

Trabajo de Final de Grado Experimental

GENES CANDIDATOS AL FUTURO DESARROLLO DE DISLEXIA RELACIONADOS CON EL SISTEMA AUDITIVO

Tábata Cano Vegas



Institut de Neurociències
UNIVERSITAT DE BARCELONA



**EXCELENCIA
MARÍA
DE MAEZTU**

Grado en Biotecnología

Tutores entidad: Carles Escera i Micó, Natàlia Gorina Careta

Tutor/a académica: Josep Maria Serrat Jurado

Entidad: *Brainlab-Cognitive Neuroscience Research Group*, Universitat de Barcelona

Vic, Junio del 2021.

Agradecimientos

Mis primeras palabras de gratitud van dirigidas al fundador del grupo de investigación Brainlab y uno de mis tutores durante este trabajo, el Dr. Carles Escera. A mis 16 años, tuve la oportunidad de concertar una entrevista con él para poder avanzar en mi ‘Treball de Recerca’ durante el bachillerato. Gracias a su ayuda y profesionalidad, acabó de despertar en mí una gran fascinación por el mundo de las neurociencias desde muy pequeña, y años más tarde me ha dado la oportunidad de crecer como profesional y ver cómo es el mundo de la investigación junto a su equipo.

Por otro lado, también quiero agradecerle a mi otra tutora, la Dra. Natàlia Gorina Careta todo el soporte que me ha facilitado durante la realización de este trabajo. Su juventud, acompañada de su gran experiencia me han hecho sentir muy cómoda y confiada durante todo el proyecto, además de aconsejarme de cara a los estudios que me gustaría cursar el año que viene.

Cabe mencionar que todo esto no hubiera sido posible sin la presencia de todos los profesionales que forman parte del BrainLab, especialmente del equipo de doctoras que trabajan en el hospital Sant Joan de Déu, que de una manera u otra me han ido formando y dando los conocimientos necesarios para llevar a cabo este trabajo.

También me gustaría nombrar a mi tutor académico, Josep Maria Serrat Jurado el cual me ha animado y motivado, además de tener una actitud comprensiva a lo largo de la realización de este trabajo.

Resumen

El desarrollo del lenguaje es fundamental en el individuo para poder comunicarse e interactuar durante la vida adulta. El desarrollo de éste es crucial durante los primeros años de vida, y debe permitir al niño adquirir cualquier tipo de lenguaje al que se le exponga, pero esto no ocurre de la misma manera en todos los niños, debido a que existen una serie de sistemas que dependen tanto de factores genéticos como de factores ambientales.

El estudio de este componente genético relacionado con trastornos del lenguaje, como la dislexia, es una fuente de interés para ver cómo afecta al futuro desarrollo del individuo. Por ello, el estudio longitudinal en recién nacidos resulta muy interesante para ver hasta qué punto la genética afecta, antes de que se dé una importante modulación ambiental. Esta relación entre genética y factor ambiental se puede observar a través de la respuesta de seguimiento de frecuencia (FFR) –una respuesta eléctrica cerebral a los sonidos del lenguaje, que ha mostrado diferencias significativas en la expresión de esta debido a la expresión del gen.

La dislexia es un trastorno del lenguaje común, que afecta alrededor de un 5-10% de la población y principalmente se define como la dificultad para decodificar las palabras, provocando a su vez problemas de lectura a pesar de tener una inteligencia adecuada. Es decir, no está asociada a ningún retraso, y se da pese a que los sujetos tengan buenas oportunidades educativas. Dependiendo del paciente, pueden aparecer una amplia gama de deterioros del comportamiento más básico, como deficiencias en el procesamiento fonológico, memoria a corto plazo, atención visuoespacial alterada y procesamiento auditivo rápido.

Dos de los genes conocidos como genes clásicos de susceptibilidad en la dislexia, son el KIAA0319 y el DCDC2. Con lo cual, un polimorfismo, es decir, una variación en la secuencia en cualquiera de estos dos genes implicará (o puede implicar) que el paciente desarrolle este trastorno o que tenga una predisposición a él y en consecuencia desarrolle todos los problemas mencionados anteriormente.

El objetivo del presente estudio es encontrar alguno de estos dos polimorfismos, poderlos correlacionar con la FFR y encontrar alguna alteración en esta, debido a que ya ha servido como un codificador de la dislexia. Es decir, los niños que presentan este trastorno tendrán una FFR alterada o diferente y el efecto de esta alteración no se encuentra en la frecuencia fundamental, sino que se aprecia en los armónicos.

De esta manera, podríamos detectar de manera precoz este trastorno para iniciar un tratamiento personalizado, y evitar que estos problemas mencionados se agraven con el paso de los años.

Abstract

Language development is essential for the individual to be able to communicate and interact during the adult stage. Also, language development is crucial during the first years of life and must allow the child to acquire any kind of language to which s/he is exposed. However, this does not happen in the same way in all children due to the existence of a few systems that depends on both genetic and environmental factors.

The study of this genetic component associated with language disorders such as dyslexia is a relevant source to see how it affects the future individual development. For this reason, the longitudinal study in new-borns is very interesting to see how far genetics affects before there is a relevant environmental modulation. This relationship between genetics and environmental factor may be observed through the frequency following response (FFR) –a brain response to speech sounds- which has shown significant differences in its expression due to the gene expression.

Dyslexia is a common language disorder that affects around 5-10% of the population and is mostly defined as the difficulty in decoding words causing at the same time reading problems despite having an adequate intelligence level. In other words, it is not associated to any delay, and it occurs despite the subjects have great educational opportunities. Depending on the patient, a wide range of basic behavioural impairments may appear, such as phonological processing deficits, short-term memory, impaired visuospatial attention, and fast auditory processing.

Two of the genes known as classical susceptibility genes in dyslexia are KIAA0319 and DCDC2. Therefore, a polymorphism, in other words, a variation in the sequence in any of these two genes will imply (or may imply) that the patient develops this disorder or has a predisposition to it and consequently develops all the disorders mentioned before.

The objective of the present study is to find any of these two polymorphisms and be able to correlate them with the frequency following response (FFR) and find some alteration of it because it has served as a dyslexia codifier. In other words, children with this disorder will have an altered or different FFR and the effect of this is not found in the fundamental frequency, but rather in the harmonics.

In this way, we could detect this disorder early to start a personalized treatment and prevent these problems from worsening over the years.

ÍNDICE

1. <u>Introducción</u>	6
2. <u>Objetivo</u>	12
3. <u>Materiales y Métodos</u>	12
3.1. Participantes.....	12
3.2. Genotipado.....	13
3.3. Estimulo.....	13
3.4. EEG recordings.....	14
3.5. Adquisición de los datos	14
3.6. Tratamiento y análisis de los datos.....	14
4. <u>Resultados previstos y discusión</u>	15
5. <u>Conclusiones</u>	19
6. <u>Bibliografía</u>	20

1. Introducción

Los primeros 3 años de vida de los humanos, cuando el cerebro está en proceso de desarrollo y maduración, representan el período más intensivo en el proceso de adquisición del habla y el lenguaje. Estas habilidades se desarrollan mejor cuando el niño está expuesto a un mundo lleno de imágenes, sonidos y al habla y lenguaje de los demás. El cerebro está más capacitado para absorber el lenguaje durante unos períodos llamados críticos. Si estos se dejan pasar, y no se expone al niño al lenguaje, implicará una dificultad en el aprendizaje de este [1].

La exposición a los sonidos y al lenguaje se da desde el inicio del embarazo. Cuando el bebé se encuentra en el vientre materno está protegido prácticamente de todos los sonidos de alta frecuencia que percibe del exterior ya que estos se amortiguan a través del abdomen y del útero materno [2] [3]. En cuanto nace, el bebé comienza a escuchar los fonemas y a identificar las estructuras verbales que irá adquiriendo poco a poco, con la finalidad de poder comunicarse con quienes le rodean y así cubrir sus necesidades [4]. Empieza a mostrar las primeras señales de comunicación cuando asimila que con el llanto logra obtener alimento, consuelo o compañía. Además, comienza a reconocer los sonidos importantes a su alrededor, como la voz de la madre o el cuidador [1].

Los bebés muestran una inclinación para escuchar el habla desde que nacen [5]. A los 4 meses y medio identifican la información fonética en la cara y la voz [6] y a los 8 meses son capaces de fragmentar el flujo del habla [7]. A los 9 meses, aparecen los primeros indicios de comprensión de palabras, y alrededor de los 12-13 meses comienza la creación espontánea de estas [8]. Pese a que el desarrollo de las palabras inicialmente es pausado, existe un brote entre los 16-18 meses y, a los 3 años los niños ya poseen un vocabulario de cientos de palabras [9]. A esta edad su capacidad lingüística empieza a aproximarse a la de los adultos de forma progresiva, aunque requerirán bastantes años hasta perfeccionar tanto el vocabulario como la gramática [4].

Sin embargo, no todos los niños desarrollan las habilidades del lenguaje y el habla de la misma manera, pese a seguir una progresión natural o una serie de etapas para dominar estas habilidades en común [1]. A veces, los niños tardan en alcanzar estas etapas debido a una pérdida de la audición o algún trastorno del habla o del lenguaje. El lenguaje hace referencia al código, o sistema de símbolos, que se utiliza para transformar episodios mentales inobservables, por ejemplo recuerdos o pensamientos, en episodios que pueden ser percibidos por los demás [10]. El habla sin embargo, es la forma en la que se transmite el lenguaje y se refiere específicamente a los sonidos provocados por el mecanismo oral. A diferencia del lenguaje, se puede detectar al momento [11].

Estos trastornos del habla y del lenguaje incluyen problemas para entender lo que otros dicen o dificultad para compartir ideas. Se descubrieron variantes genéticas vinculadas específicamente a estos trastornos, el cual retrasa el uso de las palabras en el niño y retrasa el ritmo en el que este domina las habilidades del lenguaje en edad escolar [1].

Uno de estos trastornos del lenguaje es la dislexia. Esta ocurre cuando los niños presentan dificultades para aprender a decodificar las palabras. Supone un entorpecimiento para leer a raíz de problemas para identificar los sonidos del habla y para comprender cómo estos se relacionan con las letras y las palabras [12]. La decodificación es la precisión o fluidez

que uno desarrolla al leer en voz alta. Cuando un niño presenta dislexia, muestra poca fluidez en la lectura y dificultades con la ortografía, aunque esto no implica, por lo general, problemas con las habilidades orales o no verbales [13]. Tampoco influye en la inteligencia, ya que la mayoría de estos niños pueden seguir sus estudios con normalidad, siempre que cuenten con la ayuda de un tutor o un programa de enseñanza personalizado [14]. Estos trastornos específicos del lenguaje suelen ocurrir en ausencia de grandes dificultades del desarrollo neurológico, deficiencias neurológicas o sensoriales, y pese a tener una inteligencia no verbal normal [15].

Este trastorno del neurodesarrollo se suele diagnosticar en edad escolar, alrededor de los 7-8 años, período en el cual la lectoescritura ya debe estar instaurada en el niño, además de tener automatizada la fusión de las letras que ve con la formación de palabras, es decir, leer letra por letra para expresar la palabra en su conjunto [16], [17]. Aunque a menudo tienen una inteligencia media o superior a la media, los niños con dislexia pueden tener dificultades para captar conceptos abstractos y volver a narrar una historia. También les puede costar recordar palabras, además de las dificultades que presentan al leer. Principalmente debido a que invierten letras o leen palabras enteras al revés [18]. Consecuentemente, estos niños pueden necesitar leer un párrafo tres o cuatro veces antes de entender su contenido. En ocasiones, esto sucede como resultado de una memoria deficiente, o un rendimiento alternante [19].

Pese a que la detección de este trastorno en edades más tempranas puede ser complicado, desde que el niño nace hasta que desarrolla el lenguaje hay diferentes momentos donde la adquisición de este es crítica [20]. De esta manera se abre una amplia ventana de oportunidades para hacer un prediagnóstico de la dislexia, facilitando una detección precoz de ésta, cosa que podría llevar a tomar ciertas medidas de manera más temprana para combatir futuros problemas del lenguaje. Es decir, una evaluación e intervención temprana produce unos mejores resultados aunque no tenga cura. Uno de estos momentos críticos es el nacimiento [21] [22].

Durante los primeros años de vida, los cimientos de los sistemas sensoriales y perceptivos que son indispensables para el lenguaje, el comportamiento social y las emociones, se forman, y están muy influenciados por las experiencias durante este período [23] [24]. La base de gran parte del aprendizaje que se da lugar en este período es gracias a la plasticidad del cerebro, que hace referencia a la capacidad que tiene este de modificarse para responder a los estímulos [25]. El factor más crítico para el desarrollo del lenguaje es la audición, y varios estudios han demostrado que la representación cerebral de las características acústicas del habla y la integridad de los mecanismos auditivos determinan las habilidades lectoras y el desarrollo de los trastornos de la lectura [26] [27].

El sistema auditivo ha de codificar y procesar meticulosamente las rápidas alteraciones de las señales acústicas y extraer con precisión características como la frecuencia, la amplitud, y los inicios y compensaciones del sonido [28]. Mediante un intrincado sistema, interconectado y paralelo, se extrae la información auditiva. Ingresa al tronco encefálico desde la cóclea, a través del nervio auditivo y asciende por las vías auditivas [29]. La buena codificación del sonido en estas vías afecta a todos los procesos cognitivos que utilizan esta información y viceversa, es decir, estas vías se ven afectadas por los procesos

cognitivos. Consecuentemente, la codificación del sonido es muy relevante en el estudio de funciones primordiales para la comunicación humana, como el habla y la música [28].

La codificación y el procesamiento eficientes de los sonidos del habla se basan en la relación entre los factores ambientales (por ejemplo, las diferentes experiencias auditivas) y la predisposición genética [30], siendo este primer causante ampliamente estudiado (Ej. [31] [32] [33]). Ambos pueden modular la codificación del sonido durante el desarrollo neurológico del lenguaje y la adquisición del habla. Esta modulación se ha estudiado mediante una respuesta obtenida del electroencefalograma llamada la Respuesta de Seguimiento de Frecuencia (FFR – del inglés *Frequency-Following Response*).

La Respuesta de Seguimiento de Frecuencia es un potencial evocado auditivo, es decir una respuesta eléctrica del cerebro a un estímulo sensorial auditivo ([34]), producido por estímulos auditivos periódicos. La FFR se puede registrar mediante electroencefalografía (EEG) y magnetoencefalografía (MEG) con sonidos de frecuencias en un rango de 100 – 1500 Hz [35]. Este potencial auditivo forma parte de los potenciales de tronco encefálico del sistema auditivo (ABR), los cuales ayudan a diagnosticar posibles anomalías neurológicas, así como las vías auditivas asociadas y la sensibilidad de estas [36]. El análisis de los ABRs es una técnica sumamente importante en el momento de valorar la pérdida auditiva, tumores acústicos y tumores del ángulo pontocerebeloso en recién nacidos [37].

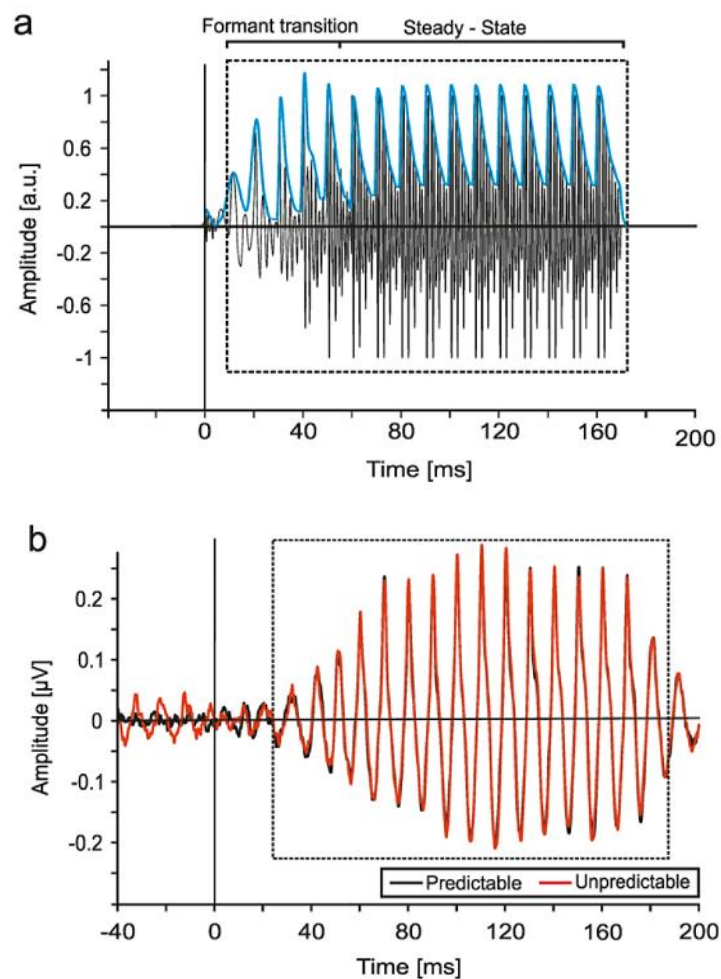


Figura 1. Forma de onda del estímulo y FFR cuando se presenta el estímulo /wa/ en condición predecible (negro) e impredecible (rojo). A. Forma de la onda acústica del estímulo, la envolvente de este se destaca en color azul. B. Las formas de onda tanto en la condición repetitiva como en la variable se asemejan a la envolvente del estímulo (figura 1.A) Figura extraída de Gorina Careta et al, 2016..

La FFR refleja la codificación del sonido en el cerebro y sirve para estudiar la integridad, plasticidad y significación conductual de la sistematización neural del sonido [27]. Las neuronas que producen la FFR se sincronizan exactamente con el sonido que percibe y además se altera o interrumpe ante diversos trastornos del habla y del lenguaje como la dislexia [38], [39]. Se ha visto que esta respuesta de seguimiento de frecuencia ha sido modulada por diferentes experiencias auditivas, como el bilingüismo o un entrenamiento musical [40].

Dada la evidente modulación por las diferencias experiencias auditivas, es importante entender también cómo el genotipo de los individuos influye en la modulación de la codificación y procesamiento de los sonidos. Para ello, estudios en recién nacidos nos permiten descifrar la contribución genética de la influencia ambiental. Esto es de gran interés, ya que ofrece una oportunidad para estudiar la contribución genética al proceso de adquisición del lenguaje antes de que se produzcan importantes modulaciones ambientales.

Haciendo referencia a las variantes genéticas vinculadas a estos trastornos del habla o del lenguaje, diversos estudios han demostrado que existe una selección de genes asociados con el desarrollo de dislexia (entre otras enfermedades). Dos de estos genes conocidos como clásicos de susceptibilidad a la dislexia son el KIAA0319 y el DCDC2 [41] y ambos están respaldados por diversos estudios de replicación independientes (Ej. [15], [42]). En los estudios iniciales de ligamiento genético identificaron alrededor de 9 loci de susceptibilidad a la dislexia del desarrollo y se agrupan desde el DYX1 hasta el DYX9, siendo el más repetido de los 9 el DYX2, ubicado en el cromosoma 6p22.2 [43], [44], [45]. Este locus ha sido ampliamente estudiado, y tal como he comentado anteriormente, dos de los genes directamente relacionados son el KIAA0319 y el DCDC2 [46].

El gen KIAA0319 se encuentra en el cromosoma 6p22.3, en el exón 26 [47]. Desde que se propuso su asociación con la dislexia, se realizaron diversos estudios en distintas poblaciones ([48], [49], [50], [51], [52], [53]) que sugieren que varios polimorfismos en un solo nucleótido de este gen (SNP) están asociados con el riesgo de desarrollar este trastorno. El KIAA0319 se expresa en el neocórtex cerebral humano [54]. Esta estructura conforma la mayor parte de la corteza cerebral, un 90% de ella y se compone básicamente por un conjunto de neuronas y células gliales que elaboran respuestas a tiempo real sobre contenidos ya procesados por otras células nerviosas [55]. El neocórtex es principalmente la parte de nuestro cerebro responsable de nuestras habilidades cognitivas únicas como seres humanos y del pensamiento abstracto [56]. Por lo tanto, se considera la encargada de nuestra capacidad de razonamiento, permitiéndonos el pensamiento lógico y la consciencia. A su vez, habilidades como el cálculo y el lenguaje dependen de esta estructura, requiriendo de la integración de distintas informaciones y su transformación

en distintas zonas de esta. También la memoria a corto plazo, ya que el neocórtex es la zona donde queda grabada la nueva información [55].

El gen KIAA0319 codifica una proteína de membrana plasmática con un gran dominio extracelular altamente glicosilado, que participa en la regulación de la migración neuronal y el crecimiento de neuritas a través del procesamiento proteolítico [56], considerado importante en la fisiopatología de la dislexia [57]. El procesamiento proteolítico es una forma principal de modificación postraducciona, que se da cuando una proteasa corta uno o más enlaces de una proteína diana para cambiar su actividad. Este procesamiento finaliza en la activación, inhibición o destrucción de la actividad de la proteína [58].

En un estudio realizado en modelos animales, llevaron a cabo un ‘Knockdown’ (técnica mediante la cual se modifica un organismo genéticamente para obtener una expresión reducida de uno o más genes de su cromosoma [59]) embrionario de *Kiaa0319*, el homólogo de rata del gen humano KIAA0319, para valorar el efecto en un modelo de ratas en el momento de discriminar fonemas. La expresión reducida de este gen derivó en la disminución de la capacidad neuronal de discriminar los sonidos del habla. Además, los registros intracelulares en las neuronas afectadas revelaron que aumentaba la excitabilidad neuronal y la resistencia de entrada, posiblemente debido a que una mayor resistencia puede disparar más potenciales de acción en comparación con las células control. La resistencia de entrada refleja el grado de apertura de los canales de membrana, así que una baja resistencia implica canales abiertos, y una alta resistencia implica canales cerrados.

Los resultados evidenciaron que la expresión reducida del gen *Kiaa0319* puede alterar las respuestas corticales, y deteriorar el procesamiento de fonemas en la corteza auditiva. Esto resulta muy interesante, ya que los umbrales de discriminación del habla son prácticamente idénticos tanto en ratas como en humanos [60].

En otro estudio también realizado en ratas, se observó que tras disminuir la expresión de *Kiaa0319*, se alteró la actividad cortical evocada del habla, además de causar una percepción del habla y una capacidad de lectura deficientes [61].

Estos estudios han demostrado que una disminución en la expresión de este gen asociado a la dislexia deriva en la interrupción de la migración de neuronas neocorticales, provocando en modelos animales diferentes deficiencias del comportamiento, incluidas las deficiencias del procesamiento auditivo rápido, aprendizaje espacial simple [60], y procesamiento de fonemas [61], efectos similares a los que se ven en pacientes con este trastorno. Se supone que la migración neuronal interrumpida es una característica importante en la dislexia [62], sugiriendo de esta manera que el nivel de expresión del KIAA0319 juega un papel importante en el desarrollo de esta.

Diversos SNP intervienen en la regulación de la expresión de KIAA0319, como rs4504469, rs203817, rs6935076, rs2179515, rs3212236, rs761100 y rs9461045. Todos ellos se asocian con la dislexia en las poblaciones europeas [63]. El haplotipo de riesgo rs4504469 es el más relacionado con KIAA0319 en una gran cantidad de estudios ([64], [65], [66], [67]). En España, la prevalencia de esta mutación es de un 35% para el alelo menor (T), y de un 65% para el alelo mayor (C) [68].

Por otro lado, el gen DCDC2 (*'Double Domain Containing 2'*) se encuentra en el cromosoma 6p22.3, en el exón 11 [69] y codifica para un miembro del *'doublecortin domain'* (DCX) [70]. La DCX es una proteína asociada a microtúbulos del citoesqueleto que se expresa gracias a células precursoras de neuronas y neuronas inmaduras en estructuras corticales embrionarias y adultas, es decir, se expresa casi exclusivamente en neuronas en desarrollo [71]. Este dominio se une a la tubulina y mejora la polimerización de los microtúbulos. Se cree que el miembro de esta familia al cual codifica el DCDC2 actúa en la migración neuronal, pudiendo afectar la señalización de los cilios primarios. Las mutaciones en este gen se asocian con una discapacidad de lectura tipo 2, conocida como dislexia del desarrollo [70]. Además, estudios realizados con resonancias magnéticas mostraron en las imágenes que DCDC2 se asocia con patrones anormales de activación cerebral durante la realización de tareas relacionadas con la lectura en comparación a un grupo control. [72].

En un estudio realizado en modelos animales, concretamente ratas, se llevó a cabo un *'Knockout'* del homólogo del roedor en DCDC2, el *Dcdc2*. Lo que se evaluó aquí fue la asociación entre el *Dcdc2* y la percepción del movimiento, una habilidad que facilita las habilidades de lectura. Los roedores *Knockout* presentaron déficits a la hora de discriminar parejas de estímulos cuando se añadió movimiento a los estímulos visuales. Posteriormente, se analizaron los cerebros de estos roedores anatómicamente y se vio que los *Knockout* presentaban neuronas más pequeñas [73].

En otro estudio se evaluó la relación entre DCDC2 y las deficiencias cognitivas o del aprendizaje. También se llevó a cabo un *Knockout* del homólogo del roedor, en *Dcdc2*, y se examinó el efecto de esta mutación sobre las capacidades cognitivas de los ratones a partir de una tarea de atención visual y aprendizaje visuoespacial y memoria. Los resultados mostraron déficits permanentes de memoria visuoespacial, discriminación visual y memoria a largo plazo, sugiriendo una relación directa entre la mutación y los cambios en el comportamiento [74].

Estos estudios han deducido que, a nivel conductual, las variantes en DCDC2 están relacionadas con deficiencias en el procesamiento fonológico, la memoria de trabajo, la velocidad de lectura, y la percepción del movimiento [75]. Además, la proteína *Dcdc2* se encuentra en los cilios primarios de las neuronas primarias. Si esta presenta alteraciones en la expresión, provoca cambios en la longitud de estos cilios y consecuentemente, en la señalización celular, procesos cruciales que no permiten una correcta migración neuronal, ni un buen desarrollo cortical [76], [77].

Se realizaron diversos estudios en distintas poblaciones ([48], [72], [50], [78], [79]) donde se propuso la asociación de DCDC2 con la dislexia. Los resultados de estos estudios sugieren que varios polimorfismos en un SNP están asociados con el riesgo de padecer este trastorno.

Diversos SNP intervienen en la regulación de DCDC2, como rs22743005, rs807724, rs4599626, rs9467075, rs6456593, y rs6922023. Estos se han relacionado con la dislexia del desarrollo en múltiples ocasiones en varias poblaciones europeas y americanas [80]. El SNP que más se ha asociado con el riesgo de padecer dislexia es el rs2274305 (Ej. [81], [64], [82], [83]). En España, la prevalencia de esta mutación es de un 39% para el alelo menor (T) y de un 61% para el alelo mayor (C) [84].

Dada la relación de la respuesta de seguimiento de frecuencia con la dislexia así como con las variantes polimórficas de los genes KIAA0319 y el DCDC2, en el presente estudio lo que queremos es analizar la relación entre la FFR y estas variantes genéticas con el objetivo de ver si ésta podría servir como marcador para una predisposición a la dislexia en el momento del nacimiento. De esta manera, podremos ver hasta qué punto la modulación que vemos en la FFR viene determinada por el factor ambiental o por el factor genético. Para ello, dado que las restricciones impuestas por la Covid-19 impidieron el trabajo experimental, en este TFG voy a presentar el diseño experimental en forma de preregistro para la *Open Science Framework*.

2. Objetivo

El objetivo principal de este estudio es estudiar, en recién nacidos, cómo se relaciona la FFR con los polimorfismos asociados a estos dos genes clásicos de susceptibilidad en la dislexia, el KIAA0319 y el DCDC2.

Así podremos ver si esta respuesta de seguimiento de frecuencia nos permitiría obtener un marcador o algunas medidas que puedan predecir cómo los genes modulan el procesamiento del sonido en el momento del nacimiento. También sería interesante ver si puede predecir la afectación que tendrían estos genes en el futuro desarrollo del niño, por ejemplo a la edad de los 21 meses.

En otro estudio se está llevando a cabo el seguimiento postnatal de estos niños, registrando la FFR correspondiente a los 21 meses. Entonces, al analizar y correlacionar en el nacimiento del bebé los genes junto con el otro estudio, podemos ver si la relación entre genética y FFR se mantiene constante, o si varía con el tiempo por factores ambientales, además de poder comprobar la existencia de déficits en el procesamiento del lenguaje en aquellos niños que presenten alguna de estas variantes genéticas.

3. Materiales y Métodos

Participantes

Se reclutarán 150 gestantes durante el último mes de gestación del Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona. Las participantes reclutadas son gestantes sanas y sin patologías obstétricas. En el momento del parto, se recogerán muestras biológicas tanto de la gestante como del recién nacido. Durante las 24 horas posteriores al parto, mientras el recién nacido siga en el hospital, se le realizará una prueba de EEG siempre y cuando hayan superado el examen de audición estandarizado de la salud auditiva periférica, realizado de manera rutinaria en el hospital Sant Joan de Déu, para el que se utiliza un

sistema automatizado de respuesta auditiva del tronco cerebral (ALGO 3i, Natus Medical Incorporated, San Carlos, CA). Además, también pasará una respuesta auditiva normal del tronco encefálico evocada por un clic recopilada con una plataforma SmartEP estándar (Intelligent Hearing Systems, Miami, FL). Se registrará el clic estándar ABR en respuesta a un estímulo clic de onda cuadrada de 100 ms presentados a 55 dB SPL de acuerdo con los procedimientos estándar del Joint Committee on Infant Hearing (2007). Todos los participantes serán recién nacidos sanos. Después de la obtención de muestras biológicas, y de pasar el examen de audición, se invitará a los participantes a una sesión de registro de EEG en el nacimiento y a los 21 meses.

Todos los padres participantes tendrán que dar su consentimiento informado por escrito en cada fase del estudio (obtención de muestras biológicas y registros de EEG), de acuerdo con la Declaración de Helsinki y aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad de Barcelona y el Comité de Ética en la Investigación Médica del Hospital Sant Joan de Déu.

Genotipado

Se recogerán muestras de sangre del cordón umbilical en el momento del nacimiento, y estas serán guardadas, preprocesadas y alicuotadas para lograr una muestra final del 500 µl de 'buffy coat' en el biobanco del Hospital Sant Joan de Déu. El ADN será extraído siguiendo las especificaciones del fabricante. Las muestras de ADN se enviarán a una instalación central de genómica externa (CGEN/CNIO) para determinar las variantes genéticas por el método Kaspar. Los polimorfismos genotipados son: gen KIAA0319 (rs4504469) y el gen DCDC2 (rs2274305). La prevalencia del alelo menos frecuente en estos polimorfismos (Timina en ambos casos) es de un 35% en el primero, y de un 39% en el segundo polimorfismo, respectivamente. Tanto el rs4504469 como el rs2274305 están relacionados con el riesgo de padecer dislexia.

Estímulos

Se utilizarán estímulos auditivos complejos que se corresponden con las sílabas /da/ [38] y /oa/ [85], modificados para tener una frecuencia fundamental (F0) de 113 Hz en ambos casos. El uso de F0 a 113 Hz en vez del más común, F0 a 100 Hz, ha sido motivado para evitar la contaminación por armónicos de la línea eléctrica de 50 Hz en Europa. Los estímulos /da/ tendrán una duración de 170 ms, incluido un período inicial de 10 ms, una transición consonante de 47 ms y una vocal estable de 113 ms. Por otro lado, los estímulos /oa/ tendrán una duración de 250 ms. La sección de la vocal /o/ (F1=452 Hz; F2=791 Hz) durará de 0 a 80 ms, la sección de la vocal /a/ (F1=687 Hz; F2=1017 Hz) de 90 a 250 ms, y la sección de transición /oa/ formante de 80 a 90 ms. Los estímulos se presentarán monoauralmente en el oído derecho a 60 dB SPL a través de auriculares aislados electromagnéticamente Etimóticos de 300U (ER, Elk Grove Village, IL, EE. UU.) conectados un adaptador Flexicoupler® (Natus Medical Incorporated, San Carlos, CA), y utilizando el sistema Intelligent Hearing Systems (Miami, FL, EE. UU.). Los estímulos se presentarán en polaridades alternas y con una asincronía de inicio del estímulo de 270 ms en el estímulo /da/ y 295 ms en el estímulo /oa/.

Registro de EEG

Una vez hayan pasado la prueba de audición, todos los recién nacidos serán examinados en la habitación del hospital en presencia de la madre. Para cada registro, el recién nacido estará dormido en su propia cuna o en la cama de la madre y el experimento se irá interrumpiendo ante cualquier signo de interrupción del sueño. Se volverá a reiniciar la grabación en cuanto el recién nacido vuelva a calmarse. La duración total media de una sesión de prueba será $X(\pm X \text{ SD})$ min, que corresponde a 51,81 ms por 2000 presentaciones del estímulo por cada una de las dos condiciones. Además, a este tiempo se le añadirá la duración de los estímulos rechazados, es decir los que tienen una amplitud de más de 30 μV , el tiempo necesario para comprobar las impedancias de los electrodos antes de la presentación de cada bloque de 1000 estímulos y el tiempo necesario para que el recién nacido se volviese a dormir en caso de despertarse. Si se excede el tiempo de registro de esta duración, la sesión se cancelará y se pospondrá varias horas o hasta el día siguiente.

Adquisición de los datos de EEG

La FFR se registrará con la plataforma SmartEP, la cual incluye los módulos complejos de Respuesta Auditiva del Tronco Cerebral (cABR) e Investigación Auditiva Avanzada (Intelligent Hearing Systems, Miami, FL, EE.UU). Las respuestas auditivas en ambos estímulos se registrarán con tres electrodos de Ag/AgCl desechables, colocados en un montaje vertical (electrodo activo en Fpz; como referencia tomamos el hueso mastoideo derecho; tierra en la frente) con impedancias $< 7 \text{ k}\Omega$ a lo largo del registro. Para cada condición, se recopilarán un total de 4000 respuestas limpias de artefactos para cada recién nacido.

El registro de EEG se adquirirá con una frecuencia de muestreo de 13333 Hz y un filtro pasabanda de 30 a 3000 Hz. En el mismo proceso de adquisición la señal entrante se cortará en épocas de 270,27 ms (incluidos 40 ms de la 'baseline' previa al estímulo) para el estímulo /da/ y 245,07 ms (incluidos 40 ms de la 'baseline' previa al estímulo) para el estímulo /oa/. Cualquier época con una actividad superior a $\pm 30 \mu\text{V}$ se considerará un artefacto y es rechazada automáticamente.

Tratamiento y análisis de los datos de EEG

El análisis de los datos se realizará offline a través de Matlab R2015b (Mathworks) y se utilizarán scripts personalizados desarrollados en el Brainlab. Los registros neuronales de las sílabas /da/ y /oa/ se promediarán por separado para cada tipo de estímulo. Después, los datos se filtrarán de nuevo offline, con un filtro pasabanda FIR y ventana Kaiser de 80 a 1500 Hz. Las respuestas a los estímulos de polaridad alterna se promediarán juntas para minimizar el artefacto del estímulo, preservando así la FFR a los diferentes estímulos.

Solo se analizará la sección /a/ de cada uno de los estímulos de la FFR, que se corresponde con 57-170 ms en el estímulo /da/ y 90-160 ms en el estímulo /oa/. Para examinar la FFR

en la frecuencia fundamental, se aplicará una Transformación Rápida de Fourier (FFT), con relleno de 0 para obtener una resolución de 1 Hz en ventana con un taper Hanning. La amplitud de respuesta media se obtendrá a partir del pico de frecuencia fundamental (113 Hz) y los cuatro armónicos posteriores: H2, H3, H4 y H5 (226, 339, 352, y 465 Hz).

Los análisis estadísticos se realizarán con SPSS 20.0 (IBM, Armonk, EE.UU). Se utilizará un test Saphiro-Wilk para comprobar la normalidad de las muestras. Posteriormente, se analizarán las principales diferencias de la amplitud de la FFR en la frecuencia fundamental y en los armónicos mediante T-tests, siempre y cuando nuestras muestras sigan una distribución normal, ya que sino estos no tendrán validez. Se formarán para cada gen, dos grupos de participantes/niños según el polimorfismo (o polimorfismos) que presenten, y se analizarán las posibles diferencias en los parámetros FFR según el gen de interés.

Si las variables no siguen una distribución normal, se usará una U de Mann-Whitney. El resultado se considerará significativo cuando $p < 0,05$ utilizando un análisis de dos colas.

4. Resultados previstos y discusión

El objetivo del presente estudio es analizar la correlación de los polimorfismos ubicados en los dos genes conocidos como clásicos de susceptibilidad a la dislexia KIAA0319 y DCDC2 ([41], [15], [42]) con la FFR especialmente en la frecuencia fundamental y en los armónicos.

Teniendo en cuenta la prevalencia del alelo menor del gen KIAA0319 en la población española (35%) esperamos que 35 de los 150 recién nacidos reclutados presenten el polimorfismo rs4504469. Lo mismo para el DCDC2, teniendo en cuenta la prevalencia del alelo menor del gen en la población española (39%) esperamos que 39 de los 150 recién nacidos presenten el polimorfismo rs2274305.

Al correlacionar la FFR con estos polimorfismos de los dos genes por separado y dada la modulación de la respuesta de seguimiento de frecuencia en relación con diferentes trastornos del lenguaje como la dislexia ([38], [39]) esperamos ver en aquellos pacientes que presenten uno o ambos alelos de menor frecuencia en el KIAA0319 y en el DCDC2, una alteración en la respuesta de seguimiento de frecuencia. Concretamente, esperamos encontrar efectos en la codificación de la frecuencia fundamental y/o en la codificación de los armónicos. En particular, en línea con la literatura previa ([39]) esperamos ver una afectación de la FFR en los armónicos, mientras que la frecuencia fundamental no esté alterada en ambos grupos.

Estos resultados están basados en el estudio de Chandrasekaran y colaboradores [39], donde examinaron la codificación del habla dependiente del contexto en niños con y sin dislexia del desarrollo. En este estudio se midió la FFR a partir de una sílaba /da/ presentada en contexto repetitivo o variable.

Se observó que en la FFR no se aprecian diferencias significativas entre los niños con buenas habilidades en la lectura y los niños con malas habilidades en la lectura, en el momento de presentar el estímulo en condición repetitiva (en color rojo) o en condición variables (color negro). Estas se superponen (Figura 1A).

Al hacer una descomposición espectral del registro de la FFR (Figura 1B), se aprecia claramente que en los niños con buenas habilidades en la lectura, en el segundo armónico observaron una codificación de este cuando el estímulo viene de manera repetitiva (rojo) en comparación a cuando viene de manera variable (negro). En los niños con malas habilidades en la lectura, el patrón es lo contrario. En particular, lo que vieron es que en los buenos lectores vemos es una codificación armónica mejorada en la condición repetitiva, y una aparente codificación mejorada de los armónicos en la condición variable en el caso de los malos lectores.

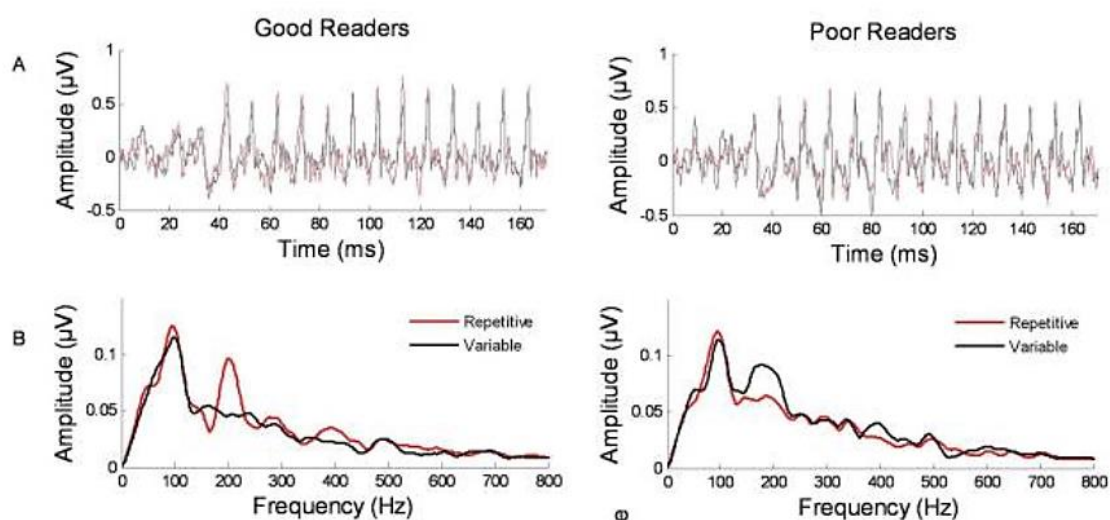


Figura 2. A. Respuesta de seguimiento de frecuencia en niños con buenas habilidades en la lectura (izquierda) y niños con malas habilidades en la lectura (derecha). Vemos que la presentación del estímulo en condición variable (negro) y la presentación del estímulo en condición repetitiva (rojo) se superponen. B. Descomposición espectral del registro de la FFR. Vemos una codificación armónica mejorada en la condición repetitiva (rojo) en los buenos lectores (izquierda), y una aparente codificación mejorada de los armónicos en la condición variable en los malos lectores (derecha). Figura extraída de Chandrasekaran et al., 2009.

En el gráfico de barras de amplitud se vio que (Figura 2), en el caso de los buenos lectores estas diferencias en la codificación del segundo armónico sí que son significativas, mientras que en los malos lectores, aunque parecía que sí, no hay diferencias significativas.

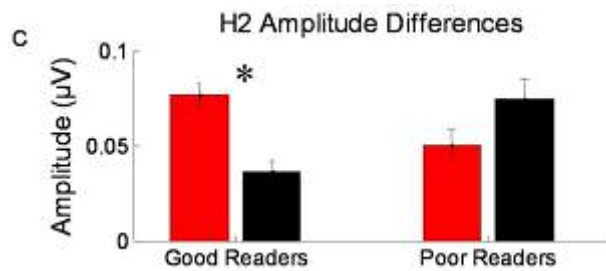


Figura 3. Gráfico de barras de amplitud en el segundo armónico. Vemos diferencias significativas en la codificación del segundo armónico cuando el estímulo se presenta en condición repetitiva en el caso de los buenos lectores (izquierda) pero no hay una mejora en la codificación del segundo armónico cuando el estímulo se presenta de manera variable en los malos lectores (derecha). Figura extraída de Chandrasekaran et al., 2009.

Por último, en este estudio se realizó un test de percepción en ruido que correlacionaron con la magnitud de amplitud en el segundo armónico (Figura 3). Estos resultados muestran que, en general, los lectores deficientes (estrellas negras) presentan una peor percepción del habla en relación con los buenos lectores (diamantes blancos).

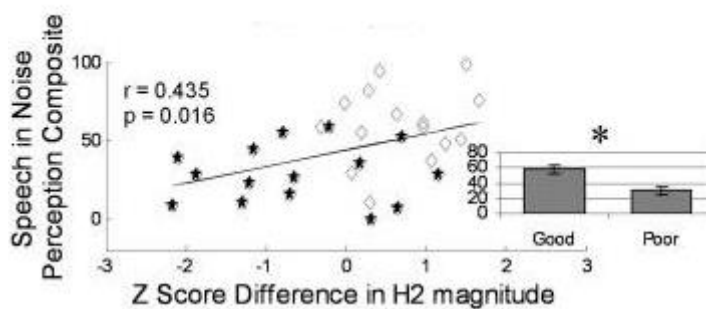


Figura 4. Test de percepción en ruido relacionado con la diferencia normalizada en la magnitud del segundo armónico entre las dos condiciones. Los buenos lectores (diamantes blancos) muestran una mejor percepción del habla en relación con los malos lectores (estrellas negras). Figura extraída de Chandrasekaran et al., 2009.

Los resultados reflejan que los niños con dislexia del desarrollo presentan un déficit de percepción del habla, ya que no son capaces de modular la codificación del tono de voz en función del contexto, teniendo dificultades para excluir el ruido, un síntoma característico de la dislexia del desarrollo.

Este estudio, además va en la línea de otros que han encontrado resultados similares ([86]). Teniendo en cuenta esta literatura, y viendo que la FFR en los estudios presentados se ve alterada por factores como la musicalidad o el bilingüismo [40], donde vemos que aumenta la amplitud de esta, esperamos encontrar lo contrario en aquellas personas que presenten problemas con la comprensión del habla. Es decir, que la amplitud de esta FFR

se viera disminuida, lo que significaría que alguno de los problemas de desarrollo de la dislexia tiene un componente de base genética y el polimorfismo estaría afectando la codificación del sonido a nivel subcortical. En concreto, esperamos ver una disminución de la amplitud de la FFR no en la frecuencia fundamental sino en los armónicos, donde la literatura previa ([39], [86]) ha reportado diferencias relacionadas con el desarrollo de este trastorno.

Estas variaciones se pueden dar debido a que los armónicos presentan la codificación de la estructura fina del sonido de manera que, quizás, el problema de la dislexia como tal no se encuentra en la codificación del sonido directo (no se encuentra en la codificación de la frecuencia fundamental del estímulo que entra) sino en toda la estructura fina.

Por ejemplo, en el estímulo /oa/, tanto la primera parte de la /o/ como la parte de la /a/ tienen la misma frecuencia fundamental. Lo que nos hace distinguir que estamos escuchando la /o/ o la /a/ son los diferentes armónicos, la estructura fina del estímulo. De manera que quizá en disléxicos, esperamos encontrar una diferencia en esta estructura fina, ya que es la que nos permite distinguir entre diferentes tipos de sílabas. La frecuencia fundamental sin embargo, codifica la parte más básica del estímulo, con lo cual aquí no esperamos observar diferencias.

Si recordamos los diferentes problemas que presentan los pacientes con dislexia, la dificultad para aprender a decodificar las palabras es el principal, debido a que tienen problemas para identificar los sonidos del habla. Realmente es en esto en lo que encuentran dificultades, y puede ser debido a una mala codificación de la estructura fina de los estímulos entrantes.

Esto no solo va en línea de nuestra literatura ya presentada, sino que además se ve reflejado en el estudio de Chandrasekaran et al. donde se observan diferencias en el segundo armónico, lo cual evidencia aun más que nosotros encontraremos alteraciones ubicadas en esta posición.

Esperamos encontrar estos resultados en ambos genes, ya que como he comentado, los dos están directamente relacionados con la susceptibilidad al desarrollo dislexia. Aunque, probablemente, estas diferencias serán más evidentes en el caso de esos pacientes donde el polimorfismo de menor frecuencia en ambos genes coincida; es decir, si una persona tiene una alteración tanto en el KIAA0319 como en el DCDC2, esperamos una mayor alteración en comparación con una persona que solo tiene predisposición a la dislexia por uno de los dos genes. Incluso podría darse la situación de que esta persona que presenta las dos variantes genéticas, es decir tiene una doble predisposición a este trastorno, quizás sí que tenga también una alteración mayor en la FFR, que puede venir dándose ya en la frecuencia fundamental.

La codificación de la frecuencia fundamental al final es un proceso muy básico, mientras que los sujetos que tienen dislexia tienen problemas en la extracción del ruido, trastornos de lectura, deficiencias en el procesamiento fonológico, memoria a corto plazo, etc. por eso creemos que un problema en estos genes se va a ver relacionado con la FFR. Nosotros esperamos que ya se vea reflejada al nacimiento o sino a los 21 meses.

En caso de que no se encuentre relación a los 0 meses, esto significaría que la predisposición genética a la dislexia no lo es todo, ya que estaríamos viendo que en niños

que presentan genes con predisposición a desarrollar este trastorno y niños que no presentan ninguna de estas variables, la codificación del sonido es la misma. De manera que, teniendo en cuenta lo que ya he mencionado anteriormente respecto a que la FFR se ve aumentada con el bilingüismo o el entrenamiento musical, sería interesante ver si existe algún adiestramiento que pueda ‘anular’ o paliar los efectos de esta predisposición. Así que podríamos decir que en el momento del nacimiento, sino observamos diferencias entre ambos grupos de recién nacidos, la predisposición genética de la dislexia no está afectando a nivel subcortical o bien, que a nivel subcortical, en el momento del nacimiento es exactamente igual.

Se podría hacer un siguiente estudio a los 21 meses donde los niños ya han pasado las primeras etapas de adquisición del lenguaje, y ver en este punto si la predisposición genética se ha relacionado con la FFR. En caso afirmativo, esto podría significar que o bien hace falta una exposición al lenguaje para ver la afectación de estos genes, es decir que los sujetos que tengan problemas de dislexia no tienen dificultades en la codificación del sonido, sino que tienen un problema en el momento de la adquisición del lenguaje, que es un proceso posterior.

Esperamos encontrar esto por el tipo de trastorno que es la dislexia, donde los sujetos normalmente no tienen problemas en diferenciar sonidos que reciben, es decir, son capaces de diferenciar si habla un hombre o una mujer, si lo que escuchan es grave o agudo, en resumen, no tienen dificultades para interpretar un tono base como puede ser la codificación de la frecuencia fundamental. Tienen dificultades a la hora de codificar los detalles, de entender bien las frases, de memorizar, de procesar correctamente lo que escuchan, etc.

En el caso de no encontrar ninguna alteración en la respuesta de seguimiento de frecuencia, esto significaría que la predisposición al desarrollo por parte de estos dos genes en el momento del nacimiento no produce una alteración a nivel subcortical visible con la FFR. Esto nos llevaría a un siguiente paso que es estudiar si hay relación a los 21 meses, que es cuando los niños ya han adquirido el lenguaje y esto nos abre otra ventana en la que ver como la predisposición a la dislexia asociada a KIAA0319 y DCDC2 se desarrolla, o no.

5. Conclusiones

El objetivo de este trabajo de final de grado fue encontrar estos dos genes, el KIAA0319 y el DCDC2, directamente implicados en el desarrollo de la dislexia en recién nacidos y ver si están asociados con alteraciones en la respuesta de seguimiento de frecuencia.

Las restricciones impuestas por la pandemia Covid19 impidieron la completa realización del estudio empírico, por lo que este trabajo de fin de grado se planteó como un preregistro en la *Open Science Framework.*, y en lugar de resultados actuales se desarrollaron en detalle las hipótesis y predicciones empíricas.

Lo que esperamos encontrar una alteración en el segundo armónico en el caso de encontrar un sujeto que presente un polimorfismo simple, es decir solo presenta uno de los dos polimorfismos, y una alteración generalizada de la FFR en el caso de que se de un polimorfismo doble, presenta las dos variables genéticas.

Así que, en estos sujetos que presenten una predisposición a la dislexia, esperamos poder utilizar la FFR como un posible marcador para este trastorno, y así poder hacer una detección precoz de este.

6. Bibliografía

- [1] Nacional I, Sordera D, De T. Etapas del desarrollo del habla y el lenguaje.
- [2] Krueger C, Horesh E, Crossland BA. Safe Sound Exposure in the Fetus and Preterm Infant. *JOGNN - J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.* 2012;41(2):166-170. doi:10.1111/j.1552-6909.2012.01342.x
- [3] Health E. Noise: A hazard for the fetus and newborn. *Pediatrics.* 1997;100(4):724-727. doi:10.1542/peds.100.4.724
- [4] Las 4 etapas del desarrollo del lenguaje. Accessed May 19, 2021. <https://psicologiyamente.com/desarrollo/etapas-desarrollo-lenguaje>
- [5] Vouloumanos A, Werker JF. Listening to language at birth : evidence for a bias for speech in neonates. 2007;2:159-164. doi:10.1111/j.1467-7687.2007.00549.x
- [6] Patterson ML, Werker JF. Two-month-old infants match phonetic information Michelle L . Patterson and Janet F . Werker. 2003;2:191-196.
- [7] Charo F, Saffran JR, Aslin RN, Newport EL. Statistical Learning by 8-Month-Old Infants. 1996;274(December):8-10.
- [8] Fenson L, Dale PS, Reznick JS, et al. IN COMMUNICATIVE DEVELOPMENT Larry Fenson. 2012;59(5).
- [9] Feldman J, Jankowski J, Rose S. A Cognitive Approach to the Development of Early Language. *Child Dev.* 2009;80(1):134-150. doi:10.1111/j.1467-8624.2008.01250.x.A
- [10] Program I. *Speech and Language Disorders in Children: Implications for the Social Security Administration's Supplemental Security Income Program.*; 2016. doi:10.17226/21872
- [11] A. SE, Amy S. Treatment of Developmental Apraxia of Speech: Integral Stimulation Methods. *Clin Manag Mot Speech Disord Child.* Published online 1999:109-148.
- [12] Hulme C, Snowling MJ. Reading disorders and dyslexia. *Curr Opin Pediatr.* 2016;28(6):731-735. doi:10.1097/MOP.0000000000000411
- [13] Mascheretti S, De Luca A, Trezzi V, et al. Neurogenetics of developmental dyslexia: From genes to behavior through brain neuroimaging and cognitive and sensorial mechanisms. *Transl Psychiatry.* 2017;7(1):e987-15. doi:10.1038/tp.2016.240
- [14] Dislexia - Síntomas y causas - Mayo Clinic. Accessed May 24, 2021. <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/dyslexia/symptoms-causes/syc-20353552>
- [15] Newbury DF, Monaco AP, Paracchini S. Reading and language disorders: The importance of both quantity and quality. *Genes (Basel).* 2014;5(2):285-309. doi:10.3390/genes5020285

- [16] Señales para detectar la dislexia en niños y sus tratamientos. Accessed May 24, 2021. https://www.sabervivirtv.com/medicina-general/senales-para-detectar-dislexia-ninos-como-tratarla_1893
- [17] Snowling MJ. Europe PMC Funders Group Early identification and interventions for dyslexia: a contemporary view. 2015;13(1):7-14. doi:10.1111/j.1471-3802.2012.01262.x.Early
- [18] Al-Shidhani TA, Arora V. Understanding dyslexia in children through human development theories. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2012;12(3):286-294. doi:10.12816/0003141
- [19] Snowling MJ. Developmental Reading Disorders. *J Child Psychol Psychiatry*. 1991;32(1):49-77. doi:10.1111/j.1469-7610.1991.tb00003.x
- [20] CORMICAN JD. Review: language acquisition in the normal child. *Child Care Health Dev*. 1976;2(2):113-122. doi:10.1111/j.1365-2214.1976.tb00866.x
- [21] Brósch-Fohraheim N, Fuiko R, Marschik PB, Resch B, Liu J. The influence of preterm birth on expressive vocabulary at the age of 36 to 41 months. *Med (United States)*. 2019;98(6). doi:10.1097/MD.00000000000014404
- [22] Language development - birth to 1 year - St. Jude Children's Research Hospital. Accessed June 1, 2021. <https://www.stjude.org/treatment/patient-resources/caregiver-resources/patient-family-education-sheets/rehabilitation/language-development-birth-to-1-year.html>
- [23] Tierney AL, Nelson CA. Brain Development and the Role of Experience in the Early Years. *Zero Three*. 2009;30(2):9-13. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23894221> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3722610>
- [24] Kuhl PK. Early language acquisition: Cracking the speech code. *Nat Rev Neurosci*. 2004;5(11):831-843. doi:10.1038/nrn1533
- [25] Moreno-Torres Sánchez I, Berthier Torres ML. Plasticidad cerebral y lenguaje. *Uciencia Rev Divulg científica la Univ Málaga*. 2012;(9):24-27. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3892366&orden=342875&info=link%5Cnhttps://dialnet.unirioja.es/servlet/extart?codigo=3892366>
- [26] Loscalzo DEHRCJ. 基因的改变NIH Public Access. *Bone*. 2011;23(1):1-7. doi:10.1016/j.neuron.2010.08.038.Brain
- [27] Shojaei E, Jafari Z, Gholami M. Effects of Early Identification and Intervention on Language Development in...: EBSCOhost. *Iran J Otorhinolaryngol*. 2016;28(1):13-21. <http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?sid=9b498383-b50c-4184-9d39-f7cc24809df9@sessionmgr4005&vid=1&hid=4114>
- [28] Onnis L, Truzzi A, Ma X. Language development and disorders: Possible genes and environment interactions. *Res Dev Disabil*. 2018;82(October 2017):132-146. doi:10.1016/j.ridd.2018.06.015

- [29] Goldstein MH, King AP, West MJ. Social interaction shapes babbling: Testing parallels between birdsong and speech. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(13):8030-8035. doi:10.1073/pnas.1332441100
- [30] Goldstein MH, Schwade JA. Social feedback to infants' babbling facilitates rapid phonological learning. *Psychol Sci*. 2008;19(5):515-523. doi:10.1111/j.1467-9280.2008.02117.x
- [31] Gros-Louis J, West JM, Goldstein HM, King PA. Mothers provide differential feedback to infants' prelinguistic sounds. *Int J Behav Dev*. 2006;30(6):509-516. doi:10.1177/0165025406071914
- [32] Evoked potential - Wikipedia. Accessed May 24, 2021. https://en.wikipedia.org/wiki/Evoked_potential
- [33] Description D. Auditory Frequency- Following Responses. Published online 2019:1-13.
- [34] Auditory Brainstem Response - StatPearls - NCBI Bookshelf. Accessed May 25, 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564321/>
- [35] Peterein JL, Neely JG. Auditory brainstem response testing in neurodiagnosis: Structure versus function. *J Am Acad Audiol*. 2012;23(4):269-275. doi:10.3766/jaaa.23.4.5
- [36] Coffey EBJ, Nicol T, White-Schwoch T, et al. Evolving perspectives on the sources of the frequency-following response. *Nat Commun*. 2019;10(1):1-10. doi:10.1038/s41467-019-13003-w
- [37] Schnupp J, Nelken I, King AJ. *Auditory Neuroscience*. The MIT Press; 2019. doi:10.7551/mitpress/7942.001.0001
- [38] Ribas-Prats T, Almeida L, Costa-Faidella J, et al. The frequency-following response (FFR) to speech stimuli: A normative dataset in healthy newborns. *Hear Res*. 2019;371:28-39. doi:10.1016/j.heares.2018.11.001
- [39] Chandrasekaran B, Hornickel J, Skoe E, Nicol T, Kraus N. Context-Dependent Encoding in the Human Auditory Brainstem Relates to Hearing Speech in Noise: Implications for Developmental Dyslexia. *Neuron*. 2009;64(3):311-319. doi:10.1016/j.neuron.2009.10.006
- [40] Rodrigues MV, Donadon C, Guedes-weber M, Giorgi S, Skarzynski PH, Hatzopoulos S. Frequency Following Response and Musical Experience: a Review. 2019;9(January):9-16. doi:10.17430/1003008
- [41] Gostic M, Martinelli A, Tucker C, et al. The dyslexia susceptibility KIAA0319 gene shows a specific expression pattern during zebrafish development supporting a role beyond neuronal migration. *J Comp Neurol*. 2019;527(16):2634-2643. doi:10.1002/cne.24696
- [42] Carrion-Castillo A, Franke B, Fisher SE. Molecular genetics of dyslexia: An overview. *Dyslexia*. 2013;19(4):214-240. doi:10.1002/dys.1464
- [43] Williams J, O'Donovan MC. The genetics of developmental dyslexia. *Eur J Hum Genet*. 2006;14(6):681-689. doi:10.1038/sj.ejhg.5201575

- [44] Kaplan DE, Gayán J, Ahn J, et al. Evidence for linkage and association with reading disability, on 6p21.3-22. *Am J Hum Genet.* 2002;70(5):1287-1298. doi:10.1086/340449
- [45] Gayán J, Smith SD, Cherny SS, et al. Quantitative-trait locus for specific language and reading deficits on chromosome 6p. *Am J Hum Genet.* 1999;64(1):157-164. doi:10.1086/302191
- [46] Shao S, Niu Y, Zhang X, et al. Opposite Associations between Individual KIAA0319 Polymorphisms and Developmental Dyslexia Risk across Populations: A Stratified Meta-Analysis by the Study Population. *Sci Rep.* 2016;6(July):1-9. doi:10.1038/srep30454
- [47] KIAA0319 KIAA0319 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. Accessed May 25, 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=9856>
- [48] Kaplan DE, Gayán J, Ahn J, et al. Evidence for linkage and association with reading disability, on 6p21.3-22. *Am J Hum Genet.* 2002;70(5):1287-1298. doi:10.1086/340449
- [49] Harold D, Paracchini S, Scerri T, et al. Further evidence that the KIAA0319 gene confers susceptibility to developmental dyslexia. *Mol Psychiatry.* 2006;11(12):1085-1091. doi:10.1038/sj.mp.4001904
- [50] Ludwig KU, Roeske D, Schumacher J, et al. Investigation of interaction between DCDC2 and KIAA0319 in a large German dyslexia sample. *J Neural Transm.* 2008;115(11):1587-1589. doi:10.1007/s00702-008-0124-6
- [51] Couto JM, Livne-Bar I, Huang K, et al. Association of reading disabilities with regions marked by acetylated H3 histones in KIAA0319. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet.* 2010;153(2):447-462. doi:10.1002/ajmg.b.30999
- [52] Venkatesh SK, Siddaiah A, Padakannaya P, Ramachandra NB. Analysis of genetic variants of dyslexia candidate genes KIAA0319 and DCDC2 in Indian population. *J Hum Genet.* 2013;58(8):531-538. doi:10.1038/jhg.2013.46
- [53] Lim CKP, Wong AMB, Ho CSH, Waye MMY. A common haplotype of KIAA0319 contributes to the phonological awareness skill in Chinese children. *Behav Brain Funct.* 2014;10(1):1-10. doi:10.1186/1744-9081-10-23
- [54] Paracchini S, Thomas A, Castro S, et al. The chromosome 6p22 haplotype associated with dyslexia reduces the expression of KIAA0319, a novel gene involved in neuronal migration. *Hum Mol Genet.* 2006;15(10):1659-1666. doi:10.1093/hmg/ddl089
- [55] Neocórtex (cerebro): estructura y funciones. Accessed May 25, 2021. <https://psicologiyamente.com/neurociencias/neocortex>
- [56] Borrell V. Recent advances in understanding neocortical development [version 1; peer review: 2 approved]. *F1000Research.* 2019;8:1-9. doi:10.12688/f1000research.20332.1

- [57] Velayos-baeza A, Levecque C, Kobayashi K, Holloway ZG. The Dyslexia-associated KIAA0319 Protein Undergoes Proteolytic Processing with \square - Secretase-independent Intramembrane Cleavage * \square . 2010;285(51):40148-40162. doi:10.1074/jbc.M110.145961
- [58] Proteolysis - Wikipedia. Accessed May 26, 2021. <https://en.wikipedia.org/wiki/Proteolysis>
- [59] Knockdown de genes - Wikipedia, la enciclopedia libre. Accessed May 26, 2021. https://es.wikipedia.org/wiki/Knockdown_de_genes
- [60] Centanni TM, Booker AB, Sloan AM, et al. Knockdown of the Dyslexia-Associated Gene Kiaa0319 Impairs Temporal Responses to Speech Stimuli in Rat Primary Auditory Cortex. Published online 2013. doi:10.1093/cercor/bht028
- [61] Centanni TM, Chen F, Booker AM, et al. Speech sound processing deficits and training-induced neural plasticity in rats with dyslexia gene knockdown. *PLoS One*. 2014;9(5). doi:10.1371/journal.pone.0098439
- [62] Galaburda AM. Dyslexia - A molecular disorder of neuronal migration. *Ann Dyslexia*. 2005;55(2):151-165. doi:10.1007/s11881-005-0009-4
- [63] Zhao H, Chen Y, Zhang BP, Zuo PX. KIAA0319 gene polymorphisms are associated with developmental dyslexia in Chinese Uyghur children. *J Hum Genet*. 2016;61(8):745-752. doi:10.1038/jhg.2016.40
- [64] Sánchez-Morán M, Hernández JA, Duñabeitia JA, et al. Genetic association study of dyslexia and ADHD candidate genes in a Spanish cohort: Implications of comorbid samples. *PLoS One*. 2018;13(10):1-17. doi:10.1371/journal.pone.0206431
- [65] Deng KG, Zhao H, Zuo PX. Association between KIAA0319 SNPs and risk of dyslexia: a meta-analysis. *J Genet*. 2019;98(1):1-7. doi:10.1007/s12041-019-1103-4
- [66] Mascheretti S, De Luca A, Trezzi V, et al. Neurogenetics of developmental dyslexia: From genes to behavior through brain neuroimaging and cognitive and sensorial mechanisms. *Transl Psychiatry*. 2017;7(1):e987-15. doi:10.1038/tp.2016.240
- [67] Dennis MY, Paracchini S, Scerri TS, et al. A common variant associated with dyslexia reduces expression of the KIAA0319 gene. *PLoS Genet*. 2009;5(3). doi:10.1371/journal.pgen.1000436
- [68] rs4504469 (SNP) - Explore this variant - Homo_sapiens - Ensembl genome browser 102. Accessed February 2, 2021. https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=6:24588156-24589156;v=rs4504469;vdb=variation;vf=59723088
- [69] DCDC2 doublecortin domain containing 2 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. Accessed May 31, 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/51473>
- [70] DCDC2 Gene - GeneCards | DCDC2 Protein | DCDC2 Antibody. Accessed June 1, 2021. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=DCDC2>

- [71] DCDC2 doublecortin domain containing 2 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. Accessed May 31, 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/51473>
- [72] Manuscript A. NIH Public Access. 2013;63(1):148-156. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.06.037.Variants
- [73] Whitworth AL, Mann NH, Larkum AWD. This article is protected by copyright. All rights reserved. *Ultrasound Obs Gynecol.* 2006;50(6):776-780. doi:10.1111/pce.14045
- [74] Kass S. and Visuo-Spatial Performance in Mice. 2012;10(8):868-875. doi:10.1111/j.1601-183X.2011.00727.x.Mutation
- [75] Truong DT, Che A, Rendall AR, et al. processing and memory ability. 2015;13(8):802-811. doi:10.1111/gbb.12170.Mutation
- [76] Massinen S, Hokkanen ME, Matsson H, et al. Increased expression of the dyslexia candidate gene DCDC2 affects length and signaling of primary cilia in neurons. *PLoS One.* 2011;6(6). doi:10.1371/journal.pone.0020580
- [77] Jonathan Posner and Bradley S. Peterson JAR. 基因的改变 NIH Public Access. *Bone.* 2008;23(1):1-7. doi:10.1016/j.nbd.2009.12.022.The
- [78] Wilcke A, Weissfuss J, Kirsten H, Wolfram G, Boltze J, Ahnert P. The role of gene DCDC2 in German dyslexics. *Ann Dyslexia.* 2009;59(1):1-11. doi:10.1007/s11881-008-0020-7
- [79] Lind PA, Luciano M, Wright MJ, Montgomery GW, Martin NG, Bates TC. Dyslexia and DCDC2: Normal variation in reading and spelling is associated with DCDC2 polymorphisms in an Australian population sample. *Eur J Hum Genet.* 2010;18(6):668-673. doi:10.1038/ejhg.2009.237
- [80] Chen Y, Zhao H, Zhang YX, Zuo PX. DCDC2 gene polymorphisms are associated with developmental dyslexia in Chinese Uyghur children. *Neural Regen Res.* 2017;12(2):259-266. doi:10.4103/1673-5374.200809
- [81] Schumacher J, Anthoni H, Dahdouh F, et al. Strong genetic evidence of DCDC2 as a susceptibility gene for dyslexia. *Am J Hum Genet.* 2006;78(1):52-62. doi:10.1086/498992
- [82] Shao S, Kong R, Zou L, et al. The Roles of Genes in the Neuronal Migration and Neurite Outgrowth Network in Developmental Dyslexia: Single- and Multiple-Risk Genetic Variants. *Mol Neurobiol.* 2016;53(6):3967-3975. doi:10.1007/s12035-015-9334-8
- [83] Matsson H, Huss M, Persson H, et al. Polymorphisms in DCDC2 and S100B associate with developmental dyslexia. *J Hum Genet.* 2015;60(7):399-401. doi:10.1038/jhg.2015.37
- [84] rs22734305 (SNP) - Explore this variant - Homo_sapiens - Ensembl genome browser 102. Accessed February 2, 2021. https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=19:1004731-1005731;v=rs2240158;vdb=variation;vf=45520296

- [85] Arenillas-Alcón S, Costa-Faidella J, Ribas-Prats T, Dolores Gómez-Roig M, Escera C. Neural encoding of voice pitch and formant structure at birth as revealed by frequency-following responses. *Sci Reports* /. 123AD;11:6660. doi:10.1038/s41598-021-85799-x
- [86] Hornickel J, Kraus N. Unstable representation of sound: A biological marker of dyslexia. *J Neurosci*. 2013;33(8):3500-3504. doi:10.1523/JNEUROSCI.4205-12.2013