

*Neuropatia Auditiva Decorrente de Mutação no Gene *OTOF**

*Auditory Neuropathy Due to Mutations in *OTOF* Gene*

*Mariana Lopes Fávero**, *Jihane Romanos***, *Regina Célia Mingroni-Netto****, *Clay Rienzo Balieiro*****,
*Talita Sunaitis Donini******, *Mauro Spinelli******.

* Doutora em Otorrinolaringologia pela FMUSP. Médica Otorrinolaringologista da Derdic/PUCSP e do HSPM.

** Bacharel em Biologia pela Universidade Americana de Beirute. Mestranda – Centro de Estudos do Genoma Humano – Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, IBUSP.

*** Doutora em Ciências – Centro de Estudos do Genoma Humano. Docente do Departamento de Genética e Biologia Evolutiva – IBUSP.

**** Doutora em Distúrbios da Comunicação pela UNIFESP. Professora da Faculdade de Fonoaudiologia PUCSP e Fonoaudióloga da DERDIC/PUCSP.

***** Mestranda do Programa de Pós Graduação da Faculdade de Fonoaudiologia da PUCSP. Fonoaudióloga da DERDIC/PUCSP.

***** Professor Titular de Foniatria da Faculdade de Fonoaudiologia da PUCSP. Médico Foniatra da DERDIC/PUCSP.

Trabalho realizado na DERDIC/PUCSP e no Centro de Estudos do Genoma Humano – Departamento de Genética e Biologia Evolutiva - IBUSP.

Endereço para correspondência: Mariana Lopes Fávero – Rua 13 de Maio, 1504- 2º andar – São Paulo / SP – CEP 01327-002 – Telefone: (11) 3865-2370 – Fax: (11) 3864-8702 – E-mail: lopessquare@ig.com.br

Artigo recebido em 25 de abril de 2005. Artigo aceito em 27 de maio de 2005.

RESUMO

- Introdução:** Neuropatia auditiva é determinada por uma alteração na função das células ciliadas internas ou do nervo auditivo e pode ser causada por uma série de fatores etiológicos, entre eles, mutações no gene *OTOF*, codificador da otoferlina, que age na fusão das vesículas sinápticas das CCI.
- Objetivo:** Descrever nosso primeiro caso de Neuropatia Auditiva causada por mutação no gene *OTOF* e discutir implicações clínicas deste diagnóstico.
- Relato:** Criança do sexo feminino com diagnóstico de neuropatia auditiva feito pela presença de emissões otoacústicas e microfonismo coclear e ausência de respostas auditivas neurais, foi submetida a estudo genético onde se evidenciou mutação 1552-1567del16 no exon 15 do gene *OTOF*.
- Conclusões:** Apesar das dificuldades técnicas do rastreamento das mutações no gene *OTOF*, o estabelecimento desta etiologia traz discussões importantes sobre os métodos de diagnóstico precoce da neuropatia auditiva e das opções terapêuticas.
- Unitermos:** deficiência auditiva, neuropatia auditiva, diagnóstico genético.

SUMMARY

- Introduction:** Auditory neuropathy is due to a disorder of inner hair cells or of auditory nerve function and can be associated with a number of etiological factors, including mutations in the *OTOF* gene encoding otoferlin, that acts in IHC synaptic vesicle fusion.
- Objective:** To describe our first auditory neuropathy case due to a gene *OTOF* mutation, discussing the clinical implication of this diagnostic.
- Case report:** Female child with auditory neuropathy diagnosis due to otoacoustic emissions and cochlear microphonics normal records and absence of neural auditory function was submitted to a genetic study which evidenced a 1552-1567del116 mutation in the 15 exon of the *OTOF* gene.
- Conclusions:** In spite of technical difficulties to detection of the *OTOF* gene mutation, this diagnosis leads to important discussion about the early diagnostic methods of auditory neuropathy and therapeutic options.
- Key words:** hearing impairment, auditory neuropathy, genetic diagnosis.

INTRODUÇÃO

A neuropatia auditiva é determinada por uma alteração na condução do estímulo auditivo por acometimento das células ciliadas internas, do nervo auditivo ou das sinapses entre eles (1).

Clinicamente estes pacientes apresentam perda auditiva pré ou pós-lingual, dos mais diferentes níveis até a surdez completa, normalmente com discriminação auditiva incompatível com o limiar tonal.

As emissões otoacústicas e o microfonismo coclear estão presentes, evidenciando função normal de células ciliadas externas, enquanto a audiometria de tronco cerebral mostra alterações a partir da onda I, presentes mesmo com limiares tonais pouco alterados (1). Este comprometimento neural também é evidenciado pela ausência do reflexo do estapédio e do reflexo olivococlear medial.

Do ponto de vista etiológico, há fortes evidências de uma origem genética e/ou inflamatória devido a sua associação com neuropatias periféricas sensoriais e motoras, como a síndrome de Charcot-Marie-Tooth, a ataxia de Friedreich, a Neuropatia de Guillan Barré. O acometimento auditivo, nestes casos, pode preceder em muitos anos o aparecimento da neuropatia periférica (1). Hiperbilirrubinemia, prematuridade, anóxia também são consideradas situações de risco para o desenvolvimento da neuropatia auditiva, principalmente para os casos de aparecimento pré-lingual (2,3). Mutações genéticas que causam surdez não sindrômica, de herança ligada ao X (4) ou de herança mitocondrial (5) também já foram aventadas como fator etiológico da neuropatia auditiva.

Relações entre perda auditiva do tipo neural e mutações do gene *OTOF* foram estabelecidas pela primeira vez em 2003 por VARGA e col (6), que identificaram quatro diferentes mutações neste gene, como responsáveis pela neuropatia auditiva de herança recessiva em quatro famílias espanholas.

O gene *OTOF* é responsável pela codificação de uma proteína, a otoferlina, que age no transporte de membrana e por isto tem um papel importante na fusão das vesículas sinápticas das CCI (6,8). Ele foi mapeado pela primeira vez, em 1996, na região cromossômica 2p22-23 em membros de uma família libanesa consanguínea com perda auditiva profunda de herança recessiva, na época, não caracterizada como neural, e apesar de estar listado como um dos 16 genes envolvidos com perda auditiva não sindrômica pré-lingual (*Hereditary Hearing Loss homepage*, www.uia.ac.be/dnlab/hhh), não se havia determina-

do anteriormente sua relação específica com os quadros de neuropatia auditiva (7).

Mais recentemente, em 2004, foi mapeado mais um gene, *AUNA1*, responsável por quadros de Neuropatia Auditiva pós-lingual, agora, de herança autossômica dominante, na região cromossômica 13q14-21 em uma família americana (9).

O objetivo deste trabalho é descrever nosso primeiro caso de Neuropatia Auditiva causada por mutação no gene *OTOF* e discutir as implicações clínicas deste diagnóstico.

RELATO DE CASO

A família da menina ABS procurou a DERDIC/PUCSP em 2001, referindo que a menor não falava. Na época, ABS estava com 2 anos e trazia uma audiometria de tronco cerebral de outro serviço indicando a presença de uma surdez neurossensorial profunda bilateral e encaminhamento para adaptação de aparelho de amplificação sonora. A família negava antecedentes pré, peri e neonatais e achava que a criança tinha reações para sons de forte intensidade.

ABS se mostrou uma criança muito retraída durante toda a consulta e não esboçou reação a sons. Os exames físicos geral e otorrinolaringológico foram normais. Em nossa instituição, o protocolo de avaliação é composto de exame audiométrico, de audiometria de tronco cerebral e de emissões otoacústicas, além de consulta com o neuropediatra e avaliação genética.

A nova audiometria evidenciou perda auditiva neurossensorial profunda bilateral, com ausência de reflexo do estapédio e curva timpanométrica tipo A, em ambas as orelhas. A audiometria de tronco cerebral foi realizada com cliques condensados e rarefeitos, com frequência de estímulos de 3, 19,3 e 50 estímulos por segundo. Nenhuma onda foi identificada na maior intensidade do aparelho e não houve alteração de resposta com a mudança na frequência do estímulo, no entanto com a mudança de polaridade do clique, surgiu no traçado uma imagem em espelho, característica de microfonismo coclear, até 4 mseg à esquerda e até 2 mseg à direita (Figura 1). As emissões otoacústicas por produto de distorção (Figura 2) e transientes (Figura 3) foram normais bilateralmente, confirmando-se o diagnóstico de neuropatia auditiva. A avaliação neuropsiquiátrica foi normal.

O estudo genético de rotina iniciou-se pelos testes das mutações 35delG e 167delT no gene da Conexina 26 (*GJB2*), pela pesquisa da deleção *GJB6* -D13S1830 no

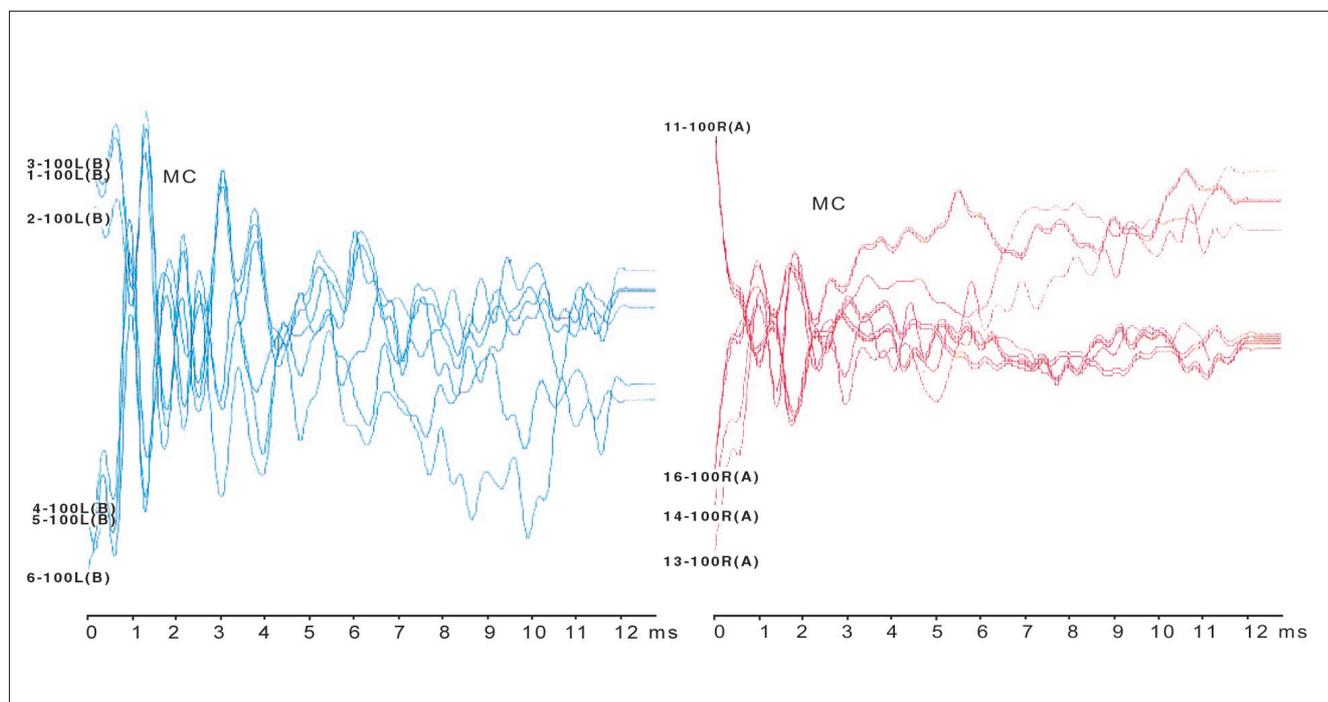


Figura 1. Microfonismo coclear presente até 4 mseg à esquerda e até 2 mseg à direita.

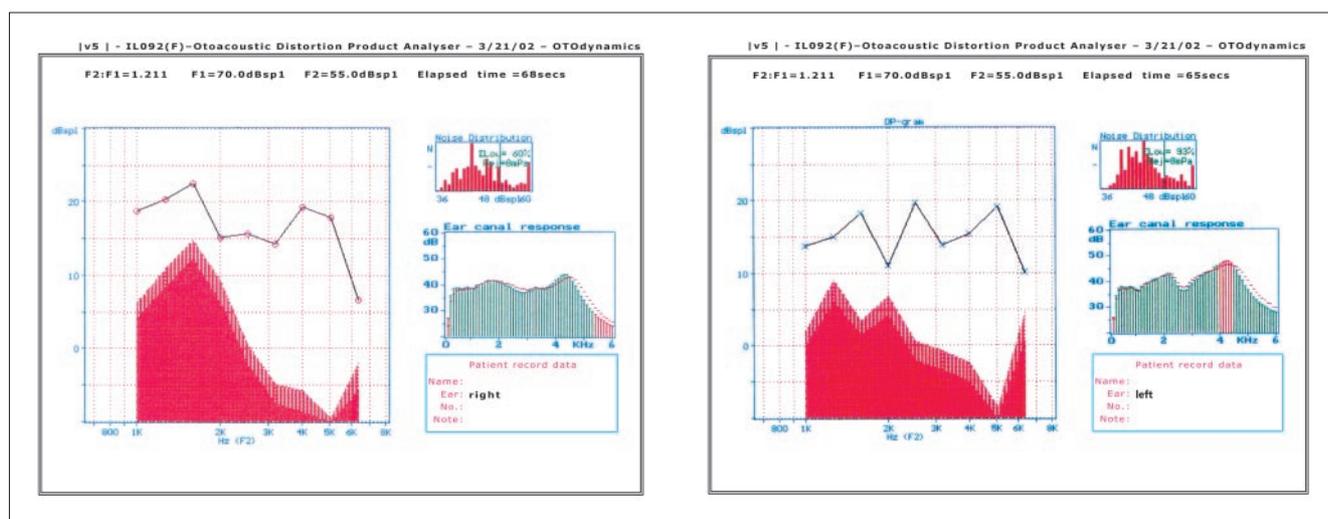


Figura 2. Emissão otoacústica por produto de distorção presente à direita e à esquerda.

gene da Conexina 30 (*GJB6*) e teste da mutação A1555G no gene do RNA ribossômico 12S no DNA mitocondrial. Todos esses testes revelaram resultados normais. Em virtude do quadro de neuropatia auditiva, o DNA da paciente foi submetido à técnica de *SSCP*, com o objetivo de triar mutações nos diversos exons do gene *OTOF*. O padrão de migração do exon 15 mostrou-se alterado e o seqüenciamento do mesmo exon revelou que a paciente é portadora de uma deleção de 16 pares de bases, entre os nucleotídeos 1552-1567 (1552-1567del16).

ABS está em fonoterapia com ênfase à linguagem oral. Foram adaptados, durante o processo terapêutico, aparelhos de amplificação sonora com tecnologia digital. Inicialmente realizou-se teste com amplificação monoaural com variação das orelhas testadas (10), no entanto a criança apresentou melhor desempenho com a adaptação binaural. Em relação ao uso funcional da audição, reconhece sons do cotidiano e detecta a fala somente em situações de silêncio, está mais atenta à leitura oro-facial e vocaliza com pouca variação da entonação, embora com intenção comunicati-

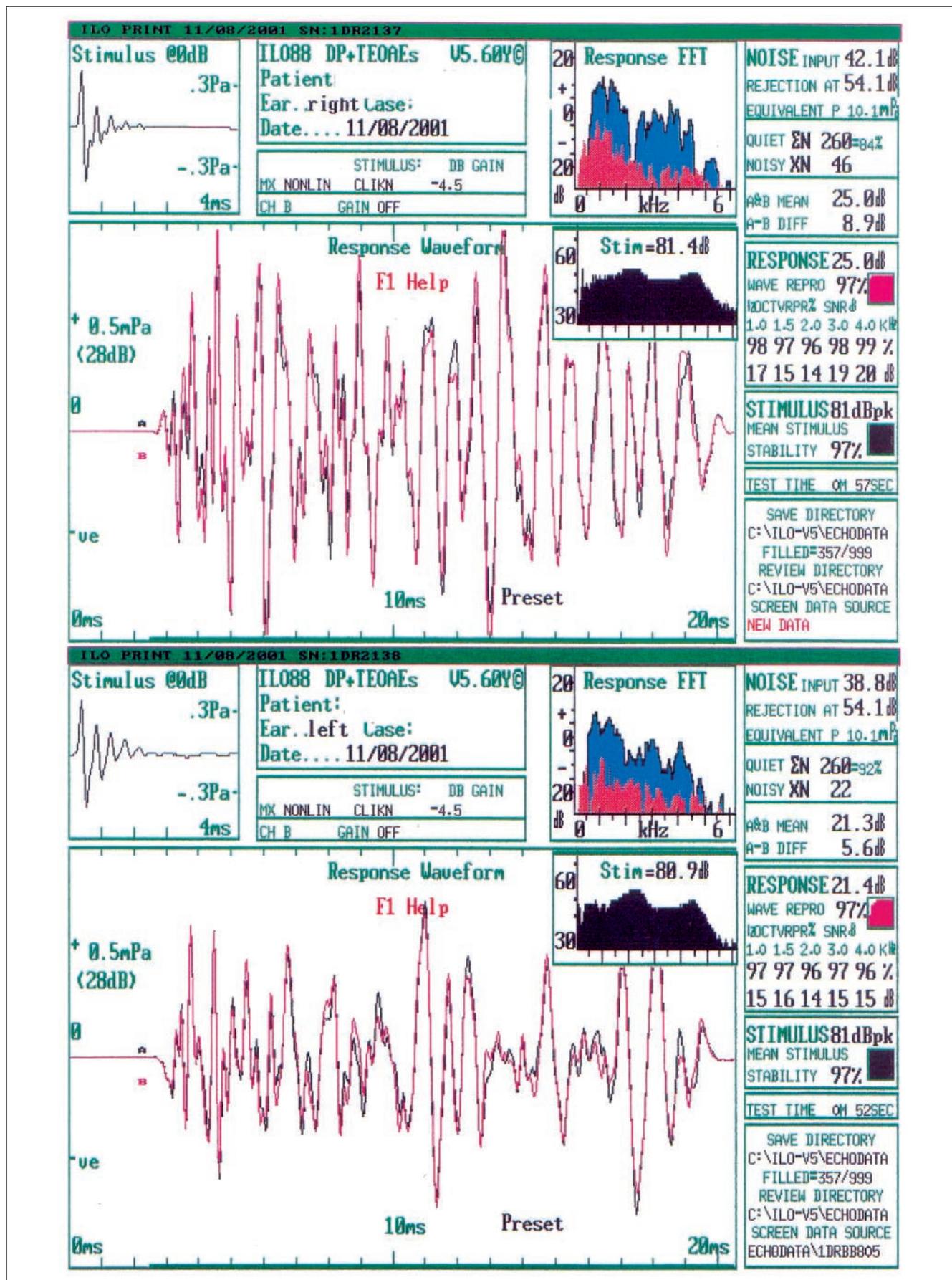


Figura 3. Emissão otoacústica transitente presente à direita e à esquerda.

va. Paralelamente, freqüente escola especial para crianças com deficiência auditiva e vem aprendendo língua de sinais com bastante facilidade.

DISCUSSÃO

A neuropatia auditiva de início precoce ou pré-lingual sempre foi relacionada com situações de risco do período perinatal, como prematuridade, hiperbilirrubinemia e anoxia (2,3). Deste modo, acreditava-se que as chances de não se diagnosticar uma neuropatia auditiva pela triagem auditiva neonatal com emissões otoacústicas eram pequenas, já que para as crianças com risco, se recomenda o uso das emissões otoacústicas e da audiometria de tronco cerebral.

No entanto, a descrição de vários casos familiares de início pré-lingual, em famílias sem história de comprometimento neural periférico motor ou sensitivo (4,11), ou ainda, de casos como o que descrevemos, sem história neonatal e familiar para surdez, fez surgir a hipótese de uma origem genética para a neuropatia auditiva não síndrômica.

MADDEN et al, 2002 (12) interrogam, diante de vários casos familiares não síndrômicos de sua casuística, uma predisposição genética à intolerância à bilirrubina, onde níveis relativamente menores do que os já sabidamente relacionados à perda auditiva, poderiam gerar uma alteração neural nesta população.

A determinação de um gene específico que, quando mutado, levaria a neuropatia auditiva só ocorreu em 2003 quando VARGA et al (6) identificam quatro mutações do gene *OTOF* em quatro famílias espanholas. Desde então, nossos pacientes com neuropatia auditiva têm sido submetidos à pesquisa de mutações do gene *OTOF* com o objetivo de se determinar a importância e a freqüência desta mutação nestes casos.

Na paciente em questão, encontramos uma deleção de 16 pares de bases, entre os nucleotídeos 1552-1567 (1552-1567del16). A deleção acarreta o aparecimento de um códon de parada da tradução no exon seguinte, o que significa que o produto protéico traduzido está encurtado.

Como é descrito que mutações no gene *OTOF* causam surdez de herança recessiva, é esperado que a paciente seja portadora de uma segunda mutação no mesmo gene, que, no entanto, ainda não foi identificada, pois estudos de seqüenciamento do resto do gene estão em andamento. O gene *OTOF* é um gene enorme, com 48 exons, o que torna lento o processo de rastreamento de mutações. Nossos resultados iniciais, entretanto, indicam

que, mesmo tendo analisado somente os exons já previamente descritos como alterados, houve benefício no diagnóstico etiológico da surdez.

Na literatura há dados preliminares indicando uma freqüência de mutações do gene *OTOF* de 3,5% (13) entre indivíduos com perda auditiva neurossensorial não síndrômica. No entanto, este número pode ser muito maior. Como estes pacientes podem não apresentar histórico que sugira risco para surdez e as emissões otoacústicas são o método de escolha para triagem auditiva neonatal em nosso meio, muitos casos podem passar sem diagnóstico. A determinação do número exato de neuropatias auditivas causadas por essas mutações nos darão elementos para repensar sobre os procedimentos de triagem auditiva neonatal.

Uma outra questão envolvendo este diagnóstico refere-se ao desenvolvimento da habilidade auditiva a partir de dispositivos eletroacústicos. Os resultados do uso de aparelhos de amplificação sonora e de implantes cocleares são controversos (2) e apesar de ABS estar apresentando progresso com o uso de amplificação, ele tem sido muito lento e ainda há muitas dificuldades.

Em relação ao implante coclear, os resultados são dependentes do sítio da lesão. Quanto mais próximo do nervo auditivo, pior o aproveitamento do implante; quanto mais próximo das células ciliadas internas, melhor prognóstico (12). Não há formas de se determinar este sítio previamente à cirurgia e muitos autores já têm preconizado implantes de tronco cerebral para os casos onde o implante coclear não é efetivo (14). Diante desta variedade de resultados e de acordo com a literatura (12), temos optado primariamente pelo uso de amplificação sonora individual.

No entanto, o papel do gene *OTOF* é codificar a enzima otoferlina que age na fusão de membrana nas vesículas sinápticas das células ciliadas internas, proporcionando a condução do estímulo. Logo, pacientes com neuropatia auditiva por mutação desse gene têm, provavelmente, uma alteração localizada nas CCI e por isso mais chances de bom aproveitamento do implante coclear. Diante deste diagnóstico e do pouco aproveitamento da prótese auditiva, estamos encaminhando ABS para um programa de implantes cocleares.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A descoberta das mutações do gene *OTOF* como causadoras da neuropatia auditiva traz duas implicações clínicas importantes. A primeira, relacionada ao diagnóstico, já que estes pacientes não apresentam riscos aparentes para desenvolvimento de surdez e por isso correm maior risco de não serem detectados precocemente. A segunda,

relacionada ao tratamento, pois como o sítio de lesão está nas células ciliadas internas, a indicação de implante coclear deve ser considerada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Star A, Picton TW, Sinninger YS, Hood LJ, Berlin CI. Auditory Neuropathy. *Brain*, 1996, 119(3):741-53.
2. Cone-Wesson, B, Rance G. Auditory neuropathy: a brief review. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2000, 8(5):421-25.
3. Martinho, ACF. Achados audiológicos em crianças com hiperbilirrubinemia neonatal: um enfoque na neuropatia auditiva. São Paulo, 2002, (Dissertação de Mestrado - Pontifícia Universidade Católica de São Paulo).
4. Wang Q, Gu R, Han D, Yang W. Familial auditory neuropathy. *Laryngoscope*, 2003, 113(9):1623-1629.
5. Corley VM, Crabbe LS. Auditory neuropathy and a mitochondrial disorder in a child: case study. *J Am Acad Audiol*, 1999, 10(9):484-8.
6. Varga R, Kelley PM, Keats BJ, Starr A, Leal SM, Cohn E, Kimberling WJ. Non-syndromic recessive auditory neuropathy is the result of mutations in the otoferlin (OTOF) gene. *J Med Genet*, 2003, 40(1):45-50.
7. Yasunaga S, Petit C. Physical map of the region surrounding the Otoferlin locus on chromosome 2p22-p23. *Genomics*, 2000, 66(1):110-2.
8. Yasunaga S, Grati M, Cohen-Salmon M, El-Amraoui A, Mustapha M, Salem N, El-Zir E, Loiselet J, Petit C. A mutation in *OTOF*, encoding otoferlin, a FER-1-like protein, causes DFNB9, a nonsyndromic form of deafness. *Nat Genet*, 1999, 21:363-369.
9. Kim TB, Isaacson B, Sivakumaran TA, Starr A, Keats BJB, Lesperance MM. A gene responsible for autosomal dominant auditory neuropathy (AUNA1) maps to 13q14-21. *J Med Genet*, 2004, 41(11):872-6.
10. Cone-Wesson B, Rance G, Sininger Y. Amplification and rehabilitation strategies for patients with auditory neuropathy. In: Sininger I, Starr A. *Auditory Neuropathy, A new perspective on hearing disorders*. 1a ed. Canadá: Singular; 2001, p.233-250.
11. Nicastro FS, Lewis DR. Neuropatia Auditiva: Estudo clínico em seis crianças. *Rev Dist Comum*, 2004, 16(2):215-228.
12. Madden C, Hilbert L, Rutter M, Greinwald J, Choo D. Pediatric cochlear implantation in auditory neuropathy. *Otol Neurotol*, 2002, 23:163-8.
13. Rodríguez-Ballesteros M, Castillo FJ, Martín Y, Moreno-Pelayo M, Morera C, Prieto F et al. Auditory neuropathy in patients carrying mutation in the otoferlin gene (OTOF). *Human Mutation*, 2003, 22:451-6.
14. Colletti V, Carner M, Miorelli V, Guida M, Colletti L, Fiorino F. Cochlear implant failure: Is an auditory brainstem implant the answer? *Acta Otolaryngol*, 2004, 124:353-7.