Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu

Danielle Tavares Oliveira Campos Moreira

Perfil audiológico e genético de pacientes com perda auditiva sensorioneural não sindrômica atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu- Universidade Estadual Paulista.

BOTUCATU
2011

Danielle Tavares Oliveira Campos Moreira

Perfil audiológico e genético de pacientes com perda auditiva sensorioneural não sindrômica atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu- Universidade Estadual Paulista.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Bases Gerais da Cirurgia.

Orientador: Prof. Titular Jair Cortez Montovani

BOTUCATU
2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Moreira, Danielle Tavares Oliveira Campos.
Perfil audiológico e genético de pacientes com perda auditiva sensorioneural não sindrômica atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu - Universidade Estadual Paulista / Danielle Tavares Oliveira Campos Moreira. – Botucatu : [s. n.], 2011

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Jair Cortez Montovani
Capes: 40700003

1. Fonoaudiologia. 2. Deficientes auditivos. 3. Surdez – Diagnóstico.

Palavras-chave: Conexina 26; Deficiência auditiva não sindrômica; Gene GJB2.

Dedicatória

Aos meus pais, *Waldir e Pretinha*, dádivas de Deus que me foram ofertadas.
Obrigada por terem me ensinado os verdadeiros alicerces da vida:
Fé, Esperança e Amor!

Ao meu marido, *Érico Vinícius*, benção de Deus, amor eterno.
Obrigada pelo amor dedicado: incondicional e perfeito!

Ao meu querido irmão, *Diego*, presente de Deus!
Obrigada pelo incentivo constante e por sempre dizer: tudo vai dar certo!

Agradecimentos

À *Deus* pelo fortalecimento espiritual e proteção, sem *Ti* nada seria...

Ao *Prof. Dr. Jair Cortez Montovani* pela orientação deste trabalho, pela amizade e por me proporcionar mais esta oportunidade.

A todos os *Membros da Banca* pela disponibilidade e atenção dispensadas.

À Fonoaudióloga e amiga *Daniela Polo Camargo da Silva* pelo incentivo, apoio, descontração e torcida para a finalização deste trabalho! Deu certo!

À Fonoaudióloga e amiga *Priscila Suman* pelas palavras de apoio e pelos momentos de reflexão compartilhados...

À Enfermeira *Silvia Marques de Almeida*, às Auxiliares de Enfermagem *Zelma S. M. S. Rossi e Genessi de Arruda Costa*, por tornarem possível a realização deste trabalho de maneira tão leve e agradável.

Às Secretárias, *Cínthia Scolástico Cecílio*, *Nilse* Ribeiro da Silva e *Luana Amaral* pelo carinho e dedicação.

A todos os professores do presente e do passado que me proporcionaram conhecimento e crescimento profissional.

À minha prima *Elisabete Theodoro* pelo profissionalismo e dedicação a este trabalho.

Aos funcionários da Pós Graduação e Biblioteca pela gentileza dispensada em todos os momentos.

A todos os pacientes e seus parentes que participaram deste estudo, sem vocês nada aconteceria.

Às minhas titias queridas e corujas, *Eurides Tavares*, *Wilma Alves e Aparecida Theodoro*, obrigada pela torcida!

À CAPES pelo apoio financeiro concedido durante esta jornada.

A todos que direta ou indiretamente participaram da realização deste trabalho.

Epígrafe

O segredo é não correr atrás das borboletas...

É cuidar do jardim para que elas venham até você.

Mário Quintana

Índice

Resumo..... 14

Summary..... 17

Lista de Abreviaturas e Siglas..... 20

Lista de Figuras..... 23

Lista de Quadros..... 25

1. Introdução..... 27

2. Revisão de Literatura..... 37

3. Objetivos..... 47

3.1. Objetivo Geral..... 48

3.2. Objetivos Específicos..... 48

4. Casuística e Métodos..... 49

4.1. Aspectos Éticos..... 50

4.2. Desenho e Local de Estudo..... 50

4.3. Participantes..... 51

4.3.1. Elegibilidade dos Critérios Clínicos..... 51

4.4. Casuística..... 51

4.5.Métodos..... 52

4.5.1. Anamnese..... 53

4.5.2. Exame Médico/Otorrinolaringológico..... 53

4.5.3. Exames Audiológicos..... 53

4.6. Avaliação Genética..... 59

5. Análise Estatística..... 64

6. Resultados..... 66

6.1. Caracterização da Casuística..... **67**

6.2. Caracterização dos Exames Audiológicos..... **68**

6.2.1. Timpanometria..... **68**

6.2.2. EOET e EOEPD..... **68**

6.2.3. Audiometria Tonal Liminar..... **69**

6.3. Caracterização da Avaliação Genética..... **70**

7. Discussão..... **74**

8. Conclusões..... **80**

9. Referências Bibliográficas..... **82**

10. Anexos..... **91**

Resumo

Introdução: A deficiência auditiva é o déficit sensorial mais comum e tem dentre as suas diferentes etiologias as alterações genéticas. Mutações na conexina 26 são comuns, e uma mutação específica no gene GJB2 é a 35delG, a mais encontrada na deficiência auditiva hereditária não sindrômica. **Objetivos**: Investigar a ocorrência da mutação 35delG, em pacientes com deficiência auditiva sensorioneural não sindrômica (DASNNS) e de seus parentes em primeiro grau com o mesmo tipo de disacusia assim como naqueles com audição dentro dos padrões de normalidade. **Casuística e Métodos:** Participaram do estudo 72 indivíduos, atendidos no Serviço de Saúde Auditiva do Centro de Reabilitação dos Distúrbios da Audição e Comunicação (CERDAC), do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu- UNESP. Estes indivíduos foram divididos em três grupos - Grupo A: 58 casos com DASNNS; Grupo B: 09 casos (parentes em primeiro grau do grupo A) com DASNNS e Grupo C: 05 indivíduos parentes em primeiro grau do grupo A com audição dentro dos padrões de normalidade. Todos foram submetidos à avaliação audiológica e investigação genética para o rastreamento da mutação 35delG. **Resultados:** 67 casos apresentaram deficiência auditiva sensorioneural não sindrômica (DASNNS) - Grupos A e B, e 05 indivíduos com audição dentro dos padrões de normalidade (Grupo C). Quanto às mutações 35delG encontradas, quatro foram mutações em heterozigose, três delas encontradas em uma mesma família: pai (38anos), mãe (28 anos) e filho (05 anos) afetados. Nesta família, os pais eram ouvintes normais e o filho apresentou DASNNS pré-lingual de grau grave bilateral. A outra mutação em heterozigose foi

encontrada em paciente do sexo feminino, 38 anos, com DASNNS pré-lingual de grau moderado bilateral. A única mutação em homozigose foi em um paciente do sexo masculino, 20 anos, com DASNNS pré-lingual de grau grave do lado direito e profundo do lado esquerdo. **Conclusões**: Foi possível investigar a mutação na população estudada; a pesquisa da mutação 35delG mostrou-se de fácil realização e custo acessível; há necessidade de investigação de outros genes vinculados à perda auditiva; o aconselhamento genético deve contemplar seus princípios éticos.

Palavras Chave: Conexina 26; Deficiência Auditiva Não Sindrômica; Gene GJB2.

Summary

Introduction: Hearing impairment is the most common sensory deficit and has among its different etiologies the genetic disorders. Mutations in connexin 26 are common and a specific mutation in the gene GJB2 is the 35delG, the most commonly found in hereditary non-syndromic deafness. **Objectives:** To investigate the occurrence of the 35delG mutation in patients with non-syndromic sensorineural hearing loss (NS-SNHL) and their first-degree relatives with the same type of hearing loss as well as those with normal hearing. **Methods:** The study included 72 patients from the Division of Hearing Health of the Hearing and Communication Disorders Rehabilitation Center (CERDAC), Botucatu Medical School Hospital, UNESP. These individuals were divided into three groups - Group A: 58 cases with NS-SNHL, Group B: 09 cases (first-degree relatives of group A) with NS-SNHL and Group C: 05 cases with normal hearing, first-degree relatives of patients from group A. All patients were submitted to audiologic evaluation and genetic testing of the 35delG mutation. **Results:** 67 patients had non-syndromic sensorineural hearing loss (NS-SNHL) - Groups A and B, and 05 individuals had normal hearing (Group C). As for 35delG mutations found, four were heterozygous mutations, three of them found in the same family: father (38 years old), mother (28 years old) and son (05 years old) affected. In this family, the parents had normal hearing and the child had severe pre-lingual NS-SNHL. The other heterozygous mutation was found in a female patient, 38 years old, with bilateral moderate pre-lingual NS-SNHL. A single homozygous mutation was found in a male patient, 20 years old, with a severe pre-lingual SNHL in

his right ear and a profound SNHL in his left ear. **Conclusions:** The study of the 35delG mutation was found to be easy to perform and inexpensive; it was possible to determine the frequency of the 35delG mutation in the studied group; it is necessary to investigate other genes related to hearing loss; genetic counseling should respect ethical principles.

Keywords: Connexin 26; Non-syndromic Hearing Loss; connexin 26; GJB2 gene.

Lista de Abreviaturas e Siglas

A1555G	Mutação
A7445G/tRNASer	Mutação
A827G	Mutação
ASPCR	"Allele Specific PCR"- Reação em Cadeia da Polimerase Alelo Específico
ATL	Audiometria Tonal Liminar
CBMEG	Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética
CERDAC	Centro de Reabilitação dos Distúrbios da Audição e Comunicação
CI	Caso Índice
Cx26	Conexina 26
Cx30	Conexina 30
DASNNS	Disacusia Sensorioneural Não Sindrômica
dB	Decibel
dBNa	Decibel Nível de Audição
dBNPS	Decibel Nível de Pressão Sonora
Del(GJB6-D1351830)	Deleção
Del(GJB6-D1351854)	Deleção
DFN	"Deafness" – Deficiência Auditiva
DFNA	Deficiência Auditiva Autossômica Dominante
DFNB	Deficiência Auditiva Autossômica Recessiva
DFNM	Deficiência Auditiva de Transmissão Mitocondrial
DLE	Diagnósticos Laboratoriais Especializados
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EOET	Emissões Otoacústicas Evocadas Transientes
EOEPD	Emissões Otoacústicas Evocadas por Produto de Distorção
FMB	Faculdade de Medicina de Botucatu
GJB2	"Gap Junction Beta-2 Protein"

GJB6	"Gap Junction Beta-6 Protein"
Hz	Hertz
ISSO	International Organization for Standardization
K^+	Íon Potássio
kDa	Kilodalton
kHz	Kilohertz
K168R	Mutação
MTRNR1	Gene Mitocondrial
OD	Orelha Direita
OE	Orelha Esquerda
OMS	Organização Mundial da Saúde
PANS	Perda Auditiva Não Sindrômica
PAS	Perda Auditiva Sindrômica
PEATE	Potencial Evocado de Tronco Encefálico
TORCH	Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus, Herpes e Sífilis
UNESP	Universidade Estadual Paulista
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
V/cm	Volume por Centímetro
WHA	World Health Assembly
W172X	Mutação
12SrRNA	Gene
35delG	Deleção de uma Base Guanina na posição 35 dos Nucleotídeos
ΔF508	Deleção
µl	Microlitro

Lista de Figuras

Figura 1 Curvas Timpanométricas tipo A, Ad, Ar, B e C respectivamente..... **54**

Figura 2 Exame de EOET presentes (orelha esquerda, paciente n° 8, grupo B) e EOET ausentes (orelha esquerda, paciente n° 66, grupo A)..... **55**

Figura 3 Exame de EOEPD presentes (orelha direita, paciente n° 8, grupo B) e EOEPD ausentes (orelha direita, paciente n° 66, grupo A)..... **56**

Figura 4 Exame ATL perda auditiva sensorioneural grave à direita e profunda à esquerda (paciente n° 66, grupo A)..... **58**

Figura 5 Foto documentação da análise molecular do gene GJB2..... **62**

Figura 6 Esquematização da análise molecular do gene GJB2..... **63**

Figura 7 Esquematização da análise molecular do gene GJB2..... **63**

Figura 8 Distribuição das orelhas direita (OD) e esquerda (OE) de acordo com a perda auditiva (PA) nos grupos A e B..... **70**

Figura 9 Foto documentação da análise molecular do gene GJB2 dos pacientes alterados (heterozigotos e homozigoto)..... **71**

Lista de Quadros

Quadro 1 Distribuição do número (N) e porcentagem (%) do sexo nos grupos..... **67**
Quadro 2 Estratificação etária nos grupos..... **67**
Quadro 3 Média com desvio padrão e mediana com amplitude interquartílica da idade nos grupos..... **67**
Quadro 4 Distribuição do número (N) e porcentagem (%) da raça nos grupos..... **68**
Quadro 5 Distribuição do número (N) e porcentagem (%) da época de aparecimento da perda auditiva nos grupos A e B..... **68**
Quadro 6 Distribuição do número (N) e porcentagem (%) das orelhas direita (OD) e esquerda (OE) de acordo com a presença e ausência das EOET nos grupos A, B e C..... **69**
Quadro 7 Distribuição do número (N) e porcentagem (%) das orelhas direita (OD) e esquerda (OE) de acordo com a presença e ausência das EOEPD nos grupos A, B e C..... **69**
Quadro 8 Distribuição do número (N) e porcentagem (%) de acordo com o rastreamento da mutação 35delG nos grupos A, B e C..... **70**
Quadro 9 Dados Clínicos dos 67 casos com deficiência auditiva sensorioneural (Grupos A e B) que foram submetidos à investigação genética da mutação 35delG..... **72**

1. Introdução

A deficiência auditiva é o déficit sensorial mais comum dentre as deficiências humanas, e pode ser considerada uma das mais devastadoras em relação ao convívio social do sujeito. Interfere diretamente no desenvolvimento da linguagem, fala, comunicação interpessoal e aprendizagem e pode trazer prejuízos no desenvolvimento escolar e profissional da população afetada[1]. Nos adultos, o impacto desse tipo de deficiência pode associar-se à depressão, isolamento social, baixa autoestima e incapacidades funcionais, principalmente para aqueles que apresentam a perda e não foram tratados ou sequer avaliados[2].

A OMS estima que cerca de 10% da população de qualquer país em tempo de paz possui algum tipo de deficiência, assim distribuídas: 5% de deficiência mental; 2% de deficiência física; 1,5% de deficiência auditiva; 0,5% de deficiência visual e 1% de deficiência múltipla[3]. Com base nesses percentuais, estima-se que, no Brasil, existam milhões de pessoas deficientes (Brasil, 1995)[3], sendo 2.459.214 deficientes auditivos[4].

A incidência de deficiência auditiva congênita no mundo é estimada em 1:1000 recém-nascidos[5]. No entanto, estudos anteriores ressaltam que este número pode chegar até 3:1000 nativivos, na dependência da localidade estudada[6]. Em 1995 a World Health Assembly (WHA) estimou em 120 milhões o número de deficientes auditivos no mundo e em 2,2% a prevalência na população mundial[7].

Segundo Gomes (2004)[8], estudos sobre prevalência de deficiência auditiva, principalmente em crianças, são geralmente realizados para perdas auditivas graves

e profundas, poucos enfocam perdas leves e moderadas. Neste sentido, Matkin e Wilcox (1999)[9] relataram que a prevalência de qualquer tipo e grau de deficiência auditiva, incluindo as unilaterais, poderia chegar a 12:1000 sujeitos.

A deficiência auditiva pode ser causada por vários fatores e em cerca de 50% dos casos, ela é atribuída a "causas desconhecidas" ou referida como idiopática[10].

No Brasil, a surdez devido a causas ambientais é predominante (67%): causas pré-natais (rubéola, sarampo, citomegalovírus, drogas), perinatais (hipóxia pós natal, *Kernicterus*) e pós-natais (infecções, meningites, drogas ototóxicas); a proporção de casos de surdez hereditária é de 15% e os casos de etiologia não esclarecida de 18%[11].

Acredita-se que 60% dos casos de surdez pré-lingual tenham bases genéticas[12]. Além disso, 1:1000 crianças tornam-se surdas após a aquisição da linguagem, ou seja, no período pós-lingual, formas essas que são frequentemente menos graves e progressivas[13].

A surdez, quando relacionada às causas hereditárias, pode apresentar-se de forma isolada e é referida como perda auditiva não sindrômica (PANS) ou associar-se a outras anomalias congênitas, entre as quais malformações craniofaciais ou cervicais, displasias esqueléticas, anomalias cutâneas ou oculares, doenças neurológicas e disfunções renais ou metabólicas, desta forma é referida como perda auditiva sindrômica (PAS). Aproximadamente 30% dos casos de deficiência auditiva pré-lingual geneticamente determinada são sindrômicos e 70% não sindrômicos[14].

Estima-se que mais de 100 genes possam estar envolvidos na determinação da surdez genética não sindrômica[15] e, segundo Finsterer e Fellinger (2005)[16], acredita-se que 300 a 500 genes estejam associados à audição.

Quanto às formas de transmissão da PANS, convencionou-se denominar as diferentes localizações cromossômicas das formas de surdez genética com a sigla DFN (proveniente do inglês *DeaFNess*), acrescidas da letra A (DFNA) quando padrão de herança dominante, letra B (DFNB) quando padrão de herança recessiva, letra M (DFNM) para a disacusia mitocondrial e apenas DFN para a surdez de transmissão ligada ao X. Após as letras há um número inteiro, indicando a ordem da descoberta do gene[17].

Aproximadamente, 80% dos genes que causam a surdez genética não sindrômica são associados à herança autossômica recessiva, 15% à herança autossômica dominante, 1 a 3% ligados ao cromossomo X e 0,5 a 1% ligados a mutações mitocondriais[18].

As PANS de padrão de transmissão recessivo são caracterizadas por perdas sensorioneurais, pré-linguais, de grau grave ou profundo, enquanto que as de padrão de transmissão dominante podem ser condutivas, sensorioneurais ou mistas, pós linguais e de caráter progressivo[19].

Acredita-se que haja até 150 diferentes *loci* genéticos envolvidos na deficiência auditiva não sindrômica recessiva. Gorlin (1995)[20] foi capaz de distinguir mais de 20 tipos de surdez não sindrômicas com base no mecanismo de herança,

idade de início, gravidade e características audiológicas. Até o momento, aproximadamente 77 *loci* foram mapeados, 39 para as formas autossômicas dominantes, 30 para as recessivas, 8 ligados ao cromossomo X. Dentre os *loci* mapeados, foram clonados 16 genes nucleares e 2 mitocondriais[21].

Em 1997, foi isolado e clonado o gene GJB2 ("gap junction protein, β2, 26 kDa"), o primeiro gene nuclear relacionado à surdez não sindrômica, ele codifica a síntese da proteína conexina 26 e está mapeado no cromosomo 13q11-q12[22]. As mutações nesse gene ocasionam dois tipos de surdez, a DFNA3 e DFNB1, ou seja, este gene está envolvido tanto em perdas auditivas genéticas não sindrômicas autossômica dominante quanto autossômica recessiva. A alta prevalência de mutações no gene GJB2 e sua facilidade de estudo possibilitam o diagnóstico de muitos pacientes com surdez sensorioneural[23].

Estudos imunocitoquímicos demonstraram que a conexina 26 está presente na cóclea a partir da 22ª segunda semana de desenvolvimento embrionário[24]. A proteína conexina 26 é indispensável ao funcionamento normal do ouvido interno, ela é componente estrutural das junções comunicantes intercelulares "gap junctions"[25], as quais formam canais entre as células, o que permite a passagem de íons e pequenos metabólitos. Inúmeras "gap junctions" estão presentes entre as células de suporte, tanto no aparelho vestibular quanto no epitélio sensorial do ouvido interno. No órgão de Corti da cóclea a Cx26 é a conexina predominante. As "gap junctions" estão presentes entre os fibrócitos no ligamento espiral que circula a

estria vascular, e entre esses fibrócitos e as células da espira basal. Durante o desenvolvimento coclear, a formação inicial, e o subsequente aumento de tamanho e número de “gap junctions” na estria vascular, coincidem com a geração inicial e o aumento do potencial endococlear. Estas e outras evidências sugerem que o papel das “gap junctions” na cóclea é o de propiciar um caminho para a passagem de íons para sustentar a endolinfa e, consequentemente a audição[26,27], ou seja, o ouvido humano é composto por uma estrutura complexa que requer um grande repertório de genes para orquestrar o processamento do som e a função vestibular em muitos níveis, inclui inervação neuronal, integridade estrutural e transdução mecanoelétrica[21].

Mutações na Cx26 poderão, portanto, alterar e/ou interromper esta circulação de íons: o transporte de k^+ entre as células é reduzido, assim como a reciclagem é diminuída, o que acarreta no aumento de k^+ no espaço perilinfático entre as células ciliadas e as de suporte. Essa interferência na reciclagem de K^+ durante a transdução auditiva resulta em funcionamento inadequado das células ciliadas e do potencial elétrico endococlear. Pode ocorrer morte destas células devido à despolarização crônica e outros mecanismos, o que resulta em surdez[28-30].

Dentre os casos de herança autossômica recessiva destaca-se a mutação 35delG que corresponde à perda de uma base de guanina na sequência de DNA do gene GJB2 na posição 35[31].

A mutação 35delG está presente em 80% dos casos em que o gene GJB2 está envolvido, o que faz com que a pesquisa desta mutação seja muito importante, visto que a presença dela em heterozigose pode ser encontrada em até 3% dos indivíduos em algumas populações[22].

Acredita-se que as mutações no gene GJB2 estejam envolvidas em 50% dos casos de surdez pré-lingual não sindrômica de herança autossômica recessiva, o que corresponde a 10% a 20% de todas as perdas auditivas sensorioneurais[32].

A frequência de portadores da mutação 35delG varia em diferentes países da Europa, entretanto, a incidência é maior nos países do Mediterrâneo: Itália em torno de 1:32, Portugal cerca de 1:40 e Espanha 1:45. Nos países Nórdicos a frequência é baixa 1:100. Se forem agrupadas as três populações européias do Mediterrâneo, das quais boa parte da população brasileira é descendente, verifica-se que a frequência média de heterozigotos para a mutação 35delG é de 1:42. Na população grega, a frequência de heterozigotos da mutação 35delG é de 3,5%[33].

Quando considera-se uma união aleatória de heterozigotos e a chance de 25% de descendentes afetados, temos que nessas regiões 1 a cada 5.069 crianças nasceriam surdas por homozigose da mutação 35delG (Gasparini et al., 2000)[22], frequência maior que a fenilcetonúria (1:10.000 a 1:20.000), detectada pelo “teste do pezinho”[34]. A mutação 35delG mostra-se mais frequente que a mutação predominante da fibrose cística, a ΔF508 (cerca de 2,3%), semelhante à da mutação mais comum do gene β-globina (IVS1-110→A), que causa a talassemia β[35].

Cohn et al. (1999)[36] não encontraram nenhum fenótipo auditivo consistente para alterações no locus DFNB1, a extensão da surdez determinada pela homozigose para a mutação 35delG é bastante variável: de leve/moderada à profunda, há ainda alguns casos de surdez progressiva. O aparecimento da mutação 35delG em heterozigose não faz com que o indivíduo seja necessariamente portador de deficiência auditiva[31]. Esta variabilidade sugere que outros fatores possam modificar os efeitos da mutação, possivelmente variações em outros genes de conexinas que possam compensar a conexina 26 na função coclear. Essas possíveis modificações dos efeitos da mutação poderiam também explicar o encontro de indivíduos surdos que são heterozigotos para mutação no gene GJB2 com apenas um dos alelos mutados[32].

Outras alterações genéticas que podem ser encontradas em portadores de surdez não sindrômica são deleções no gene da conexina 30 (GJB6-Cx 30), del(GJB6-D1351830) e del(GJB6- D1351854)[14], e também a mutação A1555G no gene mitocondrial 12SrRNA, relacionada a surdez por ototoxidade[37].

Segundo Piatto et al. (2005)[38], o interesse em estabelecer a prevalência e os tipos de mutações que causam a deficiência auditiva não sindrômica no Brasil, com contínuos estudos de amostras populacionais, permitirão a implantação de um programa de triagem neonatal genética em todo o país. Tal programa poderá levar a significativa redução em gastos médico hospitalares e a melhorias na atuação da saúde pública.

No Brasil, a vigência da Política Nacional de Atenção à Saúde Auditiva tem assegurado o atendimento ao deficiente auditivo em todos os níveis de complexidade[39]. Estas ações associadas à melhoria da atenção à saúde materno infantil devem aumentar progressivamente a frequência relativa dos casos de origem genética no Brasil[40].

Além do diagnóstico, tratamento e reabilitação dos sujeitos afetados pela perda auditiva de origem genética, essas ações devem incluir o aconselhamento como parte da conduta da equipe de profissionais de saúde que atendem o portador de deficiência auditiva e ou casal que planejam ter filhos, para permitir a tomada de decisões conscientes e equilibradas a respeito da procriação[21, 35, 41, 42].

A viabilidade e os benefícios de rastreamento de mutações no gene da conexina 26 começam agora a trazer mudanças na avaliação diagnóstica para identificação da etiologia da perda auditiva. Além dos exames audiológicos tradicionais como audiometria, imitanciometria, emissões evocadas otoacústicas e potenciais evocados auditivos de tronco encefálico, entre outros, as recentes descobertas da genética molecular mostram a importância da identificação precoce da perda auditiva por meio de estudos genéticos.

Embora haja vários estudos no Brasil sobre mutações no gene da conexina 26, especialmente da mutação 35delG, há dificuldades de interpretá-los pela miscigenação da população brasileira. Portanto, esperamos, com este estudo, contribuir com maiores informações sobre este assunto tão pertinente. Esperamos

também dar início a uma linha de pesquisa em surdez genética em nossa instituição a qual é referência em nossa região para o diagnóstico e tratamento de pacientes deficientes auditivos.

2. Revisão de Literatura

Sartorato et al. (2000)[43] em pesquisa da mutação 35delG, por meio da reação em cadeia da polimerase alelo específico (ASPCR), em 620 recém nascidos de uma cidade do interior do estado de São Paulo, região de Bragança Paulista, revelou a presença de 6 heterozigotos, o que permitiu estimar a frequência de aproximadamente 1:100. Os autores afirmaram que seus dados contribuem para a confirmação da utilização do teste genético para a mutação 35delG, não apenas na investigação de pacientes com perda auditiva pré-lingual não sindrômica, mas também como um complemento para triagem auditiva universal em todos os recém-nascidos.

Oliveira (2001)[44] realizou o rastreamento de mutações do gene GJB2 em 39 casos índice com surdez sensorioneural não sindrômica, tanto familial quanto esporádica, na região de Campinas, interior de São Paulo. Em 36 casos índice (grupo A) foi realizada avaliação clínica prévia para excluir ao máximo a possibilidade de origem ambiental. Dados clínicos e moleculares de outros três pacientes surdos com mutação na conexina 26 previamente diagnosticados (grupo B) também foram considerados. Doze casos índice, 10 originários do grupo A e 02 do grupo B, relataram pelo menos um parente de primeiro ou segundo grau afetado pela surdez; nenhum deles foi gerado por casal consanguíneo. No entanto, entre 27 casos índice com surdez esporádica, havia 03 com história de consanguinidade entre os genitores. Mutações no gene GJB2 foram identificadas em 8 famílias das 36 do grupo A (22%), já incluída a metade dos pacientes com surdez familial e 3 dos 26 casos

isolados (11,5%). A mutação 35delG foi encontrada em 84,2% (16:19) dos alelos mutados. A autora conclui que os resultados indicam que, na região estudada, assim como observado em outras populações, as mutações da conexina 26 sejam a principal causa da surdez de origem genética, sendo assim, esta deve ser pesquisada tanto em casos hereditários quanto em casos esporádicos de origem indefinida, de modo a possibilitar o aconselhamento genético e o diagnóstico precoce de novos casos que venham a surgir nessa família.

Pleilsticker et al. (2004)[42] investigaram a presença das mutações 35delG/GJB2, A1555G/12SeRNA e A7446G/tRNASer em 75 indivíduos com surdez de etiologia indefinida, num período de seis meses, atendidos na Disciplina de Otorrinolaringologia – Cabeça e Pescoço da UNICAMP, com o intuito de avaliar a influência destas informações na definição etiológica da deficiência auditiva. Os pesquisadores encontraram neste estudo seis mutações genéticas diferentes: quatro 35delG/GJB2, uma A7445G/tRNASer e uma W172X/GJB2 ainda não descrita na literatura. Os autores concluíram que a triagem das mutações genéticas é de fácil realização e custo acessível, e, que a mutação 35delG está potencialmente vinculada a alguns casos de perda auditiva não esclarecida, portanto, afirmaram que a pesquisa desta mutação deve ser incluída na bateria de exames de investigação etiológica da surdez indeterminada, uma vez que auxilia na elucidação da causa e possibilita, em caso de positividade, o aconselhamento genético.

Piatto et al. (2005)[38] avaliaram 223 recém-nascidos no Hospital de Base de São José do Rio Preto, em São Paulo, num período de um mês, a fim de realizar a análise molecular da mutação 35delG, no gene conexina 26, com a técnica da reação em cadeia da polimerase alelo específico, após a extração do DNA genômico de sangue do cordão umbilical. Identificaram nesta pesquisa cinco heterozigotos, obtiveram, portanto, a prevalência de 2,24% (1:44,6) de portadores da mutação 35delG, na população de estudo. Estes neonatos heterozigotos têm sido submetidos a avaliações audiométricas periódicas. Os pesquisadores concluíram que o uso do teste genético para a identificação da mutação 35delG pode facilitar o diagnóstico precoce diferencial entre os portadores sãos e as crianças com deficiência auditiva.

Nóbrega et al. (2005)[45] realizaram um estudo para comparar as principais causas de surdez em 200 crianças e adolescentes atendidos no Departamento de Otorrinolaringologia e de Distúrbios da Comunicação Humana da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) entre os períodos de 1990-1994 e 1994-2000. O estudo comparativo mostrou que causas como rubéola congênita, genética e de etiologia desconhecida tomaram mais tempo entre a suspeita e a confirmação da perda auditiva, para o período de 1990-1994, em comparação com 1994-2000. Rubéola congênita, causas genéticas, perinatais, meningite, consanguinidade e causas desconhecidas foram responsáveis por mais de 80% de todas as etiologias, em ambos os períodos. Quanto à surdez de etiologia genética, os autores verificaram que as frequências nos dois períodos variaram de 6,9 a 14%.

Oliveira (2005)[21] determinou a frequência de heterozigotos para a mutação 35delG por meio da utilização de DNA genômico extraído de manchas de sangue contidas em papel filtro, obtidas de 1.856 recém-nascidos em 10 cidades de diferentes regiões do Brasil. Esta mutação foi encontrada em 25 indivíduos (1,35%), o que representa uma frequência de 1:74 nascimentos. Não foi encontrada diferença significativa entre as regiões. A pesquisadora também referiu que o conhecimento da variação da frequência da mutação 35delG na população brasileira auxiliaria no aconselhamento genético e facilitaria a intervenção precoce apropriada de cada caso.

Bernardes et al. (2006)[23] averiguaram a incidência da mutação 35delG em crianças candidatas e submetidas ao implante coclear que tiveram a surdez diagnosticada como, supostamente idiopática. Este estudo foi realizado no Setor de Implantes Cocleares da Disciplina de Otorrinolaringologia e no Laboratório de Genética Humana-CBMEG, UNICAMP-SP. Foram avaliadas 32 crianças candidatas e usuárias de implante coclear, com perda auditiva sensorioneural grave a profunda bilateral. Para a detecção da mutação 35delG foi utilizada a técnica de PCR alelo-específico (AS-PCR), usou-se “primers” e reação em cadeia da polimerase: 22 apresentaram exame normal, 4 foram homozigotos e 6 casos foram heterozigotos. Segundo os autores, os dados obtidos confirmaram a alta prevalência da mutação 35delG no gene GJB2 em casos de perda auditiva sensorioneural não sindrômica bilateral profunda e também foi possível diagnosticar a causa da surdez em uma

parcela significativa de crianças. Concluíram que os dados reforçam a importância do estudo molecular em pacientes com surdez de origem supostamente idiopática, uma vez que esse exame possibilita esclarecer a etiologia da perda auditiva.

Piatto et al. (2007)[46] estudaram as características audiométricas de pacientes com mutações no gene da conexina 26 para se delinear uma correlação genótipo/ fenótipo, para isso analisaram as audiometrias tonais de 33 casos índice com surdez sensorioneural não sindrômica e de 8 familiares afetados. Foram realizados testes moleculares específicos para analisar mutações no gene da conexina 26. Encontraram as prevalências de 27,3% da mutação 35delG nos casos índice e de 12,5% nos familiares afetados. Em relação aos graus de perda, foram encontrados: 41,5% dos pacientes com grau profundo, 39% com grau grave e 19,5% com grau moderado, os pacientes homozigotos e heterozigotos para 35delG, com predomínio nos graus moderado / grave. Os pesquisadores concluíram que os dados audiométricos, associados ao diagnóstico molecular para a surdez, permitiram delinear uma correlação genótipo/ fenótipo em 10 pacientes com a mutação 35delG, no entanto, afirmaram que há a necessidade de um estudo multicêntrico para se verificar a real expressão fenotípica na população brasileira relacionada à mutação 35delG.

Christiani et al. (2007)[47] estudaram 49 pacientes surdos não sindrômicos com etiologias desconhecidas, a fim de determinar a prevalência das mutações genéticas nos genes GJB2 e GJB6 em pacientes submetidos à cirurgia de implante coclear. Os

estudos moleculares foram realizados utilizando reação em cadeia da polimerase e sequenciamento direto: 19 indivíduos apresentaram a mutação GJB2, uma nova mutação (K168R) foi incluída e um paciente homozigoto para o del(GJB6-D13S1830). Os autores afirmaram que esses resultados estabelecem que a triagem genética pode fornecer um diagnóstico etiológico e pode auxiliar no prognóstico após o implante coclear.

Magni (2007)[48] verificou a mutação 35delG (gene GJB2) e as deleções do gene GJB6, del(GJB6-D13S1830) e del(GJB6-D13S1854), em 156 portadores de perda auditiva sensorioneural bilateral, pré-lingual, não sindrômica, residentes na cidade de Curitiba (Sul do Brasil), selecionados de escolas para deficientes auditivos. A idade dos participantes foi de 13 meses a 42 anos, sendo 56% do sexo masculino. O DNA foi extraído de sangue periférico. Em 144 deficientes auditivos não consanguíneos, a frequência dos homozigotos para a mutação 35delG foi 20,14%, e dos heterozigotos foi 14,58%, sendo a frequência do alelo 35delG estimada em 27,43%. Entre os 21 heterozigotos também examinados para as deleções do gene GJB6, dois são heterozigotos compostos, um para a deleção del(GJB6-D13S1830) e outro para a deleção del(GJB6-D13S1854), cada um com uma frequência de 4,76%, neste grupo de heterozigotos. A autora afirma que os resultados concordam com alguns dos estudos já publicados, pois esses dados não revelaram diferenças significativas da expressividade fenotípica entre os três genótipos referentes à mutação 35delG,

considerando tanto o grau e a simetria da perda auditiva, bem como sua configuração.

Hoffman et al. (2008)[37] fizeram o estudo de caso, com o relato do perfil audiológico e genético de três irmãos, do sexo masculino, com idades de 3, 5 e 16 anos, portadores de deficiência auditiva não sindrômica. A avaliação audiológica mostrou perda auditiva sensorioneural bilateral, simétrica, grau moderado a moderadamente grave e configuração descendente acentuada para os três irmãos. Os achados da análise molecular mostraram que as duas crianças mais novas eram heterozigotas para a mutação 35delG no gene GJB2 e o mais velho não apresentava essa mutação. Os pesquisadores afirmaram que a associação das avaliações fonoaudiológicas e genéticas permitem o diagnóstico etiológico de perdas auditivas que a primeira vista são semelhantes, mas que não obedecem à mesma estrutura genética, o que leva a crer que os estudos moleculares deverão ser abrangentes, a fim de evitar diagnósticos precipitados que prejudiquem o aconselhamento genético.

Lélis et al. (2009)[49] identificaram a ocorrência da mutação 35delG e de fatores ambientais relacionados à perda auditiva em pacientes usuários de implante coclear, determinando o ganho funcional auditivo após o implante. Participaram do estudo seis voluntários, com idades de cinco a vinte e um anos. Foram estudadas as variáveis da identificação de fatores de risco para a perda auditiva no período pré-natal, perinatal e pós-natal. Pesquisou-se a ocorrência da mutação 35delG no gene da conexina 26. O ganho funcional devido ao implante foi avaliado com o estímulo

“tom puro”, em frequências moduladas de 250Hz, 500Hz, 1000Hz, 2000Hz, 3000Hz e 4000Hz. Na pesquisa de fatores ambientais, evidenciaram-se relatos de infecções do grupo TORCH (Toxoplamose, Rubéola, Citomegalovírus, Herpes e Sífilis), hipertensão materna, uso de abortivos, meningite, sarampo, oxigenoterapia e icterícia. O estudo genético revelou dois casos de mutação 35delG, um em homozigose e outro em heterozigose. O ganho funcional do implante coclear variou de 60 a 85dBNA. Concluíram, a partir dos dados obtidos, a existência de mutação 35delG e de fatores ambientais relacionados à perda auditiva, e que houve ganho funcional com o implante coclear, independente da causa relacionada à deficiência.

Cordeiro-Silva et al. (2010)[50] estudaram as mutações 35delG/GJB2 e del(GJB6-D13S1830) em portadores de deficiência auditiva sensorioneural, residentes no estado do Espírito Santo. Foram avaliados 77 indivíduos não relacionados, com perda auditiva sensorioneural de moderada a profunda. A mutação 35delG foi estudada por meio da técnica de PCR e a mutação del(GJB6-D13S1830) foi rastreada por meio da técnica de PCR multiplex: 88,3% apresentaram genótipo normal para as mutações estudadas, 1,3% foram heterozigotos compostos, 3,9% homozigotos para a mutação 35delG, 6,5% heterozigotos para 35delG/GJB2. A frequência do alelo 35delG/GJB2 e do alelo del (D13S1830/ GJB6) na amostra foi de 7,8% e 0,65%, respectivamente. Os dados confirmaram a existência das mutações estudadas nos casos de perda auditiva sensorioneural em uma população do Espírito Santo / Brasil. Os autores reforçaram a

importância do diagnóstico genético, o qual preconiza a intervenção precoce para as crianças afetadas e também o aconselhamento genético para as famílias.

Nivoli et al. (2010)[41] relacionaram os diagnósticos audiológico e etiológico de 8.974 recém-nascidos. Estes recém-nascidos foram triados auditivamente por meio das emissões otoacústicas transientes e também foram realizados testes genéticos para a mutação 35delG. Além disso, as mutações A1555G e A827G no gene mitocondrial MTRNR1 também foram rastreadas: 17 indivíduos falharam nas emissões otoacústicas, destes, foram detectados quatro recém-nascidos homozigotos para a mutação 35delG e três indivíduos com mutação A827G no gene mitocondrial MTRNR1. A frequência de portadores da mutação 35delG foi de 0,94% (84:8.974) neste estudo. Os pesquisadores afirmaram que esses resultados podem contribuir muito para a área de saúde pública, pois indicam o diagnóstico etiológico, o que permite o aconselhamento familiar, bem como o tratamento de reabilitação precoce ou intervenção cirúrgica.

3. Objetivos

3.1. *Objetivo Geral*

Identificar a ocorrência da mutação 35delG no gene GJB2 em pacientes com deficiência auditiva sensorioneural não sindrômica (DASNNS) do Serviço de Saúde Auditiva do Centro de Reabilitação dos Distúrbios da Audição e Comunicação (CERDAC), do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

3.2. *Objetivos Específicos*

3.2.1. Identificar a ocorrência da mutação 35delG em parentes em primeiro grau, dos pacientes com DASNNS, com o mesmo tipo de deficiência auditiva.

3.2.2 Identificar a ocorrência da mutação 35delG em parentes em primeiro grau, dos pacientes com DASNNS, que apresentem audição dentro dos padrões de normalidade.

4. Casuística e Métodos

4.1 Aspectos Éticos

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), processo nº 3333-2009 (Anexo I).

Os pacientes que fizeram parte deste estudo foram incluídos somente após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e, quando menores de idade, sob permissão de seus pais ou responsáveis legais. Foi enfatizado que a recusa em não participar da pesquisa não prejudicaria o atendimento em nossa instituição e todos os direitos assistenciais estariam preservados (Anexos II e III).

4.2 Desenho e Local do Estudo

Estudo clínico com corte temporal transversal.

O estudo e os dados do trabalho foram coletados no Centro de Reabilitação dos Distúrbios da Audição e Comunicação (CERDAC), do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, no período de novembro de 2009 a maio de 2011.

A inclusão do indivíduo com DASNNS foi realizada a partir do diagnóstico da perda auditiva, independente da idade em que ele foi feito, desde que atendessem aos critérios de elegibilidade abaixo descritos.

4.3 Participantes

4.3.1 Elegibilidade dos Critérios Clínicos

Satisfazer ao menos um dos critérios abaixo relacionados com a deficiência auditiva sensorioneural não sindrômica (DASNNS):

- Congênita pré e/ou pós lingual;

- Sem diagnóstico etiológico definido;

- Sem indicadores de risco, tais como intercorrências gestacionais e neonatais (doenças infecciosas, hipóxia neonatal, hiperbilirrubinemia, diabetes gestacional e uso de drogas ototóxicas);

- Com recorrência familial.

4.4 Casuística

Foram convidados a participar do estudo 81 pacientes com deficiência auditiva sensorioneural não sindrômica, por meio de informações e esclarecimentos fornecidos pela pesquisadora durante o processo de diagnóstico audiológico realizado no CERDAC, Serviço de Saúde Auditiva do HCFMB/UNESP. Desses pacientes, 36 (44,5%) eram do sexo masculino e 45 (55,5%) do sexo feminino, a idade variou de 01 a 73 anos.

Dentre os 81 pacientes sob investigação audiológica em nossa Instituição no início do estudo, 23 foram excluídos (Anexo IV); com isso restaram 58 pacientes participantes com deficiência auditiva sensorioneural não sindrômica. A exclusão dos

pacientes foi devido ao não comparecimento aos atendimentos médico, fonoaudiológico ou para coleta de sangue. Quando os pacientes não compareciam eram reconvocados para as consultas por telefonema (N= 7) e carta (N= 16) pela pesquisadora e também pelo Serviço Social da Instituição e, mesmo assim, 23 indivíduos não atenderam à convocação.

Dos 58 casos com deficiência auditiva sensorioneural não sindrômica, 39 (67,3%) eram pré-linguais e 19 (32,7%) pós-linguais; 25 (43,1%) eram do sexo masculino e 33 (56,9%) do sexo feminino, a idade variou de 01 a 73 anos (Grupo A).

Durante a anamnese foram identificados 09 casos (parentes em primeiro grau do grupo A) com deficiência auditiva sensorioneural não sindrômica, sendo 03 pré-linguais e 06 pós-linguais; 03 (33,3%) do sexo masculino e 06 (66,7%) do sexo feminino e idades entre 08 a 58 anos (Grupo B).

Outros 05 indivíduos também foram estudados por serem parentes em primeiro grau dos indivíduos do grupo A e, por somente eles terem audição dentro dos padrões de normalidade na família, destes 01 (20%) do sexo masculino e 04 (80%) do sexo feminino, com idades entre 13 e 38 anos (Grupo C).

Portanto, ao final, foram estudados 72 indivíduos (Grupos A, B e C).

4.5 Métodos

A avaliação consistiu em anamnese, exame otorrinolaringológico, exames auditivos e investigação genética.

4.5.1 Anamnese

Cada paciente foi submetido a uma entrevista para a investigação do início da perda auditiva, presença de outros casos na família e também para a exclusão de fatores ambientais relacionados à deficiência auditiva, tais como infecções materno-infantis, complicações perinatais, meningite, drogas ototóxicas, trauma acústico (Anexo V).

4.5.2 Exame Médico/Otorrinolaringológico

O exame médico/otorrinolaringológico foi realizado para se excluir doenças sistêmicas e otológicas, inclusive para excluir formas sindrômicas de deficiência auditiva, bem como doenças da orelha média. Quando necessário foi realizada a otomicroscopia.

4.5.3 Exames Audiológicos

Todos os equipamentos estavam devidamente calibrados, segundo a norma ISO[51].

Os exames audiológicos foram realizados sempre pela mesma fonoaudióloga, a pesquisadora do estudo, na sequência descrita a seguir, os resultados foram anotados em protocolo específico (Anexo VI).

1°- Timpanometria

O imitanciômetro utilizado foi o Zodiac-901 Madsen, *Otometrics/Dinamarca.*

A timpanometria foi realizada com a finalidade de verificar o grau de

mobilidade do sistema tímpano-ossicular decorrente da variação de pressão do ar no meato acústico externo, ou seja, para verificarmos as condições da orelha média, caso houvesse alteração, o que acarretaria em resultados falso-negativos nos exames de Emissões Otoacústicas Transientes e por Produto de Distorção. É um exame muito rápido e não exigiu participação ativa do paciente.

De acordo com a classificação proposta por Jerger (1970)[52] há cinco tipos de timpanogramas:

1- Tipo A: mobilidade normal do sistema tímpano ossicular.

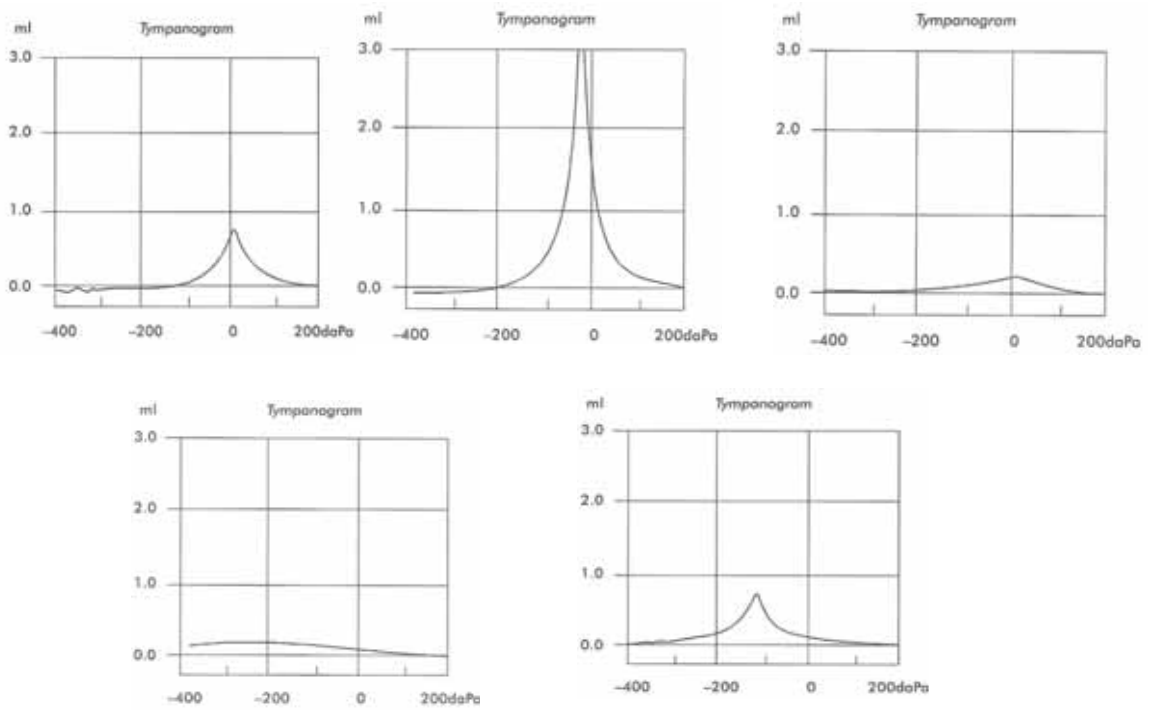
2- Tipo Ad: hipermobilidade do sistema tímpano ossicular.

3- Tipo Ar: baixa mobilidade do sistema tímpano ossicular.

4- Tipo B: ausência de mobilidade do sistema tímpano ossicular.

5- Tipo C: pressão de ar da orelha média desviada para pressão negativa.

Figura 1. Curvas Timpanométricas tipo A, Ad, Ar, B e C respectivamente[53].



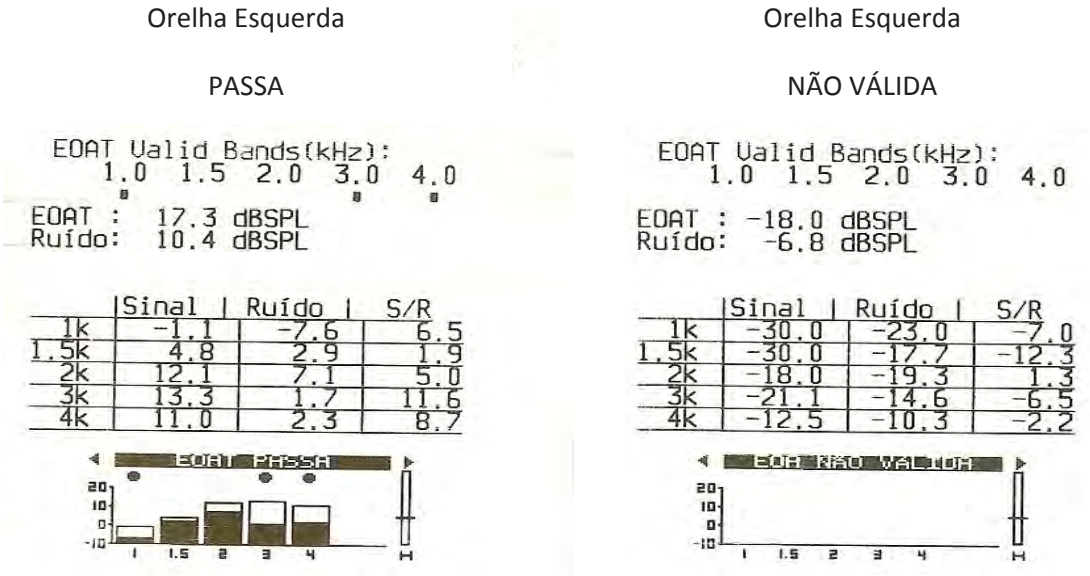
2°- Emissões Otoacústicas Evocadas Transientes (EOET)

O equipamento utilizado foi o Otoport, *Otodynamics/ Inglaterra.*

As EOET verificam a funcionalidade das células ciliadas externas, são geralmente evocadas por estímulo acústico breve e que abrange ampla gama de frequências (clique), o que permite a estimulação da cóclea como um todo. As frequências avaliadas foram: 1; 1,5; 2; 3 e 4kHZ, com cliques com pico de até 84 dB.

O exame foi realizado em ambiente tratado acusticamente. As EOET foram consideradas presentes quando a reprodutibilidade foi > 50% e relação sinal-ruído (S/R) >03 dB em pelo menos três frequências[54].

Figura 2. Exame de EOET presentes (orelha esquerda, paciente nº 8, grupo B) e EOET ausentes (orelha esquerda, paciente nº 66, grupo A).



3°- Emissões Otoacústicas Evocadas – Produto de Distorção (EOEPD)

O equipamento utilizado foi o Otoport, *Otodynamics/Reino Unido*.

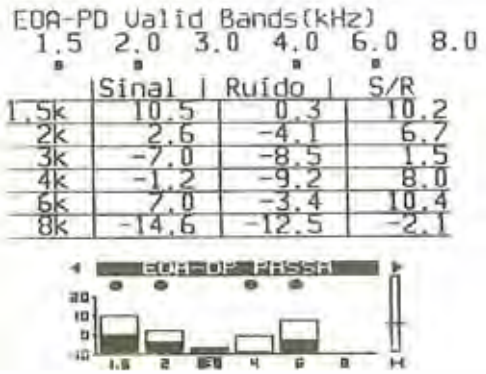
As EOEPD verificam a funcionalidade das células ciliadas externas, são complementares às EOET, visto que verificam o estado coclear em frequências mais altas e aparecem presentes em perdas auditivas de grau leve ao moderado. As EOEPD são geradas pela cóclea, evocadas por dois tons puros (f1 e f2) apresentados simultaneamente com frequências sonoras muito próximas (f2/f1= 1,22).

As frequências avaliadas foram: 1,5; 2; 3; 4; 6 e 8kHZ, com Produto de Distorção F1=F2=70 dBNPS. As EOEPD foram consideradas presentes quando a reprodutibilidade > 50% e S/R >06 dB em pelo menos quatro frequências[55].

Figura 3. Exame de EOEPD presentes (orelha direita, paciente nº 8, grupo B) e EOEPD ausentes (orelha direita, paciente nº 66, grupo A).

Orelha Direita

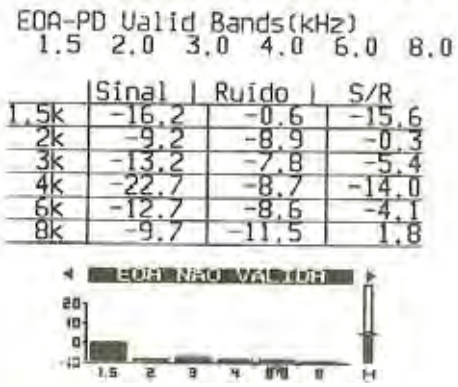
PASSA



	Sinal	Ruído	S/R
1,5k	10.5	0.3	10.2
2k	2.6	-4.1	6.7
3k	-7.0	-8.5	1.5
4k	-1.2	-9.2	8.0
6k	7.0	-3.4	10.4
8k	-14.6	-12.5	-2.1

Orelha Direita

NÃO VÁLIDA



	Sinal	Ruído	S/R
1,5k	-16.2	-0.6	-15.6
2k	-9.2	-8.9	-0.3
3k	-13.2	-7.8	-5.4
4k	-22.7	-8.7	-14.0
6k	-12.7	-8.6	-4.1
8k	-9.7	-11.5	1.8

4°- Audiometria Tonal Liminar (ATL)

O audiômetro utilizado foi o AD229b, *Interacoustics/ Dinamarca*.

A audiometria foi realizada para mensurar, em uma determinada faixa de frequência, o limiar auditivo do sujeito, ou seja, a menor intensidade do estímulo acústico em que ele é capaz de ouvir.

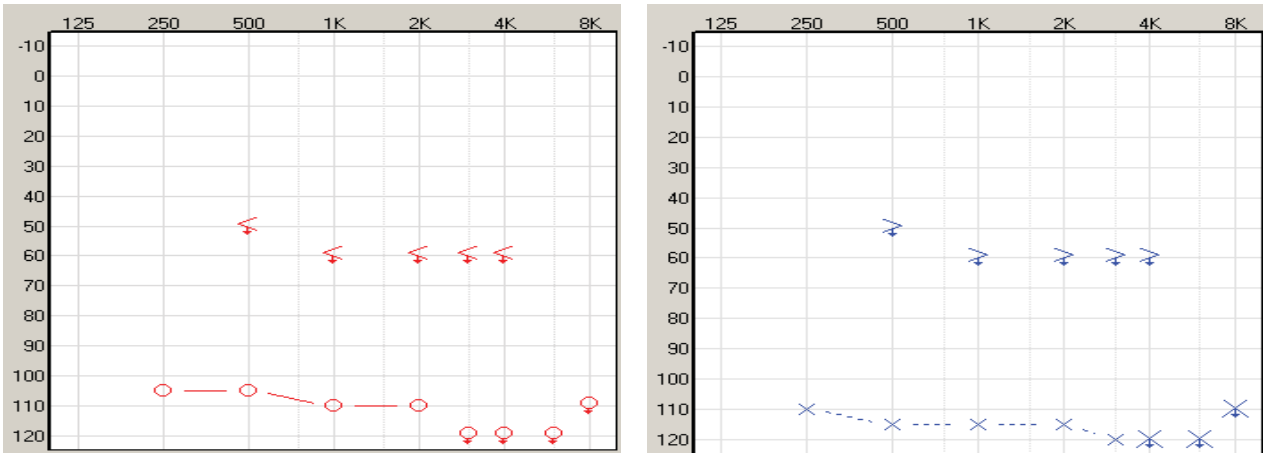
O tipo de estímulo acústico utilizado foi o tom puro e, em casos de queixa de zumbido com *pitch* semelhante ao tom puro, utilizou-se o *warble*. A faixa de frequência avaliada foi de 250 a 8000 Hz.

A classificação da perda auditiva é realizada de acordo com o tipo, grau e configuração audiométrica. A classificação adotada neste estudo para classificar o tipo da perda auditiva foi proposta por Silman e Silverman (1997)[56]: condutiva (limiares de via óssea menores ou iguais a 15 dBNa e limiares de via aérea maiores do que 25 dBNa, com intervalo aéreo ósseo maior ou igual a 15 dB); sensorioneural (limiares de via óssea maiores do que 15 dBNa e limiares de via aérea maiores do que 25 dBNa, com intervalo aéreo ósseo até 10 dB); mista (limiares de via óssea maiores do que 15 dBNa e limiares de via aérea maiores do que 25 dBNa, com intervalo aéreo ósseo maior ou igual a 15 dB).

Quanto ao grau da perda auditiva adotou-se a classificação de Lloyd e Kaplan (1978)[57]: audição normal (≤ 25 dBNa), perda auditiva de grau leve (26-40 dBNa), perda auditiva de grau moderado (41-55 dBNa), perda auditiva de grau

moderadamente grave (56-70 dBNa), perda auditiva de grau grave (71-90 dBNa) e perda auditiva de grau profundo (≥ 91 dBNa).

Figura 4. Exame ATL perda auditiva sensorioneural profunda à direita e profunda à esquerda (paciente nº 31, grupo A).



- Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico (PEATE)

Os resultados e informações deste exame somente foram coletados dos registros médico e fonoaudiológico presentes nos prontuários daqueles pacientes em que a ATL não foi realizada em virtude da idade e/ou impossibilidade dos mesmos em responder sistematicamente ao exame. Essas informações foram anotadas em um protocolo individual (Anexo VI).

A equipe responsável pelo exame utilizou o equipamento EP – 15 – Eclipse, *Interacoustics/Dinamarca*. O critério utilizado para validar as respostas do PEATE foi

o registro e valores das latências absolutas das ondas I, III e V e das latências interpicos I – III, III – V e I – V, cujos valores foram padronizados pela própria equipe, após o estudo normativo em indivíduos voluntários, sem queixas auditivas e com avaliação otorrinolaringológica normal[58].

4.6 Avaliação Genética

O "teste da surdez genética" – rastreamento da mutação 35delG no gene GJB2 do cromossomo 13q11 consiste em ampliar a região do gene conexina 26 por meio de uma reação em cadeia de polimerase. É, portanto, verificado se a região apresenta a mutação mais frequente nos casos de surdez de origem genética, ou seja, a mutação 35delG, a qual ocorre no braço longo do cromossomo 13. É um chamado "hot spot" do gene, um lugar suscetível a alterações, provavelmente por causa da deleção da base guanina; é um teste seguro e rápido[31].

A análise molecular do gene GJB2 foi realizada a partir de método patenteado por pesquisadores ligados à UNICAMP para extração do DNA em papel filtro e realização da técnica PCR (reação em cadeia de polimerase)[59] para a identificação da mutação 35delG pelo laboratório DLE (Diagnósticos Laboratoriais Especializados), situado na Av. Nossa Senhora de Copacabana, 1018, 7º andar, Copacabana, Rio de Janeiro/RJ, CEP 22.060-002, tel. (21) 3299-3000.

As amostras de sangue foram coletadas, armazenadas e enviadas para análise, seguindo os critérios propostos pelo laboratório: limpeza do local da punção com

álcool, puncionamento e coleta do sangue, sendo que este devia ser colocado no cartão fornecido para tal. Este cartão é um papel filtro específico, com 05 círculos delimitados, o sangue tinha que preenchê-los e transpassar para o outro lado. Após a coleta, o cartão era deixado para secar em temperatura ambiente durante mais ou menos 1 hora, e depois colocado na geladeira, envolvido em saco plástico ou papel laminado para a proteção da amostra. Este procedimento foi realizado pela equipe de enfermagem do CERDAC HCFMB-UNESP (Anexo VII).

Todas as amostras foram enviadas para a análise por sedex em envelope plástico específico, chamado de Biopost, também fornecido pelo laboratório.

Para a realização das análises foram utilizados o Termocilclador Applied Biosystem modelo Gene Amp 9700, cuba para eletroforese modelo FISHER e fonte de energia FISHER, além do transiluminador modelo Biorad.

Antes da extração do DNA, dois picotes de 3,0 mm de cada paciente foram destacados e separados para então proceder à extração do DNA. Ao final do processo de extração, o DNA alvo permaneceu ligado ao papel filtro, todos os restos celulares e outros possíveis inibidores da reação foram retirados. Para a realização da PCR, foram montadas duas reações em separado, uma com “primers” (iniciadores) específicos para o padrão normal e outra com “primers” especialmente desenhados para a identificação da mutação estudada. As reações foram preparadas em volume de 30µl e foram empregados controles positivo e negativo para a validação de rotina. Os produtos de amplificação foram submetidos à eletroforese

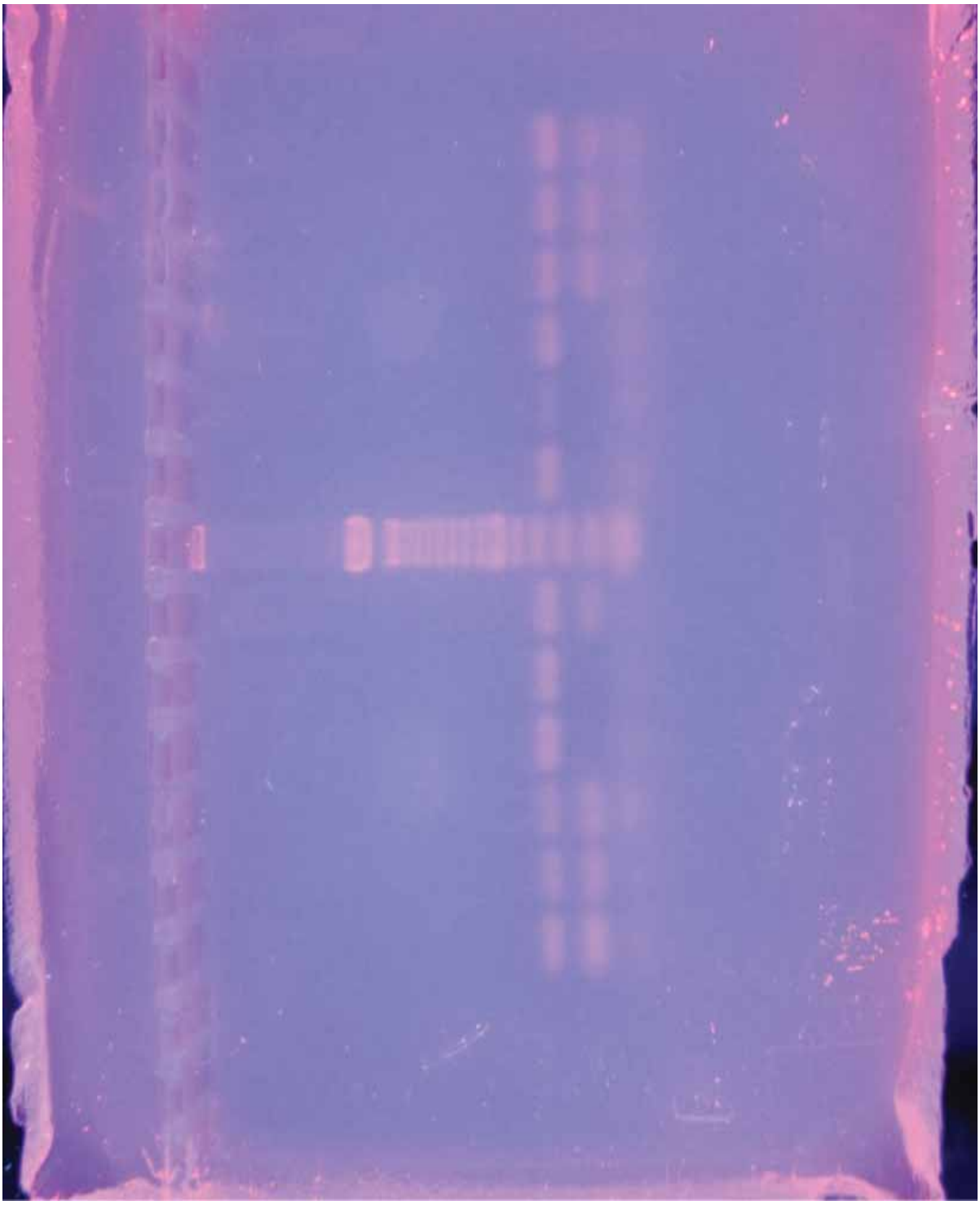
em gel de agarose 1,5% com tampão TBE 1 X, à 9 V/ cm. Paralelamente, um marcador de tamanho de fragmento foi usado como parâmetro para a corrida eletroforética.

Os alelos de cada amostra foram identificados visualmente pela exposição a raios UV após a coloração com Brometo de Etídeo. Os laudos das análises foram descritos em relatório disponibilizado pelo laboratório DLE da seguinte maneira:

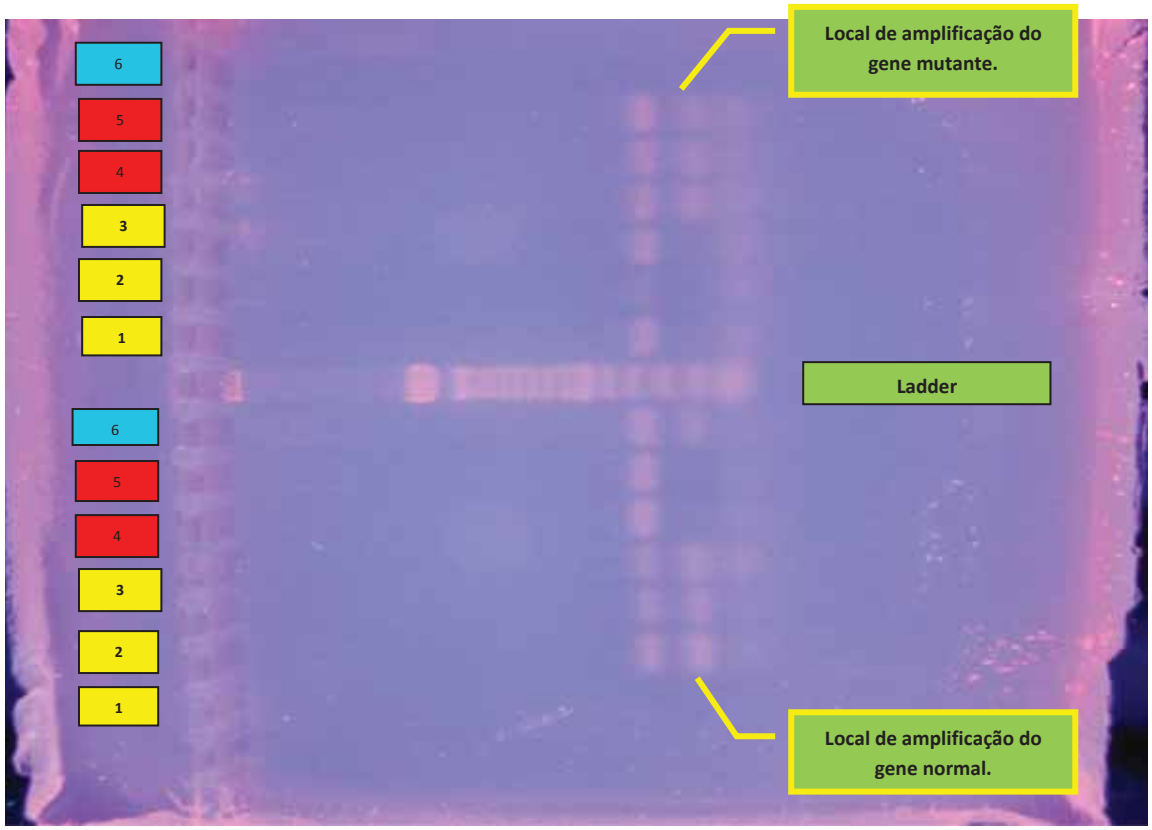
- normal: quando a mutação 35delG estava ausente;

-alterado: nas situações em que havia a presença da mutação 35delG em heterozigose ou mutação 35delG em homozigose.

Figura 5. Foto documentação da análise molecular do gene GJB2.

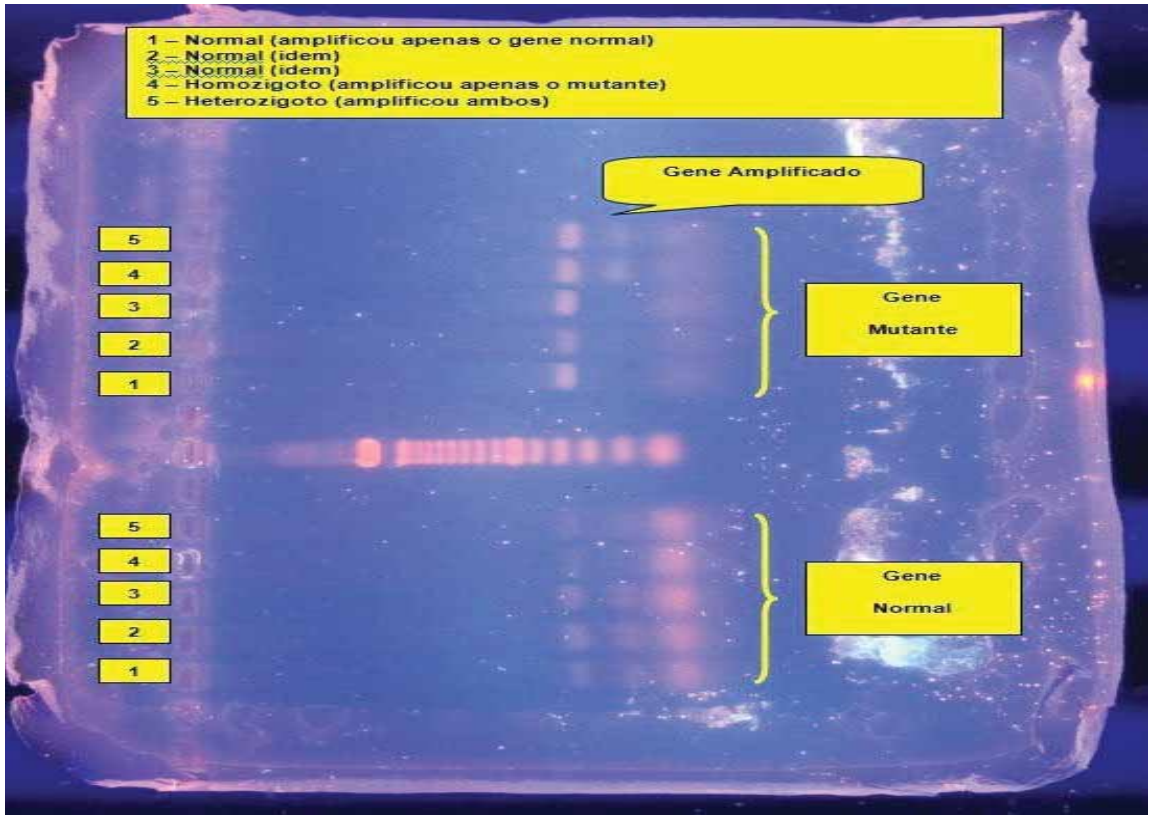


Figuras 6 e 7. Esquematização da análise molecular do gene GJB2.



1 Paciente normal 2 Paciente Normal 3 Paciente Normal

4 Paciente Homozigoto 5 Controle Homozigoto 6 Controle Heterozigoto



5. Análise Estatística

Os dados foram submetidos a uma análise descritiva, sendo que para as varíáveis qualitativas, tais como sexo, raça e exames audiológicos foram calculadas as porcentagens dentro de cada grupo e para os dados ordinais como a variável idade foi calculada a média com desvio padrão e mediana com amplitude interquartílica.

Para melhor visualização da variável idade foi realizada um estratificação por faixa etária abrangendo os três grupos: A, B e C.

6. Resultados

6.1 Caracterização da Casuística

Os resultados a seguir serão apresentados de acordo com as variáveis estudadas em cada grupo.

Quadro 1. Distribuição do número (N) e porcentagem (%) do sexo nos grupos.

	Sexo			
	Feminino		Masculino	
Grupos	N	%	N	%
A	33	56,9	25	43,1
B	6	66,7	3	33,3
C	4	80	1	20
Total	43	59,7	29	40,3

Quadro 2. Estratificação etária dos indivíduos.

	Grupos					
	A		B		C	
Faixa Etária (anos)	N	%	N	%	N	%
0 – 1	1	1,7	-	-	-	-
1 – 9	10	17,3	1	11,1	-	-
10 – 19	11	19	1	11,1	1	20
20 – 29	9	15,5	-	-	3	60
30 – 39	13	22,4	1	11,1	1	20
40 – 49	5	8,6	3	33,35	-	-
50 – 59	5	8,6	3	33,35	-	-
60 – 69	3	5,2	-	-	-	-
70+	1	1,7	-	-	-	-
Total	58	80,5	9	12,5	5	7

Quadro 3. Média com desvio padrão e mediana com amplitude interquartílica da idade nos grupos.

	Idade		
Grupos	N	Média (±DP)	Mediana (±IQ)
A	58	28,6 (±18,6)	27,5 (±27)
B	9	39,4 (±17,6)	41 (±15)
C	5	26,8 (±9)	28,5 (±3)

N= nº de pacientes; DP= desvio padrão; IQ= amplitude interquartílica

Quadro 4. Distribuição do número (N) e porcentagem (%) da raça nos grupos.

	Raça							
	Amarela		Branca		Negra		Parda	
Grupos	N	%	N	%	N	%	N	%
A	3	5,2	53	91,4	1	1,7	1	1,7
B	-	-	9	100	-	-	-	-
C	-	-	5	100	-	-	-	-
Total	3	4,2	67	93	1	1,4	1	1,4

Quadro 5. Distribuição do número (N) e porcentagem (%) da época de aparecimento da perda auditiva nos grupos A e B.

	Época de aparecimento da perda auditiva			
	Pré- lingual		Pós -lingual	
Grupos	N	%	N	%
A	39	67,3	19	32,7
B	3	33,3	6	66,7
Total	42	62,7	25	37,3

6.2 Caracterização dos Exames Audiológicos

6.2.1 Timpanometria

Quanto aos resultados da timpanometria curva tipo A em 100% dos indivíduos avaliados nos grupos A, B e C.

6.2.2 EOET e EOEPD

Os quadros 6 e 7 mostram a distribuição do número e porcentagem das orelhas direita e esquerda em relação às respostas das EOET e EOEPD, estes exames foram realizados em todos os pacientes dos grupos A, B e C.

Quadro 6. Distribuição do número (N) e porcentagem (%) das orelhas direita (OD) e esquerda (OE) de acordo com a presença e ausência das EOET nos grupos A, B e C**.**

	EOET							
	Presente				Ausente			
	OD		OE		OD		OE	
Grupos	N	%	N	%	N	%	N	%
A	2	3,5	3	5,2	56	96,5	55	94,8
B	-	-	-	-	9	100	9	100
C	5	100	5	100	-	-	-	-
Total	7	9,7	8	11,1	65	90,3	64	88,9

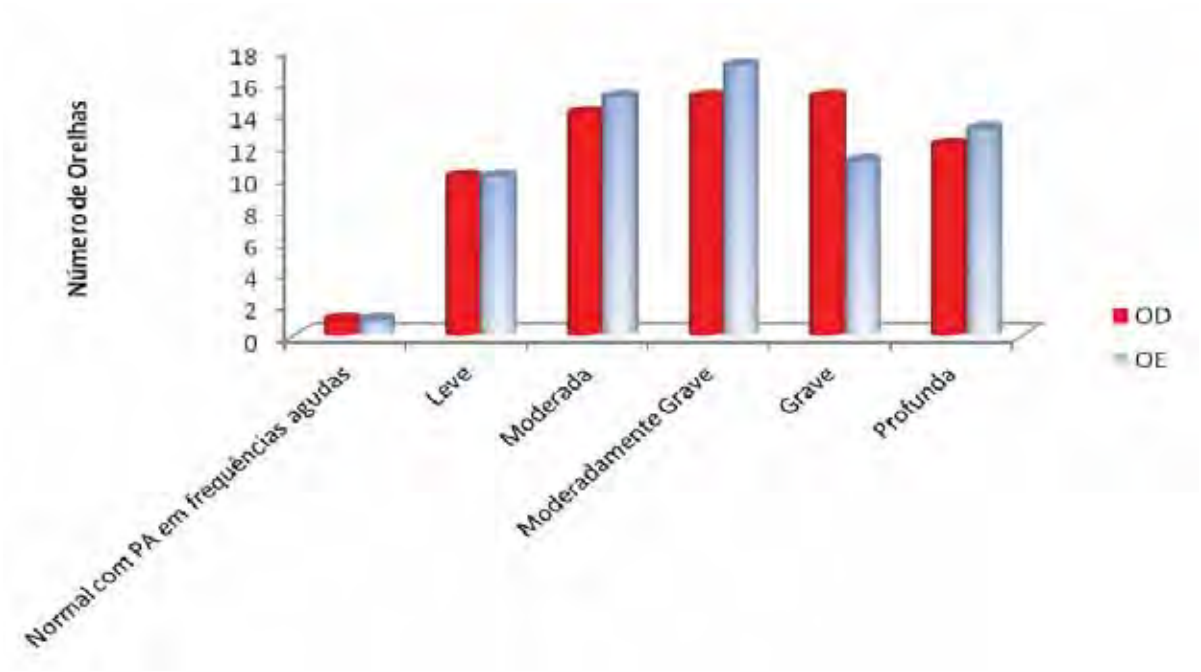
Quadro 7. Distribuição do número (N) e porcentagem (%) das orelhas direita (OD) e esquerda (OE) de acordo com a presença e ausência das EOEPD nos grupos A, B e C.

	EOEPD							
	Presente				Ausente			
	OD		OE		OD		OE	
Grupos	N	%	N	%	N	%	N	%
A	7	12	8	13,8	51	88	50	86,6
B	3	33,3	2	22,2	6	66,7	7	77,8
C	5	100	5	100	-	-	-	-
Total	15	20,8	15	20,8	57	79,2	57	79,2

6.2.3 Audiometria Tonal Liminar

De acordo com o tipo da perda auditiva, todos os pacientes dos grupos A e B são portadores de deficiência auditiva não sindrômica do tipo sensorioneural, há variabilidade apenas quanto ao grau conforme pode ser observado na Figura 8.

Figura 8. Distribuição das orelhas direita (OD) e esquerda (OE) de acordo com o grau da perda auditiva (PA) nos grupos A e B.



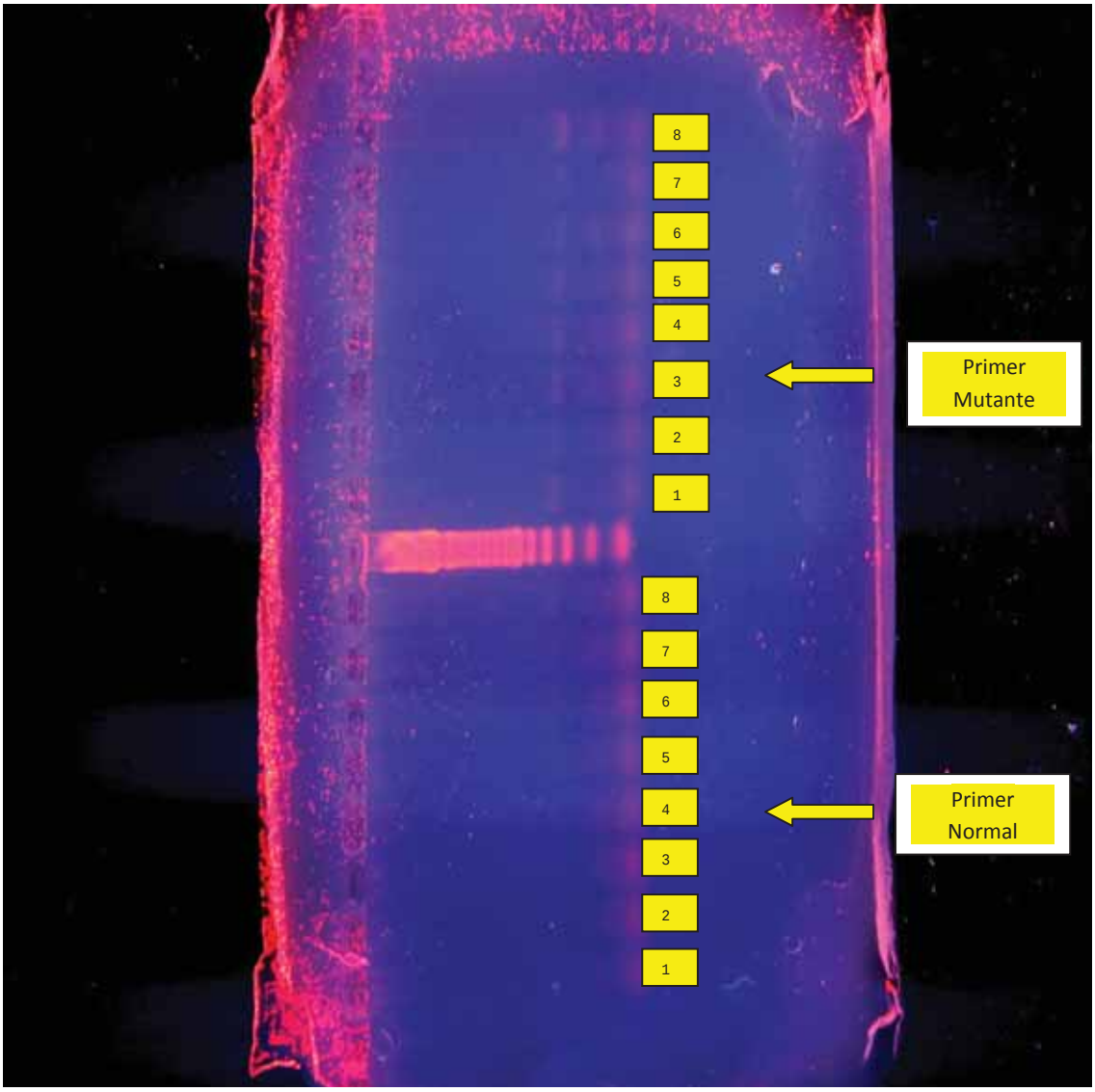
6.3 Caracterização da Avaliação Genética

Os resultados do rastreamento da mutação 35delG no gene GJB2 estão descritos no quadro 8, a pesquisa desta mutação foi realizada para os três grupos A, B e C.

Quadro 8. Distribuição do número (N) de pacientes e porcentagem (%) de acordo com o rastreamento da mutação 35delG nos grupos A, B e C.

	Mutação 35delG					
	Negativo		Positivo		Positivo	
	Ausência Mutação		*35delG heterozigoto GJB2*		*35delG homozigoto GJB2*	
Grupos	N	%	N	%	N	%
A	55	94,8	2	3,5	1	1,7
B	9	100	-	-	-	-
C	3	60	2	40	-	-
Total	67	93	4	5,6	1	1,4

Figura 9. Foto documentação da análise molecular do gene GJB2 dos pacientes alterados (heterozigotos e homozigoto).



1. Paciente Normal
2. 002-15661-409 (heterozigoto)
3. 002-15727-468 (heterozigoto)
4. 002-15727-486 (heterozigoto)
5. 002-15917-63 (heterozigoto)
6. 002-15840-265 (homozigoto)
7. Paciente Normal

Quadro 9. Dados clínicos dos 67 casos com deficiência auditiva sensorioneural (Grupos A e B) que foram submetidos à investigação genética da mutação 35delG.

Casos Índice (CI)	Sexo	Idade	Início da DA	Grau da DA	Recorrência Familial	Idade	Início da DA	Grau da DA familiares
1	F	54	Pós- lingual	Normal OD/ Moderada OE	mãe CI 3	41	Pós- lingual	Moderada bilateral
3	M	12	Pré- lingual	Moderada bilateral	irmã CI 5	53	Pós- lingual	Moderada OD/ Moderadamente Grave OE
5	F	32	Pós- lingual	Moderada bilateral	irmã CI 5	56	Pós- lingual	Moderada OD/ Moderadamente Grave OE
9	F	12	Pré- lingual	Grave OD/Profunda OE	irmã CI 9	8	Pré- lingual	Moderadamente Grave bilateral
11	F	64	Pós- lingual	Moderadamente Grave bilateral	ilha CI 11	41	Pós- lingual	Moderadamente Grave bilateral
13	M	63	Pós- lingual	Moderadamente Grave OD/Profunda OE	irmão CI 13	58	Pós- lingual	Moderadamente Grave OD/ Grave OE
15	M	14	Pré- lingual	Leve bilateral	irmão CI 15	14	Pré- lingual	Leve Bilateral
17	M	5	Pré- lingual	Grave bilateral	Irmã CI 55	38	Pós- lingual	Moderada bilateral
20	F	39	Pré- lingual	Leve OD/ Moderada OE	pai CI 57	45	Pós- lingual	Leve bilateral
21	F	7	Pré- lingual	Leve bilateral				
22	M	20	Pré- lingual	Grave OD/ Profunda OE				
23	F	69	Pós- lingual	Leve OD/ Moderada OE				
24	M	9	Pré- lingual	Moderadamente Grave bilateral				
25	F	34	Pós- lingual	Moderada OD/ Normal OE				
26	M	38	Pré- lingual	Leve bilateral				
27	F	27	Pré- lingual	Grave bilateral				
28	M	36	Pós- lingual	Leve bilateral				
29	F	1	Pré- lingual	Profunda bilateral				
30	M	6	Pré- lingual	Grave bilateral				
31	F	35	Pré- lingual	Profunda bilateral				
32	M	40	Pré- lingual	Profunda bilateral				
33	F	33	Pré- lingual	Moderadamente Grave bilateral				
34	M	7	Pré- lingual	Moderada bilateral				
35	M	19	Pré- lingual	Moderada bilateral				
36	F	12	Pré- lingual	Profunda OD/ Moderadamente Grave OE				
37	M	9	Pré- lingual	Grave OD/ Leve OE				

38	F	53	Pós- lingual	Moderadamente Grave bilateral				
39	F	3	Pré- lingual	Profunda bilateral				
40	F	13	Pós- lingual	Leve bilateral				
41	F	43	Pré- lingual	Grave OD/ Moderadamente Grave OE				
42	F	53	Pós- lingual	Moderadamente Grave bilateral				
43	F	49	Pré- lingual	Grave bilateral				
44	M	45	Pré- lingual	Grave bilateral				
45	M	51	Pós- lingual	Moderadamente Grave bilateral				
46	F	18	Pré- lingual	Profunda bilateral				
47	M	15	Pré- lingual	Grave bilateral				
48	M	10	Pré- lingual	Moderadamente Grave bilateral				
49	F	33	Pré- lingual	Profunda bilateral				
50	M	26	Pré- lingual	Grave bilateral				
51	F	35	Pré- lingual	Grave OD/ Moderadamente Grave OE				
52	M	22	Pré- lingual	Profunda bilateral				
53	F	27	Pré- lingual	Grave bilateral				
54	F	9	Pré- lingual	Grave bilateral				
55	F	38	Pré- lingual	Moderada bilateral				
57	M	12	Pré- lingual	Moderada bilateral				
59	F	6	Pré- lingual	Profunda bilateral				
60	M	21	Pré- lingual	Moderadamente grave bilateral				
61	M	11	Pré- lingual	Grave OD/ Moderada OE				
62	F	73	Pós- lingual	Moderadamente Grave OD/ Leve OE				
63	F	2	Pré- lingual	Profunda bilateral				
64	F	24	Pré- lingual	Profunda bilateral				
65	M	56	Pós- lingual	Grave OD/ Moderadamente Grave OE				
66	M	37	Pré- lingual	Profunda bilateral				
67	F	45	Pós- lingual	Moderadamente Grave bilateral				
68	F	28	Pré- lingual	Moderada bilateral				
69	M	28	Pós- lingual	Moderada bilateral				
70	F	39	Pós- lingual	Moderada bilateral				
71	F	35	Pós- lingual	Leve bilateral				

7. Discussão

As pesquisas na área da genética aplicadas à audição tiveram um grande avanço, por meio delas ficou evidente a importância dos estudos de mutações no gene GJB2, devido à facilidade de detecção de mutações na conexina 26.

A mutação 35delG Cx26 está presente em 80% dos casos nos quais há envolvimento do gene GJB2 e a presença dela em heterozigose pode ser encontrada em até 3% dos indivíduos em algumas populações[22].

Em nosso estudo, foram avaliados 72 indivíduos, os resultados do rastreamento genético para a mutação em questão, 35delG GJB2, revelou 5 mutações, ou seja, 1:14.

As variações da ocorrência da mutação 35delG encontradas entre as pesquisas[35,39,41,42,44,45,46,47,48], inclusive em nosso estudo, poderiam ser explicadas pelas diferenças entre as casuísticas, critérios metodológicos, ou talvez, devido à heterogeneidade étnica da população brasileira já mencionada anteriormente. Sendo assim, a miscigenação entre vários grupos étnicos, principalmente caucasíanos e africanos, poderia levar a diferenças na prevalência entre as regiões do país e até mesmo entre cidades dentro de um mesmo estado[21]. Portanto, é cabível ressaltarmos a importância de iniciativa de estudos multicêntricos que venham abordar a questão genótipo/fenótipo da surdez relacionada na população brasileira.

Em nosso estudo, foram encontradas, por meio do rastreamento genético da mutação 35delG Cx26, quatro mutações em heterozigose e uma em homozigose, sendo estas observadas nos grupos A e C.

Das mutações em heterozigose, três foram numa mesma família, ou seja, pai (38 anos), mãe (28 anos) e filho (5 anos) afetados. Nesta família, em relação aos achados audiológicos, os pais tinham audição dentro dos padrões de normalidade e o filho (único) apresentou deficiência auditiva pré lingual sensorioneural de grau grave bilateral. Isso nos remete à grande importância do aconselhamento, já que o risco da recorrência do genótipo é iminente.

A outra mutação em heterozigose foi encontrada em uma paciente do sexo feminino, 38 anos, com deficiência auditiva pré-lingual sensorioneural de grau moderado bilateral, neste caso a mutação 35delG também foi rastreada em sua irmã gêmea e deficiente auditiva, no entanto o resultado foi negativo. Em estudo de caso realizado por Hoffman et al. (2008)[35] com o relato do perfil audiológico e genético de três irmãos, sexo masculino, todos portadores de deficiência auditiva sensorioneural pré-lingual grau moderadamente grave, os pesquisadores também encontraram a mesma diversidade genética, ou seja, dois deles com mutação 35delG em heterozigose e um sem esta alteração.

A presença da mutação 35delG no gene da Cx26 em heterozigose não faz com que o indivíduo seja necessariamente portador de deficiência auditiva[31,34], assim como constatamos em nosso estudo. Várias hipóteses podem ser formuladas para explicar a surdez associada à mutação em somente um dos alelos: existência de mutações em regiões não codificantes do gene GJB2, afetando sua expressão; mutações em outros genes interagindo com o alelo normal do gene GJB2;

possibilidade da interação entre genes nucleares e/ou mitocondriais, suprimindo a expressão do gene normal [31].

Existe a possibilidade da existência de outros fatores capazes de modificar os efeitos ocasionados pela mutação 35delG GJB2, possivelmente variações em outros genes que compensem a importância da conexina 26 na função coclear[32], visto que já foi estimado que 300 a 500 genes estejam relacionados com a audição, o que confere uma grande heterogeneidade genética à surdez[16]; podemos levar em conta essas considerações quando analisamos os resultados negativos de ocorrência da mutação 35delG no grupo B, uma vez que todos os indivíduos eram portadores de PASNNS.

A única mutação 35delG encontrada em homozigose em nossa casuística, foi em um paciente do sexo masculino, 20 anos, com deficiência auditiva pré-lingual sensorioneural de grau grave do lado direito e profundo do lado esquerdo. Neste caso não havia recorrência familiar da perda auditiva, porém, não conseguimos avaliar os parentes de primeiro grau com audição dentro dos padrões de normalidade, por problemas da própria família em comparecer aos atendimentos. No entanto, podemos pensar na presença da mutação 35delG Cx26 em seus pais, embora sejam ouvintes normais, uma vez que na literatura ainda não há um consenso quanto à correlação entre a mutação 35delG e a presença, gravidade ou progressão de uma perda auditiva[40].

Em relação à mutação 35delG Cx26 em homozigose, de uma maneira geral, os indivíduos afetados apresentam surdez pré-lingual profunda[34], condizente com nosso achado. Entretanto, já é sabido que ao nascimento o fenótipo pode variar de audição normal a surdez profunda e, além disso, diferentes graus de surdez podem ser observados em indivíduos de uma mesma família e com o mesmo genótipo[34,33].

Diante destes fatos o aconselhamento genético dos indivíduos com a mutação 35delG torna-se muito importante e ao mesmo tempo bastante problemático, visto que de uma forma geral o grau e o aparecimento da perda auditiva não pode ser predito com base nas mutações encontradas, portanto estudos mais aprofundados em diferentes populações são necessários para que possamos estabelecer a relação genótipo/fenótipo dessa mutação em estudo.

No entanto, os estudos genéticos com ênfase em audição humana têm causado um grande impacto na comunidade assistencial aos deficientes auditivos; os avanços nessa área poderão proporcionar diagnósticos cada vez mais acurados, intervenções precoces e melhores resultados no campo da reabilitação e inserção social, pois poderão propiciar no futuro, o desenvolvimento de novas terapias e possivelmente até mesmo o reparo do defeito genético[1]. No momento atual, o que há de mais importante é a necessidade da difusão das informações sobre os avanços genéticos para todos os profissionais envolvidos com a saúde auditiva, para a população geral e para a população deficiente auditiva, além de se treinar profissionais para a realização de um bom e cuidadoso aconselhamento genético[36].

O sistema auditivo é parte integrante do sistema de comunicação de todo ser humano. A função auditiva tem uma importância inquestionável para o desenvolvimento dos processos conceituais que sustentam o pensamento do homem. Além de efeitos individuais, a perda auditiva tem um impacto substancial no desenvolvimento social e econômico das comunidades e países, em todas as idades e em ambos os sexos, pode causar problemas sociais significativos, especialmente o isolamento e a estigmatização. Portanto, a fim de prevenir e minimizar os efeitos da deficiência auditiva na população é necessário acharmos caminhos que façam diferença.

8. Conclusões

8.1. A pesquisa da mutação 35delG no gene GJB2 associada à deficiência auditiva mostrou-se de fácil realização, c

om custo acessível e com potencial de facilitar o diagnóstico precoce diferencial entre os portadores sãos e aqueles com deficiência auditiva (heterozigotos ou homozigotos).

8.2. As avaliações audiológicas e genéticas associadas são muito importantes e permitem a elucidação etiológica de perdas auditivas que se mostram semelhantes, mas que não obedecem à mesma estrutura genética. Portanto, os estudos moleculares devem abranger todos os genes que possam estar vinculados às perdas auditivas e não restringir-se apenas à mutação 35delG, principalmente nos casos em que se suspeite de hereditariedade.

8.3. O princípio do aconselhamento genético é informar sobre os riscos de recorrência de surdez em outros membros da família, na irmandade e/ou na prole dos indivíduos afetados, no entanto, este não deve ser diretivo nem impositivo, há a necessidade de se contemplar seus princípios éticos.

9. Referências Bibliográficas

1. Godinho R, Keogh I, Eavey R. Perda auditiva genética. Rev Bras Otorrinolaringol. 2003; 69 (1): 100- 4.
2. Bilton T, Ramos LR, Ebel S, Teixeira LS, Tega LP. Prevalência da deficiência auditiva em uma população idosa. Mundo Saúde. 1997; 21 (4): 218-25.
3. Ministério da Saúde. Atenção à pessoa portadora de deficiência no Sistema Único de Saúde: planejamento e organização de serviços. Brasília: Ministério da Saúde; 1995.
4. Russo ICP. Overview of audiology in Brazil: State of the art. Audiology. 2000; 39(4): 2002- 6.
5. Mustafa T, Arnos KS, Pandya A. Advances in hereditary deafness. Lancet. 2001; 358: 1082- 90.
6. National Center for Hearing Assessment & Management. Prevalence of Congenital Hearing Loss (Internet). Utah State University; 1997. Disponível em: www.infanthearing.org.
7. Mencher GT. Challenge of epidemiological research in the developing world: overview. Audiology. 2000; 178- 83.
8. Gomes MSR. Plano de ação participativa para a identificação da deficiência auditiva em crianças de 3 a 6 anos de idade de uma comunidade de baixa renda (Tese). São Paulo: Faculdade de Medicina de São Paulo, Universidade de São Paulo; 2004.

9. Matkin ND, Wilcox AM. Considerations in the education children with hearing loss. Pediatr Clin North Am. 1999; 46: 143- 52.

10. Cruz MS. Deficiência auditiva referida em inquérito de saúde no município de Botucatu, ISA - SP, 2001-02 [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 2007.

11. Simões AM, Maciel- Guerra AT. A surdez evitável: predominância de fatores ambientais na etiologia da surdez neurossensorial profunda. J Pediatr. 1992; 68: 254-7.

12. Murgia A, Orzan E, Polli R, Martella M, Vinazi C, Leonardi E, et al. Cx 26 deafness mutation analysis and clinical variability. J Med Genet. 1999; 36: 829-32.

13. Carrasquillo MM, Zlotogora J, Barges S, Chakravarti A. Two different connexin 26 mutations in an inbred kindred segregating non- syndromic recessive deafness: implications for genetic studies in isolated population. Hum Mol Genet. 1997; 6: 2163-72.

14. Parker MJ, Fortnum H, Young ID, Davis AC. Variations in genetic assessment and recurrence risks quoted for childhood deafness: a survey of clinical geneticists. J Med Genet. 1999; 36: 125-30.

15. Guilford P, Ben AS, Blanchard S, Levilliers J, Weissenbach J, Belkahia A, et al. A non-syndrome form of neurosensory, recessive deafness maps to the pericentromeric region of chromosome 13q. Nat Genet. 1994; 6: 24-8.

16. Finsterer J, Fellinger J. Nuclear and mitochondrial genes mutated in nonsyndromic impaired hearing. Int J Pediat Otorhinolaryngol. 2005; 69 (5): 621-47.

17. Petit C, Levilliers J, Hardelin JP. Molecular genetics of hearing loss. Annu Rev Genet. 2001; 35: 589-646.

18. Kalatzis V, Petit C. The fundamental and medical impacts of recent progress in research on hereditary hearing loss. Hum Mol Genet. 1998; 7 (10): 1589-97.

19. Petit C. Autosomal recessive non- syndromal hearing loss. In: Martini A, Read A, Stephens D. Geneticas and Hearing Impairment. London: Whurr Publishers; 1996. p. 197-212.

20. Gorlin RJ, Toriello HV, Cohen MM. Hereditary hearing loss and its syndromes. New York: Oxford University Press; 1995.

21. Oliveira CA. Determinação da frequência dos alelos 35delG no gene conexina 26 em amostras da população brasileira [tese]. Campinas: Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP; 2005.

22. Gasparini P, Rabionet R, Barbujani G, Melchionda S, Petersen M, Brondum-Nielsen K, et al. High Carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. Eur J Hum Genet. 2000; 8: 19-23.

23. Bernardes R, Bortoncello S, Christiani TV, Sartorato EL, Silva RC, Porto PRC. Estudo molecular em crianças candidatas e submetidas ao implante coclear. Rev Bras Otorrinolaringol. 2006; 72 (3): 333-6.

24. Alexandrino F. Estudo molecular de genes envolvidos em distúrbios de queratinização e perda auditiva [tese]. Campinas: Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP; 2008.

25. Maeda S, Nakagawa S, Suga M, Yamashita E, Oshima A, Fujiyoshi Y, et al. Structure of the connexin 26 gap junction channel at 3.5 A resolution. Nature. 2009; 458: 597-602.

26. Forge A, Becker D, Casalotti S, Edwarda J, Evans WH, Lench N, Souter M. Gap junctions and connexin expression in the inner ear. Novartis Found. Symp. 1999; 219: 134-50.

27. Xia A, Katori Y, Oshima T, Watanabe K, Kikuchi T, Ikeda K. Expression of connexin 30 in the developing mouse cochlea. Brain Res. 2001; 889: 364-7.

28. Kikuchi T, Adams JC, Miyabe Y, So E, Kobayashi T. Potassium ionrecyclingpathway via gap junction systems in the mammalian cochlea and its interruption in hereditary nonsyndromic deafness. Med Electron Microsc. 2000; 33: 51-6.

29. Cohen-Salmon M, Ott T, Michel V, Hardelin JP, Perfettini I, Eybalin M. Target abkation of connexin 26 in the inner ear epithelial gap junction network causes hearing impairment and cell death. Curr Biol. 2002; 12: 1106-11.

30. Zhang Y, Tang W, Ahmad S, Sipp JA, Chen P, Lin X. Gap junction-mediated intercellular biochemical coupling in cochlear supporting cells is required for normal cochlear functions. Proc Natl Acad Sci USA. 2005; 102: 15201-6.

31. Sartorato EL. A genética da surdez. Pesqui Fapesp. 2000: 26-8.

32. Wilcox SA, Saunders K, Osborn AH, Arnold A, Wunderlich J, Kelly T, et al. High frequency hearing loss correlated with mutations in the GJB2 gene. Hum Genet. 2000; 106: 399-405.

33. Denoyelle F, Weil D, Maw MA, Wilcox SA, Lench NJ, Allen-Powell DR, et al. Prelingual deafness: high prevalence of a 35delG mutation in the connexin 26 gene. Hum Mol Genet. 1997; 6 (12): 2173-7.

34. Sartorato EL, Guerra ATM. Genes do Silêncio: a complexidade clínica da surdez genética. Rev Bras Otorrinolaringol. 2002; 68 (6): 903-6.

35. Antoniadi T, Rabionet R, Kroupis C, Aperis GA, Economides J, Petmezakis J, et al. High prevalence in the Greek population of the 35delG mutation in the connexin 26 gene causing prelingual deafness. Clin Genet. 1999; 88: 381-2.

36. Cohn ES, Kelley PM, Fowler TW, Gorga MP, Lefkowitz DM, Kuehn HJ, et al. Clinical studies of families with hearing loss attributable to mutations in the connexin gene (GJB2/DFNB1). Pediatrics. 1999; 103 (3): 546-50.

37. Hoffmann, FMR, Rodrigues, PF, Santos, TMM, Sartorato, EL, Maciel-Guerra AT, Matas CG, et al. Interação entre audiologia e genética no estudo de uma família: a complexidade do diagnóstico molecular e do aconselhamento genético. Rev Bras Otorrinolaringol 2008; 74(5): 698-702.

38. Piatto VB, Oliveira CA, Alexandrino F, Pimpinati CJ, Sartorato EL. Perspectivas para triagem da deficiência auditiva genética: rastreamento da mutação 35delG em neonatos. J Pediatr. 2005; 81(2): 139-42.

39. Decreto n° 5296, de 02 de dezembro de 2004. Disponível em: www.deficiente.com.br/modules. php?name=News&file=article&sid=759.

40. Musiek FE, Lee WW. Potenciais auditivos de média e longa latência. In: Musiek FE, Rintelmann WF, organizadores. Perspectivas atuais em avaliação auditiva. Barueri: Manole; 2001. p.239-67.

41. Nivoli K, Silva-Costa SM, Pomilio M, Pereira T, Lopes KC, Alexandrino F, et al. Newborn hearing screening and genetic testing in 8.974 Brazilian neonates. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2010; 74: 926- 929.

42. Pfeifsticker LN, Stole G, Sartorato EL, Delfino D, Maciel-Guerra AT. A Investigação genética na surdez hereditária não sindrômica. Rev Bras Otorrinolaringol. 2004; 70(2): 182-6.

43. Sartorato EL, Gotardi E, Oliveira CA, Magna LA, Annichio- Bizzacchi JM, Seixas CA, et al. Determination of the frequency of the 35delG in Brazilian neonates. Clin Genet. 2000; 58: 339-40.

44. Oliveira CA. Estudo de mutações no gene da conexina 26 como causa da deficiência auditiva neurossensorial não sindrômica [dissertação]. Campinas: Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP; 2001.

45. Nóbrega M, Wecks LLM, Juliano Y. Study of hearing loss in children and adolescents, comparing the periods of 1990- 1994 and 1994- 2000. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2005; 69: 829-38.

46. Piatto VB, Moreira OAV, Silva MAOM, Maniglia JV, Pereira MC, Sartorato EL. Correlation between audiometric data and the 35delG mutation in tem patient. Braz J Otorhinolaryngol. 2007; 73 (6): 777-83.

47. Christiani TV, Alexandrino F, Oliveira CA, Amantini RCB, Bevilacqua MC, Costa Filho OA, et al. Molecular study in Brazilian cochlear implant recipients. Am J Med Genet. 2007; 143: 1580-2.

48. Magni C. Defieciência auditiva não-sindrômica: avaliação genética (genes de conexinas) e fenotípica (clínica e audiológica) [tese]. Curitiba: Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná; 2007.

49. Lélis CN, Câmara MFS, Sartorato EL. Detecção da mutação 35delG e de fatores etiológico ambientais em usuários de implante coclear. RBPS. 2009; 22 (2): 69-73.

50. Cordeiro-Silva MF, Barbosa A, Santiago M, Provetti M, Rabbi-Bortolini E. Prevalence of 35delG/ GJB2 and del (GJB6- D13S1830) mutations in patients with non- syndromic deafness from a population of Espírito Santo- Brazil. Braz J Otorhinolaryngol. 2010; 76 (4): 428-32.

51. International Organization for Standartization. ISO 8253-1: 1989 (E). Audiometric test methods. Geneva: ISO; 1989.

52. Jerger J. Clinical experience with impedance audiometry. Arch Otolaryngol. 1970; 92 (4): 311-24.

53. Frazza MM, Caovilla HH, Munhoz MS, Silva MLG, Ganança MM. Imitanciometria. In: Munhoz MS, Caovilla HH, Silva MLG, Ganança MM. Audiologia clínica. São Paulo: Atheneu; 2003. p.85-102.

54. Feniman MR. Emissões otoacústicas evocadas por click em indivíduos com audição normal [tese]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, UNIFESP; 1993.

55. Coube CZV. Emissões otoacústicas evocadas- produto de distorção: estudo em indivíduos com perda auditiva coclear [tese]. Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2000.

56. Silman S, Silverman CA. Basic audiologic testing. In: Auditory diagnosis: principles and applications. San Diego: Singular Publishing Group; 1997. p. 44- 52.

57. Lloyd LL, Kaplan H. Audiometric interpretation: a manual basic audiometry. Baltimore: University Park Press; 1978. p. 16-7.

58. Silva DPC. Avaliação auditiva sequencial por meio de potencial evocado auditivo em lactentes com indicadores de risco para deficiência auditiva. Qual a importância do diagnóstico e prognóstico? [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista; 2011.

59. Saiki RK. The design and optimization on the PCR. In: Erlick HÁ, editor. PCR technology: principles and applications for DNA amplification. New York: Oxford University Press; 1992. p.7-16.

10. Anexos

ANEXO I – PROTOCOLO CEP

unesp UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" Campus de Botucatu

FMB

JUSTIFICATIVA DE ALTERAÇÃO NO TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA

Declaramos que o Projeto de Pesquisa "Surdez Genética: perfil audiológico e genético de pacientes com alterações nos genes GJB2 e GJB6 atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu".- UNESP aprovado pelo CEP em 05 / 10 / 2009, teve seu título alterado para "Perfil audiológico e genético de pacientes com perda auditiva sensorioneural não sindrômica atendidos no HC/FMB/UNESP", sem nenhuma alteração no seu conteúdo metodológico da época de apresentação para análise do CEP.

A presente alteração foi efetuada somente para adequação do título da Dissertação de Mestrado.

Botucatu, 28 / 9 / 2011

Nome/Assinatura do(a) aluno(a)

Danielle Tavares Oliveira

Nome/Assinatura do(a) orientador (a)

Prof. Dr. Jair Cortez Montovani

Programa de Pós Graduação em Bases Gerais da Cirurgia

ANEXO II - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO: Perfil Audiológico e Genético de Pacientes com Perda Auditiva Sensorioneural Não Sindrômica Atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP: Estudo do Gene GJB2.

OBJETIVO DA PESQUISA

Eu _____, RG_____, fui convidado a participar como voluntário de um projeto de pesquisa, envolvendo avaliação auditiva e genético-molecular dos indivíduos com perda auditiva de forma isolada e com etiologia não esclarecida. O objetivo desta pesquisa é investigar a mutação no gene conexina 26 GJB2, ou seja, teste da surdez genética. Serão realizados exames auditivos, tais como Audiometria Tonal Liminar (ATL), Limiar de Recepção de Fala (LRF), Índice Percentual de Reconhecimento de Fala (IPRF), Medidas da Imitância Acústica, Emissões Otoacústicas Evocadas Transientes (EOET) e por Produto de Distorção (EOEPD). O objetivo da ATL é determinar a menor intensidade de som a qual o indivíduo consegue ouvir num conjunto de sons breves, será realizada com o paciente acordado, pois necessita-se da colaboração e concentração para a realização do procedimento.

A audiometria vocal (LRF e IPRF) determina o limiar mais baixo em que o indivíduo é capaz de captar e compreender a fala, o paciente também deve estar acordado para a realização desta.

Na Medida da Imitância Acústica são registrados os movimentos do tímpano, produzidos por alterações da pressão no meato auditivo, muito útil para determinar o tipo da perda auditiva. É um teste muito rápido e não exige a participação ativa do paciente.

As emissões otoacústicas (EOET e EOEPD) medem a atividade produzida pelas células ciliadas externas da cóclea ao serem estimuladas por um som que é emitido por uma pequena sonda (borracha) inserida no meato auditivo externo, o teste exige que o paciente esteja em repouso ou mesmo dormindo.

Todos os testes auditivos a serem realizados não causam qualquer desconforto físico ao paciente.

O sangue será colhido e os resultados serão preservados durante 5 anos, ao término deste período, se ainda desejarmos armazenar o material, um novo pedido será submetido ao CEP. Caso houver interesse na realização de um novo projeto de pesquisa com este material, o mesmo será submetido à análise do CEP e um novo consentimento era solicitado. O sigilo será mantido por meio da identificação dos pacientes por um código.

PROCEDIMENTO

Eu entendo que, se concordar em participar desse estudo como voluntário, serei submetido à coleta de sangue, exames médicos e da audição, não sendo necessária a hospitalização. As pesquisas laboratoriais utilizando a amostra de sangue poderão ser feitas durante um período indeterminado após a coleta de até anos e após sua realização, essa amostra de sangue será destruída. O sigilo das amostras e resultados dos exames será mantido por meio da identificação dos pacientes por um código.

RISCO E DESCONFORTO

Para a extração do DNA, serão necessários algumas gotas de sangue, que poderão ser colhidas em uma única ou mais coletas considerando as condições e faixa etária do paciente. Os riscos associados a esse procedimento são mínimos, podendo ocorrer dor e/ou manchas roxas (equimoses) no local da coleta de sangue. O desconforto será mínimo, pois, em geral, esse procedimento será realizado por meio da coleta de algumas gotas de sangue em papel filtro, por

profissional treinado e devidamente habilitado a realizá-la. Para a realização dos exames da audição, não há quaisquer riscos e/ou desconforto.

VANTAGENS

Eu entendo que a minha participação neste projeto é voluntária e que as informações desta pesquisa em relação ao perfil genotípico estarão à minha disposição e que, a pesquisa da mutação do gene envolvido com a perda auditiva e avaliação da audição poderá ser fundamental no diagnóstico da origem da mesma, nos casos em que não está esclarecida, permite assim, o tratamento adequado e o aconselhamento genético aos portadores da mutação.

SIGILO

Eu entendo que toda a informação médica, assim como os resultados desse projeto de pesquisa, serão sigilosos. Se os resultados ou informações fornecidas forem utilizados para fins de publicação científica, nenhum nome será utilizado.

RECUSA OU DESCONTINUAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO

Eu entendo que a participação nesse projeto de pesquisa é voluntária e que eu posso recusar ou retirar meu consentimento, a qualquer momento (incluindo retirada da amostra de sangue), sem interferência no meu seguimento médico na instituição. Eu reconheço, também, que os responsáveis pela pesquisa podem interromper minha participação nesse estudo a qualquer momento que julgarem apropriado.

FORNECIMENTO DE INFORMAÇÃO ADICIONAL

Eu entendo que posso requisitar informações adicionais relativas ao estudo a qualquer momento. Os responsáveis pela pesquisa: Fonoaudióloga Danielle Tavares Oliveira e orientador Prof. Dr. Jair Cortez Montovani. Instituição: Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço. CEP 16.618-000 Botucatu – SP Telefone e Fax: (14) 38116256/38116594; estarão disponíveis para responder às minhas questões e preocupações. Ainda, no caso de dúvidas sobre questões éticas do estudo, poderei ligar para a secretaria da Comissão de Ética da Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB., fone (14) 3811-6143.

Este documento será assinado em 02 vias, sendo entregue uma para o participante da pesquisa e outra via ficará arquivada em prontuário específico junto aos dados da pesquisa.

Nome do participante: _____
Assinatura do participante: _____
Nome da Testemunha: _____
Assinatura da Testemunha: _____

ANEXO III - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr(a) é convidado a participar da pesquisa *"Perfil Audiológico e Genético de Pacientes com Perda Auditiva Sensorioneural Não Sindrômica Atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP: Estudo do Gene GJB2"* que tem como objetivo investigar a mutação no gene GJB2 e gene GJB6, ou seja, teste da surdez genética. Serão realizados exames auditivos, tais como, Audiometria Tonal Liminar (ATL), Limiar de Recepção de Fala (LRF), Índice Percentual de Reconhecimento de Fala (IPRF), Medidas da Imitância Acústica, Emissões Otoacústicas Evocadas Transientes (EOET) e por Produto de Distorção (EOEPD). O objetivo da ATL é determinar a menor intensidade de som a qual o indivíduo consegue ouvir num conjunto de sons breves, será realizada com o paciente acordado, pois necessita-se da colaboração e concentração para a realização do procedimento.

A audiometria vocal (LRF e IPRF) determina o limiar mais baixo em que o indivíduo é capaz de captar e compreender a fala, o paciente também deve estar acordado para a realização desta.

Na Medida da Imitância Acústica são registrados os movimentos do tímpano, produzidos por alterações da pressão no meato auditivo, muito útil para determinar o tipo da perda auditiva. É um teste muito rápido e não exige a participação ativa do paciente.

As emissões otoacústicas (EOET e EOEPD) medem a atividade produzida pelas células ciliadas externas da cóclea ao serem estimuladas por um som que é emitido por uma pequena sonda (borracha) inserida no meato auditivo externo, o teste exige que o paciente esteja em repouso ou mesmo dormindo.

Todos os testes auditivos a serem realizados não causam qualquer desconforto físico, são indolores e não invasivos.

A amostra de sangue será colhida e os resultados serão preservados durante 5 anos, ao término deste período, se ainda desejarmos armazenar o material, um novo pedido será submetido ao CEP. Caso houver interesse na realização de um novo projeto de pesquisa com este material, o mesmo será submetido à análise do CEP e um novo consentimento era solicitado. O sigilo será mantido por meio da identificação dos pacientes por um código.

Eu entendo que, se concordar na participação do meu filho(a) nesse estudo como voluntário, ele(a) será submetido(a) à coleta de sangue, exames médicos e da audição, não sendo necessária a hospitalização. As pesquisas laboratoriais utilizando a amostra de sangue poderão ser feitas durante um período indeterminado após a coleta e após sua realização, essa amostra de sangue será destruída.

Para a extração do DNA, serão necessários cerca de 5ml de sangue venoso, que poderá ser colhido em uma única ou mais coletas considerando as condições e faixa etária do paciente. Os riscos associados a esse procedimento são mínimos, podendo ocorrer dor e/ou manchas roxas (equimoses) no local da coleta de sangue. O desconforto será mínimo, pois, em geral, essa coleta será realizada da veia do braço, por profissional treinado e devidamente habilitado a realizá-la.

Eu entendo que a participação do meu filho(a) neste estudo é voluntária e que as informações desta pesquisa em relação ao perfil genotípico estarão à minha disposição e que, a pesquisa da mutação do gene envolvido com a perda auditiva e avaliação da audição poderá ser fundamental no diagnóstico da origem da mesma, nos casos em que não está esclarecida, permite assim, o tratamento adequado e o aconselhamento genético aos portadores da mutação.

Em qualquer momento da pesquisa os pais terão acesso aos resultados dos exames que forem realizados, assim como todas as suas dúvidas poderão ser esclarecidas. Em caso de necessidade haverá encaminhamento a atendimentos necessários, caso seja verificada alguma alteração na audição de seu filho. Não há desvantagens em participar do estudo.

Ao final da pesquisa, poderão os dados obtidos serem publicados em revista científica da área da saúde, bem como em congressos ou encontros científicos, entretanto, em momento algum, haverá identificação do nome de seu filho. Caso não aceite participar ou queira desistir de participar, esta decisão será respeitada e não haverá prejuízo nesses ou outros procedimentos que necessitem realizar nessa instituição.

Eu entendo que posso requisitar informações adicionais relativas ao estudo a qualquer momento. Os responsáveis pela pesquisa: Fonoaudióloga Danielle Tavares Oliveira e orientador Prof. Dr. Jair Cortez Montovani. Instituição: Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço. CEP 16.618-000 Botucatu – SP Telefone e Fax: (14) 38116256/38116594; estarão disponíveis para responder às minhas questões e preocupações. Ainda, no caso de dúvidas sobre questões éticas do estudo, poderei ligar para a secretaria da Comissão de Ética da Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB, fone (14) 3811-6143.

Sr(a)_____, portador (a) do RG_____, após leitura minuciosa, devidamente explicada em seus mínimos detalhes, pelos profissionais e ciente dos serviços e procedimentos a serem realizados, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** para a autorização de seu filho(a) a participar da pesquisa.

Este documento será assinado em 02 vias, sendo entregue uma para o participante da pesquisa e outra via ficará arquivada em prontuário específico junto aos dados da pesquisa.

Nome do participante: _____

Assinatura do participante: _____

Nome da Testemunha: _____

Assinatura da Testemunha: _____

ANEXO IV – PACIENTES EXCLUÍDOS

Pacientes Excluídos	Sexo	Idade	Etnia	Início da DA	Grau da DA
1	M	6	Branca	Pré lingual	Profunda bilateral
2	M	5	Branca	Pré lingual	Profunda bilateral
3	F	5	Branca	Pré lingual	Profunda bilateral
4	F	22	Branca	Pré lingual	Grave bilateral
5	F	38	Branca	Pós lingual	Leve bilateral
6	M	41	Branca	Pós lingual	Profunda bilateral
7	F	8	Branca	Pré lingual	Profunda bilateral
8	M	5	Branca	Pré lingual	Profunda bilateral
9	F	46	Branca	Pós lingual	Leve bilateral
10	F	19	Branca	Pré lingual	Profunda bilateral
11	M	42	Branca	Pré lingual	Leve bilateral
12	M	64	Branca	Pré lingual	Moderada bilateral
13	M	25	Branca	Pós lingual	Moderada bilateral
14	M	2	Branca	Pré lingual	Profunda bilateral
15	F	23	Branca	Pré lingual	Moderada bilateral
16	F	21	Amarela	Pós lingual	Leve bilateral
17	F	45	Branca	Pós lingual	Grave bilateral
18	M	19	Branca	Pré lingual	Profunda bilateral
19	F	35	Branca	Pré lingual	Profunda bilateral
20	F	8	Branca	Pré lingual	Profunda bilateral
21	F	47	Branca	Pré lingual	Profunda bilateral
22	M	3	Branca	Pré lingual	Profunda bilateral
23	M	24	Branca	Pré lingual	Profunda bilateral

ANEXO V – ANAMNESE

Nome: _____ Registro Geral HC/FMB: _____

D.N.: _____ Idade: _____ Sexo: _____ Etnia: ( ) Amarela ( ) Branca ( ) Negra ( ) Parda

Endereço: _____

Telefone: ( ) _____

Queixa Principal: _____

_____

Investigação dos Indicadores de Risco para a Deficiência Auditiva: pré natais, neonatais, pós natais, história gestacional, tipo de parto, consangüinidade, ototóxicos:

_____
_____
_____
_____

Histórico Familiar de Deficiência Auditiva: ( ) Sim ( ) Não

Se sim, qual o grau de parentesco? _____

Quando foi o aparecimento da perda auditiva? ( ) Pré lingual ( ) Pós lingual

Etiologia da perda auditiva definida? ( ) Sim ( ) Não

ANEXO VI – PROTOCOLO RESULTADOS EXAMES AUDIOLÓGICOS

Meatoscopia: OD - ( ) Normal ( ) Alterada
OE - ( ) Normal ( ) Alterada

Timpanometria: OD – Tipo Curva _____ Vol OM _____
OE – Tipo Curva _____ Vol OM _____

EOET: OD – ( )Presentes ( ) Ausentes
OE – ( )Presentes ( ) Ausentes

EOEPD: OD – ( )Presentes ( ) Ausentes
OE – ( )Presentes ( ) Ausentes

ATL:

OD
Tipo: ( ) Normal ( ) Neurossensorial ( ) Mista ( ) Condutiva
Grau: ( ) Normal
( ) Leve
( ) Moderada
( ) Moderadamente Grave
( ) Grave
( ) Profunda

OE
Tipo: ( ) Normal ( ) Neurossensorial ( ) Mista ( ) Condutiva
Grau: ( ) Normal
( ) Leve
( ) Moderada
( ) Moderadamente Grave
( ) Grave
( ) Profunda

PEATE: ( ) Presente ( ) Ausente

ANEXO VII – CARTÃO DE COLETA DLE