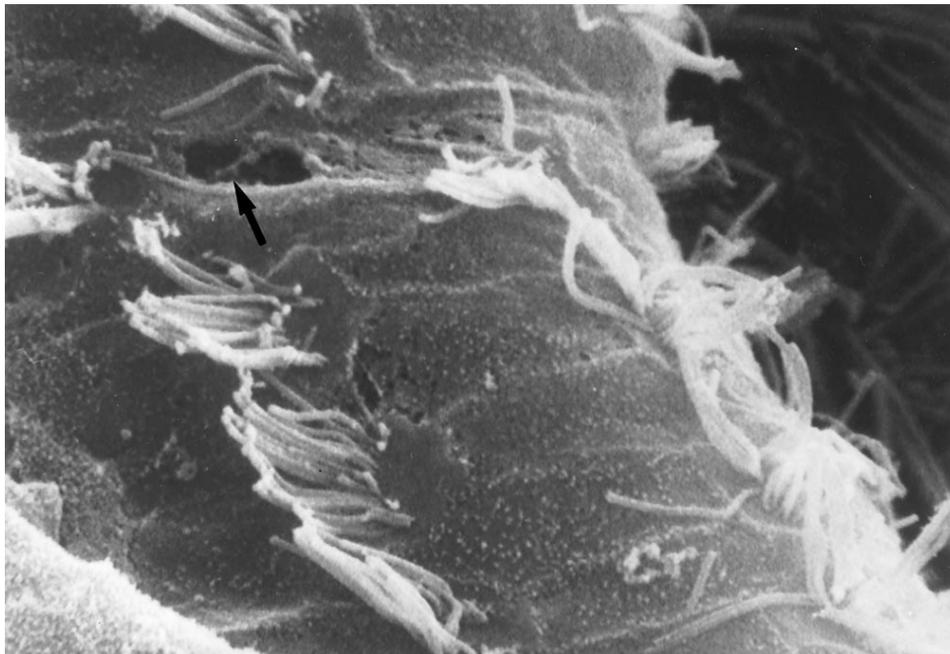


Figura 5. Perforación de la capa cuticular en una célula ciliada externa de la cóclea 15 días después de la administración de cisplatino.

Lo anterior sugiere que el cisplatino afecta inicialmente a las células de sostén, cuya función es mantener la homeostasis metabólica de las células sensoriales especializadas (células ciliadas internas y externas). Estas últimas experimentan lesiones estructurales y funcionales cuando hay un fallo en las células reguladoras de su metabolismo (18).

Estudios *in vitro* han mostrado que la exposición del neuroepitelio coclear al cisplatino produce depleción de glutatión en las células ciliadas y a continuación la muerte de dichas células (19).

Las teorías implicadas en la génesis del estrés oxidativo inducido por el cisplatino incluyen el daño directo del ADN, interferencia con el sistema de defensa antioxidante del glutatión o el aumento de la peroxidación de lípidos, lo que lleva a un aumento en la entrada de calcio y apoptosis de las células de la cóclea (20, 21, 22).

Una de las enzimas que produce radicales superóxido es una isoforma de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa (NADPH), la NOX-3, presente únicamente en la cóclea. El cisplatino activa esta enzima, elevando de forma dramática la producción de superóxidos (23).

Las dos principales vías intracelulares de apoptosis son el receptor de muerte de superficie celular o vía extrínseca, esto es, apoptosis mediada por Fas y por el miembro 1 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR1), que implica interacciones de la procaspasa-8, y la vía mitocondrial o intrínseca, regulada por miembros de la familia linfoma de células B-2 (Bcl-2), que normalmente inhibe la muerte celular bloqueando la unión de la caspasa-9 al complejo del factor 1 activador de proteasa apoptótica (24). Una vez activadas, la caspasa-8 y la caspasa-9 participan en una cascada que culmina en la activación de la caspasa-3, que tiene como resultado la fragmentación del ADN cromosómico y los cambios morfológicos celulares característicos de la apoptosis (24, 25).

Los radicales libres pueden activar Bax (una proteína proapoptótica) en el citosol, que a su vez entra en la mitocondria provocando la salida de citocromo c en el citoplasma. Esto último activa las caspasas 9 y 3, llevando a la ruptura del ADN por la

desoxirribonucleasa activada por caspasa y clivaje de la fodrina en la placa cuticular de las células ciliadas externas dañadas por la caspasa-3, induciendo la apoptosis (26).

Otros estudios *in vitro* han demostrado la muerte celular inducida por cisplatino independiente de p53 y de caspasas. Las células expuestas a cisplatino mostraron un aumento en la fosforilación de ERK $\frac{1}{2}$ (kinasa extracelular), causando fragmentación nuclear, reordenamiento del citoesqueleto de actina y muerte celular. Las citoquinas proinflamatorias, como TNF- α , IL-1 β e IL-6, sufren una regulación al alza por la activación de ERK y el factor nuclear κ B (NF κ B), jugando un rol significativo en el daño coclear inducido por cisplatino (27).

2.2.4. Factores de riesgo.

Los factores de riesgo útiles para predecir el riesgo de ototoxicidad y su reversibilidad permanecen aún sin determinar. Pueden favorecer el riesgo de ototoxicidad la dosis acumulada de cisplatino, el ritmo de infusión, la combinación con otras drogas, la edad del paciente y la preexistencia de hipoacusia neurosensorial (28, 29).

La severidad de la pérdida auditiva parece relacionarse con la dosis acumulada (30). Algunos estudios revelan frecuencias de ototoxicidad inducida por cisplatino entre 20 y 40% después de una dosis total acumulada de 400 mg/m², pero otros investigadores no han observado estos porcentajes. Algunos estudios demuestran que la incidencia de ototoxicidad aumenta en un promedio de 5-7 % por cada 100mg/m² adicionales en la dosis total administrada. Sin embargo, dosis acumulada de 360-480 mg / m² fueron toleradas sin pérdida auditiva en niños tratados por osteosarcoma, mientras que otros desarrollaron ototoxicidad con una dosis acumulada de 120 mg/m² (30,31).

Los grupos etarios menores de 5 años y adultos mayores son más susceptibles a sufrir hipoacusia inducida por cisplatino que los adultos jóvenes. Otros factores incluyen insuficiencia renal, hipoacusia preexistente, exposición a ruido y radioterapia (por ejemplo, en carcinoma nasofaríngeo se requieren dosis de radiación coclear sobre 48 Gy) (30).

Otros estudios sugieren la asociación de factores nutricionales, coloración del iris y pigmentación de la piel con el grado de ototoxicidad por cisplatino (31).

La toxicidad por cisplatino muestra una importante variabilidad interindividual. Esta observación da paso a la hipótesis de que otros factores, como el genético, jueguen un papel importante en la aparición de efectos adversos del cisplatino.

2.2.5. Manifestaciones clínicas.

La clínica predominante es la pérdida auditiva, la cual suele ser bilateral, simétrica y permanente, aunque estudios en niños han demostrado una afectación asimétrica por cisplatino, con una leve pero significativa mayor afectación del oído izquierdo (32).

En la mayoría de los casos, la afectación se limita a frecuencias agudas, aunque también se pueden afectar las frecuencias graves (32).

El estudio audiométrico de frecuencias altas (8000 Hz hasta 20000 Hz) y de la otoemisiones acústicas de productos de distorsión pueden revelar cambios más precoces en la función auditiva que la audiometría convencional (32, 33).

Un estudio realizado en niños y adolescentes tratados con agentes quimioterápicos con cisplatino mostró que los cambios se observan primero en la audiometría extendida a altas frecuencias, luego en las otoemisiones acústicas de productos de distorsión y, por último, en la audiometría convencional (34, 35, 36).

Además, este trabajo observó pérdida auditiva después de un período de 50 meses después de haber finalizado la quimioterapia, lo que hace recomendable la incorporación de un estudio audiológico en el seguimiento de rutina de estos pacientes (37, 38).

En el caso de los adultos, se presenta un deterioro de la función auditiva asociada a la edad avanzada, cuya configuración de hipoacusia neurosensorial en frecuencias altas

simula el patrón observado en la ototoxicidad por cisplatino, complicando cualquier interpretación de datos audiométricos en su seguimiento.

Por ello, es altamente recomendado un estudio audiométrico basal de rutina previo al inicio del tratamiento con cisplatino (39, 40, 41, 42).

2.2.6. El papel de la mitocondria.

Las mitocondrias son organelos celulares implicados en vías metabólicas críticas, incluido el metabolismo de energía en forma de ATP (43).

Contienen su propio sistema genético que codifica un número pequeño de proteínas que forman parte del sistema de fosforilación oxidativa. El resto de las proteínas mitocondriales están codificadas en el núcleo. Así, la biogénesis de la mitocondria requiere la expresión coordinada de los dos sistemas genéticos celulares, el nuclear y el mitocondrial (44).

Aparte de su rol en la producción de ATP celular, estos organelos son efectores de importantes vías apoptóticas. Una inhibición directa de la cadena respiratoria produce una rápida depleción celular de ATP, promoviendo la muerte celular no apoptótica (necrosis). Dado su rol crítico en la supervivencia celular, las mitocondrias son diana de toxinas celulares y agentes quimioterapéuticos (43, 44, 45)

Se ha visto que el cisplatino se acumula en las mitocondrias. Es más, se piensa que estos organelos son un blanco principal de esta droga en las células cancerosas y que alteraciones en la función mitocondrial son responsables de la resistencia tumoral a agentes quimioterápicos (45).

Por otro lado, los efectos colaterales del cisplatino parecen estar asociados con daño mitocondrial in vivo e in vitro (45).

El cisplatino es capaz de alterar de forma directa y significativa la síntesis de ADN mitocondrial y la síntesis y estabilidad del ARN mitocondrial, además de inducir un aumento en los niveles citoplasmáticos y mitocondriales de glutatión (46, 47).

El glutatión juega un rol crítico en mantener los grupos tioles de las proteínas en un estado reducido (capaces de unirse a cisplatino) y en proteger contra el estrés oxidativo a través de la desintoxicación de oxidantes (46, 47).

De manera similar, el glutatión puede desintoxicar muchas toxinas exógenas, incluido el cisplatino, a través de la formación de complejos con glutatión (48).

Los iones de platino que entran en la célula se unen preferentemente al glutatión y a la metalotioneína, ambos presentes en concentraciones milimolar en el citoplasma (48).

La formación de estos complejos limita la cantidad de droga disponible para unirse al ADN. Por lo tanto, una depleción de glutatión mitocondrial deja al ADN desprotegido contra el daño por cisplatino (49).

2.2.7. Papel de la genética en la ototoxicidad.

El primer estudio de asociación farmacogenético fue publicado por Peters (48) hace más de una década y se centraba en los polimorfismos de la familia de genes de la Glutathione S Transferase (GST).

Las diversas funciones de la GST asociadas al cisplatino (detoxificación y neutralización de radicales libres) llevó a los autores a comparar la función reductora de los polimorfismos de la GST en 20 pacientes con ototoxicidad por cisplatino y de 19 pacientes que no presentaron hipoacusia (48). Se demostró que un polimorfismo en el intrón 6 de GSTM3 (rs1799735), el cual es conocido por alterar la regulación, la cantidad y actividad de GSTM3, proporcionó protección contra la ototoxicidad por cisplatino en ese grupo de pacientes (48, 49, 50).

Oldenburg (51), estudió la asociación de polimorfismos de la GSTP1 (c.313A>G, p.Ile105-Val) y deleciones en genes de la GSTT1 y GSTM1, en 173 pacientes tratados por cáncer testicular y con ototoxicidad por cisplatino. En su estudio demostró que la presencia de ambos alelos de GSTP1 confiere protección contra la ototoxicidad por cisplatino (51).

Otro estudio reciente en 69 niños tratados con cisplatino e irradiación craneoespinal, evidencia que los individuos portadores del alelo G son 4 veces más susceptibles de afectación auditiva que los no portadores. La presencia del el alelo G, entonces, podría incrementar el riesgo de pérdida auditiva cuando existe irradiación asociada a la terapia con cisplatino (52).

Otro ejemplo de la relación entre la genética y la ototoxicidad lo constituye el gen LRP2, el cual codifica la megalina, un receptor expresado en el epitelio de absorción, túbulo renal y oído interno. La megalina ha sido asociada con la recaptación de aminoglucósidos, que al igual que el cisplatino, tiene efectos nefrotóxicos y ototóxicos (53).

Asumiendo que el mecanismo de ototoxicidad del cisplatino involucra a la megalina (por analogía con los aminoglucósidos), Riedemann analizó la frecuencia de 2 polimorfismos de la LRP2 en 50 pacientes pediátricos de los cuales la mitad presentó pérdida auditiva. Los autores encontraron una alta frecuencia del alelo de rs2075252 en la cohorte de casos que en los controles. Esta asociación sin embargo no fue encontrada en estudios siguientes (54).

La mutación 1555, SNP en la 12S r RNA, es predisponente para pérdida auditiva por aminoglucósidos. Asumiendo que las mutaciones del DNA mitocondrial también predisponen a pérdida auditiva por cisplatino, Peters et al, genotipó 39 pacientes pediátricos con patología oncológica algunos con ototoxicidad por cisplatino y otros no. En ninguno de los 2 grupos se identificó ninguna mutación relacionada con pérdida auditiva (48).

El sistema NER es uno de los mayores sistemas de reparación del ADN, incluyendo la remoción de aductos del cisplatino. Este complejo sistema incluye la participación de muchas proteínas involucradas en el reconocimiento de lesiones, excisión y resíntesis del ADN.

Los primeros estudios sobre este sistema o vía, demostraron la relación entre los polimorfismos en los genes NER (ERCC1, ERCC2, ERCC4, XPA y XPC) y la respuesta y supervivencia al tratamiento con cisplatino en pacientes afectados de osteosarcoma.

En otro estudio realizado por Caronia et al, también se planteó la posible relación entre dichos polimorfismos y la ototoxicidad por cisplatino en una cohorte de 32 pacientes. Este estudio demostró la relación entre la ototoxicidad por cisplatino y el alelo C del XPC (rs2228001) (55).

2.3. HAPLOGRUPOS DEL ADN MITOCONDRIAL.

2.3.1 ADN mitocondrial.

El ADN mitocondrial (ADNmt) humano es una molécula circular de 16569 pares de bases de longitud. Es un genoma de doble cadena con una cadena pesada H (heavy Strand) rica en guanina y una cadena ligera L (Light Strand) rica en citosina. Codifica 37 genes: 2 ARN ribosómicos (ARNr), 22 ARN de transferencia (ARNt) y 13 polipéptidos integrantes de los complejos multienzimáticos del sistema OXPHOS (sistema de fosforilación oxidativa) (56).

Cada mitocondria puede presentar múltiples copias de ADNmt, de manera que cada célula puede contener miles. Una particularidad de ADNmt es que, a diferencia del nuclear, no sigue la genética mendeliana en tres aspectos importantes:

- Herencia materna: una mutación en las células germinales será transferida al embrión, y todos los hijos de una mujer tendrán una probabilidad similar a la recepción de la mutación, pero sólo las hijas lo transmitirán. No hay evidencia de transmisión paterna.
- Heteroplasmia: dentro de una misma célula, las mutaciones patológicas están presentes en algunas moléculas de ADN pero no en otras.
- Segregación mitótica: la distribución aleatoria de las organelas en la división hace que varíe la proporción de ADN con mutaciones que recibe cada célula hija.

La tasa de mutación en el ADN mitocondrial es de 10 a 17 mayor que la del ADN nuclear. Esta alta tasa de mutación pudiera explicarse por la carencia de proteínas protectoras como las histonas, a la exposición al daño oxidativo por especies reactivas del oxígeno (hipótesis apoyada por la ubicación física de los ADNmt cerca de la membrana interna donde se generan ROS) y al hecho de que los mecanismos de reparación están poco desarrollados en las mitocondrias (56).

A lo largo del genoma humano (y también en otras especies) se han identificado multitud de regiones en las que la secuencia no es igual en todas las personas. La forma en que cambia la secuencia de estas regiones es muy diversa. El análisis de la población ha demostrado que para cada una de estas regiones es posible identificar 2 o más formas alternativas o alelos. Por ello se habla de polimorfismos genéticos (56, 57).

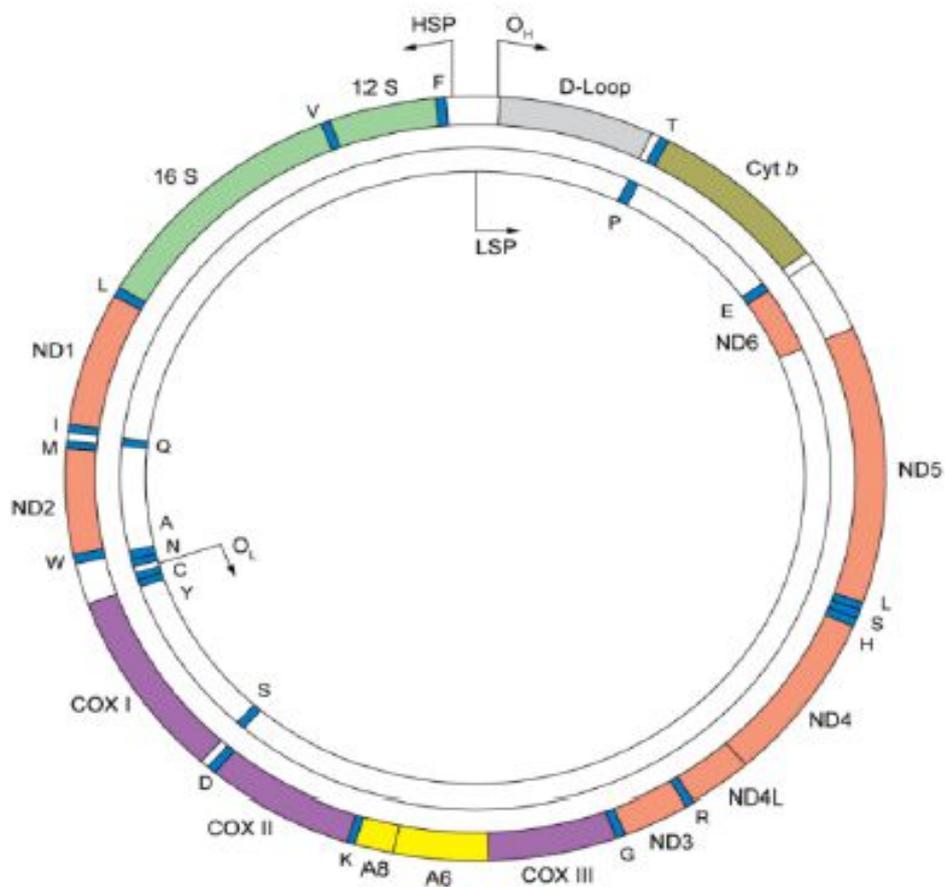


Figura 6. Representación esquemática del genoma mitocondrial humano y sus regiones funcionales.

2.3.2 Polimorfismos.

El polimorfismo genético hace referencia a la existencia en una población de múltiples alelos de un gen. Es decir, un polimorfismo es una variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre los individuos de una población (56, 57, 58).

Aquellos polimorfismos que afectan la secuencia codificante o reguladora y que producen cambios importantes en la estructura de la proteína o en el mecanismo de

regulación de la expresión, pueden traducirse en diferentes fenotipos, por ejemplo, el color de los ojos (57).

Un polimorfismo puede consistir en la sustitución de una simple base nitrogenada (por ejemplo, la sustitución de una A (adenina) por una C (citosina) (polimorfismo de 1 solo nucleótido) o puede ser más complicado, por ejemplo, la repetición de una secuencia determinada de ADN, donde un porcentaje de individuos tenga un determinado número de copias de una determinada secuencia (13,14).

Un polimorfismo de un solo nucleótido (PSN) puede localizarse dentro de una secuencia codificante con lo que pueden modificar o no la cadena de aminoácidos que producen. Los que se encuentran en regiones no codificante pueden tener consecuencias en el proceso de traducción (58).

Estas variaciones genéticas son de gran utilidad para la investigación científica en el desarrollo de fármacos y, debido a que no cambian mucho de una generación a otra es sencillo seguir su evolución en estudios poblacionales (58).

Un método extendido para la detección de PSN es mediante RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). El término RFLP se refiere a secuencias específicas de nucleótidos en el ADN que son reconocidas y cortadas por las enzimas de restricción (también llamadas endonucleasas de restricción) y que varían entre individuos (59).

El ADN del individuo se extrae, se purifica y se amplía usando la técnica molecular de reacción en cadena de la polimerasa o PCR. Luego es tratado con enzimas de restricción específicas para producir fragmentos de ADN de diferentes longitudes. Si un alelo contiene un punto de reconocimiento para un punto determinado mientras que otro no, la digestión de los dos alelos generan fragmentos de diferente longitud.

Los fragmentos de restricción se separan mediante electroforesis en geles. Esto proporciona un patrón de bandas que es único para un ADN en particular. Esta técnica se utiliza como marcador para identificar grupos particulares de personas con riesgo a

contraer ciertas enfermedades genéticas, en ciencia forense, en pruebas de paternidad y en otros campos, ya que puede demostrar la relación genética entre individuos (59).

Los cambios poco frecuentes en la secuencia de bases en el ADN no se llaman polimorfismos, sino más bien mutaciones. Para que verdaderamente pueda considerarse un polimorfismo, la variación debe aparecer al menos en el 1% de la población (56,57).

En algunas ocasiones estas regiones polimórficas se sitúan dentro de la secuencia codificante de un gen y cada uno de los alelos puede determinar una variante del producto del gen. En otros casos, su localización es en la región promotora, alterando la cantidad y calidad de la expresión del gen. Pero también pueden aparecer en zonas del ADN que no forman parte de los genes (el mal llamado “ADN basura”) de tal modo que los distintos alelos no tienen traducción funcional alguna (al menos conocida) (56, 57, 58).

2.3.3 Haplogrupos de ADN mitocondrial.

Los haplogrupos mitocondriales son agrupaciones de haplotipos, es decir, de variaciones encontradas en las regiones más variables del ADNmt que comparten ciertas sustituciones diagnósticas (definidas por enzimas de restricción o secuenciación directa) y que presentan un origen común (56, 57).

Se clasifican en base a marcadores genéticos, específicamente por medio de polimorfismos de un solo nucleótido (PSN) porque es poco probable que se produzca la desaparición de uno que se haya producido en un momento determinado de la evolución.

De este modo, los PSN se irán acumulando a lo largo del tiempo en la población. Un **haplotipo** (del griego *haploos* = simple) es una combinación de alelos ligados a múltiples *loci* que se transmiten juntos, o un conjunto de polimorfismos de nucleótido simple (PSN) en una sola cromátida que se encuentran asociados. Se piensa que estas asociaciones y la identificación de algunos alelos de un haplotipo, permiten identificar el

resto de sitios polimórficos en su región. En el estudio de la evolución molecular, un haplogrupo es un grupo grande de haplotipos (58, 59, 60).

En genética humana, los haplogrupos más comúnmente estudiados son los haplogrupos del cromosoma Y (ADN-Y) y los haplogrupos del ADN mitocondrial (ADNmt), los cuales pueden ser usados para definir poblaciones genéticas. El ADN-Y tiene la ventaja de ser transmitido solamente a través de la línea patrilineal, mientras que el ADNmt es transmitido solamente a través de la línea matrilineal (61).

Las clasificaciones de los haplogrupos humanos de cualquier clase basados en marcadores genéticos, específicamente por medio de PSN, han estado evolucionando rápidamente en los últimos años a medida que nuevos marcadores son hallados (61, 62, 63).

Mediante el análisis de polimorfismos de restricción enzimática (RFLPs) se pueden encontrar estos PSN. Los haplogrupos se definirán en función de la presencia o ausencia de dianas de corte por enzimas de restricción debidas a los polimorfismos por cambio de un solo nucleótido. Según si se utilizan más o menos enzimas para hacer el estudio, se obtendrán análisis de restricción de alta o baja resolución, respectivamente (63).

El análisis con enzimas de restricción permite detectar también la presencia de deserciones o deleciones, pues los segmentos homólogos definidos por sitios de restricción no polimórficos pueden variar en tamaño si en uno de los segmentos ha ocurrido una inserción o una deleción (64, 65, 66).

De igual forma la determinación de PSN es posible mediante la reacción de cadena de la polimerasa (PCR), aunque restringido únicamente a los dos segmentos hipervariables de la región de control del ADNmt, con lo que se gana en resolución pero se pierde en estimación global de la variabilidad que se obtiene con las enzimas de restricción. (67, 68, 69).

Es poco probable que se produzca la desaparición de un PSN que se haya producido en un momento determinado de la evolución. De este modo, los PSN se irán acumulando a lo largo del tiempo en la población. Estudiando los PSN presentes en cada población se pueden hacer grupos, unos descendientes de otros, hasta llegar finalmente a encontrar los ancestros que dieron origen a la población humana: en el caso de los análisis del ADNmt se llega hasta la denominada "Eva mitocondrial" y en el caso de los análisis del cromosoma Y, al "Adán cromosomal-Y" (70).

Los haplogrupos del ADN mitocondrial trazan la ascendencia matrilineal hasta los orígenes de la especie humana en África hace unos 140.000 años y desde allí a su subsiguiente dispersión que culmina con la llegada del hombre moderno a Australia hace unos 60.000 años, a Europa del oeste hace 40.000 años y a América entre 30.000y 12.000 años (56,57).

La nomenclatura actual identifica los grupos principales designándolos con la letra del abecedario en mayúscula. Los tipos pueden dividirse a su vez en subtipos que se designan por su letra correspondiente seguida de un número, por ejemplo: H1. Las subdivisiones al nivel siguiente se realizan alternando letras minúsculas y números, por ejemplo: U5 a 1b. Las líneas que presentan los motivos propios de un haplogrupo, pero no los de los diferentes sub-haplogrupos del mismo, se designan con un asterisco (*) y habitualmente reciben el nombre de paragrupos, en lugar de haplogrupos, por ejemplo: J* (56, 57, 58).

Alrededor del 99% del ADNmt de Europa Occidental puede ser subdividido en 9 haplogrupos, llamados **H, I, J, K, T, U, V, W y X**, (figura 7) y estos pueden ser agrupados dentro de cuatro grupos: HV, UK, JT y WIX. (56, 57, 58).

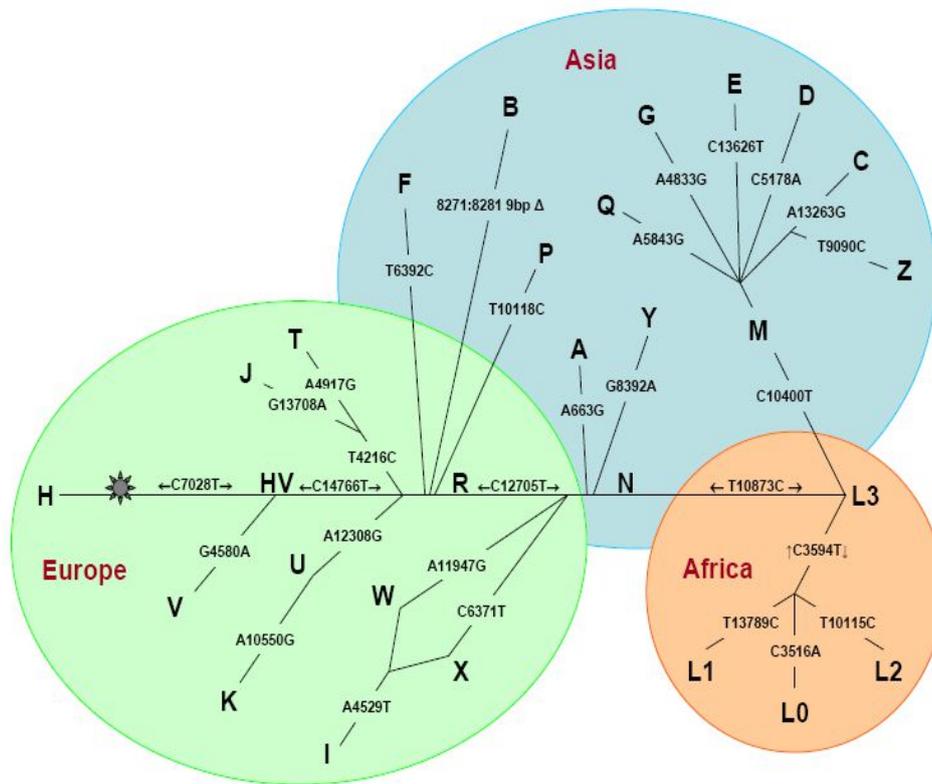


Figura 7. Filogenia simplificada del DNA mitocondrial

El grupo H (Helena), que experimentó una expansión europea hace aproximadamente 20.000 años, es más frecuente en Europa Occidental que en Europa Oriental y los linajes descendientes del haplogrupo HV original aparecen en el oriente próximo como resultado de una migración más reciente. Aparece en la población de Europa Occidental aprox. en 40 % de las personas.

El grupo V (Velda), se originó del HV y se encuentra más frecuentemente entre los sami y los vascos.

El grupo U (Ursula), que incluye los haplogrupos U1-U7, es encontrado en toda Europa. Tuvo una amplia difusión durante el paleolítico inferior europeo, desarrollando variantes como U8a, propia del país Vasco y las variantes U5 y U6 encontradas en el Norte

de África. El Haplogrupo U5 es el más antiguo, situándose su origen en unos 50.00 años atrás en el oriente próximo y contiene relaciones de linaje muy cercanas indicando una reciente expansión de población.

Tabla 1. Distribución de los haplogrupos en Europa y sitios de restricción característicos.

Haplogrupo	Sitio (s) de restricción característico	Prevalencia en Europa
H	-T14766* Msel, Tru91 -t7028c AluI	40-45%
V	-T14766C* Msel, Tru9I G4580A NlaIII	4 %
HV*	-T14766* Msel, Tru91	8(1.1)
J	+T4216C* AfIII -G13708A* MvaI	9-10%
T	+T4216C* AfIII +A4917G*MaeI	8 %
U	+A12308G Hinf I	10 %
K	A1055G	10%
I	-A4529T Hae II	2 %
W	-G8994A Hae III	2 %
X	+T14470A AccI	1.5-2 %
0	19(2.8)	31(4.3)

El grupo K (Katrina) se originó hace 16.000 años, y se ha sugerido que los individuos con este haplogrupo tomaron parte en la expansión poblacional pre-neolítica que siguió al último período glacial. En Europa Occidental constituye aproximadamente el 25% de la población.

El grupo J (Jasmine) se originó en oriente medio aproximadamente hace 50.000 años. En Europa, sublinajes de este haplogrupo tienen una distribución diferente e interesante, apareciendo hasta en un 9 % de Europa Occidental. El haplogrupo J es considerado uno de los linajes que tomaron parte en la expansión de la agricultura en Europa y Oriente medio aproximadamente hace 10.000 años.

El grupo T (Tara) se cree que tuvo vida hace aproximadamente 17.000 años en el norte de Italia y sus descendientes se expandieron por toda Europa. Supone aproximadamente el 8 % de la población del Oeste Europeo.

El grupo W aparece en Europa y al este y sur de Asia. En todos los sitios en donde se encuentra constituye un grupo minoritario con una alta concentración en el norte de Pakistán.

El grupo I, es detectado con muy baja frecuencia en Europa y Asia con una fuerte representación en el norte y oeste de Europa.

El haplogrupo X también es encontrado en una baja proporción en Europa y Asia, y se cree que migró hace unos 15.000 años a América. Estos tres haplogrupos (W,I,X) suponen menos del 4 % de la población Europea (56,57,58).

La figura 8, muestra el mapa de las migraciones humanas según la determinación del ADNmt.

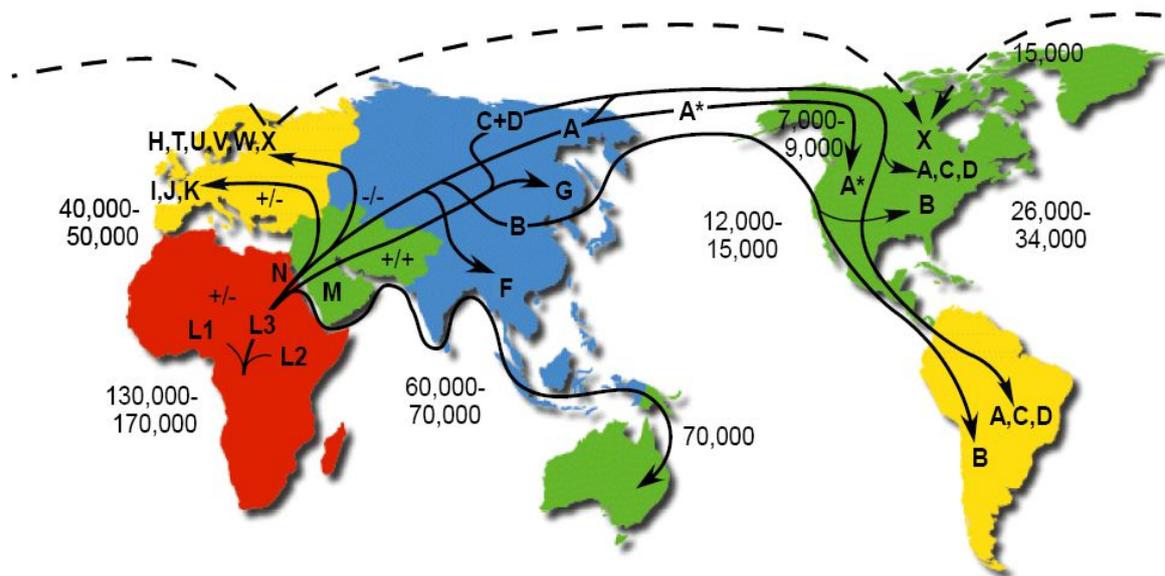


Figura 8. Mapa de las migraciones humanas según ADN mitocondrial.

2.3.4. Haplogrupos y enfermedad.

Aunque los polimorfismos que definen los diferentes haplogrupos no corresponden a mutaciones patológicas, confieren unas características metabólicas particulares para cada uno de ellos pudiendo estas diferencias incrementar o disminuir la posibilidad de desarrollar una dolencia (57).

Por ejemplo, en el haplogrupo J los PSN característicos provocan un desacoplamiento de la cadena de transporte de electrones de manera que se genera menos ATP a cambio de producir más energía en forma de calor. Esto conlleva a su vez una menor producción de ROS lo que acarrea un efecto protector de enfermedades asociadas con un elevado estrés oxidativo. En diferentes estudios llevados a cabo en población europea, se ha constatado que los portadores del haplogrupo J presentan una longevidad

mayor al resto de la población (58) y un menor riesgo de padecer Parkinson (59). Estas diferencias metabólicas y celulares que se asocian con los diferentes haplogrupos hacen que exista una mayor o menor predisposición a padecer ciertas enfermedades en función del haplogrupo que se posea. En el caso de la enfermedad de Parkinson son los grupos UK y JT los que presentan carácter protector frente a la enfermedad. Mientras que el grupo HV y el grupo H parecen otorgar una mayor predisposición a algunas enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y el Alzheimer debido a su mayor efectividad en la generación de ATP y consecuentemente una mayor producción de ROS (59).

Las características metabólicas de los diferentes haplogrupos hacen que el haplogrupo H también se relacione con unos mayores niveles de supervivencia en pacientes que han sufrido una sepsis comparado con los portadores de los haplogrupos no-H, principalmente los haplogrupos J y T. En este caso la posible explicación de esta diferencia se atribuye a las diferencias en el metabolismo energético de los portadores del haplogrupo H. La explicación de la mayor supervivencia de los pacientes H puede venir dada por el hecho de una mayor producción de ROS asociada a este haplogrupo, debido a su mayor eficiencia en la producción de energía a través de la cadena de transporte de electrones, podría reducir las infecciones bacterianas actuando los ROS como bactericida (62).

También se ha encontrado relación entre los haplogrupos y la probabilidad de padecer diferentes tipos de cáncer (mama, colorectal y tiroideo). Sin embargo estas asociaciones no fueron encontradas en otros estudios sobre otros tipos de cáncer como el de páncreas, el cáncer epitelial invasivo de ovario o el cáncer de próstata (65).

2.3.5. Haplogrupos y ototoxicidad.

Ciertas mutaciones en el ADN mitocondrial, pueden causar enfermedades o fenotipos clínicos por si solos, otras pueden causar enfermedad solas o en presencia de un factor adicional (70).

Un ejemplo de una mutación que necesita un factor adicional es la A1555G. Las mutaciones secundarias en el ADN mitocondrial pueden aumentar la penetración de una mutación causante de una enfermedad, por ejemplo, la penetrancia de la mutación A7445G en el tARN^{ser}, que causa sordera, se incrementa en presencia de tres sustituciones adicionales (71). Del mismo modo, se han encontrado mutaciones que aumentan la penetración de la neuropatía óptica hereditaria de Leber (72).

La predisposición genética a sufrir pérdida auditiva inducida por cisplatino puede estar relacionada con mutaciones mitocondriales o polimorfismos en enzimas importantes en la depuración de oxidantes (72).

Así, se ha observado que ciertos pacientes con ototoxicidad por cisplatino pertenecen al poco frecuente haplogrupo mitocondrial Europeo J, que se ha asociado a la atrofia óptica hereditaria de Leber (72).

También, pacientes con cáncer testicular tratados con quimioterapia con cisplatino han mostrado diferencias en los efectos de este fármaco en relación a diferentes polimorfismos funcionales para la glutatión-S-transferasa (GST) (73, 74). Estas transferasas inactivan productos finales endógenos formados como metabolitos secundarios durante el estrés oxidativo.

Dado que muchos genes de la GST son polimórficos, ha habido considerable interés en determinar si variantes alélicas particulares se asocian a un mayor riesgo de una variedad de enfermedades (75).

De estas clases de GST, cinco (GSTM1, GSTM3, GSTT1, GSTP1 y GSTZ1) han mostrado una distribución polimórfica.

Cinco genes de clase-mu (GSTM1-GSTM5) se sitúan en el cromosoma 1. Los polimorfismos que se han identificado en GSTM1 son GSTM1*0, GSTM1*A y GSTM1*B.

- GSTM1*0 está ausente y los homocigotos (genotipo nulo GSTM1) no expresan proteína.

- GSTM1*A y GSTM1*B difieren en una sola base, y la efectividad catalítica de las enzimas codificadas por estos alelos es similar.

Hay dos clases de genes theta, GSTT1 y GSTT2, localizados en el cromosoma 22. GSTT1 está representado por dos alelos: un alelo funcional o salvaje (GSTT1*1), y uno no funcional o alelo nulo (GSTT1*0). Estudios han demostrado que el alelo GSTT1*0 corresponde a una delección total o parcial del gen, ocasionando un déficit en la actividad enzimática (76).

Los polimorfismos de delección en GSTM1 y GSTT1 que conllevan la ausencia de GSTM1 y de GSTT1 ocurren en el 50% y el 20% de la población blanca, respectivamente. El polimorfismo de nucleótido simple en el par de bases 313 en GSTP1, entre adenosina y guanina, lleva a la expresión de isoleucina (Ile) o valina (Val) en el codón 105, y con ello a una alteración de la actividad catalítica de la enzima (74,75).

La mayoría de los polimorfismos genéticos no causan cambios reconocibles en el organismo en el que ocurren. Sin embargo, se observó, en un estudio con pacientes con cáncer testicular tratados con cisplatino, que la presencia del alelo ¹⁰⁵Val-GSTP1 parece conferir protección contra la pérdida auditiva por cisplatino. El riesgo de obtener un pobre resultado auditivo era más de cuatro veces mayor en pacientes con ¹⁰⁵Ile/¹⁰⁵Ile-GSTP1 o ¹⁰⁵Val/¹⁰⁵Ile-GSTP1. Dichos genotipos podrían indicar una limitada cantidad de glutatión disponible para la desintoxicación del cisplatino (76).

También se ha observado, a través de estudios de polimorfismos de nucleótido simple, que la presencia del alelo-A de rs2075252 de la megalina, receptor perteneciente a la familia de receptores de lipoproteínas de baja densidad, expresada en las células del túbulo proximal del riñón y en las células marginales del oído interno, es mayor en pacientes tratados con cisplatino y que presentaron alteraciones auditivas (76).

2.3.6. Utilidad del análisis del haplotipo.

Actualmente el haplotipo comienza a ser la nueva unidad funcional de la genómica. Se sabe que más de 10.000 nucleótidos se heredan en bloque, y debido a la cantidad de PSN que hay en el genoma humano, deben de haber muchos en cada bloque. Los PSN que están presentes en un haplotipo pueden encontrarse en la secuencia de un gen o en la de múltiples genes. Algunos estudios sugieren que entre 65-85 % del genoma humano puede estar contenido en los bloques de haplotipos (77,78).

En Octubre del año 2002 comenzó un nuevo proyecto similar al Proyecto Genoma Humano, al cual se le denominó Proyecto Internacional HapMap en el que participan 9 grupos de investigación de 5 continentes. Su objetivo fundamental era la determinación del haplotipo a partir de los patrones genéticos que se identificaran en muestras de sangre de 200-400 personas de diferente origen étnico.

La principal implicación que ha tenido el tema de los haplotipos es la reducción de número potencial de diferentes genotipos (79). Además existe ahora la posibilidad de identificar los rasgos heredables que comprenden múltiples variantes de PSN, detectando sólo uno. Esto reduce el trabajo necesario para descubrir las relaciones entre una enfermedad y uno o más polimorfismos (80, 81, 82).

Este trabajo se hace típicamente mediante estudios de ligamientos, donde se analizan el genotipo de los pacientes con una enfermedad (agrupados en familia o en población no relacionada entre sí) y un grupo adecuado de control, y con los datos obtenidos se buscan correlaciones entre el genotipo y el diagnóstico (83, 84, 85).

Cuando no se conoce el gen asociado, esta aproximación requiere de un volumen grande en estudios del genotipo. Sin embargo, si un PSN está siempre presente en el contexto de un haplotipo específico, se puede inferir la secuencia completa de ADN con menor trabajo (86).

Existen cada vez más evidencias de que los haplotipos son más relevantes clínicamente que los simples genotipos de SNP, debido a que el haplotipo puede reflejar la presencia de algunas mutaciones adicionales no identificadas que pueden estar relacionadas con la enfermedad (87, 88, 89). También los haplotipos pueden reflejar dos o más sitios de mutaciones que pueden actuar juntos para causar una enfermedad, aunque son menos dañinos cuando están presentes en cromosomas separados (90, 91).

2.3.7. Distribución de los Haplogrupos en España.

Se han observado pequeñas diferencias entre la distribución de los haplogrupos Españoles y Europeos de acuerdo con estudios de Dahmany et al. (92), como se puede observar en la tabla 2. La frecuencia en España de la rama del haplogrupo H (H, HV, V) es mayor que la Europea (42% Europea vs 55 % Española).

Tabla 2. Distribución de los haplogrupos en España y Europa.

Origen de la muestra	Centro y norte de España	Toda España	Toda Europa
Número de individuos	686	718	2648
H	323 (47.1)	373 (51.9)	1134 (42.8)
V	34 (5.0)	45 (6.3)	111(4.2)
HV	31 (4.5)	8(1.1)	
J	61(8.9)	53(7.4)	260(9.8)
T	47(6.9)	40(5.6)	211(7.9)
U	155(22.6)	137(19.1)	579(21.9)
I	4(0.6)	4(0.6)	59(2.2)
W	4(0.6)	14(1.9)	54(2.0)
X	8(1.2)	13(1.8)	40(1.5)
0	19(2.8)	31(4.3)	200(7.6)

3 HIPÓTESIS

La ototoxicidad del cisplatino está vinculada al tipo de haplogrupo del ADN mitocondrial de los pacientes que reciben este fármaco como tratamiento de su enfermedad oncológica.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Principal.

- Determinar si el tipo de haplogrupo del ADN mitocondrial está relacionado con la pérdida auditiva en pacientes oncológicos sometidos a tratamiento con cisplatino.

4.2 Objetivos Secundarios.

- Determinar la pérdida auditiva de los pacientes incluidos en el estudio tras ser sometidos a tratamiento con cisplatino.
- Determinar el haplogrupo del ADN mitocondrial de los pacientes incluidos en el estudio.
- Analizar la posible asociación entre la pérdida auditiva de los sujetos de la muestra con variables como la edad y el sexo.
- Identificar los antecedentes médicos, los hábitos tóxicos u otros factores relacionados con pérdida auditiva y determinar si existe asociación entre estas variables y la pérdida auditiva de los sujetos de la muestra tras la administración de cisplatino.
- Determinar si el tipo de haplogrupo del ADN mitocondrial predispone a la pérdida auditiva por cisplatino en presencia de alguna de las variables estudiadas.

5 MATERIAL Y MÉTODO

5.1 POBLACIÓN DE REFERENCIA Y ESTUDIO.

La población de referencia y de estudio fueron los varones y mujeres residentes en Barcelona con edad superior a 18 años de origen Español y de raza caucásica.

Se incluyeron en el estudio a los pacientes visitados y tratados durante el período de tiempo comprendido entre Enero del 2009 y Enero del 2015, que por su enfermedad oncológica requerían iniciar tratamiento quimioterápico con cisplatino en el servicio de oncología del Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona, excluyendo todos aquellos que requerían quimioterapia combinada, que ya hubiesen iniciado el tratamiento o que requirieran algún tratamiento antineoplásico concomitante.

5.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

- Varones y mujeres mayores de 18 años.
- Origen español y raza caucásica.
- Diagnóstico de enfermedad oncológica y que necesiten tratamiento con cisplatino.
- Aceptación de participar en el estudio y firma de consentimiento informado.

5.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

- Pacientes que hayan iniciado tratamiento con cisplatino.
- Pacientes que requieran quimioterapia combinada con otros fármacos.
- Pacientes que no terminaron el tratamiento por complicaciones o fallecimiento.
- Pacientes con enfermedad otológica concomitante.

5.4 MUESTRA.

Se incluyeron en el estudio un total 87 pacientes. Por su enfermedad oncológica requerían iniciar tratamiento quimioterápico con cisplatino en el servicio de oncología del Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona.

Se excluyeron del estudio 15 pacientes, de los cuales 5 no pudieron continuar con el tratamiento por complicaciones derivadas de su enfermedad, 3 que manifestaron no querer seguir en el estudio por su estado de salud y finalmente 7 pacientes que fallecieron antes de culminar el estudio.

En total la muestra se constituyó de 72 pacientes.

5.5 DISEÑO DEL ESTUDIO.

Se trata de un estudio descriptivo y observacional de cohortes.

5.6. VARIABLES ESTUDIADAS.

5.6.1 Datos epidemiológicos.

a.- Edad.

b.- Sexo.

c.- Antecedentes médicos, especialmente factores de riesgo cardiovascular como: hipertensión arterial, diabetes mellitus, cardiopatía y dislipemia.

d.- Pérdida auditiva previa.

e.- Tratamientos farmacológicos crónicos.

f.- Otros antecedentes médicos o quirúrgicos.

c.- Hábitos tóxicos: tabaco, alcohol, café, té y otras drogas.

d.- Otros antecedentes relacionados con pérdida auditiva como por ejemplo: exposición a ruido.

5.6.2 Pérdida auditiva de la muestra.

5.6.3 Haplogrupos de ADN mitocondrial.

5.7 RECOGIDA DE DATOS Y FUENTE DE INFORMACIÓN.

Los datos epidemiológicos fueron recogidos mediante la historia clínica en una hoja destinada para ello (anexo 1).

Los datos auditivos se obtuvieron mediante la realización de una audiometría tonal y su correspondiente gráfica. La audiometría tonal fue realizada con un audiómetro de la casa MAICO (MA 51) para pruebas tonales y verbales, con certificado CE 0124 y calibración anual según normativa.

Los datos del estudio genético se obtuvieron por la extracción del ADN mitocondrial por nuestra parte y la tipificación en el Institut de Recerca del Hospital Vall d'Hebrón y el departamento de la Unidad de Antropología Biológica de la Universidad Autónoma de Barcelona.

La recogida de información previa, durante y al término del trabajo se realizó por búsqueda bibliográfica en PubMed y en la Biblioteca Cochrane Plus.

5.7.1 Estudio auditivo.

Se realizó una audiometría tonal liminar (ATL) previo al inicio del tratamiento quimioterápico y a la semana posterior a la tercera dosis de quimioterapia. Las audiometrías se realizaron con audiómetro de frecuencias (125-8000 Hz) MAICO, modelo MA51.

5.7.2 Cálculo de la pérdida auditiva global en ATL

Para el cálculo de la pérdida auditiva se tomaron en cuenta las frecuencias 125-8000 Hz (125, 250, 500, 1000, 2000, 4000, 8000 Hz). Se obtenía el valor promedio en decibelios de estas frecuencias tomadas por vía aérea de la visita previa y posterior al tratamiento. Posteriormente se restaban ambos promedios. Se tomó la vía aérea como referencia para el cálculo de la pérdida siempre y cuando no existiera un GAP mayor a 5 dB entre la vía aérea y la vía ósea. Se consideró pérdida auditiva a partir de una disminución en el promedio superior a 10 dB.

5.7.3 Extracción del ADN mitocondrial.

Extrajimos el ADN mitocondrial de todas las muestras citológicas (recogida celular por cepillado de la mucosa yugal del paciente), bajo la dirección y supervisión del grupo de investigación en patología mitocondrial y neuromuscular del Institut de Recerca del Hospital Vall d'Hebrón para los primeros 32 pacientes y de la Unidad de Antropología Biológica de la Universidad Autónoma de Barcelona para los siguientes 40 pacientes. En ambos casos se siguió el mismo protocolo:

- Se coloca la muestra citológica en un tubo de microcentrifugación de 2 ml y se añade 400 µl de PBS a la muestra.

- Se añade a la muestra 20 µl de solución de proteasa QIAGEN y 400 µl de Buffer AL.
- Se incuba a 56°C durante 10 minutos.
- Se añade a la muestra 400 µl de etanol (96-100%) y se mezcla.
- Se coloca la mezcla en un tubo de 2 ml y se centrifuga a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 minuto.
- Se añade 500 µl de Buffer AW1 y se centrifuga a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 minuto.
- Se añade 500 µl de Buffer AW2 y se centrifuga a velocidad máxima (20,000 x g; 14,000 rpm) durante 3 minutos.
- Se añade 150 µl de Buffer AE o agua destilada, se incuba a temperatura ambiente durante 1 minuto y luego se centrifuga a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 minuto.

Determinación del haplogrupo HV

PCR: amplificación de la región 6469-7315 del mtADN.

Primer Forward: 5' CTCTTCGTCTGATCCGTCCT 3'.

Primer Reverse: 5' AGCGAAGGCTTCTCAAATCA 3'.

Todas las PCR del haplotipaje se realizarán en estas condiciones: el producto de PCR se digerirá con el enzima AluI (New England Biolabs), cuya diana es la posición

7028. Si no corta, es haplogrupo H; si corta, no es haplogrupo H. El producto de la digestión se corre en un gel de agarosa al 2% y se visualiza con bromuro de etilio.

Determinación del haplogrupo JT

PCR: amplificación de la región 13338-14268 del mtADN.

Primer Forward: 5' ACATCTGTACCCACGCCTTC 3'.

Primer Reverse: 5'AGAGGGGTCAGGGTTCATTC 3'.

El producto de PCR se digiere con el enzima BstNi (New England Biolabs) para analizar la diana 13708 del mtADN. Si no corta, es haplogrupo J; si corta, no es haplogrupo J.

Determinación de los haplogrupo UK

PCR: amplificación de la región 11948-12772 del mtADN.

Primer Forward: 5' TATCACTCTCCTACTTACAG 3'.

Primer Reverse: 5'AGAAGGTTATAATTCCTACG 3'.

El producto de PCR se digiere con el enzima Hinf (New England Biolabs) para analizar la diana 12308 del ADNmt. Si corta, es haplogrupo U-K; si no corta, no es haplogrupo U-K.

Con la determinación de los haplogrupos HV, JT y U-K se abarca aproximadamente un 75-80% de los haplogrupos de la población española. El procedimiento fue similar para el resto de haplogrupos.

5.7.4 Tratamiento quimioterápico.

A todos los pacientes del estudio se le administró la misma dosis de cisplatino, 100 mg/m², según el protocolo del servicio de Oncología Médica del Hospital Vall d'Hebrón, en intervalos de 3 semanas entre dosis (día 1-21-42) hasta cumplir 3 dosis.

5.7.5 Análisis de datos y tratamiento estadístico de las variables.

Los datos epidemiológicos fueron tratados estadísticamente como variables cualitativas (presencia, ausencia). Los datos cuantitativos de pérdida auditiva fueron tratados como cualitativos (pérdida auditiva o no pérdida).

Se efectuó un análisis descriptivo calculando frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas y medias desviaciones típicas, medianas e intervalos intercuartílicos para las variables cuantitativas en función de la pérdida auditiva. Se dibujaron diagramas de barras acumuladas para las variables cualitativas y diagramas de cajas para las variables cuantitativas.

Para comparar la asociación entre las variables cualitativas y las pérdidas se calculó una prueba de Chi cuadrado o prueba exacta de Fisher según proceda. Para las variables cuantitativas se utilizó la prueba de t o la U de Mann Whitney según la normalidad de las variables. Los análisis se efectuaron con el programa Stata 13.1.

No se realizó análisis multivariante debido a la falta de significación entre las variables que se estudiaron.

Todos los análisis se llevaron a cabo bajo la supervisión de la unidad de soporte y análisis estadístico para la investigación del Instituto de Recerca del Hospital Vall d'Hebrón.

5.8 LIMITACIONES DEL ESTUDIO.

Una de las limitaciones más importantes en este estudio fue el número reducido de pacientes. Algunos de los posibles candidatos necesitaban tratamientos concomitantes como por ejemplo quimioterapia combinada con otros fármacos y/o radioterapia. Otra causa fue la imposibilidad para culminar el estudio por complicaciones derivadas de su enfermedad o del mismo tratamiento. Algunos pacientes no aceptaron entrar en el estudio, lo que significa que no sabemos si los que no lo hicieron tendrían resultados distintos.

Otra limitación la constituye el seguimiento a corto plazo. Se sabe que la ototoxicidad por cisplatino se puede manifestar hasta 4 años después de la finalización del tratamiento. Sin embargo el tiempo de seguimiento está justificado por la pauta de tratamiento con cisplatino y por la incertidumbre en la supervivencia de los pacientes. Sería interesante hacer un seguimiento más a largo plazo para determinar si la ototoxicidad se manifiesta meses o años después del tratamiento.

La determinación del origen racial, sobretodo en una población como la de Barcelona, es complicada. A pesar de que fenotípicamente y por interrogatorio se intente determinar el origen racial de los individuos, es imposible tener certeza del mismo. El estudio se realiza en una población que desde hace muchos años ha sido receptora de inmigrantes de todas partes del mundo. Incluso muchos individuos desconocen sus orígenes o la de sus ancestros. El problema radica en la comparación de los resultados de haplotipaje con otros estudios hechos en España y Europa.

No se incluyeron en el estudio pacientes pediátricos. Los estudios que incluyen sólo población infantil, tienen la ventaja de no tener que analizar factores inherentes a la edad

adulta como por ejemplo: hábitos tóxicos, edad, pérdida auditiva previa o factores de riesgo cardiovascular, que en teoría, podrían influir en el desarrollo de ototoxicidad.

Finalmente la poca disponibilidad de recursos, impidió que se investigara sobre otras características genéticas de los individuos como por ejemplo, la presencia de mutaciones del ADNmt asociadas a hipoacusia.

5.9 ASPECTOS ÉTICOS.

Tanto la hipótesis, objetivos principal y secundarios, revisiones sobre el tema científico propuesto, así como el material y método del proyecto de investigación, sus limitaciones y aplicabilidad clínica, fueron previamente valorados y aprobados por el comité ético de investigación clínica del Hospital Universitario Vall d'Hebrón de Barcelona.

El estudio se llevó a cabo de acuerdo con las indicaciones y los requerimientos expresados en las normas internacionales relativas a la realización de estudios de la Declaración de Helsinki.

Se explicaba a cada paciente la naturaleza del estudio y se le solicitaba la firma del consentimiento informado (anexo 1).

La información de cada paciente fue recogida en una hoja de datos (anexo 2) la cual contenía información clínica y datos audiométricos.

Los datos de cada paciente se trataron conforme a la disposición de la Ley orgánica de protección de datos exclusivamente para el desarrollo del estudio.

6 RESULTADOS

6.1 CARACTERÍSTICA DE LA MUESTRA.

6.1.1 Edad.

El rango de edad de la muestra fue de 27 a 82 años con un promedio de edad de 63,3 años. El 63,8 % de los pacientes se ubicaron en la franja de edad comprendida entre los 60 y 82 años.

6.1.2 Sexo.

Del total de los 72 pacientes el 68 % (49 pacientes) eran hombres y el 32 % (23 pacientes) eran mujeres.

6.1.3 Antecedentes médicos.

La hipertensión arterial (HTA) fue el antecedente patológico más frecuente, presentándose en el 29 % de los pacientes, seguida de dislipemia (DLP) con 26 %, la diabetes mellitus (DM) con 18 %, cardiopatía 5,6 %, enfermedad hepato-biliar 2,8 %, enfermedad pulmonar 4 % y anemia 1,4 %. El 32 % de la muestra presentaba algún grado de hipoacusia previa.

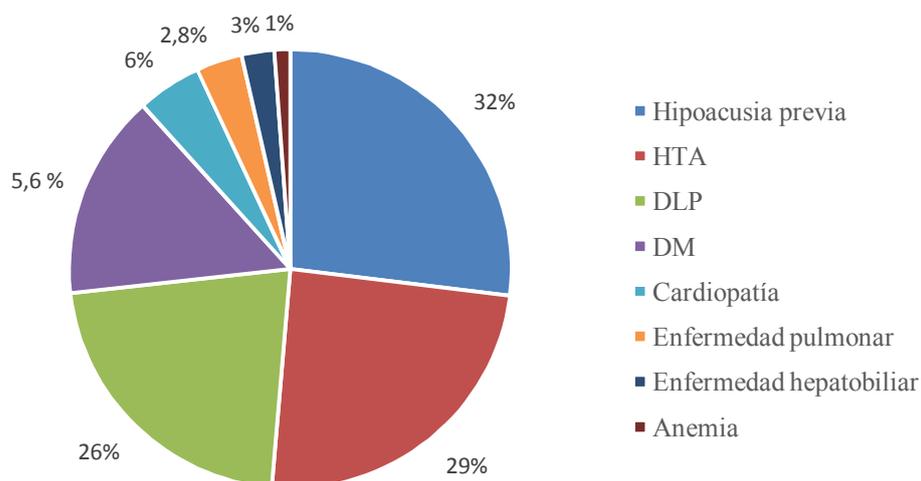


Figura 9. Antecedentes médicos presentes en la muestra.

En referencia a los tratamientos farmacológicos crónicos, 32 pacientes (44,4%) manifestaron estar tomando por lo menos un medicamento de forma crónica. El medicamento más frecuentemente consumido fue el IECA (16 pacientes), seguido por los ADO (10 pacientes), Simvastatina (8 pacientes), Diuréticos (5 pacientes), Calcio (2 pacientes), Omeprazol, Digoxina y Sintrom con 1 pacientes respectivamente.

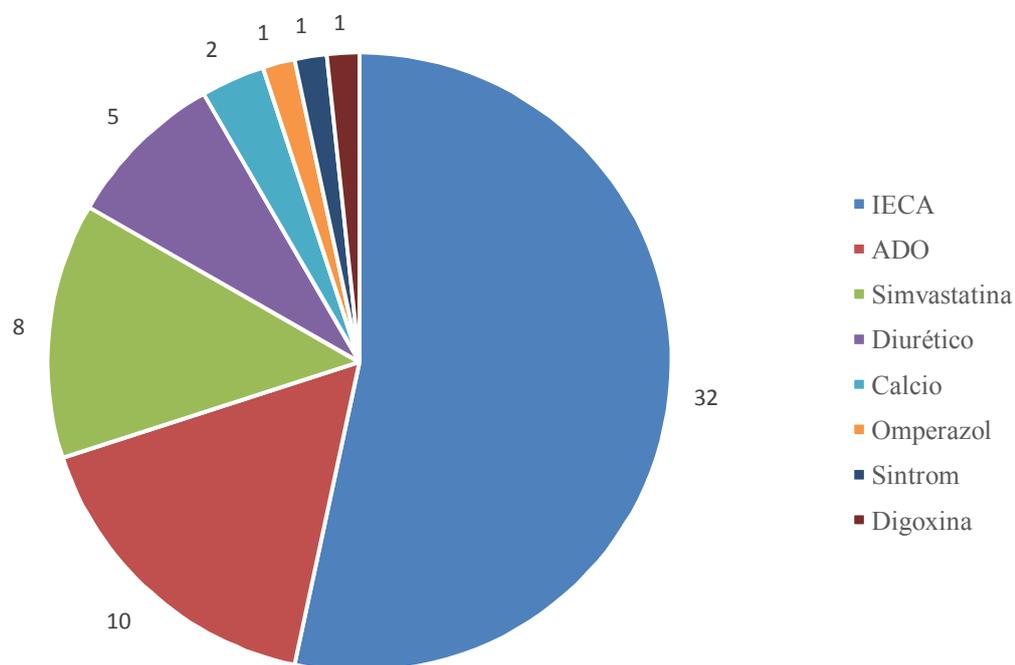


Figura 10. Tratamiento farmacológico crónico.

6.1.4 Localización de la neoplasia.

La localización más frecuente fue la cavidad oral, faringe y laringe con 45 casos, seguida de vejiga con 12 casos, testículo con 8 casos, cavum con 5 casos y útero y cuello uterino con 2 casos.

6.1.5 Hábitos tóxicos.

El hábito tabáquico fue el más frecuente, presentándose en el 65 % de la muestra, seguido por el consumo de café en el 61 %, consumo de alcohol 23 %, y de té 6 %. Ningún paciente manifestó el consumo de otro tipo de sustancias o drogas.

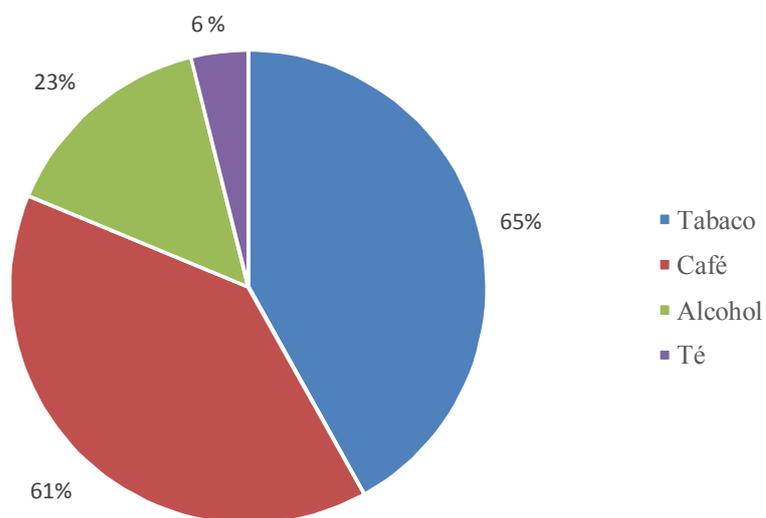


Figura 11. Hábitos tóxicos.

6.1.6 Otros antecedentes relacionados con pérdida auditiva.

Sólo 23 pacientes (32 %) refirieron exposición a ruido.

6.1.7 Pérdida auditiva.

En total 29 pacientes (40 %), presentaron pérdida auditiva significativa, de los cuales 22 eran hombres y 7 mujeres. El promedio de pérdida auditiva fue de 14,5 dB.

La pérdida auditiva fue predominantemente en frecuencias agudas. Al valorar solamente las frecuencias 4000 y 8000 Hz sin tomar en cuenta el resto, obtenemos que la pérdida auditiva aumenta al 54 % de los pacientes y el promedio de pérdida aumenta al 24,6 %.

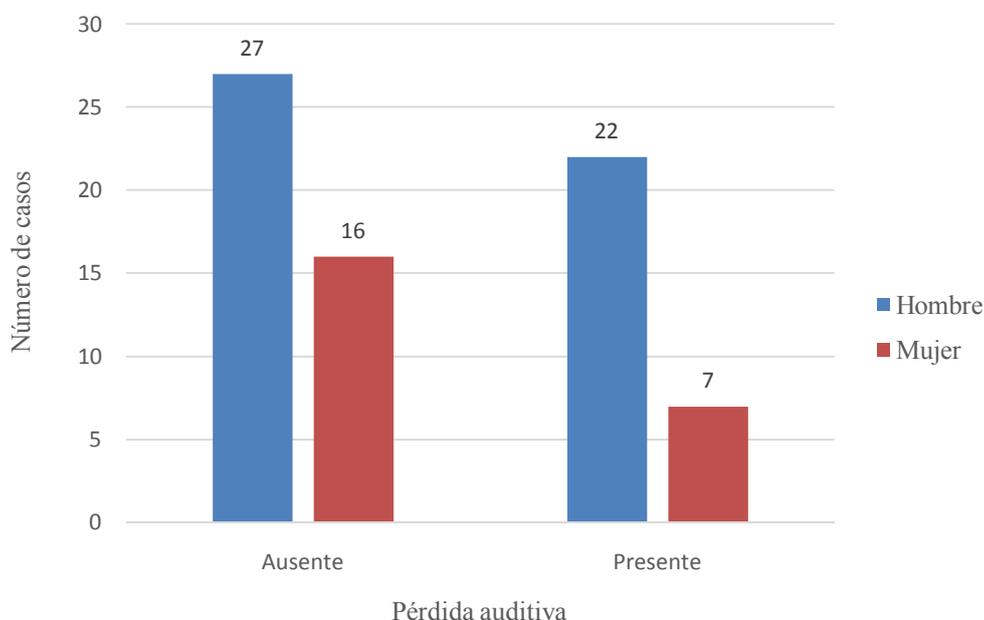


Figura 12. Pérdida auditiva de la muestra.

6.1.8 Haplogrupos de ADN mitocondrial.

El haplogrupo H fue el más frecuente, presentándose en 35 pacientes (48%), seguido por el grupo K con 11 pacientes (15%), el grupo V con 9 pacientes (12 %), el grupo U con 6 pacientes (8,3%), el grupo W, X, I, con 4 pacientes (5,5 %), el grupo J con 3 pacientes (4,1 %), el grupo JT con 2 pacientes (2,7 %) y finalmente los grupos T y A con 1 paciente cada uno.

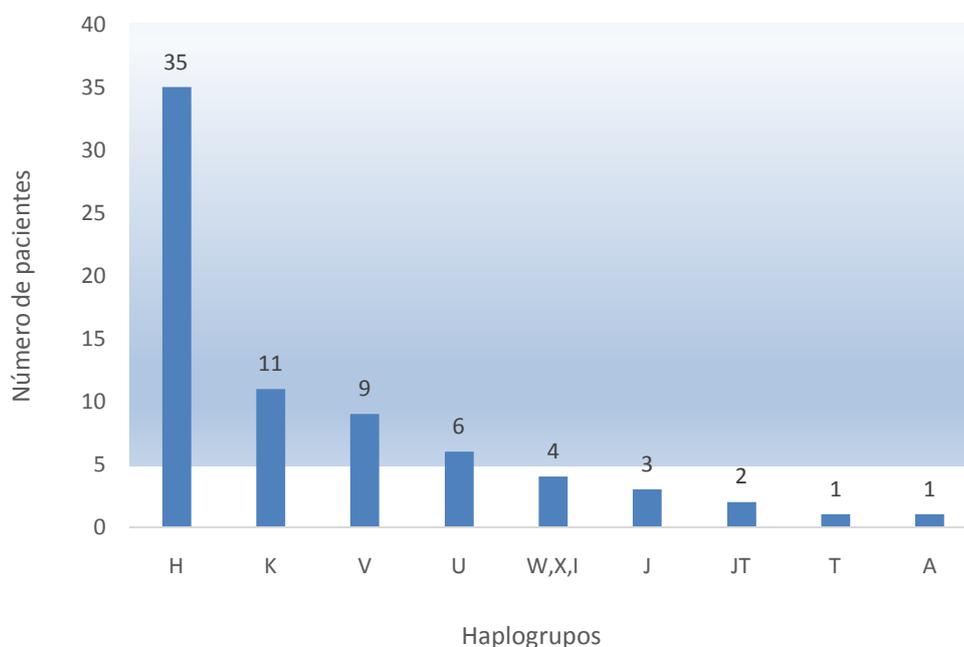


Figura 13. Distribución de haplogrupos de la muestra.

6.2 PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS SEXO Y EDAD.

Cuando comparamos el sexo con la pérdida auditiva, como apreciamos en la tabla 3 y la figura 14, no encontramos diferencias significativas entre ambos sexos.

Tabla 3. Pérdida auditiva versus sexo.

Sexo	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
Mujer	16 (69.57%)	7 (30.43%)	23(31.94%)	0.307
Hombre	27 (55.1%)	22 (44.9%)	49 (68.06%)	
Total	43(59.72%)	29(40.28%)	72 (100%)	

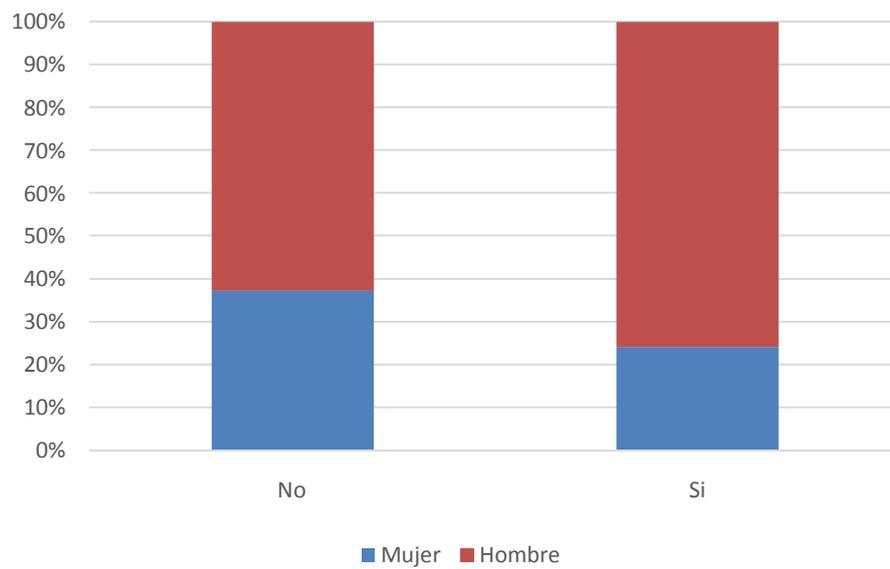


Figura 14. Pérdida auditiva versus sexo.

Al comparar la edad con la pérdida auditiva, se observan diferencias significativas entre la edad y la pérdida. Los pacientes con pérdida auditiva tienen más edad que los pacientes sin pérdida.

Tabla 4. Pérdida auditiva versus edad.

	Pérdida auditiva		p-valor Mann-Whitney
	No	Si	
Edad	43 60.65 (13.58) [27.00 ; 80.00] 63.00 [55.00 ; 71.00]	29 67.38 (10.61) [34.00 ; 83.00] 67.00 [61.00 ; 74.00]	0.024

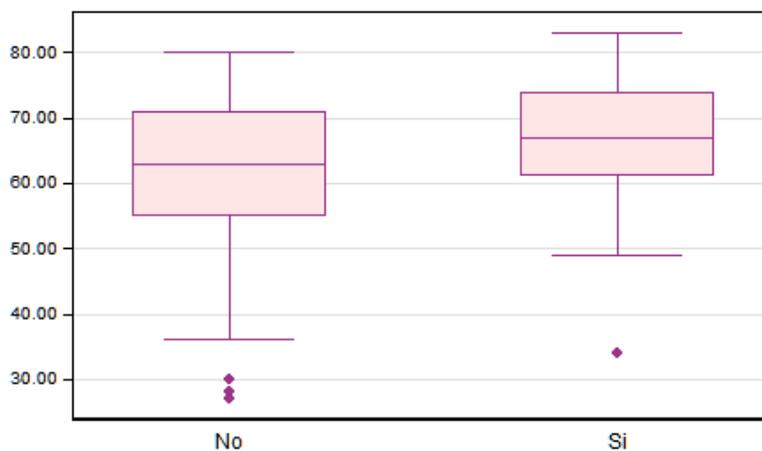


Figura 15. Pérdida auditiva versus edad.

6.3 PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS ANTECEDENTES MÉDICOS.

La tabla 5 muestra la distribución de la HTA en ambos grupos (pérdida auditiva y no pérdida auditiva). No se encontró relación significativa entre la HTA y la pérdida auditiva.

Tabla 5. Pérdida auditiva versus hipertensión arterial.

HTA	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
No	31 (60.78%)	20 (39.22%)	51(70.83%)	0.797
Si	12 (57.14%)	9 (42.86%)	21(29.17%)	
Total	43 (59.72%)	29 (40.28%)	72 (100%)	

Potencia HTA vs perdida= 0.059

También podemos ver en la tabla 6 que no existen diferencias significativas en la presencia de diabetes mellitus en ambos grupos.

Tabla 6. Pérdida auditiva versus diabetes mellitus.

Diabetes	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
No	36 (61.02%)	23 (38.98%)	59(81.94%)	0.757
Si	7 (53.85%)	6 (46.15%)	13(18.06%)	
Total	43(59.72%)	29(40.28%)	72 (100%)	

Potencia DM vs perdida= 0.076

De la misma forma, se buscó la relación entre la presencia de otros antecedentes médicos presentes en la muestra como cardiopatía, patología pulmonar, anemia, enfermedad neurológica, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas.

Tabla 7. Pérdida auditiva versus cardiopatía.

Cardiopatía	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
No	41 (60.29%)	27 (39.71%)	68(94.44%)	1.000
Si	2 (50%)	2 (50%)	4(5.56%)	
Total	43(59.72%)	29(40.28%)	72 (100%)	

Potencia cardiopatía vs perdida= 0.069

Tabla 8. Pérdida auditiva versus patología pulmonar.

Patología pulmonar	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
No	42 (60.87%)	27 (39.13%)	69(95.83%)	0.500
EPOC	1 (50%)	1 (50%)	2(2.78%)	
TBC	0 (0%)	1 (100%)	1(1.39%)	
Total	43(59.72%)	29(40.28%)	72 (100%)	

Potencia pulmonar vs perdida= 0.219

Tabla 9. Pérdida auditiva versus anemia.

Anemia	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
No	42 (59.15%)	29 (40.85%)	71(98.61%)	1.000
Si	1 (100%)	0 (0%)	1(1.39%)	
Total	43(59.72%)	29(40.28%)	72 (100%)	

Potencia anemia vs perdida= 0.175

Tabla 10. Pérdida auditiva versus enfermedad neurológica.

Enf. Neurológica	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
No	42 (60%)	28 (40%)	70(98.59%)	0.408
AVC	0 (0%)	1 (100%)	1(1.41%)	
Total	42(59.15%)	29(40.85%)	71 (100%)	

Potencia neurológica vs perdida= 0.270

6.4 PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS HÁBITOS TÓXICOS.

Al analizar la frecuencia del hábito tabáquico en la muestra, se evidenció que dicho factor se presentó de manera similar en ambos grupos.

Tabla 11. Pérdida auditiva versus tabaco.

Tabaco	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
No	16 (64%)	9 (36%)	25(34.72%)	0.624
Si	27 (57.45%)	20 (42.55%)	47(65.28%)	
Total	43(59.72%)	29(40.28%)	72 (100%)	

Potencia Tabaco vs pérdida= 0.084

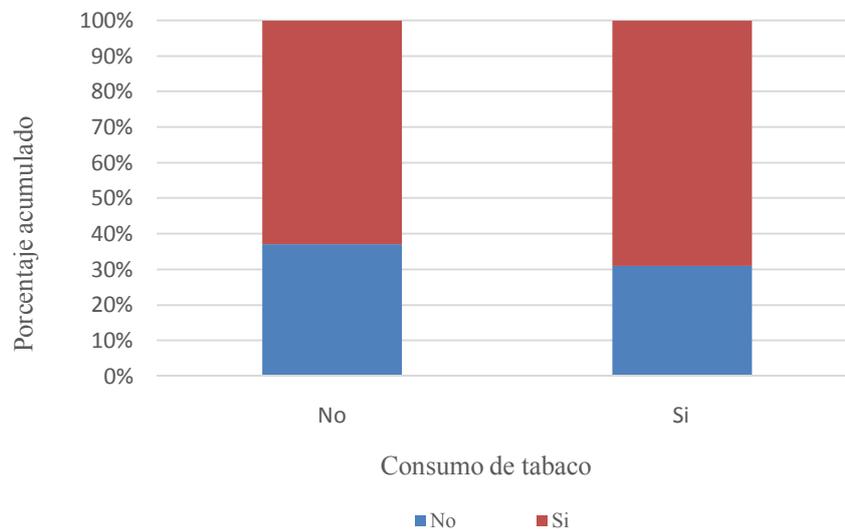


Figura 16. Pérdida auditiva versus tabaco.

De igual forma, se buscó la relación entre pérdida auditiva y consumo de alcohol y no se encontraron diferencias significativas como lo demuestra la tabla 12 y figura 17

Tabla 12. Pérdida auditiva versus alcohol.

Alcohol	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
No	33 (60%)	22 (40%)	55(76.39%)	1.000
Si	10 (58.82%)	7 (41.18%)	17(23.61%)	
Total	43(59.72%)	29(40.28%)	72 (100%)	

Potencia Alcohol vs perdida= 0.051

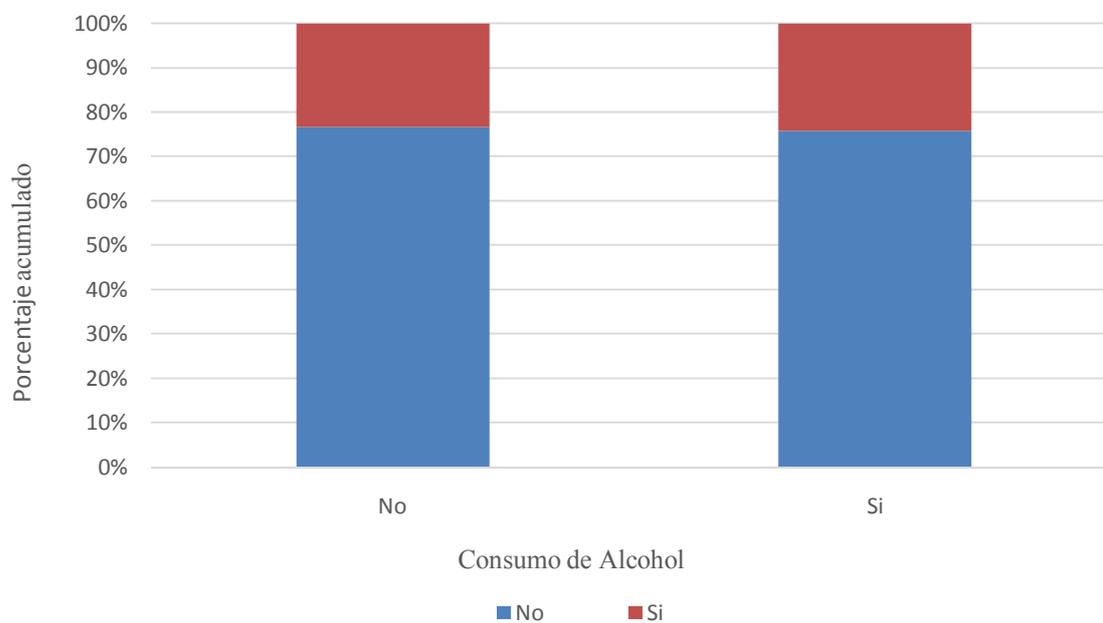


Figura 17. Pérdida auditiva versus alcohol.

Si analizamos la variable consumo de café y la relacionamos con la pérdida auditiva, observamos que no existen diferencias significativas en la distribución en ambos grupos.

Tabla 13. Pérdida auditiva versus café.

Café	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
No	18 (64.29%)	10 (35.71%)	28(38.89%)	0.625
Si	25 (56.82%)	19 (43.18%)	44(61.11%)	
Total	43(59.72%)	29(40.28%)	72 (100%)	

Potencia Café vs pérdida= 0.097

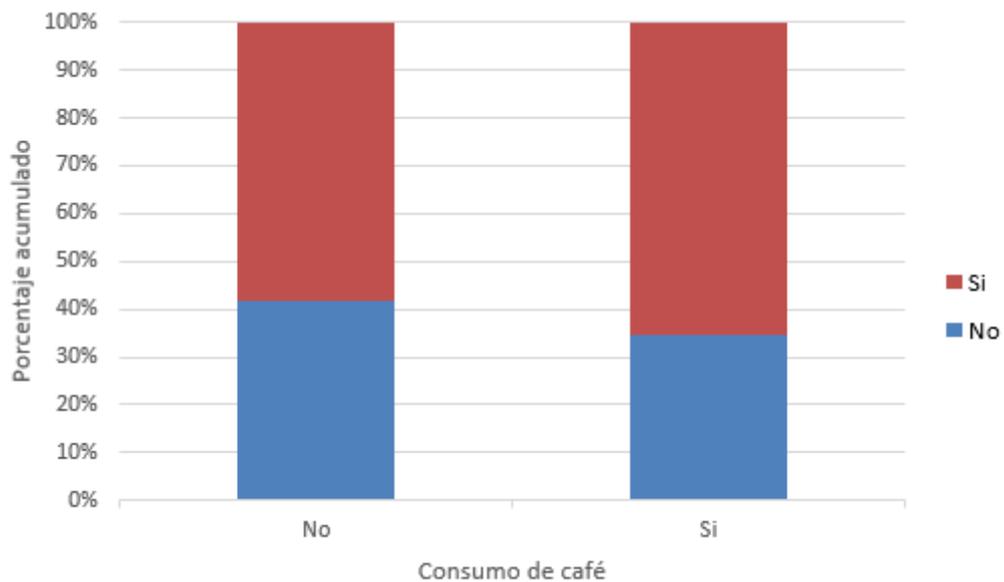


Figura 18. Pérdida auditiva versus consumo de café.

6.5 PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS OTROS FACTORES RELACIONADOS CON PÉRDIDA AUDITIVA.

La hipoacusia previa y la exposición a ruido, no constituyeron factores predisponentes de pérdida auditiva en los pacientes de la muestra, tal y como se observa en las tablas 14 y 15.

Tabla 14. Pérdida auditiva versus exposición a ruido.

Exposición a ruido	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
0	28 (57.14%)	21 (42.86%)	49(68.06%)	0.548
1	10 (58.82%)	7 (41.18%)	17(23.61%)	
2	5 (83.33%)	1 (16.67%)	6(8.33%)	
Total	43(59.72%)	29(40.28%)	72 (100%)	

Potencia exposición al ruido vs perdida= 0.198

Tabla 15. Pérdida auditiva hipoacusia previa.

Hipoacusia previa	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
No	30 (61.22%)	19 (38.78%)	49(68.06%)	0.798
Si	13 (56.52%)	10 (43.48%)	23(31.94%)	
Total	43(59.72%)	29(40.28%)	72 (100%)	

Potencia Sordera vs pérdida= 0.067

6.6 HAPLOGRUPOS VERSUS PÉRDIDA AUDITIVA.

Al analizar la distribución de los haplogrupos según pérdida auditiva, se pudo comprobar que no existen diferencias significativas en dicha distribución, tal y como lo muestra la tabla 16.

Si reducimos el número de haplogrupos tampoco se observan diferencias estadísticamente significativas entre cada una de los haplogrupos y el porcentaje de pérdida auditiva que se sitúa en el 40% como se muestra en la tabla 17.

Tabla 16. Haplogrupos versus pérdida auditiva.

Haplogrupos	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
A	0 (0%)	1 (100%)	1(1.39%)	0.870
H	23 (65.71%)	12 (34.29%)	35(48.61%)	
J	2 (66.67%)	1 (33.33%)	3(4.17%)	
JT	1 (50%)	1 (50%)	2(2.78%)	
K	5 (45.45%)	6 (54.55%)	11(15.28%)	
T	1 (100%)	0 (0%)	1(1.39%)	
U	0 (0%)	1 (100%)	1(1.39%)	
U4	3 (75%)	1 (25%)	4(5.56%)	
U5	1 (100%)	0 (0%)	1(1.39%)	
V	5 (55.56%)	4 (44.44%)	9(12.5%)	
W,X,I	2 (50%)	2 (50%)	4(5.56%)	
Total	43(59.72%)	29(40.28%)	72 (100%)	

Potencia Haplogrupo vs perdida= 0.430

Tabla 17. Pérdida auditiva versus haplogrupos.

Haplogrupos	Pérdida auditiva		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
H	23 (65.71%)	12 (34.29%)	35(48.61%)	0.796
K	5 (45.45%)	6 (54.55%)	11(15.28%)	
U	4 (66.67%)	2 (33.33%)	6(8.33%)	
V	5 (55.56%)	4 (44.44%)	9(12.5%)	
Resto	6 (54.55%)	5 (45.45%)	11(15.28%)	
Total	43(59.72%)	29(40.28%)	72 (100%)	

Potencia Haplogrupo vs perdida= 0.154

6.7 HAPLOGRUPOS VERSUS PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS SEXO Y EDAD.

No se encontraron diferencias significativas al analizar la influencia del haplogrupo en la pérdida auditiva teniendo en cuenta el sexo y edad, como lo demuestran las tablas 18 y 19.

Tabla 18. Haplogrupos versus pérdida auditiva en mujeres.

Haplogrupo	Pérdida auditiva en Mujeres		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
H	6 (66.67%)	3 (33.33%)	9(39.13%)	0.899
K	2 (50%)	2 (50%)	4(17.39%)	
U	2 (66.67%)	1 (33.33%)	3(13.04%)	
V	1 (100%)	0 (0%)	1(4.35%)	
Resto	5 (83.33%)	1 (16.67%)	6(26.09%)	
Total	16(69.57%)	7(30.43%)	23 (100%)	

Tabla 19. Haplogrupos versus pérdida auditiva en hombres.

Haplogrupo	Pérdida auditiva en Hombres		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
H	17 (65.38%)	9 (34.62%)	26(53.06%)	0.401
K	3 (42.86%)	4 (57.14%)	7(14.29%)	
U	2 (66.67%)	1 (33.33%)	3(6.12%)	
V	4 (50%)	4 (50%)	8(16.33%)	
Resto	1 (20%)	4 (80%)	5(10.2%)	
Total	27(55.1%)	22(44.9%)	49 (100%)	

6.8 HAPLOGRUPOS VERSUS PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS ANTECEDENTES PATOLÓGICOS.

No se encontraron diferencias significativas al analizar la influencia del haplogrupo en la pérdida auditiva teniendo en cuenta los antecedentes patológicos como lo podemos ver en las tablas 20 y 21.

Tabla 20. Haplogrupos versus pérdida auditiva versus pacientes sin hipertensión arterial.

Haplogrupos	Pérdida auditiva en pacientes no hipertensos.		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
H	16 (64%)	9 (36%)	25(49.02%)	0.844
K	3(42.86%)	4 (57.14%)	7(13.73%)	
U	3 (75%)	1 (25%)	4(7.84%)	
V	4(66.67%)	2 (33.33%)	6(11.76%)	
Resto	5(55.56%)	4 (44.44%)	9(17.65%)	
Total	31(60.78%)	20(39.22%)	51 (100%)	

Tabla 21. Haplogrupos versus pérdida auditiva versus pacientes con hipertensión arterial.

Haplogrupos	Pérdida auditiva en pacientes con HTA.		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
H	7 (70%)	3 (30%)	10(47.62%)	0.811
K	2 (50%)	2 (50%)	4(19.05%)	
U	1 (50%)	1 (50%)	2(9.52%)	
V	1 (33.33%)	2 (66.67%)	3(14.29%)	
Resto	1 (50%)	1 (50%)	2(9.52%)	
Total	12(57.14%)	9(42.86%)	21 (100%)	

El resultado fue similar cuando se analizaron el resto de antecedentes patológicos encontrados en la muestra.

6.9 HAPLOGRUPOS VERSUS PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS HÁBITOS TÓXICOS Y OTROS ANTECEDENTES.

No se encontró diferencias significativas al analizar la relación entre pérdida auditiva y haplogrupos en presencia de alguna de las variables estudiadas en la muestra. Dichos resultados los podemos observar en las tablas 22-25, en las que se muestra la distribución

de los haplogrupos en función de la pérdida y en presencia o ausencia del hábito tabáquico y de exposición a ruido.

Tabla 22. Haplogrupos versus pérdida auditiva versus pacientes no fumadores.

Haplogrupos	Pérdida auditiva en no fumadores		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
H	8 (61.54%)	5 (38.46%)	13(52%)	0.908
K	2 (50%)	2 (50%)	4(16%)	
U	1 (100%)	0 (0%)	1(4%)	
V	2 (100%)	0 (0%)	2(8%)	
Resto	3 (60%)	2 (40%)	5(20%)	
Total	16(64%)	9(36%)	25 (100%)	

Tabla 23. Haplogrupos versus pérdida auditiva versus pacientes fumadores.

Haplogrupos	Pérdida auditiva en fumadores		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
H	15 (68.18%)	7 (31.82%)	22(46.81%)	0.658
K	3 (42.86%)	4 (57.14%)	7(14.89%)	
U	3 (60%)	2 (40%)	5(10.64%)	
V	3 (42.86%)	4 (57.14%)	7(14.89%)	
Resto	3 (50%)	3 (50%)	6(12.77%)	
Total	27(57.45%)	20(42.55%)	47 (100%)	

Tabla 24. Haplogrupos versus pérdida auditiva versus pacientes sin exposición a ruido.

Haplogrupos	Pérdida auditiva en pacientes con exposición a ruido		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
H	14 (63.64%)	8 (36.36%)	22(44.9%)	0.887
K	5 (55.56%)	4 (44.44%)	9(18.37%)	
U	3 (60%)	2 (40%)	5(10.2%)	
V	2 (40%)	3 (60%)	5(10.2%)	
Resto	4 (50%)	4 (50%)	8(16.33%)	
Total	28(57.14%)	21(42.86%)	49 (100%)	

Tabla 25. Haplogrupos versus pérdida auditiva versus pacientes con exposición a ruido.

Haplogrupos	Pérdida auditiva en pacientes con exposición a ruido.		Total	p-value Prueba exacta de Fisher
	No	Si		
H	9 (69.23%)	4 (30.77%)	13(56.52%)	0.445
K	0 (0%)	2 (100%)	2(8.7%)	
U	1 (100%)	0 (0%)	1(4.35%)	
V	3 (75%)	1 (25%)	4(17.39%)	
Resto	2 (66.67%)	1 (33.33%)	3(13.04%)	
Total	15(65.22%)	8(34.78%)	23 (100%)	

7 DISCUSIÓN

7.1. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA.

7.1.1. Edad y sexo.

En nuestra muestra el rango de edad estuvo comprendido entre 27 a 82 años con un promedio de edad de 63,3 años. Es importante resaltar que el 63,8 % de los pacientes se ubicaron en la franja de edad comprendida entre los 60 y 82 años. Este dato es similar a los obtenidos en otros estudios sobre ototoxicidad y cisplatino en adultos (93,94) y es previsible pues en estos estudio se incluyen pacientes con patología neoplásica que suelen presentarse en pacientes de edad avanzada y no tanto en adultos jóvenes.

En cuanto al sexo, hay una clara predominancia del sexo masculino (68 %), quizás por el tipo y localización de las neoplasias presentadas en la muestra. Este hallazgo coincide con lo encontrado en otros estudios como el de Whitehorn et al. (93), en donde se obtienen porcentajes similares. Casi el 60 % de los casos, presentaba como localización de la neoplasia, la orofaringe y laringe, neoplasias que se presentan más frecuentemente en hombres que en mujeres. Además existieron 8 casos de tumor testicular.

7.1.2. Antecedentes médicos.

Algunos estudios relacionan la insuficiencia renal, la hipoacusia preexistente o la exposición a ruido con mayor pérdida tras exposición de cisplatino. Otros estudios sugieren la asociación de factores nutricionales, coloración del iris y pigmentación de la piel con el grado de ototoxicidad por cisplatino (94). Sin embargo, no existe consenso en cuanto a la determinación de factores de riesgo asociados a ototoxicidad por cisplatino.

Es conocido que la presencia de factores de riesgo cardiovascular pueden contribuir a la aparición de pérdida auditiva en general. Por ello intentamos determinar la presencia de algunos de estos factores como por ejemplo, la hipertensión arterial que fue el antecedente patológico más frecuente, presentándose en el 29 % de los pacientes, seguida

de dislipemia con 26 % y de la diabetes mellitus con 5,6 %. La frecuencia de aparición de estos 3 antecedentes fue similar a la de la población general.

En menor frecuencia se presentaron patologías como la cardiopatía (5,6 %), enfermedad hepatobiliar (2,8 %), enfermedad pulmonar (4 %) y anemia (1,4 %).

En relación a la presencia de hipoacusia previa, sólo el 32 % de la muestra presentaba algún grado de hipoacusia previa al inicio del tratamiento. Este porcentaje es similar al encontrado por otros autores (93).

7.1.3. Hábitos tóxicos.

La incidencia de tabaquismo y el consumo de alcohol varía según la población y de acuerdo a factores culturales y socioeconómicos. Obtuvimos una frecuencia alta de tabaquismo en relación a la consultada en la literatura, que puede ir del 15 al 50 % (96), probablemente por el claro predominio del sexo masculino. En nuestro estudio el hábito tabáquico fue el más frecuente, presentándose en el 65 % de la muestra, seguido por el consumo de café en el 61 %, consumo de alcohol 23 %, y de té 6 %. Ningún paciente manifestó el consumo de otra sustancia o droga.

7.1.4. Otros factores asociados a pérdida auditiva.

Sólo el 32 % de la muestra refirió exposición a ruido. Es importante señalar que todos los pacientes pertenecían al área de Barcelona (población urbana) en la que el nivel de ruido es mayor que la rural. Sin embargo, no fue un factor determinante para la pérdida auditiva por cisplatino.

7.1.5. Pérdida auditiva de la muestra.

La ototoxicidad inducida por cisplatino está siendo estudiada ampliamente desde hace algunos años. Entre un 15 y 40 % de los pacientes tratados con esta droga presentan algún grado de pérdida auditiva (97), hecho que pudimos constatar en nuestro estudio, obteniendo que el 40% de los pacientes presentó una pérdida auditiva significativa. Este hecho es dependiente de la dosis, duración y circunstancias y es una de las causas de suspensión del tratamiento más frecuentes (97). Por ello en nuestro estudio se controlaron dichos factores, siendo igual para todos los sujetos incluidos en el estudio.

La pérdida auditiva es por lo general bilateral y simétrica, fenómeno que pudimos constatar, pues la afectación auditiva en nuestro estudio fue simétrica con diferencias mínimas entre ambos oídos, aunque en algunos estudios en niños, que no han sido incluidos en nuestro trabajo, han demostrado una afectación asimétrica por cisplatino, con una leve pero significativa mayor afectación del oído izquierdo (32).

La afectación auditiva es predominantemente en frecuencias altas, aunque puede presentarse en frecuencias graves y explicaría la discordancia entre la logaudiometría y la audiometría tonal en algunos casos (98). De hecho, en nuestro estudio pudimos constatar que el porcentaje de pérdida y el promedio de pérdida aumentan al valorar sólo las frecuencias agudas.

El estudio audiométrico de las frecuencias altas (8000 Hz hasta 20000 Hz) y de las otoemisiones acústicas de productos de distorsión puede revelar cambios más precoces en la función auditiva que la audiometría convencional (98). Sin embargo resulta extremadamente complicado reproducir las mismas condiciones a la hora de realizar las otoemisiones en estos pacientes con lo cual pierde valor como prueba para comparar cambios audiológicos en el mismo paciente.

Un estudio realizado en niños y adolescentes tratados con cisplatino mostró que los cambios ototóxicos se observan primero en la audiometría extendida a altas frecuencias, luego en las otoemisiones acústicas de productos de distorsión y, por último, en la audiometría convencional (99).

Sería interesante incluir en próximos estudios, la audiometría de altas frecuencias pues podría determinar cambios sugestivos de ototoxicidad de una forma más precoz que con la audiometría convencional.

7.1.6. Haplogrupos de la muestra.

El haplogrupo más frecuente de nuestra muestra fue el H con un 48 %, coincidiendo con el porcentaje de aparición del haplogrupo en España y Europa aunque es importante señalar que el haplogrupo H (y la rama HV) se presenta con mayor frecuencia en España que en Europa (92). De igual forma se obtuvo una distribución similar a la revisada en la literatura en cuanto a los haplogrupos W, I, X, minoritarios y que habitualmente no superan el 5 % de las distribuciones consultadas,

Sin embargo, obtuvimos una frecuencia de los haplogrupos J y T por debajo de la media Española y Europea y una sobreexpresión de los haplogrupos V y K.

Para poder explicar estos datos tendríamos que tener en cuenta, en primer lugar, el tamaño de la muestra. Sin comparar nuestra muestra (72 pacientes) con la de los estudios Españoles y Europeos sobre distribución de haplogrupos (cientos o miles de individuos) podemos entender que probablemente nuestra muestra no sea lo suficientemente grande para poder comparar los resultados de haplotipajes con dichos estudios.

Por otro lado, nuestra muestra la conformaron pacientes con patología neoplásica y no individuos sanos escogidos al azar. Esto podría ser un factor que influya en los resultados.

Además es posible que no todos los individuos de la muestra sean de origen Español como lo previsto. Es previsible que en una ciudad como Barcelona, convivan individuos con progenitores de origen racial diferente. Con lo que seguramente se incluyeron individuos que poseían haplogrupos que son más frecuentes en otras poblaciones Europeas

o en otros continentes. La misma explicación se aplica para el individuo que posee el haplogrupo A, frecuente en América pero no en Europa.

Otra posible explicación, menos probable según nuestra opinión, sea la relación entre estos haplogrupos y la aparición de neoplasias. No se encontró evidencia alguna en la literatura que sustentara esta hipótesis.

7.2 PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA.

7.2.1. Pérdida auditiva versus edad y sexo.

A pesar de que obtuvimos una clara predominancia del sexo masculino, no encontramos diferencias significativas en cuanto a la pérdida auditiva entre hombres y mujeres. Este hallazgo es similar a lo encontrado en la literatura en donde se demuestra que el sexo no es un factor determinante de pérdida auditiva por cisplatino (97).

Al contrario, al comparar la pérdida auditiva con la edad, obtuvimos que existe una diferencia significativa entre la pérdida auditiva de los individuos más jóvenes con respecto a los mayores. A medida que aumenta la edad, hay más probabilidad de tener pérdida auditiva por cisplatino. Los adultos mayores son más susceptibles de sufrir hipoacusia inducida por cisplatino que los adultos jóvenes. Este hallazgo es similar al encontrado en otros estudios como el de Whitehorn et al. (93), en donde se evidenció la relación entre la edad avanzada y la mayor ototoxicidad por cisplatino.

Es importante destacar que otros estudios como el de Langer et al. (100), no sólo señalan que los individuos con más edad tienen más predisposición a pérdida auditiva por cisplatino, también los niños menores de 5 años, tienen más ototoxicidad que los niños

mayores de 5 años. Es decir, que la edad muy temprana (<5 años) es tan predisponente como la edad avanzada para sufrir pérdida auditiva por cisplatino.

7.2.2. Pérdida auditiva versus antecedentes médicos.

Existen estudios que relacionan la hipoacusia con la presencia de determinadas patologías, como por ejemplo, las enfermedades cardiovasculares (101). Por ello, en nuestro estudio se buscó la relación entre los antecedentes médicos de los pacientes y la pérdida auditiva en un intento de demostrar que los individuos que padecían estas enfermedades tenían más predisposición a tener pérdida auditiva, sin embargo, no se pudo determinar si alguna de los antecedentes presentes en la muestra aumenta el riesgo de pérdida auditiva con el cisplatino tal y como se evidenció en otros estudios que intentaban relacionar enfermedad preexistente con ototoxicidad (101).

7.2.3. Pérdida auditiva versus hábitos tóxicos.

Es conocido que algunas sustancias como el tabaco y el alcohol pueden predisponer a pérdida auditiva (1,2) y su alta prevalencia en nuestra sociedad hace que sean considerados unos de los ototóxicos más importantes en la actualidad. Al igual que en otros estudios en donde se ha intentado establecer la asociación entre tabaco y alcohol con la ototoxicidad del cisplatino (101), no se pudo demostrar que aumentarían el riesgo de pérdida auditiva tras el tratamiento con dicho fármaco.

7.2.4. Pérdida auditiva versus otros factores relacionados con pérdida auditiva.

Muchos estudios relacionan la exposición al ruido ambiental con la pérdida auditiva en todas las edades, pero cada día se consideran más como enfermedades distintas por

presentar formas no similares de pérdida auditiva y grupos de edad también distintos. En nuestros resultados, aunque la exposición a ruido fue relevante, no fue un factor determinante de pérdida auditiva por cisplatino.

7.3 PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS HAPLOGRUPOS.

Existe una importante variabilidad en el desarrollo de ototoxicidad por cisplatino, y hasta la fecha, no es posible predecir quienes la desarrollarán. Tampoco está claro cuáles son los factores de riesgo para la pérdida auditiva por cisplatino (101).

Sin embargo, está demostrado que las características genéticas de los individuos pueden variar la respuesta a determinados estímulos. Actualmente múltiples líneas de investigación se centran en descubrir cuáles de estas características genéticas son determinantes para la aparición de alguna enfermedad o a la hora de plantear un tratamiento específico para una patología. Así vemos como en la actualidad el estudio de la genética es fundamental en algunos campos de la medicina como por ejemplo en la oncología médica (102).

A raíz de estos estudios se ha demostrado que no sólo las mutaciones puntuales o características del ADN nuclear pueden predisponer a enfermedad, también el ADN mitocondrial juega un papel importante como factor predisponente de enfermedad.

La predisposición genética a sufrir pérdida auditiva inducida por cisplatino puede estar relacionada con mutaciones mitocondriales o polimorfismos en enzimas importantes en la depuración de oxidantes (72).

Ciertas mutaciones en el ADN mitocondrial, pueden causar enfermedades o fenotipos clínicos por si solos, otras pueden causar enfermedad solo con la presencia de un factor adicional, como se ha sugerido, pero todavía no se ha confirmado, en la ototoxicidad por administración de los aminoglucósidos de la mutación A1555G (71).

Además, se ha observado que ciertos pacientes con ototoxicidad por cisplatino pertenecen al poco frecuente haplogrupo mitocondrial Europeo J, que se ha asociado a la atrofia óptica hereditaria de Leber (102). De igual forma pacientes con cáncer testicular tratados con quimioterapia con cisplatino mostraron diferencias en polimorfismos funcionales para la glutatión-S-transferasa (GST), enzima perteneciente a una importante familia de enzimas de fase II del metabolismo de drogas (78).

En nuestro estudio no se encontró asociación estadísticamente significativa entre los haplogrupos del ADN mitocondrial y la pérdida auditiva por cisplatino al igual que en otros estudios como el de Peters et al (48).

Es posible que algunos factores como el tamaño de la muestra o la distribución atípica de los haplogrupos, hayan impedido que se obtuviera resultados positivos. Sin embargo, lejos de concluir que no existe una relación entre estos 2 factores, consideramos que son necesarios nuevos estudios con muestras de mayor tamaño que la nuestra.

7.4 PÉRDIDA AUDITIVA VERSUS HAPLOGRUPOS VERSUS CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA.

En los estudios más recientes sobre haplogrupos, se sugiere que esta característica genética pudiera no ser determinante por sí sola, pero en presencia de determinados factores ambientales, pudiera ser un factor modificador de la respuesta del organismo a determinados estímulos (62).

Por ello, se consideró relevante buscar la relación entre los haplogrupos y la pérdida auditiva en presencia de algunos de los factores estudiados en la muestra, como antecedentes médicos, hábitos tóxicos, etc.

No se encontró evidencia alguna de que el haplogrupo sea determinante de pérdida auditiva en presencia de alguno de estos factores. Hasta la fecha, no existen estudios que hayan buscado dicha relación.

8 CONCLUSIONES

- No hemos podido establecer una asociación entre la ototoxicidad producida por cisplatino y los haplogrupos del ADN mitocondrial en la muestra estudiada.
- La ototoxicidad producida por cisplatino se manifiesta como pérdida auditiva bilateral, simétrica y predominantemente en frecuencias altas.
- El sexo no es un factor predisponente para desarrollar ototoxicidad por cisplatino en la muestra estudiada.
- La edad es un factor predisponente de ototoxicidad por cisplatino. Los pacientes con más edad tienen mayor probabilidad de desarrollar pérdida auditiva tras el tratamiento con cisplatino.
- No hemos podido establecer una relación entre los antecedentes médicos, hábitos tóxicos u otros factores de riesgo para pérdida auditiva presentes en la muestra y la ototoxicidad por cisplatino.
- El haplogrupo del ADN mitocondrial no es un factor determinante para desarrollar pérdida auditiva por cisplatino por sí solo ni en presencia de las variables estudiadas en la muestra.
- Es necesario realizar estudios con mayor número de casos para confirmar o rechazar estos resultados.

9 BIBLIOGRAFÍA

1. **Suarez C**, Gil-Carcedo L, Marco J, Medina J, Ortega P, Trinidad J. Tratado de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello. Editorial médica panamericana. Segunda edición. Tomo 2. Cap. 112. Pág. 1646-1662.
2. Enciclopedia médico-quirúrgica de otorrinolaringología y patología cervicofacial. Editorial Elsevier Masson. Tomo 2. Cap. 20-184. pág. 5-12.
3. **Rosenhall** et al. Correlations between presbycusis and extrinsic noxious factors. *Audiology* 1993. Jul-Aug; 32(4):234-43.
4. **Langer T**, Zehnhoff-Dinnesen A, Radtke S. Understanding platinum-induced ototoxicity. *Trends in pharmacological sciences*. August 2013, vol. 34, nº 8.
5. **Goncalves MS**, Silveira A, Teixeira A. Mechanism of cisplatin ototoxicity: theoretical review. *The journal of Laryngology and Otology* 2013, 127, 536-541.
6. **Brock P**, Knight K, Freyer D. Platinum-induced ototoxicity in children: a consensus review on mechanism, predisposition and protection. Including a new international society of pediatric oncology Boston ototoxicity scale. *Journal of clinical oncology*. July 2012. Volume 30, number 19.
7. **Rybak L**. Mechanisms of cisplatin ototoxicity and progress in otoprotection. *Otolaryngol head neck surg*. 2007; 15:364-369.
8. **Nitz A**. Prospective evaluation of cisplatin and carboplatin mediated ototoxicity in pediatric and adult soft tissue and osteosarcoma patients. *Oncol. Let*. 2013. 5, 331-315.

9. **Ali I**, et al. Platinum compounds: a hope for future cancer chemotherapy. *Anticancer agent med. chem.* 2013. 13, 296-306.
10. **Warrier R**, et al. Cisplatin and cranial irradiation-related hearing loss in children. *Oshsner j.* 2012. 12, 191-196.
11. **Al-khatib T**, Cohen N, Carret A, Daniel S. Cisplatin ototoxicity in children, long term follow up. *Int j pediatrotorhinolaryngol.* 2010 Aug;74 (8):913-9.
12. **García-Berrocal J**, Nevado J, Ramírez-Camacho R, Sanz R, et al. The anticancer drug cisplatin induces an intrinsic apoptotic pathway inside the inner ear. *British Journal of Pharmacology.* 2007; 152:1012-1020.
13. **Dulon D**, Hiel h, Arousseau C, Erre J. Pharmacokinetics of gentamicin in the sensory hair cells of the organ of corti: rapid uptake and long term persistence. *Cracad sci III.* 1993; 316:682–687.
14. **Oskarsson T**, Haraldsson A, Moell C. Hearing impairment after platinum-based chemotherapy in childhood. *Pediatr blood cancer.* 2011; 56:631–637.
15. **Einarsson E**, Petersen H, Wiebe T, Fransson P, Grenner J, Magnusson M, Moell C. Long term hearing degeneration after platinum-based chemotherapy in childhood. *Int j audiol.* 2010; 49:765–771.
16. **El-Barbary A**, Altschuler R, Schacht J. Glutathione-s-transferases in the organ of corti of the rat: enzymatic activity, subunit composition and immunohistochemical localization. *Hear res.* 1993; 71:80–90.
17. **Eshraghi A**, Aang J, Adil E, Zine A, Bublik M, Bonny C. Blocking c-jun-n-terminal kinase signaling can prevent hearing loss induced by both electrode insertion trauma and neomycin ototoxicity. *Hear res.* 2007; 226:168–177.
18. **Ramírez-Camacho R**, García-Berrocal J, Buján J, Martín-Marero A. Supporting cells as a target of cisplatin-induced inner ear damage: therapeutic implications. *Laryngoscope.* 2004; 114:533-537.

19. **Jeong H**, Kim S, Moon P, Kim N, Kim J. Agonist on cisplatin-induced apoptosis in the hei-oc1 auditory cell line. *J Neurosci Res.* 2007; 85:896–905.
20. **Giang H**, Sha S, Schacht J. Pathway regulates actin depolymerization induced by aminoglycoside antibiotics. *J Neurosci Res.* 2006; 83:1544–1551.
21. **Klis S**, O’leary S, Hamers F, De Groot J, Smoorenburg G. Reversible cisplatin ototoxicity in the albino guinea pig. *Neuroreport.* 2000; 11:623–626.
22. **Homune S**, Nakano T, Morimitsu T. Effects of kanamycin sulfate on cochlear potentials and potassium ion permeability through the cochlear partitions. *Orl J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 1987; 49:9–16.
23. **Kopke R**, Liu W, Gabaizadeh R, Jacono A, Feghali J, Spray D. Use of organotypic cultures of corti’s organ to study the protective effects of antioxidant molecules on cisplatin-induced damage of auditory hair cells. *Am J Otol.* 1997; 18:559–571.
24. **Liang F**, Schulte B, Shen Z. Inhibition of the calcium- and voltage-dependent big conductance potassium channel ameliorates cisplatin-induced apoptosis in spiral ligament fibrocytes of the cochlea. *Neuroscience.* 2005; 135:263–271.
25. **Diedert B**, Plum D, Schellens J, Thomale J. Adduct-specific monoclonal antibodies for the measurement of cisplatin-induced DNA lesions in individual cell nuclei. *Nucleic Acids Res.* 2006; 34:e47.
26. **Lim D**. Effects of noise and ototoxic drugs at the cellular level in the cochlea: a review. *Am. J. Otolaryngol.* 2006; 7:73–99.

27. **Liu W**, Staecker H, Stupak H, Malgrange B, Lefebvre P. Caspase inhibitors prevent cisplatin-induced apoptosis of auditory sensory cells. *Neuroreport*. 2008; 9:2609–2614.
28. **Bagger-Sjoberg D**. Dose-dependent inner ear changes after i.v. administration of cisplatin. *J Otolaryngol*. 1991; 20:158–167.
29. **Laurell G**, Jungnelius U. High-dose cisplatin treatment: hearing loss and plasma concentrations. *Laryngoscope*. 1990; 100:724–734.
30. **Li Y**, Womer R, Silber J. Predicting cisplatin ototoxicity in children: the influence of age and the cumulative dose. *Eur J Cancer*. 2004; 40:2445–2451.
31. **Rademaker-Lakhai J**, Crul M., Zuur L., Baas P. Relationship between cisplatin administration and the development of ototoxicity. *J Clin Oncol* 2006; 24:918-924.
32. **Schmidt C**, Knief A., Lagosch A, Deuster D, Zehnhoff-Dinnesen A. Left-right asymmetry in hearing loss following cisplatin therapy in children – the left ear is slightly but significantly more affected. *Ear & Hearing*. 2008; 29:830-837.
33. **Lynch E**, Gu R, Pierce C, Kil J. Combined oral delivery of ebselen and allopurinol reduces multiple cisplatin toxicities in rat breast and ovarian cancer models while enhancing anti-tumor activity. *Anticancer Drugs*. 2005a; 16:569–579.
34. **Nagy J**, Adelstein D, Newman C. et al. Cisplatin ototoxicity: the importance of baseline audiometry. *Am. j. clin. oncol*. 2009; 22:305-308.
35. **Rabik C**, Dolan M. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer treat rev*. 2007; 33(1):9–23.

36. **Ravi R**, Somani S, Rybak L. Mechanism of cisplatin ototoxicity: antioxidant system. *Pharmacol toxicol.* 1995; 76:386–394.
37. **Rosenberg B**, Vancamp L, Trosko J, Mansour V. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. *Nature.* 2003; 222:385–386.
38. **De Almeida C**, Umeoka W, Viera R, Moraes I. Frequency audiometric study in cancer-cured patients treated with cisplatin. *Rev. bras. otorrinolaringol.* 2008;74:382-90.
39. **Nagy J**, Adelstein D, Newman C. et al. Cisplatin ototoxicity: the importance of baseline audiometry. *Am. j. clin. oncol.* 2009; 22:305-308.
40. **Rybak L**, Husain K, Morris C, Whitworth C, Somani S. Effect of protective agents against cisplatin ototoxicity. *Am j otol.* 2000; 21:513–520.
41. **Rybak L**, Whitworth C. Ototoxicity: therapeutic opportunities. *Drug discov today.* 2005; 10:1313– 1321.
42. **Knight K**, Kraemer D, Winter A, Neuwelt E. Early changes in auditory function as a result of platinum chemotherapy: use of extended high-frequency audiometry and evoked distortion product otoacoustic emissions. *J clinoncol* 2007; 25:1190-1195.
43. **Garrido N**, Pérez-Martos A., Faro M. et al. Cisplatin-mediated impairment of mitochondrial dna metabolism inversely correlates with glutathione levels. *Biochem. J.* 2008; 414, 93-102.
44. **Fischel-Ghodsian N**, Kopke R. Mitochondrial dysfunction in hearing loss. *Mitochondrion.* 2004; 4:675-694.

45. **Oldenburg J**, Kraggerud S, Cvancarova M, Lothe R, Fossa S. Cisplatin-induced long-term hearing impairment is associated with specific glutathione-s-transferase genotypes in testicular cancer survivors. *J clinoncol.* 2007; 25:708-714a.
46. **Travis L**, Fossa S, Howard D, Frisina R. et al. Chemotherapy-Induced peripheral neurotoxicity and ototoxicity: New paradigms for translational genomics. *JNCI Journal of the national cancer institute.* 2014. 106 (5) 1-11.
47. **Ross D**, Katzov-Eckert H, Dube M, Brooks B, Rassekh S, Barhdadi A, et al. Genetic variants in *tmpt* and *comt* are associated with hearing loss in children receiving cisplatin chemotherapy. *Nat genet.* 2009; 41:1345–1349.
48. **Peters U**, Preisler-Adams S, Lanvers-Kaminsky, et al. Sequence variations of mitochondrial dna and individual sensitivity in the ototoxic effect of cisplatin. *Anticancer res.* 2003; 23:1249-1255.
49. **Fishel M**, Rabik C, Bleibel W, Li X, Moschel R, Dolan M. Role of *gadd34* in modulation of cisplatin cytotoxicity. *Biochem pharmacol.* 2006, 71:239–247 23.
50. **Huang S**, Sunita J, et al. Identification of genetic variants contributing to cisplatin-induced cytotoxicity by use of a genome-wide approach. *Am. j. hum. genet.* 2007; 81:427-437.
51. **Oldenburg J**, Kraggerud S, Cvancarova M, Lothe R, Fossa S. Cisplatin-induced long-term hearing impairment is associated with specific glutathione-s-transferase genotypes in testicular cancer survivors. *J clinoncol.* 2007; 25:708-714a.
52. **Choeyprasert W**, et al. Cisplatin-induced ototoxicity in pediatric solid tumor: a role of glutathione S-transferases and megalin genetic polymorphisms. *J. Pediatric Hematol. Oncol.* 2013, 35, e138-143.

53. **Ross C**, et al. Genetic variants in tpmt and comt are associated with hearing loss in children receiving cisplatin chemotherapy. *Nat. genet.* (2009) 41, 1345-1349
54. **Riedmann S**, et al. Gluthatione s-transferase p1 single nucleotide polymorphism predicts permanent ototoxicity in children with medulloblastoma. *Pediatr. blood cancer* (2013) 60, 593-598.
55. **Caronia D**, et al. Common variation in ERCC2 are associated with response to cisplatin chemotherapy and clinical outcome in osteosarcoma patients. *Pharmacogenomics J.* 2009, 9, 347-353.
56. **Montoya J**. Biogénesis y patología mitocondrial. *Rev. real academia de ciencias. Zaragoza.* 2005; 60: 7-28.
57. Genes en pedigrees. U.S. National Library of Medicine. National Institutes of Health.
58. A compendium of polymorphisms and mutations of the human mitochondrial DNA. www.mitomap.org.
59. **Huang R**, Kistner E, Bleibel W, Shukla S. Effect of population and gender on chemotherapeutic agent-induced cytotoxicity. *Mol cancer ther.* 2007. 6:31–36 17.
60. **Abecasis G**, Cardon L, Cookson W. A general test of association for quantitative traits in nuclear families. *Am j hum genet.* 2010, 66:279–292 18.
61. **Wallace D**, Singh G, Lott M, Hodge J, Schurr T, Lezza A. Mitochondrial dna mutation associated with leber's hereditary optic neuro- pathy. *Science.* 2008; 242:1427-30. 14.
62. **Montoya J**, Playán A, Solano A, Alcaine M, López-Pérez M, Pérez-Martos A. Diseases of mitochondrial DNA. *Rev neurol.* 2000; 31:324-33. 17.

63. **Holt I**, Cooper J, Morgan-Hughes J. Deletions of muscle mitochondrial DNA. *Lancet*. 1998; 1:1462. 16.
64. **Ruiz-Pesini E**, López-Gallardo E, Dahmani Y, Herrero M, Solano A, Díez-Sánchez C. Diseases of the human mitochondrial oxidative phosphorylation system. *Rev neurol*. 2006; 43: 416-24. 18.
65. **Legros F**, Malka F, Frachon P, Lombes A, Rojo M. Organization and dynamics of human mitochondrial dna. *J cell sci*. 2004;13:2653-62.
66. **Garrido N**, Griparic L, Jokitalo E, Wartiovaara J. Composition and dynamics of human mitochondrial nucleoids. *Mol biol cell*. 2003;14:1583-96.
67. **Anderson S**, Bankier A, Barrell B, De-Bruijn M. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*. 1981;290:427-65.
68. **Andrews R**, Kubacka I, Chinnery P, Lightowlers R, Turnbull D, Howell N. Reanalysis and revision of the cambridge reference sequence for human mitochondrial dna. *Nat genet*. 1999;23:147.
69. **Robberson D**, Kasamatsu H, Vinograd J. Replication of mitochondrial dna. circular replicative intermediates in mouse l cells. *Proc natl acad sci usa*. 2002;69:713-41.
70. **Choeprasert W**, et al. Cisplatin-induced ototoxicity in pediatric solid tumor: a role of glutathione S-transferases and megalin genetic polymorphisms. *J. Pediatric Hematol. Oncol*. 2013, 35, e138-143.
71. **Jochen S**, Andra E, Talaska D, Rybak L. Cisplatin and aminoglycoside antibiotics: hearing loss and its prevention. *anat. Rec hoboken*. 2012; 295(11): 1837–1850.
72. **Wallace D**, Singh G, Lott M, Hodge J, Schurr T, Lezza A. Mitochondrial dna mutation associated with leber's hereditary optic neuropathy. *Science*. 2008; 242:1427-30. 14.

73. **Garrido N**, Griparic L, Jokitalo E, Wartiovaara J, Van Derblik A, Spelbrink J. Composition and dynamics of human mitochondrial nucleoids. *Mol biol cell*. 2003;14:1583-96.
74. **Ruiz-Pesini E**, López-Gallardo E, Dahmani Y, Herrero M, Solano A, Díez-Sánchez C, López-Pérez M, Montoya J. Diseases of the human mitochondrial oxidative phosphorylation system. *Rev neurol*. 2006;43:416-24. 18.
75. **Thorsten L**, Zehnhoff A, Radtke S, et al. Understanding platinum-induced ototoxicity. *Trends in Pharmacological Sciences*. 20013, vol 34, N°8.
76. **Huang R**, Duan S, Shukla L, et al. Identification of genetic variants contributing to cisplatin-induced cytotoxicity by use of a genomewide approach. *Am. j. hum. genet*. 2007; 81:427-437.
77. **Walberg M**, Clayton D. Sequence and properties of the human kb cell and mouse l cell d-loop regions of mitochondrial dna. *Nucleic acids res*. 1981;9:5411-21.
78. **Oldenburg J**, Kraggerud S, Cvancarova M, Lothe R. Cisplatin-induced long-term hearing impairment is associated with specific glutathione-s-transferase genotypes in testicular cancer survivors. *J clinoncol*. 2007; 25:708-714a.
79. **Garrido N**, Pérez-Martos A, Faro M, et al. Cisplatin-mediated impairment of mitochondrial dna metabolism inversely correlates with glutathione levels. *Biochem. j*. 2008; 414, 93-102.
80. **Umal M**, Güven M, Devranoğlu K, Ozaydin A, et al. Glutathione s transferase m1 and t1 genetic polymorphisms are related to the risk of primary open-angle glaucoma: a study in a turkish population. *Br j ophthalmol*. 2007; 91:527-530.
81. **Walberg M**, Clayton D. In vitro transcription of human mitochondrial dna: identification of specific light strand transcripts from the displacement loop region. *J biol chem*. 1983;258:1268-75.

82. **Crews S**, Ojala D, Posakony J, Nishiguchi J, Attardi G. Nucleotide sequence of a region of human mitochondrial dna containing the precisely identified origin of replication. *Nature*. 1999;277:192-8.
83. **Bowmaker M**, Yang M, Yasukawa T, Reyes A. Mitochondrial dna replicates bidirectionally from an initiation zone. *J biolchem*. 2003;278:50961-9.
84. **Yasukawa T**, Yang M, Jacobs H, Holt I. A bidirectional origin of replication maps to the major noncoding region of human mitochondrial dna. *Mol cell*. 2005;18:651-62.
85. **Ojala D**, Montoya J, Attardi G. The putative mrna per subunit ii of human cytochrome c oxidase starts directly at the translation initiation codon. *Nature*.2005;287:79-82.
86. **Montoya J**, López-Pérez M, Ruiz-Pesini E. Mitochondrial dna transcription and diseases: past, present and future. *Biochem biophys acta*. 2006;1757:1179-89.
87. **Kruse B**, Narasimhan N, Attardi G. Termination of transcription in human mitochondria: identification and purification of a dna binding protein factor that promotes termination. *cell*. 2009;58:391-7.
88. **Daga A**, Micol V, Hess D, Aebersold R, Attardi G. Molecular characterization of the transcription termination factor from human mitochondria. *J biol chem*. 2003;268:8123-30.
89. **Berg A**, Spitzer J, Garvin J. Ototoxic impact of cisplatin in pediatric oncology patients. *Laryngoscope*. 2009; 109:1806-1814.
90. **Dolan M**, Newbold K, Nagasubramanian R, Wu X. Heritability and linkage analysis of sensitivity to cisplatin-induced cytotoxicity. *Cancer res*. 2004. 64:4353–4356 15.

91. **Huang R**, Kistner E, Bleibel W, Shukla S, Dolan M. Effect of population and gender on chemotherapeutic agent-induced cytotoxicity. *Mol cancer ther.* 2007; 6:31–36 17.
92. **Dahmany Y**, Marcuello A, Montiel-Sosa J, Montoya J, Sánchez C. Mitochondrial lineages distribution in the Spanish population: anticipating association studies. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia* (2006) 72, 37–47.
93. **Whitehorn H**, et al. High prevalence of cisplatin-induced ototoxicity in Cape Town, South Africa. *S Afr Med.* 2014; 104 (4); 288-291.
94. **Huang S**, Sunita J, et al. Identification of genetic variants contributing to cisplatin-induced cytotoxicity by use of a genomewide approach. *Am. j. hum. genet.* 2007; 81:427-437.
95. **Low H**, Toh S, Fook-Chong S. Sensorineural hearing loss after radiotherapy and chemotherapy: A single blinded, randomized study. *J Clin Oncol* 2006; 24 (12) 1904-1909.
96. Organización mundial de la salud. www.who.int/es/. Septiembre 2015.
97. **Thorsten L**, Zehnhoff-Dinnesen A, Radtke S, et al. Understanding platinum-induced ototoxicity. *Trends in Pharmacological Sciences.* August 2013, 34, 8.
98. **Al-khatib T**, Cohen N, Carret A, Daniel S. Cisplatin ototoxicity in children, long term follow up. *Int j pediatrotorhinolaryngol.* 2010 Aug; 74 (8):913-9.
99. **Knigt R**, Kraemer D, Winter C, Neuwelt E. A. Early Changes in Auditory Function As a Result of Platinum Chemotherapy: Use of Extended High-Frequency Audiometry and Evoked Distortion Product Otoacoustic Emissions. *J Clin Oncol* 2007; 25:1190-1195.
100. **Langer T**, Zehnhoff-Dinnesen A, Radtke S. Understanding platinum-induced ototoxicity. *Trends in pharmacological sciences.* August 2013, vol. 34, nº8.

101. **De Almeida C**, Umeoka W, Viera R, Moraes I. Frequency audiometric study in cancer-cured patients treated with cisplatin. Rev. bras. otorrinolaringol. 2008;74:382-90.
102. A compendium of polymorphisms and mutations of the human mitochondrial DNA. www.mitomap.org. Septiembre 2015.

10 TABLAS Y FIGURAS

10.1 TABLAS.

• Tabla 1. Distribución de los haplogrupos en Europa y sitios de restricción característicos.....	34
• Tabla 2. Distribución de los haplogrupos en España y Europa.....	42
• Tabla 3. Pérdida auditiva versus sexo.....	62
• Tabla 4. Pérdida auditiva versus edad.....	63
• Tabla 5. Pérdida auditiva versus hipertensión arterial.....	64
• Tabla 6. Pérdida auditiva versus diabetes mellitus.....	64
• Tabla 7. Pérdida auditiva versus cardiopatía.....	65
• Tabla 8. Pérdida auditiva versus patología pulmonar	65
• Tabla 9. Pérdida auditiva versus anemia.....	66
• Tabla 10. Pérdida auditiva versus enfermedad neurológica.....	66
• Tabla 11. Pérdida auditiva versus tabaco.....	67
• Tabla 12. Pérdida auditiva versus alcohol.....	68
• Tabla 13. Pérdida auditiva versus café.....	69
• Tabla 14. Pérdida auditiva versus exposición a ruido.....	70
• Tabla 15. Pérdida auditiva hipoacusia previa.....	71
• Tabla 16. Haplogrupos versus pérdida auditiva.....	72
• Tabla 17. Pérdida auditiva versus haplogrupos.....	73
• Tabla 18. Haplogrupos versus pérdida auditiva en mujeres.....	74
• Tabla 19. Haplogrupos versus pérdida auditiva en hombres.....	75
• Tabla 20. Haplogrupos versus pérdida auditiva versus pacientes sin hipertensión arterial.....	76
• Tabla 21. Haplogrupos versus pérdida auditiva versus pacientes con hipertensión arterial.....	77
• Tabla 22. Haplogrupos versus pérdida auditiva versus pacientes no fumadores.....	78
• Tabla 23. Haplogrupos versus pérdida auditiva versus pacientes fumadores.....	79

- Tabla 24. Haplogrupos versus pérdida auditiva versus pacientes sin exposición a ruido..... 80
- Tabla 25. Haplogrupos versus pérdida auditiva versus pacientes con exposición a ruido..... 81

10.2 FIGURAS.

- Figura 1. Principales fármacos ototóxicos..... 11
- Figura 2. Vías y lugar de acción de algunos ototóxicos..... 14
- Figura 3. Molécula del Cisplatino..... 15
- Figura 4. Captación celular del cisplatino y sus objetivos..... 18
- Figura 5. Perforación de la capa cuticular en una célula ciliada externa de la cóclea 15 días después de la administración de cisplatino..... 19
- Figura 6. Representación esquemática del genoma mitocondrial humano y sus regiones funcionales..... 28
- Figura 7. Filogenia simplificada del DNA mitocondrial..... 33
- Figura 8. Mapa de las migraciones humanas según ADN mitocondrial..... 36
- Figura 9. Antecedentes médicos presentes en la muestra..... 57
- Figura 10. Tratamiento farmacológico crónico..... 58
- Figura 11. Hábitos tóxicos..... 59
- Figura 12. Pérdida auditiva de la muestra..... 60
- Figura 13. Distribución de haplogrupos de la muestra..... 61
- Figura 14. Pérdida auditiva versus sexo..... 62
- Figura 15. Pérdida auditiva versus edad..... 63
- Figura 16. Pérdida auditiva versus tabaco..... 67
- Figura 17. Pérdida auditiva versus alcohol..... 68
- Figura 18. Pérdida auditiva versus consumo de café..... 69

11 ANEXOS

ANEXO 1.



Título del estudio: **ESTUDIO DE LOS FACTORES NUCLEARES, MITOCONDRIALES Y AMBIENTALES QUE CONTRIBUYEN A LA SORDERA POR CISPLATINO**

Yo (nombre y apellidos) _____

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He hablado con _____

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1 Cuando quiera
- 2 Sin tener que dar explicaciones
- 3 Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Punto 1: DOY NO DOY mi consentimiento voluntariamente para participar en el estudio **ESTUDIO DE LOS FACTORES NUCLEARES, MITOCONDRIALES Y AMBIENTALES QUE CONTRIBUYEN A LA SORDERA POR CISPLATINO**

Punto 2: DOY NO DOY mi consentimiento voluntariamente para que mi muestra citológica de la mucosa oral se almacene para utilizarla en otros estudios sobre factores genéticos relacionados con la ototoxicidad producida por cisplatino. Mi muestra se identificará con un número codificado, y mi identidad se mantendrá en secreto.

Fecha y firma del participante

Fecha y firma del investigador

ANEXO 2.

HOJA DE RECOGIDA DATOS. OTOTOXICIDAD POR CISPLATINO

1.- DATOS PERSONALES Y ANTECEDENTES :

Nombre _____ Sexo _____ Edad _____

NHC _____ Teléfono _____ Peso _____ Altura _____

Tabaco _____ Alcohol _____

Cafeína _____ Otros _____

Medicamentos habituales _____

() HIPOACUSIA FAMILIAR: _____

() HTA () DM () DLP () CARDIOPATÍA

OTRAS:

AUTOINMUNES _____

VASCULITIS _____

NEUROLOGICAS _____

OTOLOGICAS _____

OTOTÓXICOS _____

EXPOSICIÓN RUÍDO (años, trabajo) _____

() AMBIENTE SILENCIOSO

() NIVEL TOLERABLE

() AMBIENTE CON MUCHO RUÍDO

SORDERA (tiempo) _____

Audioprótesis (tiempo) _____

() VÉRTIGO () INESTABILIDAD () ACÚFENOS () graves () agudos.

2.- EXPLORACIÓN FÍSICA Y PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

OTOSCOPIA () normal

() anormal:

1ª - fecha

(Hz)	250	500	1000	2000	3000	4000	6000	8000
OD								
OI								

2ª - fecha

(Hz)	250	500	1000	2000	3000	4000	6000	8000
OD								
OI								