

Detección de las mutaciones 35delG y A1555G en discapacitados auditivos de provincia La Habana

Escuela Latinoamericana de Medicina

Yudelmis Álvarez Gavilán¹, Estela Morales Peralta², Yulemis González Quesada³, Haydee Rodríguez Guas⁴, Cristina Díaz Pantoja⁵

¹Licenciada en Biología, Máster en Genética Médica, Profesor Instructor. ²Especialista de 2do. Grado en Genética Clínica, Profesor Titular, Centro Nacional de Genética Médica. ³Licenciada en Bioquímica, Aspirante a Investigador, Centro Nacional de Genética Médica. ⁴Especialista de 1er. Grado en Genética Clínica, Profesor Instructor, Hospital "José Ramón Martínez". ⁵Licenciada en Bioquímica, Investigador Auxiliar, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".

RESUMEN

Objetivo: Detectar las mutaciones 35delG y A1555G, causantes de sordera, en un grupo de discapacitados auditivos de la provincia La Habana.

Métodos: Se realizó un estudio molecular en un grupo de discapacitados auditivos que cursaban la enseñanza especializada en la Escuela Provincial de sordos e hipoacúsicos "26 de Julio", municipio de Guanajay, provincia La Habana, durante el curso escolar 2008-2009. A cada caso se le extrajo 10 mL de sangre periférica, colectada en 250 µL de ácido etilendiaminotetracético (EDTA) (56 mg/mL). Se obtuvo el ADN de los leucocitos a través de la técnica de precipitación salina descrita por Miller en 1989. El método empleado para el estudio molecular, fue la técnica de reacción en cadena de la polimerasa.

Resultados: Se encontró un niño heterocigótico y otro homocigoto para la mutación 35delG, lo que representó una frecuencia de 0,15 del alelo mutado. Ninguno de los sujetos estudiados presentó la mutación A1555G.

Conclusiones: El hallazgo en el grupo estudiado, de dos discapacitados auditivos con la mutación 35delG, confirma la alta frecuencia de esta alteración en discapacitados con sordera autosómica recesiva.

Palabras clave: Sordera, mutaciones, discapacidad auditiva.

INTRODUCCIÓN

Las mutaciones son alteraciones o cambios genéticos, que escapan a los mecanismos de reparación y se hacen permanentes después de una división celular. En su mayoría, las sorderas hereditarias no sindrómicas son provocadas por mutaciones en un gen (sorderas monogénicas) y tienen una elevada heterogeneidad genética (hasta 200 genes involucrados) (1, 2).

En los últimos años, se identifican mutaciones en más de 120 genes asociados a pérdidas auditivas. A pesar de ello, las más frecuentes descritas son las del gen GJB2 (del inglés *gap junction protein Beta 2*), localizado en el cromosoma 13 (región q11-q12); el cual codifica para la síntesis de la proteína conexina 26 (Cx26), que se expresa en varias estructuras del oído interno, tales como la estría vascular, membrana

basilar, la prominencia, el limbo y ligamento espiral de la cóclea (3).

En las membranas citoplasmáticas de las células cilindricas de la cóclea, los conexones formados por la Cx26, forman un canal funcional por el que ocurre el reciclaje del potasio necesario para mantener la alta concentración endolinfática requerida de este ión, para preservar la función del oído interno (4).

Personas con mutaciones en el gen *GJB2* (que ocasiona la terminación prematura de la síntesis de la proteína Cx26), muestran pérdida auditiva neurosensorial. La más común, es la delección de una de las seis guaninas consecutivas de la posición 30 a la 35 de este gen, llamada 30delG o 35delG. En países como Italia, Israel, Pakistán, España, Francia, India, árabes y poblaciones caucásicas, se presenta en más de dos tercios de las personas con sordera neurosensorial autosómica recesiva, tipo DFNB1 (5).

Se considera, que la mutación 35delG se origina a partir de un *hot spot* (sitio caliente) mutacional, donde la polimerasa se salta y no lee una de las guaninas creando así una deleción. En la sordera prelocutiva, esta es una de las mutaciones y el defecto sensorial hereditario más frecuente en humanos (6).

La causa genética habitual de sordera, de origen tardío, se debe a la interacción de un genoma predisponente con un medio adverso, la sordera mitocondrial, inducida por la acción ototóxica de los aminoglucósidos (7, 8).

Se entiende por ototoxicidad al efecto nocivo que determinadas sustancias ejercen sobre el oído. Dentro de las sustancias ototóxicas merecen especial atención los antibióticos del tipo aminoglucósidos, ampliamente utilizados en la práctica médica y clasificados como agentes bactericidas de amplio espectro. Entre ellos se encuentran, la estreptomina, kanamicina, gentamicina, tobramicina, neomicina y amikacina, entre otros (9).

En el año 1993 se identifica la mutación A1555G del ADN mitocondrial asociada a la sordera inducida por aminoglucósidos, que consiste en una sustitución de adenina (A) por guanina (G) en el nucleótido 1555 del gen *12SARNr* del ADN mitocondrial (10, 11). La mutación A1555G es homoplásmica, característica que determina su presencia en todos los familiares por vía materna de un individuo que la posea. De ahí la importancia de identificar las familias en las que se está segregando la mutación, con el fin de dictar medidas preventivas dirigidas a preservar la función auditiva de dichas personas (12, 13).

En sentido general, la hipoacusia, una vez que se instaure es irreversible, siendo el único tratamiento la utilización de una prótesis acústica, audífono o implante coclear (14, 15).

En Cuba, se han realizado diferentes estudios por los que se evidencia en la población, la presencia de mutaciones causantes de sordera neurosensoriales no sindrómicas. Entre ellos, los realizados por Menéndez y colaboradores en 2002, y más recientemente, por Perea y colaboradores en 2007. Ambos trabajos, destacan la mutación 35delG como una de las más frecuentes entre los portadores de las familias estudiadas. No obstante, los estudios realizados son aún insuficientes (16, 17).

El presente trabajo, tuvo como objetivo determinar las mutaciones 35delG y A1555G, en un grupo de discapacitados auditivos de la provincia La Habana. Este trabajo es el primero de esta índole, que se efectúa en dicha región del país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se exploró la presencia de las mutaciones 35delG y A1555G, en un grupo de discapacitados auditivos matriculados en la Escuela Especial Provincial de sordos e hipoacúsicos "26 de Julio", durante el curso escolar 2008-2009, municipio Guanajay, La Habana, Cuba.

Selección de los casos

El estudio familiar para la selección de los casos, tuvo como punto de partida el procedimiento descrito en un trabajo precedente realizado en la Institución de referencia, en el mismo periodo antes mencionado (18).

El universo estuvo compuesto por 30 niños que estuvieron de acuerdo con participar en la investigación, así como sus padres, conformidad que fue solicitada por escrito (consentimiento informado).

Para identificar la mutación 35delG, se seleccionaron los sujetos que presentaron al menos dos de las siguientes características: pérdida auditiva prelingual no sindrómica (aislada) de posible herencia autosómica recesiva, padres consanguíneos, hermanos sordos, un árbol genealógico con criterios atribuibles a sordera autosómica recesiva o sordera de causa desconocida, aunque fuera el único en la familia. Como elemento adicional, se tomó en cuenta el color de la piel.

Para identificar la mutación A1555G en el ADN mitocondrial, se seleccionaron los niños que cumplieron los siguientes criterios: antecedentes de tratamiento con aminoglucósidos, sordera no sindrómica (aislada) y familiares por la vía materna también sordos o que presentaron un árbol genealógico con criterios atribuibles a sordera mitocondrial.

La muestra total estuvo constituida por 14 sujetos, 10 para identificar la mutación 35delG y cuatro, para determinar la mutación A1555G. No se incluyeron casos familiarmente relacionados.

Obtención de la muestra de ADN

A cada caso se le extrajo 10 mL de sangre periférica, colectada en 250 μ L de ácido etilendiaminotetracético (EDTA) (56 mg/mL). Se obtuvo el ADN de los leucocitos a través de la técnica de precipitación salina descrita por Miller en 1989 (19).

Detección de la mutación 35delG

Se llevó a cabo con la amplificación de un fragmento de 207pb (pares de bases), que contiene el locus de

la mutación y los cebadores: D48:5'-GGTGAGGTTGTG-TAAGAGTTGG-3' y R254:5'-CTGGTGGAGTGTGGTTCC-CAC-3'.

Se realizó por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (RCP), mediante un equipo, marca Intelligent heating block IHB 2024, modelo 101. La amplificación estuvo precedida por una desnaturalización primaria (96 °C, 5 min.) seguida de 30 ciclos de desnaturalización (94 °C, 35 s); hibridación (56 °C, 35 s) y elongación (72 °C, 35 s). Se concluyó con extensión final (72 °C, 7 min.).

Para comprobar la amplificación, se realizó una corrida electroforética en gel de agarosa al 2%, teñida con Bromuro de Etidio (voltaje: 250 volt) y visualizada con un transiluminador de luz ultravioleta.

El resultado de la RCP (10 µL) fue digerido con la enzima BsiY1, marca Promega, (25U) (37 °C, 4 h.). El producto de la digestión se sometió a una electroforesis en gel de poliacrilamida al 8%, se corrió a 100 volt durante 4 a 5 h. y se tiñó con Bromuro de Etidio.

Interpretación de los resultados

Se consideró presencia de la mutación 35delG cuando se generaron dos fragmentos de 181 y 26 pb (positivo homocigótico) o cuando se observaron tres bandas de 207 pb, 181pb y 26 pb (positivo heterocigótico). Resultado negativo (no presencia del cambio genético) se consideró cuando la enzima BsiYI no reconoció el sitio de restricción y, por tanto, se mantuvo intacto el fragmento de 207 pb.

Detección de la mutación A1555G

Se llevó a cabo con la amplificación de un fragmento de 339pb que contiene el locus donde yace la mutación, y los cebadores: Mut1:5'-GCTCAGCCTATATACCGC-

CATCTTCAGCAA-3' y Mut2:5'-TTTCCAGTACACTTACCA TGTTACGACTGG-3'.

Para la obtención del ADN mitocondrial, a las muestras obtenidas se les aplicó vórtex por 15 s. La secuencia de pasos para identificar la mutación fue similar a lo descrito antes, con la diferencia que la digestión se realizó con la enzima de restricción HaeIII (marca Biolabs) (37 °C, 4 h.).

Interpretación de los resultados

Se consideró el resultado positivo (presencia de la mutación) cuando se generaron tres bandas de 216 pb, 93 pb y 30 pb. Como resultado negativo (no presencia de la mutación), cuando se obtuvieron dos bandas de 216 pb y 123 pb.

En ambas determinaciones se utilizaron controles positivos obtenidos de la reserva oncológica del laboratorio del Instituto (centro de referencia) complementando con marcadores de peso molecular.

RESULTADOS

De los 10 casos estudiados para la mutación 35delG, ocho (80%) tenían fenotipo, y un árbol genealógico característico de sordera con herencia autosómica recesiva. Dos (20%), fueron sorderas idiopáticas sin otros familiares afectados.

De acuerdo al color de la piel, tres de los niños eran blancos (30%); seis mestizos (60%) y uno negro (10%).

Ninguno de los dos casos de sordera idiopática presentó la mutación. Entre los clasificados con sordera de herencia autosómica recesiva, se encontró un niño heterocigótico y otro homocigótico, ambos con color de la piel blanco, para una frecuencia de la mutación en

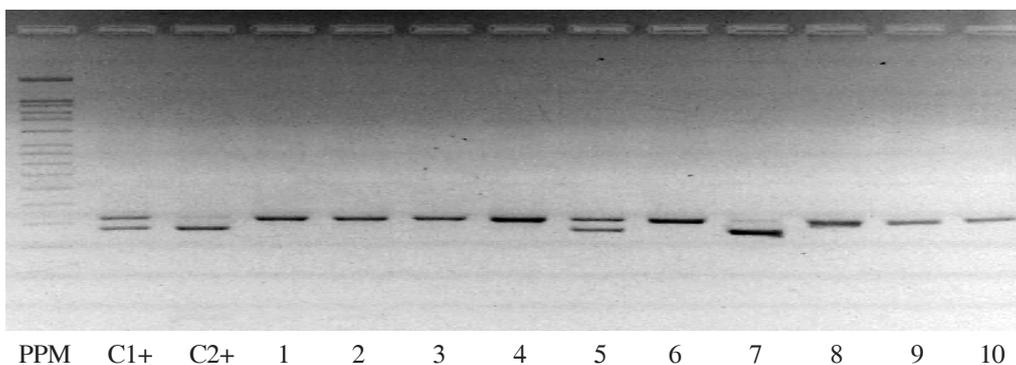


Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa 2% para la mutación 35delG. (Carril uno: PPM: Patrón de peso molecular, carril dos: C1+: control positivo heterocigótico, carril tres: control positivo homocigótico, carriles del cuatro al trece: casos seleccionados).

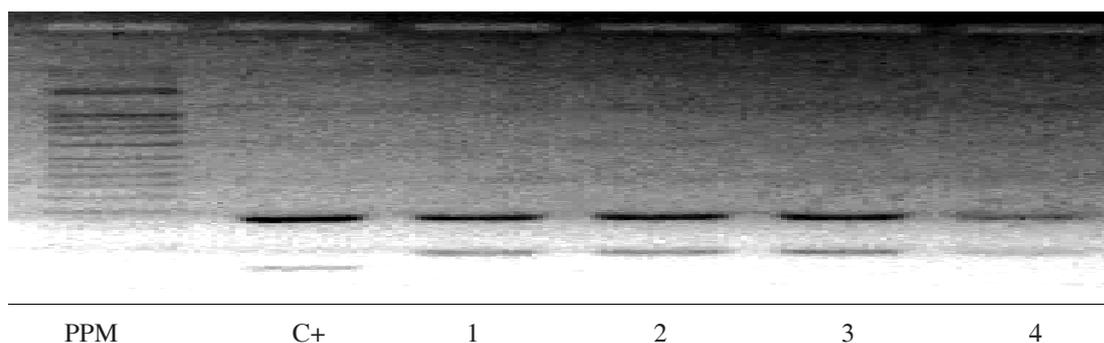


Figura 2. Visualización de la electroforesis en gel de agarosa 2% para la mutación A1555G. (Carril uno: (PPM) Patrón de peso molecular; carril dos: (C+) control positivo, carriles del tres al seis: casos seleccionados).

la muestra estudiada de 0,15 (3 alelos mutados de un total de 20) (Figura 1).

Ninguno de los cuatro niños estudiados para la mutación A1555G fue positivo (figura 2).

DISCUSIÓN

La sordera de tipo prelingual no sindrómica autosómica recesiva (fenotipo que presentaron los dos casos identificados en este trabajo) se relaciona, habitualmente, con la mutación 35delG. Además, el hecho de haber encontrado dentro del pequeño número de casos estudiados, un individuo heterocigótico y otro homocigótico, apoya una vez más, la elevada frecuencia de esta alteración, como factor causal de sorderas neurosensoriales. No obstante, esta es sólo una, dentro de aproximadamente 50 mutaciones más, descritas para el gen *GJB2*, que causan disfunción auditiva (16, 17, 20).

Se señala que el color de la piel parece estar asociado con la frecuencia de la mutación 35delG. En España, uno de cada 30 sujetos son portadores asintomáticos de esa alteración (personas oyentes). Por otra parte, Menéndez y colaboradores, relacionan, con nuestro origen étnico, el hallazgo de portadores de la mutación en familias cubanas, caucásicas. En este estudio, los casos identificados con la mutación 35delG, tienen color de la piel blanco y sus ancestros son de origen español, hecho que apoya los hallazgos anteriores (21, 22).

La condición de homocigótico para la alteración in fiere, generalmente, que ambos padres del individuo sean heterocigóticos. No obstante, existe la posibilidad de una disomía uniparental, es decir, que ambos cromosomas provengan de un único progenitor porque no se produzca disyunción en la meiosis, seguida de un rescate trisómico con la eliminación del cromosoma

proveniente del gameto normal. Un ejemplo de esto fue descrito recientemente por Yan y colaboradores (23).

En este estudio, para el caso que resultó homocigótico, se podría efectuar un pesquisaje en cascada, además de asesorar adecuadamente a las familias involucradas, dado que existe un 25% de probabilidad que sus padres tengan un nuevo hijo sordo.

En el discapacitado heterocigótico, por la diversidad que se presenta en el origen de las discapacidades auditivas, las explicaciones pueden ser múltiples. Dada la gran heterogeneidad genética alélica para este gen, una de ellas podría ser, que esté presente una mutación diferente a la 35delG en el otro alelo del gen *GJB2* y sea heterocigótico compuesto para mutaciones que codifiquen para la síntesis de la conexina 26 (24).

Otra explicación podría obedecer a una herencia digénica y que, por tanto, el sujeto sea doblemente heterocigótico, para este gen y para otro gen no *GJB2*, con mutaciones que causen sordera. Del Castillo y colaboradores encuentran, que el locus *DFNB1* contiene dos genes (*GJB2* y *GJB6*) que codifican para proteínas del tipo conexinas 26 y 30, respectivamente. De tal modo, individuos con sordera no sindrómica, mapeados para este locus, resultan ser dobles heterocigóticos para una mutación en *GJB2* y una delección en *GJB6* (25-27).

Se estudiaron cuatro casos por la posibilidad de presentar la mutación A1555G, sin embargo, en ninguno se encontró dicha alteración. Es importante señalar, que en estos niños la sordera era prelingual, mientras que la literatura plantea que este tipo de sordera se presenta de forma tardía o postlingual. Por tanto, para dichos individuos, se pudieran plantear dos posibles hipótesis (28-31):

1) Que la sordera no se deba a la acción ototóxica de los aminoglucósidos, sino a otro motivo, probablemente

te genético, de herencia recesiva, asociada a la presencia de otros familiares afectados.

2) Que presenten otra mutación que predisponga para desarrollar sordera por la acción de estos antibióticos ototóxicos. Existen otros cambios del ADN mitocondrial que producen predisposición a la pérdida auditiva por el uso de estos fármacos: mutaciones C1494T, T961C, 956-960insC, T1095C, TrnA-Ser (UCN) y A7445G, en el gen *12SARNr* mitocondrial. No se descarta, que una de ellas pueda estar presente en alguno de los casos analizados en este trabajo (7).

De lo planteado antes se puede inferir, que la mutación A1555G no es común en individuos con sorderas en edades pediátricas.

El hecho de haber encontrado en este estudio, cuatro niños cuyas historias clínicas referían a la ototoxicidad de los aminoglucósidos como la causa de su sordera, y habiéndose ratificado en ellos la ausencia de la muta-

ción, sugiere, que podría existir una sobrestimación de la presencia de esta alteración, como causa de sordera por ototoxicidad (8).

Los resultados de esta investigación constituyen el primer paso, dentro del asesoramiento genético y seguimiento permanente, que se debe dar a los participantes de este estudio.

CONCLUSIONES

Se identificaron dos discapacitados con sordera autosómica recesiva con la mutación 35delG, hecho que ratifica a dicha alteración, como una de las más frecuentes en sujetos con ese fenotipo. No se encontraron portadores para la mutación A1555G, aunque no se descarta la posible presencia de otras alteraciones asociadas a la sordera por la acción ototóxica de los aminoglucósidos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Grupo central de investigaciones especiales. Por la vida. Estudio psicosocial de las personas con discapacidades y estudio psicopedagógico, social y clínico-genético de las personas con retraso mental en Cuba. Ciudad de la Habana: Casa Editorial Abril. 2003; pp:58-66.
2. Menéndez AI. Las sorderas hereditarias: Algunos apuntes necesarios. *Rev Cubana Pediatr.* 1998;67(3). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ped/vol67_3_95/ped09395.htm, [acceso: 6 de noviembre de 2009].
3. Li XC, Friedman RA. Nonsyndromic hereditary hearing loss. *Otolaryngol Clin N Am.* 2002;35:275-85.
4. Tang H, Fang P, Ward PA, Schmitt E, Darilek S, Manolidis S. DNA sequence analysis of GJB2, encoding connexin 26: observations from a population of hearing impaired cases and variable carrier rates, complex genotypes, and ethnic stratification of alleles among controls. *Am J Med Genet.* 2006;140A:2401-15.
5. Cheng X, Li L, Brashears S, Morlet T. Connexin 26 variants and auditory neuropathy/dys-synchrony among children in schools for the deaf. *Am J Med Genet.* 2005;139A:13-18.
6. Van Laer L, Coucke P, Mueller RF, Caethoven G, Flothmann K, Prasad SD. A common founder for the 35delG GJB2 gene mutation in connexin 26 hearing impairment. *J Med Genet.* 2001;38:515-18.
7. Morales PE. La mutación A1555G y el uso de aminoglucósidos en la prevención de la sordera. *Rev Gen Comunitaria.* 2007;32(1):19-22.
8. Morales PE. Herencia mitocondrial de la predisposición a ototoxicidad por los aminoglucósidos. *Rev Cub Gen Hum.* 1999;2:52-8.
9. Finnala S, Majamaa K. Lack of a modulative factor in locus 8p23 in a finnish family with nonsyndromic sensorineural hearing loss associated with the 1555A-G mitochondrial DNA mutation. *Europ J Hum Genet.* 2003;11:652-8.
10. Arnos KS, Welch KO, Tekin M, Norris VW, Blanton SH, Pandya A, et al. A comparative analysis of the genetic epidemiology of deafness in the United States in two sets of pedigrees collected more than a century apart. *Am J Hum Genet.* 2008;83:200-7.
11. Lezirovitz K, Pardono E, Mello MTB, De Carvalho-Silva FL, Lopes JJ, Abreu-Silva RS, et al. Unexpected genetic heterogeneity in a large consanguineous Brazilian pedigree presenting deafness. *Europ J Hum Genet.* 2008;16:89-96.
12. Bierer JA. Threshold and channel interaction in cochlear implant users: evaluation of the tripolar electrode configuration. *J Acoust Soc Am.* 2007;121:1642-53.
13. Abe S, Kelley PM, Kimberling WJ, Usami S. Connexin 26 gene (GJB2) mutation modulates the severity of hearing loss associated with the 1555A-G mitochondrial mutation. *Am J Med Genet.* 2001;103:334-8.
14. Riazuddin S, Nazli S, Ahmed ZM, Yang Y, Zulfikar F. Mutation spectrum of MYO7A and evaluation of a novel nonsyndromic deafness DFNB2 allele with residual function. *Hum. Mutat.* 2008;29:502-11.
15. Lezirovitz K, Pardono E, De Mello-Auricchio MTB, De Carvalho-Silva FL. Unexpected genetic heterogeneity in a large consanguineous Brazilian pedigree presenting deafness. *Europ J Hum Genet.* 2008;16:89-96.
16. Menéndez I. Mutaciones del gen de la conexina 26 (GJB2) en familias cubanas con sorderas no sindrómicas autosómicas recesivas. *Rev Cubana Pediatr.* 2002;70(2):21-9.
17. Perea Y, Mato J, Amores I, Ferreira R. Estudio de seis mutaciones en el gen GJB2 en pacientes cubanos con sorderas neurossensoriales no sindrómicas. *Biotecnología Aplicada.* 2007;24:236-40.

18. Álvarez Y, Morales E, Rodríguez H, Pérez J, González Y. Características de la sordera en un grupo de discapacitados auditivos. *Panorama Cuba y Salud*. 2009;4(1):12-20.
19. Álvarez A, del Castillo I, Villamar M, Aguirre LA, González-Neira A, López-Nevot A et al. High prevalence of the W24X mutation in the gene encoding connexin-26 (GJB2) in Spanish Romani (gypsies) with autosomal recessive non-syndromic hearing loss. *Am J Med Genet*. 2005;137A: 255-8.
20. Kudo T, Ikeda K, Kure S, Matsubara Y, Oshima T, Watanabe KL, et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) responsible for childhood deafness in the Japanese population. *Am J Med Genet*. 2000;90:141-5.
21. Menéndez-Alejo I, Ponce de León M, Carrillo B, Gil JL. Sorderas neurosensoriales no sindrómicas. Análisis de la herencia en 10 familias. *Rev Cubana Pediatr*. 1998;70(2):92-9.
22. Wilch, E.; Zhu, M.; Burkhart, K. B.; Regier, M.; Elfenbein, J. L.; Fisher, R. A.; Friderici, K. H. : Expression of GJB2 and GJB6 is reduced in a novel DFNB1 allele. *Am. J. Hum. Genet*. 2006;79:174-9.
23. Yan D, Ouyang XM, Angeli SI, Du LL, Liu XZ. Paternal uniparental disomy of chromosome 13 causing homozygous 35delG mutation of the GJB2 gene and hearing loss. (Letter) *Am J Med Genet*. 2007;143A:385-6.
24. Carrasquillo MM, Zlotora J, Barges S, Chakravarti A. Two different connexin 26 mutations in an inbred kindred segregating non-syndromic recessive deafness: implications for genetic studies in isolated populations. *Hum Mol Genet*. 1997;6(12):2163-72.
25. Feldmann D, Denoyelle F, Chauvin P, Garabedian EN, Couderc R: Large deletion of the GJB6 gene in deaf patients heterozygous for the GJB2 gene mutation: genotypic and phenotypic analysis. *Am J Med Genet*. 2004;127A:263-7.
26. Mahdieh N, Nishimura C, Ali-Madadi K, Riazalhosseini Y, Yazdan H, Arzhanghi S, et al. The frequency of GJB2 mutations and the delta (GJB6-D13S1830) deletion as a cause of autosomal recessive non-syndromic deafness in the Kurdish population. (Letter) *Clin Genet*. 2004;65:506-8.
27. Del Castillo FJ, Rodríguez-Ballesteros M, Álvarez A, Hutchin T. A novel deletion involving the connexin-30 gene, del(GJB6-d13s1854), found in trans with mutations in the GJB2 gene (connexin-26) in subjects with DFNB1 non-syndromic hearing impairment. (Letter) *J Med Genet*. 2005;42:588-94.
28. Djalilian AR, McGaughey D, Patel S, Seo EY, Yang C, Cheng J. Connexin 26 regulates epidermal barrier and wound remodeling and promotes psoriasisiform response. *J Clin Invest*. 2006;116:1243-53.
29. Shalev SA, Hujirat Y. Maternal origin of a de novo mutation of the connexin 26 gene resulting in recessive nonsyndromic deafness. (Letter). *Am J Med Genet*. 2004;124A: 411-12.
30. Snoeckx RL, Huygen PLM, Feldmann D, Denoyelle F. GJB2 mutations and degree of hearing loss: a multicenter study. *Am. J. Hum. Genet*. 2005;77:945-57.
31. Oguchi T, Ohtsuka A, Hashimoto S, Oshima A, Abe S, Kobayashi Y. Clinical features of patients with GJB2 (connexin 26) mutations: severity of hearing loss is correlated with genotypes and protein expression patterns. *J Hum Genet*. 2005;50:76-83.

Detection of 35delG and A1555G mutations in hearing disabled patients in the province of Havana

SUMMARY

Objective: To detect 35delG and A1555G mutations, which are causes of deafness, in a group of hearing disabled patients in the province of Havana.

Methods: A molecular study was performed on a group of hearing disabled patients enrolled in specialized instruction in the Provincial School for the deaf and hypoacusic "26 de Julio", in the municipality of Guanajay, province Havana, during the 2008-2009 academic year. In each case 10 mL of peripheral blood was drawn and collected in 250 µL of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (56 mg/mL). DNA was obtained from the leukocytes via the saline precipitation technique described by Miller in 1989. The polymerase chain reaction technique was the method employed for the molecular study.

Results: The 35delG mutation was found in a heterozygous male child as well as in another homozygote child, which represented a 0.15 frequency of allele mutation. None of the subjects studied presented the A1555G mutation.

Conclusions: The finding of two hearing disabled people with the 35delG mutation within the group studied confirms the high frequency of this alteration in disabled people with recessive autosomal deafness.

Key words: Deafness, mutation, people with disabilities.

Dirección para la correspondencia:

MsC. Yudelmis Álvarez Gavilán, Dpto. de Genética, Escuela Latinoamericana de Medicina. Carretera Panamericana Km 3 ½ Santa Fe Playa Ciudad de la Habana, CP 19108.

E-mail: yag1982@elacm.sld.cu

Recibido: 10 de julio de 2009

Aprobado tras revisión: 6 de noviembre de 2009