

# Asociación del resultado auditivo final, en pacientes con hipoacusia súbita, a la respuesta a glucocorticoides *in vitro*

## Association of the final hearing result, in patients with sudden hearing loss, to the response to glucocorticoids *in vitro*

Karen García C.<sup>1</sup>, Sebastián Silva P.<sup>2</sup>, Juan Cristóbal Maass O.<sup>2,3,4</sup>

<sup>1</sup>CRS Hospital Provincia Cordillera. Santiago, Chile.

<sup>2</sup>Laboratorio de Neurobiología de la Protección y Regeneración Coclear, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

<sup>3</sup>Servicio de Otorrinolaringología, Hospital Clínico Universidad de Chile. Santiago, Chile.

<sup>4</sup>Unidad de Otorrinolaringología, Departamento de Cirugía, Clínica Alemana de Santiago-Facultad de Medicina Universidad del Desarrollo. Santiago, Chile.

Este trabajo contó con financiamiento de los fondos: Concurso Anual de Investigación 2013 y 2017 de la Sociedad Chilena de Otorrinolaringología Medicina y Cirugía de Cabeza y Cuello, y FONDECYT INICIO 11130247. Concurso Anual de Investigación Clínica Alemana 2013-2014.

Recibido el 22 de mayo de 2023. Aceptado el 29 de noviembre de 2023.

Correspondencia: Juan Cristóbal Maass O. Santos Dumont 999, Hospital Clínico Universidad de Chile. [juanmaass@uchile.cl](mailto:juanmaass@uchile.cl)

### Resumen

**Introducción:** La hipoacusia súbita (HS) es poco frecuente y su etiopatogenia no está definida. La terapia con corticoides es de elección en base a recomendaciones de expertos por sus efectos teóricos y no en base a utilidad clínica demostrada. **Objetivo:** Evaluar si existe correlación entre el resultado auditivo final, de pacientes con HS tratados con corticoides, y la respuesta *in vitro* de sus leucocitos a corticoides, medida como diferencias en la expresión relativa de genes blanco del receptor de glucocorticoides. **Material y Método:** Estudio de casos (recuperación total) y controles (no recuperados) de pacientes con HS tratados con corticoides en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile, durante 2017-2019. Se obtuvo DNA que fue almacenado en el Biobanco de Tejidos y Fluidos de la Universidad de Chile (BTUCH). Se purificaron y cultivaron leucocitos mononucleares de sangre periférica, expuestos *in vitro* a hidrocortisona. Se determinó la diferencia en la expresión relativa de genes blanco (IGFBP1, CAT, HSD17B12, APOA2), por Q-RTPCR, entre ambos grupos. **Resultados:** Se reclutaron 35 pacientes; se incluyeron para análisis 23: 11 casos y 12 controles, con edad promedio de 54,9 y 50,8 años respectivamente, distribución homogénea de sexo. No hubo diferencia estadísticamente significativa en la expresión relativa de los genes blanco, a la exposición *in vitro* a corticoides, entre ambos grupos. **Conclusión:** En nuestro estudio, modelo, y sistema de evaluación no se evidenciaron efectos de los corticoides. No podemos descartar que, con un número mayor de pacientes, otros genes blanco u otros protocolos de estudio podrían detectarse diferencias.

**Palabras clave:** hipoacusia súbita, hipoacusia, corticoides, oído interno, genes blanco.

### Abstract

**Introduction:** Sudden hearing loss (SHL) is rare and its etiopathogenesis is still not clear. Corticosteroid therapy is of choice based on expert recommendations due to its theoretical effects and no based on proved clinical efficacy. **Objectives:** To assess whether there is a correlation between the final auditory outcome of patients with SHL treated with corticosteroids and the *in vitro* response of their leukocytes to corticosteroids, measured as differences in the relative expression of glucocorticoid receptor target genes. **Material and Method:** Case-control (total recovery and not recovered respectively) study of patients with SHL treated with corticosteroids at Clinical Hospital Universidad de Chile between 2017 and 2019. DNA was obtained and stored in the Biobanco de Tejidos y Fluidos de la Universidad de Chile (BTUCH). Peripheral blood mononuclear leukocytes were purified and cultured and then exposed to hydrocortisone. The difference in the relative expression of target genes (GFBP1, CAT, HSD17B12, APOA2), by Q-RTPCR was determined. **Results:** Thirty-five patients were recruited, 24 were included for the analysis: 11 cases and 12 controls, with and average age of 54.9 and 50.8 years respectively, homogeneous sex distribution. There was no statistically significant difference in the relative expression of the target genes, upon *in vitro* exposure to corticosteroids, between both groups. **Conclusion:** In our study, model and evaluation system, no effects of corticosteroids were evidenced. With a larger number of patients, other target genes or other study protocols, we cannot rule out that differences could be detected.

**Keywords:** sudden hearing loss, hypoacusis, steroids, inner ear, target genes.

## Introducción

La hipoacusia súbita (HS) es una patología considerada como urgencia médica, que requiere identificación y tratamiento oportuno. Puede representar hasta el 5% de las patologías evaluadas de urgencia por otorrinolaringología (ORL)<sup>1</sup>. Se estima que una de cada 5000 personas, sufrirá de HS en forma anual, pero probablemente el número de casos sea mucho mayor, ya que es una condición muchas veces subdiagnosticada. El 90% de los casos ocurre en forma unilateral. Cualquier grupo etario puede verse afectado, pero sucede con mayor frecuencia entre la cuarta y sexta década de la vida<sup>2</sup>. Aquellos casos en los que no se logra recuperar la audición, existe un deterioro en la calidad de vida asociado a la hipoacusia y tinnitus, evaluado por cuestionarios validados para determinar la calidad de vida<sup>3</sup>.

La etiología de la HS no está completamente definida, y es probablemente multifactorial. Existe amplia literatura al respecto, con estudios de diferente índole, incluidos análisis de huesos temporales. El 70% aproximadamente de las HS se cataloga finalmente como idiopática<sup>4-6</sup>. Se ha descrito que los factores de riesgo cardiovasculares se asocian a mayor riesgo de presentar HS<sup>7</sup>.

El diagnóstico implica la realización de audiometría de tonos puros. Se define como una hipoacusia sensorineural de más de 30 dB en tres frecuencias contiguas que ocurre en un plazo de 72 horas<sup>2</sup>.

El tratamiento de la HS sigue siendo controversial. Las opciones que se han propuesto son variadas e incluyen corticoides sistémicos y transtimpánicos, agentes antivirales, diuréticos, oxígeno hiperbárico, terapias hercales y complementarias, cirugía del oído medio e incluso observación<sup>8-10</sup>. Se han diseñado diversos estudios para comparar tratamientos, pero, la evidencia aún no es categórica para recomendar una u otra terapia<sup>11-13</sup>. Sin embargo, a nivel mundial, el tratamiento más utilizado corresponde a corticoides sistémicos. Los corticoides transtimpánicos se plantean en general como segunda línea o en casos de contraindicación o mala tolerancia a uso de corticoides orales, sin embargo, algunos autores lo han planteado como terapia de primera línea<sup>14-17</sup>. En 2019, la Academia Americana de

ORL y Cirugía de Cabeza y Cuello publicó la actualización de su Guía de Práctica Clínica de HS, sobre la cual se basa el manejo en nuestra institución<sup>10</sup>. Esta guía recomienda el uso de corticoides como terapia inicial en pacientes con HS, con grado de evidencia tipo C (opinión de expertos).

Por otro lado, existe una falta de consistencia en la literatura respecto a los criterios de recuperación auditiva en pacientes con HS, lo cual dificulta la comparación entre los diferentes estudios<sup>18</sup>. No existe consenso entre los expertos para recomendar algún criterio en particular como estándar de evaluación de respuesta a terapia, pero sí se recomienda realizar el seguimiento con audiometría<sup>10</sup>. Para este proyecto, se utilizaron los criterios descritos por Suzuki y cols.<sup>19</sup> como se detalla en la sección de materiales y métodos, ya que, en comparación a otros criterios publicados, resultan más estrictos<sup>18</sup>, lo cual nos permite separar adecuadamente nuestros grupos de estudio de casos y controles.

Los corticoides actúan a través de los receptores NR3C1 y NR3C2, ejerciendo efectos gluco y mineralocorticoide, respectivamente. La activación del primero permite la transcripción de genes blanco, con variadas funciones, dentro de las cuales destaca la acción antiinflamatoria, ya que se ha postulado que un proceso inflamatorio se desarrollaría en las estructuras del oído interno de los pacientes con HS<sup>20</sup>. El efecto mineralocorticoide en cambio tiene relación con el equilibrio hidroelectrolítico. En la mayoría de las estructuras del oído interno existe expresión de estos receptores<sup>21</sup>. La mayoría de los corticoides sintéticos utilizados en el tratamiento de la HS tienen un efecto mixto, pero predominantemente glucocorticoide<sup>22</sup>.

Se sabe que la sensibilidad a corticoides es altamente variable entre individuos. Recientemente se publicó un estudio que muestra que el polimorfismo en ciertos genes relacionados a la cascada de estrés oxidativo y protección contra el estrés oxidativo (GSR y NOS3) se asocia al resultado auditivo final en pacientes con HS. Además, determinaron que existe una asociación marginal con un polimorfismo del gen NR3C1. Los autores concluyen que el estudio de factores genéticos podría predecir, al menos en parte, el resultado auditivo<sup>23</sup>.

## ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

De acuerdo a nuestro conocimiento, en la literatura pertinente, no ha sido estudiado si la respuesta a corticoides de leucocitos de sangre periférica de pacientes recuperados de HS es diferente de la de pacientes que no lo han hecho. Contar con información como esta nos entregaría luces de lo que podría suceder en el oído al tratarse de los mismos genes. Se postula que puede existir una diferencia en la expresión de genes blanco en respuesta a corticoides en cultivos de leucocitos, que se correlacione con una respuesta auditiva favorable o no, al uso de corticoides sistémicos y/o transtimpánicos en pacientes con HS.

En este contexto, este estudio busca evaluar indirectamente qué pudiera ocurrir a nivel de transcripción génica, en el oído interno, al recibir terapia con corticoides, estudiando muestras de sangre periférica de pacientes con HS que recibieron tratamiento esteroideal y, cómo esto se asocia al resultado auditivo final, de tal manera de contribuir en el entendimiento de esta patología.

### Objetivo

El objetivo de nuestro trabajo fue: evaluar si existe correlación entre el resultado auditivo final (favorable o no), de pacientes con HS tratados con corticoides, y la respuesta *in vitro* de sus leucocitos a corticoides, medida como diferencias en la expresión relativa de genes blanco del receptor de glucocorticoides.

Los objetivos específicos incluyeron:

- Realizar descripción epidemiológica, clínica y audiológica en pacientes con HS, que fueron tratados con corticoides sistémicos y/o transtimpánicos, con recuperación auditiva favorable o no favorable.
- Realizar un ensayo *in vitro* en leucocitos de sangre periférica (PBMC) de los pacientes de respuesta a hidrocortisona (o cortisol), medida como diferencias en la expresión de genes blanco del receptor de glucocorticoides NR3C1.
- Comparar la expresión de genes blanco de receptores de corticoides en PBMC de paciente recuperados y pacientes no recuperados de HS.
- Adicionalmente, almacenar muestra de sangre venosa periférica de los pacientes

incluidos en el estudio, en el Biobanco de tejidos y fluidos de la Universidad de Chile (BTUCH), para realizar en el futuro, nuevos estudios, como parte del “Consorcio nacional de colecciones de muestras de sangre de pacientes con enfermedades ORL infrecuentes, de etiología desconocida y posiblemente genética, donada para investigación científica”.

### Material y Método

Se realizó un estudio de casos y controles: pacientes con HS con resultado auditivo favorable y no favorable, respectivamente. Se cultivaron y purificaron leucocitos de sangre periférica, y mediante pruebas *in vitro* se evaluó la resistencia a corticoides, para buscar una asociación con el resultado auditivo entre los grupos de estudio.

La población estudiada correspondió a pacientes de 18-85 años, atendidos en el Servicio de ORL del Hospital Clínico de la Universidad de Chile (HCUCH), con diagnóstico de HS, entre los años 2017-2019. El diagnóstico de HS se definió con audiometría previo al inicio de la terapia, con una caída del umbral auditivo mayor o igual a 30 dB, en tres frecuencias contiguas, en un plazo menor o igual a 72 horas.

El tratamiento aplicado consistió en el uso de prednisona en dosis de 0,5-1 mg x kg/ día, vía oral, por al menos 7 días, con o sin esquema de reducción de dosis. Asociado o no, a terapia con dexametasona 4 mg/mL transtimpánica, en esquema de 1 vez a la semana por 3 semanas consecutivas, con un máximo de hasta 6 semanas. La elección de la terapia fue a criterio del especialista, en base a las guías actuales disponibles, comorbilidades del paciente, así como el tiempo de evolución de la HS al momento del diagnóstico y respuesta a tratamientos previos.

Todos los pacientes fueron controlados con audiometría para evaluar la respuesta a la terapia, al menos en una ocasión, dentro de los primeros dos meses de tratamiento. Todos los pacientes contaron con resonancia magnética (RM) de cerebro con énfasis en fosa posterior con gadolinio, para descartar causas secundarias. En caso de imposibilidad en su realización, se incluyeron si contaron con tomografía computada de oídos de cortes finos, o en su

defecto, con seguimiento audiométrico por al menos un año, sin evidencia de progresión de la hipoacusia, ni elementos que sugirieran patología retrococlear.

Los casos fueron aquellos pacientes de la población estudiada, que, en un plazo de dos meses desde el diagnóstico, presentaron un resultado auditivo favorable. Éste se definió como una mejoría del umbral promedio en tres frecuencias contiguas afectadas de 30 o más dB, o, como mejoría del umbral promedio en tres frecuencias contiguas afectadas de 20 o más dB asociado a un cambio de categoría de la hipoacusia según promedio tonal puro, hasta hipoacusia leve o audición normal. Los controles fueron aquellos pacientes de la población estudiada, que, en un plazo de dos meses desde el diagnóstico, presentaron una mejoría del umbral promedio en tres frecuencias contiguas afectadas, menor o igual a 10 dB.

Se excluyeron pacientes con hipoacusia leve al diagnóstico inicial, (promedio para tres frecuencias contiguas menor a 40 dB), recuperación parcial de la audición (recuperación de los umbrales en tres frecuencias contiguas entre 10 y 19 dB, o entre 20 y 29 dB que no alcanzó PTP leve o normal), causa secundaria identificable, vértigo intenso asociado al cuadro que orientara a parálisis cócleo-vestibular, hipoacusia de conducción o sensorineural previa ipsilateral (excepto presbiacusia), hipoacusia fluctuante previa, otitis media crónica, síndrome cráneo-facial, malformaciones del oído externo, medio o interno, parálisis facial o de otro par craneano, vértigo recurrente, enfermedad autoinmune, enfermedad crónica descompensada, uso de espirolactona, corticoide oral o inmunosupresor 1 mes previo al ingreso del estudio, o antiinflamatorios no esteroideos 1 semana previa al ingreso del estudio. Finalmente, se excluyeron aquellos sujetos con dudas o incapacidad de dar su consentimiento, y embarazadas.

Luego de al menos dos meses de iniciado el cuadro clínico, y un mes de finalizada la terapia con corticoides, se reclutaron los pacientes. Se completó una base de datos estandarizada, previa explicación y firma de consentimiento informado. Todos fueron reclutados entre 9.00 am y 12.00 pm, para evitar cambios relacionados al ciclo circadiano de los corticoides endógenos.

En la misma oportunidad, personal del BTUCH, tomó cinco muestras de sangre venosa periférica, de 4 mL cada una. Parte de la muestra fue utilizada para este estudio, y el resto, para almacenar en el BTUCH, con consentimiento específico para ello. Inmediatamente se trasladaron las muestras al Laboratorio de Neurobiología de la Protección y Regeneración Coclear, Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile y al BTUCH, en tubos heparinizados con EDTA, en hielo a 4°C. Las muestras fueron rotuladas mediante un código obtenido por *software* computacional NorayBanks®.

A partir de las muestras obtenidas, se purificaron y cultivaron PBMC. Estos fueron expuestos a hidrocortisona y etanol como control. Se extrajo RNA y a partir de éste, cDNA, y mediante técnica de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (Q-RT-PCR) se determinó la expresión de cuatro genes blanco (IGFBP1, APOA2, CAT, HSD17B12), con equipo Applied Biosystem®. El gen de referencia fue GAPDH para normalizar la información de la expresión genética. Todas las muestras fueron procesadas en duplicado.

El cálculo de tamaño muestral (n), dada la falta de literatura suficiente relacionada y dado que la prevalencia reportada no se correlaciona necesariamente con la realidad de nuestro país, se realizó estimando una población infinita, y la diferencia estándar en las variables a medir (expresión relativa de los genes blanco) entre las distintas condiciones estudiadas mediante un pilotaje de la metodología de estudio con dos casos representativos por cada condición. Se obtuvo un n total de 28 casos, con 14 por cada grupo de estudio. El análisis estadístico de las variables clínicas se realizó mediante programa STATA 13.0. Con Origin 8.0 se estableció si existía una diferencia estadísticamente significativa (con valor  $p = 0,05$ ) entre la mediana, de la diferencia de expresión de genes blanco al exponer *in vitro* a hidrocortisona las PBMC para cada uno de los grupos. Para esto, se utilizó el valor de CT entregado por el *software*, normalizado con la expresión de GAPDH como gen de referencia, siguiendo el método de Livak y Schmittgen<sup>24</sup>.

Este proyecto fue aprobado por Comité de Ética del HCUCH (925/17).

## ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

## Resultados

En el Servicio de ORL del HCUCh se atienden, en promedio, 110 pacientes por año con diagnóstico de HS. De éstos, 79 pacientes fueron evaluados por la investigadora principal, y se les ofreció participar en este proyecto. Se reclutaron 35 pacientes y se seleccionaron para análisis de datos 23 pacientes: 11 casos y 12 controles. El flujo de pacientes se detalla en **Figura 1**. Todos eran chilenos, y 2 de pueblo originario mapuche.

**Tabla 1. Antecedentes previos al diagnóstico de HS y distribución según porcentaje de la muestra**

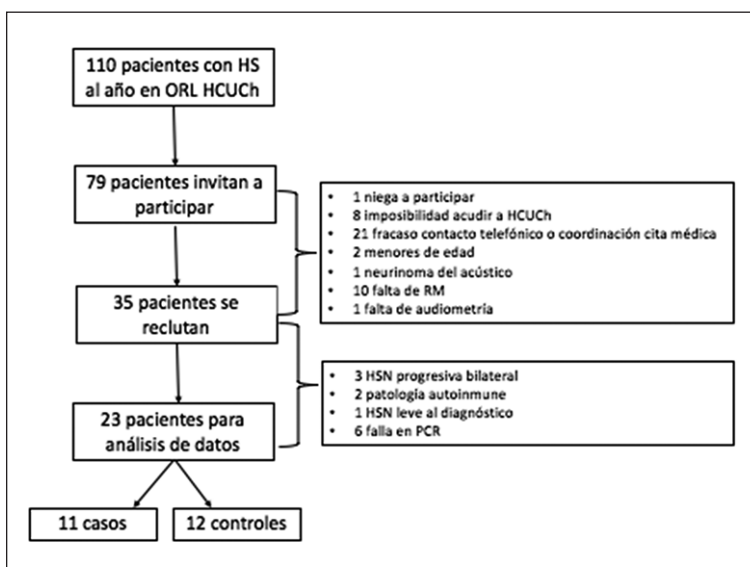
Antecedentes	%
Tabaquismo activo	17,4
Hipertensión arterial	13
Diabetes mellitus	8,7
Resistencia a la insulina	4,3
Enfermedad renal crónica	8,7
Patología neoplásica	8,7
Cardiopatía coronaria	8,7
Otros	13

Patología neoplásica incluye: cáncer de próstata, colon y duodeno, tratado al menos 5 años previo al ingreso a este estudio, Otros incluyen: asma, hipertrigliceridemia, trastorno depresivo mayor, trombosis venosa profunda, accidente vascular encefálico.

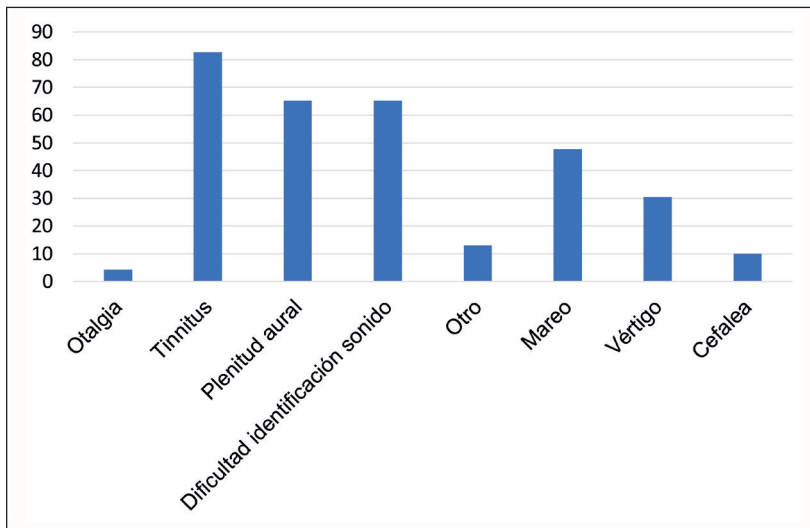
La edad promedio de la muestra fue de 54 años (rango 22 a 81 años) y de 54,9 años para casos y 50,8 para controles. Once eran mujeres, y 12 hombres, con distribución homogénea entre casos (cinco mujeres y seis hombres) y controles (seis mujeres y seis hombres) ( $p < 0,05$ ). Los hábitos y patologías concomitantes se muestran en la **Tabla 1**. Sólo dos donantes tenían antecedente de familiar con HS (un primo y una madre biológica), ambos del grupo casos.

El 100% de los casos tuvo compromiso unilateral, con 39,1% de afectación en oído derecho (OD), y el resto en oído izquierdo (OI). Para los casos: 6 OD, 5 OI, y controles: 3 OD y 9 OI. La HS se instaló en segundos, horas o días en el 26%, 48% y 26% de los casos, respectivamente. Los síntomas al momento del diagnóstico se resumen en la **Figura 2**, siendo el síntoma acompañante más frecuente; tinnitus, presente en el 82,6% de los casos. Ningún paciente presentó síntomas neurológicos asociados como: hiposmia, disgeusia, disfonía, diplopía, parálisis facial, paresia, fotopsia o parestesias. El 8,7% presentó cefalea asociada, sin síntomas de alarma.

Todos los donantes tenían audiometría previa a la terapia, y de control posterior a ésta, al menos en una oportunidad, en un plazo menor a dos meses. Las frecuencias contiguas más usadas en el diagnóstico fueron: 500, 1000 y 2000 Hz. Para los casos, el PTP promedio



**Figura 1.** Flujograma de pacientes con hipoacusia súbita para ingreso al estudio. HS: hipoacusia súbita, ORL: otorrinolaringología, HCUCh: Hospital Clínico de la Universidad de Chile. RM: resonancia magnética, HSN: hipoacusia sensorio-neurial, PCR: reacción en cadena de polimerasa.



**Figura 2.** Distribución de síntomas asociados al diagnóstico. Eje y: porcentaje, Eje x: síntomas. Otro incluye: prurito, algiacusia, diploacusia, autofonía.

para frecuencias diagnósticas, al inicio de la HS fue de 78,9 dB para vía aérea. La discriminación promedio al diagnóstico fue de 30,9%. El PTP promedio para frecuencias diagnósticas al término del tratamiento fue de 41 dB vía aérea, mientras que la discriminación fue de 76,4%. Para los controles, el PTP promedio para frecuencias diagnósticas, al inicio de la HS fue de 77,7 dB para vía aérea. La discriminación promedio al diagnóstico fue de 39%. El PTP promedio para frecuencias diagnósticas al término del tratamiento fue de 77,7 dB vía aérea, mientras que la discriminación fue de 41,2% (Figura 3). El patrón audiológico más frecuente fue plano (Figura 4).

El tratamiento en todos los casos se instaló en un plazo menor a 10 días desde el inicio de los síntomas. La terapia fue decidida por el médico tratante, previo al ingreso de los pacientes a este estudio. El 21,7% de los casos recibió prednisona 0,5-1 mg x kg/día en forma exclusiva, el 17,4% recibió dexametasona intratimpánica en forma exclusiva, y el 60,9% fue tratado con prednisona, seguido de dexametasona intratimpánica. Como tratamiento complementario, en un paciente se recetó antivirales, y en ninguno se utilizó cámara hiperbárica.

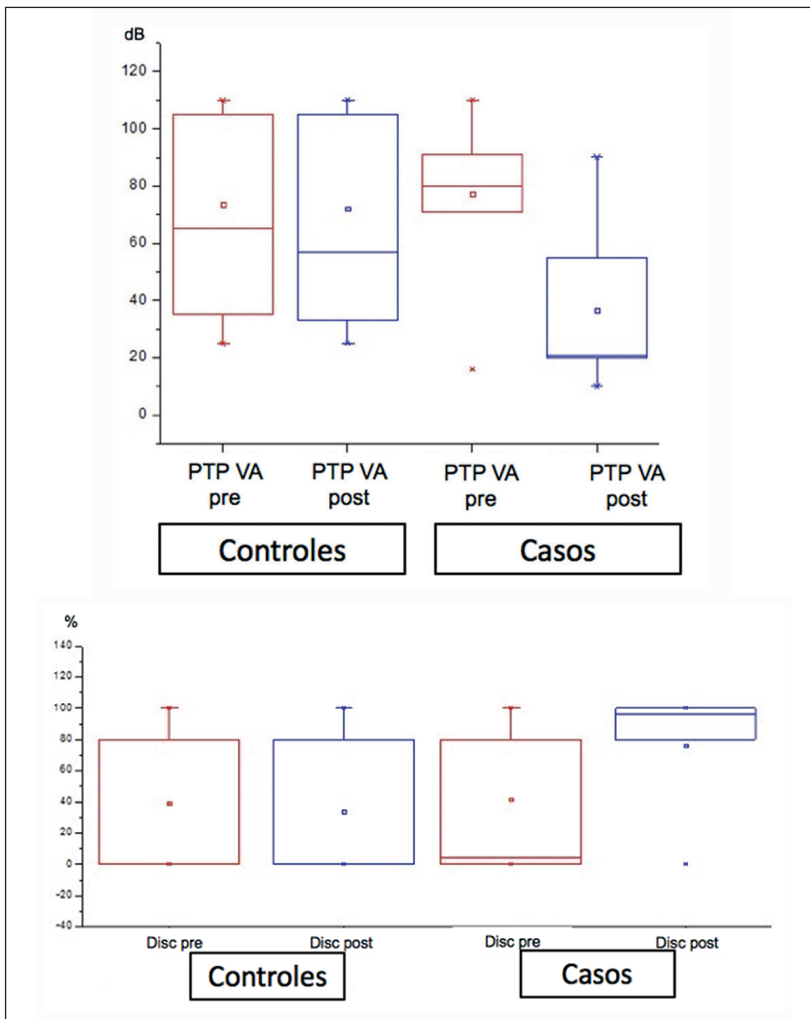
La encuesta se realizó en forma completa y siguiendo las normas del BTUCH en todos los casos, con un tiempo promedio de 25 minutos, con un rango entre 15 y 45 minutos. Cualitati-

vamente se apreció una disminución del tiempo durante el transcurso de la investigación. La extracción de muestra de sangre venosa periférica se realizó con éxito y sin incidentes en 28 pacientes. En un solo caso fue necesario citar al paciente en una nueva oportunidad, para obtener el volumen necesario. Las muestras fueron procesadas sin complicaciones, preservando una parte para el BTUCH y otra para este estudio (Figura 5).

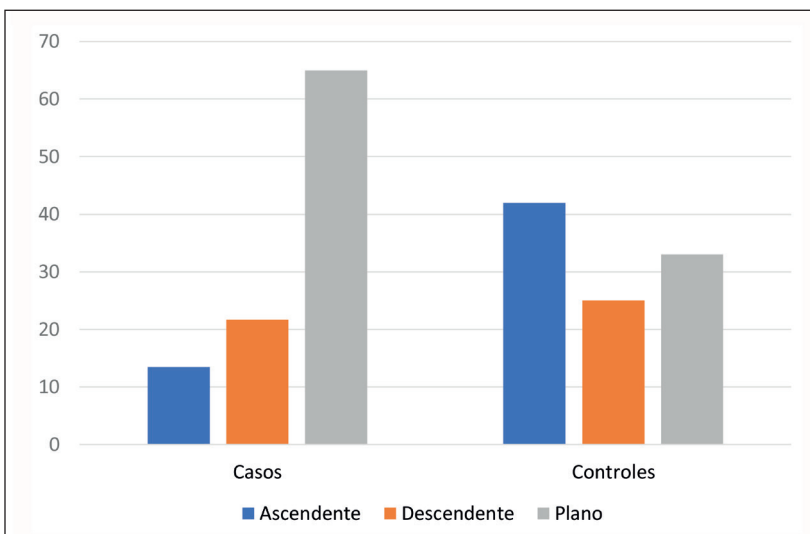
Se obtuvo cultivos de PBMC en todos los casos, con aproximadamente 1 millón de células por placa, de las cuales se obtuvo RNA y cDNA, el cual fue procesado para Q-RTPCT. Se analizaron las curvas de fusión para cada uno de los genes estudiados mediante Q-RTPCR, obteniendo curvas específicas (con un sólo pico) para los genes: GAPDH, IGFBP1, CAT, HSD17B12, mientras que para el gen APOA2, se obtuvo curva con dos picos, por lo que se desestimó la realización de Q-RTPCR para este gen.

Se observó una distribución no normal de los datos, por lo que se usó el test Kruskal Wallis para determinar la diferencia estadística entre la mediana de la variación en la expresión relativa *in vitro* de 3 genes blanco (CAT, IGFBP1, HSD17B12) al exponer las PBMC a hidrocortisona, de ambos grupos, sin observar diferencia estadísticamente significativa en la expresión relativa de ninguno de los genes estudiados (Figura 6).

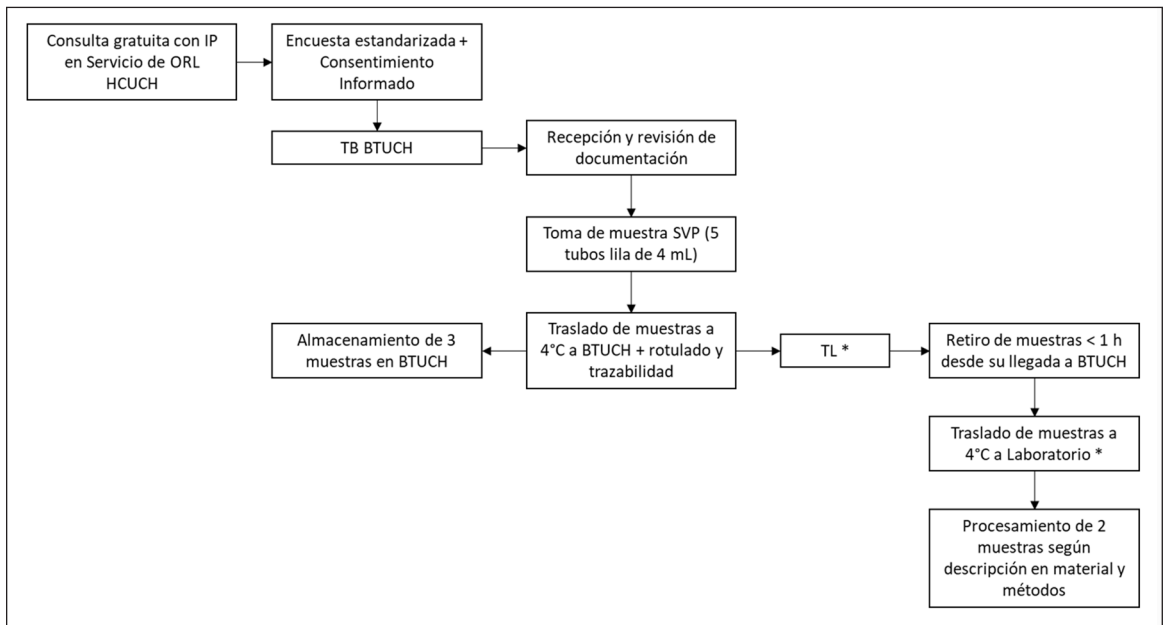
ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN



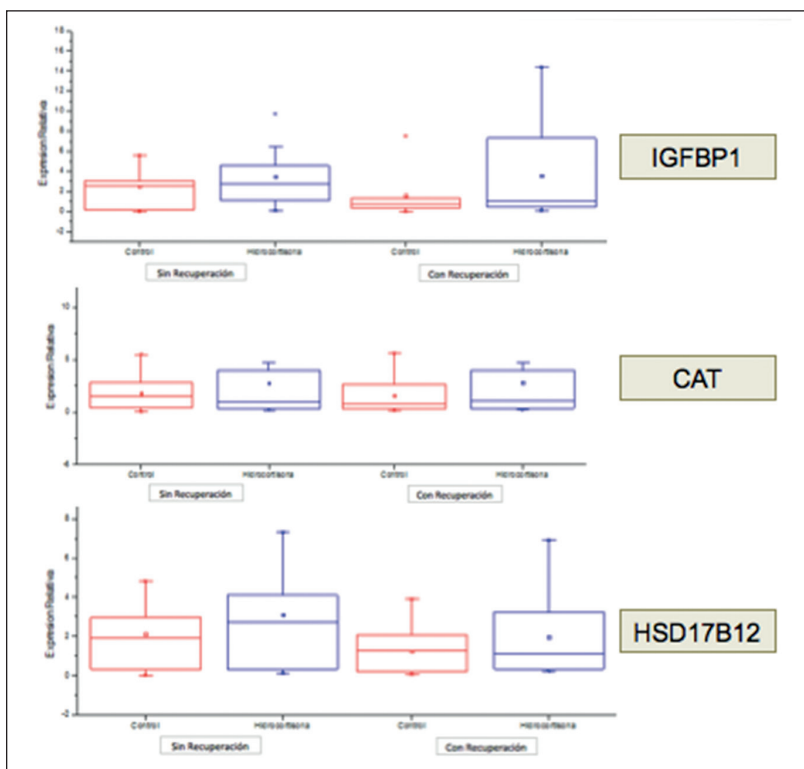
**Figura 3.** Valores de PTP en dB y discriminación en % para 3 frecuencias contiguas previo y posterior al tratamiento, para casos y controles.



**Figura 4.** Distribución de patrón audiométrico por grupo.



**Figura 5.** Flujograma de ingreso de pacientes y traslado de muestras, con participación del Biobanco de Tejidos y Fluidos de la Universidad de Chile. IP: investigadora principal, ORL: otorrinolaringología, HCUCH: Hospital Clínico de la Universidad de Chile, TB: técnico del BTUCH, BTUCH: Biobanco de Tejidos y Fluidos de la Universidad de Chile, SVP: sangre venosa periférica, TL: técnico de laboratorio, \*Laboratorio de Neurobiología de la Protección y Regeneración Coclear, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.



**Figura 6.** Eje y: expresión relativa, normalizada con GAPDH. Eje x: grupo sin recuperación (controles) y con recuperación (casos). Cajas rojas: PBMC expuestas a fenol como control. Cajas azules: PBMC expuestas a hidrocortisona.

## Discusión

La resistencia *in vitro* a esteroides ha sido estudiada para correlacionar resultados clínicos relevantes en otras patologías, como esteatosis hepática alcohólica, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, asma, pero no en HS<sup>25-29</sup>. De esta forma, este trabajo pretende analizar una pregunta novedosa y relevante para este tema.

No se evidenció diferencia significativa entre ninguno de los grupos estudiados. Sin embargo, al no haber diferencia pre y post corticoides no podemos concluir que los corticoides no sirven. Solo que, en nuestro estudio, modelo, y sistema de evaluación no se evidencian efectos de los corticoides.

El total de muestras que fueron incluidas en el análisis estadístico, se obtuvo siguiendo en forma estricta los criterios de inclusión y exclusión, y analizando las curvas de amplificación obtenidas por Q-RTPCR para cada individuo, consiguiendo un  $n = 23$ , que es menor al  $n$  estimado, como se muestra en la sección de materiales y métodos.

Destacamos la importancia del seguimiento audiológico y clínico de los pacientes con HS, ya que, en tres casos de los pacientes reclutados, se planteó en un principio HS idiopática, sin embargo, en las audiometrías de control se apreció una disminución progresiva de la HSN, en forma bilateral. Todos estos pacientes fueron evaluados en comité de oído del HCUCH, sin poder determinar la causa exacta de su patología. Dos de estos pacientes cumplían criterio de implante coclear, por lo que están en espera de la cirugía, a través de Ley Ricarte Soto. Por otro lado, dos pacientes presentaron HS recurrente, lo cual, para esta serie, es mayor al porcentaje reportado en la literatura, de un 3,5%<sup>3</sup>. Por estos motivos, creemos que es fundamental educar al paciente respecto a la baja probabilidad de recurrencia, pero a la relevancia de acudir oportunamente en estos casos.

En cuanto a la descripción general de la muestra: el promedio de edad de la muestra y la afectación unilateral concuerdan con literatura publicada previamente. Destaca la mayor afectación del oído izquierdo, que también se describe en otras series, sin embargo, para nuestra casuística, no correlaciona con la

recuperación auditiva. El patrón audiométrico al diagnóstico más frecuente en ambos grupos fue el plano, el cual no correlaciona con la recuperación auditiva<sup>2,28</sup>.

El análisis en laboratorio fue realizado en forma rigurosa, siguiendo los protocolos establecidos para ello, y en duplicado, para evitar sesgos por técnica. Uno de los genes seleccionados (APOA2) para estudio debió ser eliminado del análisis posterior, ya que se obtuvo un doble pico en su curva de fusión.

La ausencia de diferencia en la expresión relativa de genes blanco, posterior a la exposición *in vitro* a corticoides, se podría deber a muchas causas. Planteamos como posibles explicaciones, en primer lugar, la dificultad para alcanzar el  $n$  estimado, con lo cual, podría haberse hecho evidente alguna diferencia. En este sentido, como limitación de nuestro estudio, posiblemente subestimamos el  $n$  para, considerando solo el error de la técnica empleada, y no la variabilidad genética interindividual, ya que si bien, es un estudio para medir un efecto biológico, en los que generalmente se usa  $n$  pequeño, este trabajo fue realizado con seres humanos, por lo que posiblemente el  $n$  debiese haber sido mayor. Por otra parte, sólo estudiamos tres genes, por corresponder a los más mencionados en la literatura, sin embargo, como se menciona previamente, son decenas los genes implicados en la acción de los esteroides, por lo que, estos genes podrían no estar relacionados con su efecto en el oído interno. Además, al analizar la **Figura 6** observamos que hubo una tendencia a aumentar la expresión de los tres genes evaluados posterior al uso de hidrocortisona, en comparación al uso de control, para ambos grupos, pero sin ser estadísticamente relevante. Debido a la falta de respuesta, cuestionamos si la dosis de hidrocortisona utilizada en nuestro protocolo fue suficiente, ya que, en teoría, había cDNA suficiente en todas las muestras. Por otra parte, habría sido interesante evaluar la respuesta en la expresión relativa de genes por Q-RTPCR en una curva de tiempo, usando una ventana temporal diferente y no en un sólo punto para su análisis. Por lo tanto, creemos que este método no fue adecuado para contestar nuestra pregunta. Afortunadamente, nuestra base de datos y los análisis expuestos en este

estudio podrían utilizarse para diseñar nuevas investigaciones en esta área a futuro.

## Conclusiones

El presente estudio aborda una pregunta específica innovadora, respecto a la cual no existe literatura disponible para HS. A pesar de que no encontramos diferencias significativas entre los grupos en nuestro modelo, no podemos concluir definitivamente que los corticoides no producen efectos en sangre periférica ni en el oído. De esta manera, creemos que será útil contar con futuros estudios que usen mayores tamaños muestrales, y que utilicen otros métodos para evaluar la respuesta a corticoides *in vitro*. Como objetivo secundario este estudio contribuyó al BTUCH con muestras de sangre venosa periférica, lo que podría contribuir a futuro a la realización de otros estudios en pos de entender mejor esta patología. De esta forma, el presente trabajo contribuye a continuar investigando en HS.

## Bibliografía

- Hijano T, Hernández A, Martínez-Arias H, Homs I, Navarrete M, Rafael Hijano, Anabella Estudio epidemiológico de las urgencias en un hospital de tercer nivel. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2009; 60: 32-7.
- National Institute on Deafness and Other Communication Disorders. Sudden Deafness. Disponible en <https://www.nidcd.nih.gov/health/sudden-deafness>. Consultado el: 9 de noviembre 2019.
- Härkönen K, Kivekäs I, Rautiainen M, Kotti V, Vasama JP. Quality of Life and Hearing Eight Years After Sudden Sensorineural Hearing Loss. *Laryngoscope* 2017 ; 127: 927-31. doi: 10.1002/lary.26133.
- Merchant S, Adams J, Nadol J. Pathology and pathophysiology of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Otol Neurotol* 2005; 26: 151-60. doi: 10.1097/00129492-200503000-00004.
- Merchant S, Durand M, Adams J. Sudden deafness: is it viral? *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2008; 70: 52-60. doi:10.1159/000111048.
- Chau J, Lin J, Atashband S, Irvine RA, Westerberg B. Systematic review of the evidence for the etiology of adult sudden sensorineural hearing loss. *Laryngoscope* 2010; 120: 1011-21. doi: 10.1002/lary.20873.
- Lin R, Krall R, Westerberg B, Chadha N, Chau J. Systematic review and meta-analysis of the risk factors for sudden sensorineural hearing loss in adults. *Laryngoscope* 2012; 122: 624-35. doi: 10.1002/lary.22480.
- Chau J, Cho J, Fritz D. Evidence-based practice: management of adult sensorineural hearing loss. *Otolaryngol Clin North Am* 2012; 45: 941-58. doi: 10.1016/j.otc.2012.06.002.
- Stachler R, Chandrasekhar S, Archer S, et al. Clinical practice guideline: sudden hearing loss. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2012; 146: S1-35. doi: 10.1177/0194599812436449.
- Chandrasekhar S, Tsai Do B, Schwartz S, et al. Clinical Practice Guideline: Sudden Hearing Loss (Update). *Otolaryngol Head Neck Surg* 2019;161(1\_ suppl):S1-S45. doi:10.1177/0194599819859885.
- Lawrence R, Thevasagayam R. Controversies in the management of sudden sensorineural hearing loss: an evidence-based review. *Clin Otolaryngol* 2015; 40:176-82. doi: 10.1111/coa.12363.
- Wei B, Stathopoulos D, O'Leary S. Steroids for idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Cochrane Database Syst Rev* 2013 2013:CD003998. doi: 10.1002/14651858.CD003998.pub3.
- Nakache G, Migirov L, Trommer S, Drendel M, Wolf M, Henkin Y. Steroid-based treatments for patients with total sudden sensorineural hearing loss. *Acta Otolaryngol* 2015; 135: 907-13. doi: 10.3109/00016489.2015.1034881.
- Wilson W, Byl F, Laird N. The efficacy of steroids in the treatment of idiopathic sudden hearing loss. A double-blind clinical study. *Arch Otolaryngol* 1980; 106: 772-6. doi:10.1001/archotol.1980.00790360050013.
- Haynes D, O'Malley M, Cohen S, Watford K, Labadie R. Intratympanic dexamethasone for sudden sensorineural hearing loss after failure of systemic therapy. *Laryngoscope* 2007; 117: 3-15. doi: 10.1097/01.mlg.0000245058.11866.15.
- Plontke S, Löwenheim H, Mertens J, et al. Randomized, double blind, placebo controlled trial on the safety and efficacy of continuous intratympanic dexamethasone delivered via a round window catheter for severe to profound sudden idiopathic sensorineural hearing loss after failure of systemic therapy. *Laryngoscope* 2009; 119: 359-69. doi: 10.1002/lary.20074.
- Labatut T, Daza M, Alonso A. Intratympanic steroids as primary initial treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. The Hospital Universitario Ramón y Cajal experience and review of the literature. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013; 270: 2823-32. doi: 10.1007/s00405-012-2306-y.
- Inoue D, Bogaz E, Barros F, Penido N de O. Comparison of hearing recovery criteria in sudden sensorineural hearing loss. *Braz J Otorhinolaryngol* 2012; 78: 42-8.

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

19. Suzuki H, Furukawa M, Kumagai M, et al. Defibrinogenation therapy for idiopathic sudden sensorineural hearing loss in comparison with high-dose steroid therapy. *Acta Otolaryngol* 2003; 123: 46-50. doi:10.1080/0036554021000028082
20. DeRijk R, Schaaf M, de Kloet E. Glucocorticoid receptor variants: clinical implications. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002; 81: 103-22.
21. Kumagami H, Terakado M, Takahashi H. Distribution of glucocorticoid receptors and 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoforms in the rat inner ear. *Otology & Neurotology* 2012; 280: 148-56. doi: 10.1016/j.heares.2011.05.006.
22. Lu L, Dai Y, Du X, et al. Relationship of glucocorticoid receptor expression in peripheral blood mononuclear cells and the cochlea of guinea pigs and effects of dexamethasone administration. *PLoS One* 2013; 8: 56323. doi:10.1371/journal.pone.2013.0056323
23. Kitoh R, Nishio S, Usami S. Prognostic impact of gene polymorphisms in patients with idiopathic suddensensorineural hearing loss. *Acta Otolaryngol* 2017; 137:S24-S29. doi: 10.1080/00016489.2017.1296971.
24. Livak K, Schmittgen T. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001; 25: 402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
25. De A, Blotta H, Mamoni R, et al. Effects of dexamethasone on lymphocyte proliferation and cytokine production in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2002; 29:46-51.
26. Hearing S, Norman M, Probert C, Haslam N, Dayan C. Predicting therapeutic outcome in severe ulcerative colitis by measuring in vitrosteroid sensitivity of proliferating peripheral blood lymphocytes. *Gut*; 1999; 45: 382-8. doi: 10.1136/gut.45.3.382.
27. Loke T, Sousa A, Corrigan C, Lee T. Glucocorticoid-resistant asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 2002; 2: 144-50. doi: 10.1007/s11882-002-0009-y.
28. Anwuli A, Devin M, Erin K, Kenneth M. Idiopathic Sudden Sensorineural Hearing Loss: Average Time Elapsed Before Presentation to the Otolaryngologist and Effectiveness of Oral and/or Intratympanic Steroids in Late Presentations. *Cureus* 2017; 9(: e1945. doi: 10.7759/cureus.1945.
29. di Mambro A, Parker R, McCune A, Gordon F, Dayan C, Collins P. In vitro steroid resistance correlates with outcome in severe alcoholic hepatitis. *Hepatology* 2011;53:1316-22. doi: 10.1002/hep.24159.