

ARTICLE ORIGINAL

Recherche de la mutation A1555 G chez les patients avec une surdité génétique

Margarita Mesa Marrero¹, Christiane Zschaek Luzardo², Ana María García Arumí², Antoni Andreu³, Ramiro Martínez Estéfano³

¹ Service d'Oto-rhino-laryngologie - Hôpital de Viladecans, Barcelone, Espagne

² Service d'Oto-rhino-laryngologie - H.G Vall d'Hebrón, Barcelone, Espagne

³ Centre de recherche en biochimie et biologie moléculaire - H.G Vall d'Hebrón, Barcelone, Espagne

RÉSUMÉ

Hypothèse : L'hypoacousie neurosensorielle d'origine mitochondriale est une cause importante de surdité génétique; la plus importante du point de vue clinique étant l'A1555G, au gène ARN ribosomal 12S. Elle est responsable de la surdité provoquée par les aminoglycosides.

Matériel et méthodes : Une étude rétrospective a été réalisée chez 15 patients présentant un profil d'hypoacousie neurosensorielle bilatérale post linguale avec un mode de transmission de la surdité compatible avec celui d'une maladie mitochondriale. Un échantillon de sang périphérique a été prélevé pour détecter la mutation A1555G du DNA mitochondrial.

Résultats : La mutation a été retrouvée chez 8 patients parmi lesquels 4 avaient un antécédent de prise d'aminoglycosides. Le profil audiométrique le plus habituel était la chute sur les fréquences les plus aiguës.

Conclusion : La mutation A1555G peut être une cause d'hypoacousie. Devant une surdité de perception, familiale, il apparaît intéressant d'évoquer un diagnostic de surdité mitochondriale, afin d'une part de pouvoir déclencher une enquête génétique et d'autre part d'éviter la prise d'aminoglycosides chez les porteurs de la mutation non atteints encore par la perte auditive.

Mots clés : Surdité neurosensorielle, ADN mitochondrial, Aminoglycosides, Mutation.

(Fr ORL - 2006 ; 90 : 210-215)

Date de soumission : juin 2004

Date d'acceptation : janvier 2006

Auteur correspondant : Margarita Mesa Marrero
Hôpital de Viladecans.

Avenida de Gavá s/n Viladecans. Barcelone. Espagne
e-mail : margamesamarrero@hotmail.com

210 - Fr ORL - 2006 ; 90

ABSTRACT

Hypothesis: Sensorineural hearing impairment with mitochondrial inheritance is a major cause of hereditary hearing loss and the most important clinical cause, as the 1555 A-to-G mutation in mitochondrial 12SrRNA causes aminoglycoside-induced ototoxicity.

Material and methods: We retrospectively reviewed the records of 15 patients with bilateral, post-lingual, sensorineural hearing impairment and a pattern of familial involvement consistent with mitochondrial inheritance. The patients were screened for the A1555G mutation in mitochondrial DNA.

Results: Peripheral blood screening tests identified the A1555G mutation in 8 patients, including 4 with a history of aminoglycoside therapy. High-frequency hearing loss was the most common audiometric pattern.

Conclusion: The A1555G mutation may be a cause of hearing impairment. In patients with familial sensorineural hearing impairment, a high level of suspicion for mitochondrial inheritance should be maintained to ensure that appropriate genetic tests are done and that aminoglycosides are not given to carriers of the mutation whose hearing is still normal.

Keywords: Sensorineural hearing impairment, Mitochondrial DNA, Aminoglycosides, Mutation.

Mutation A1555G et surdité génétique

INTRODUCTION

La d ficiency auditive neurosensorielle (SNS) est une pathologie fréquente. On considère qu'environ deux tiers des d ficiencies auditives de l'enfance sont dues à des facteurs génétiques. La d ficiency auditive à cause génétique comprend un groupe largement hétérogène de maladies [1-2].

Les mutations des gènes de l'ADN mitochondrial (mtADN) ont été identifiées, tant comme cause de SNS syndromique, par exemple dans le syndrome MELAS (encéphalopathie, acidose lactique, crises d'épilepsie) ou dans le syndrome Kearns-Sayre, que comme cause de SNS non syndromique [3-4]. Nous connaissons des mutations du mtADN qui ne causent qu'une d ficiency auditive dans le gène tARN Ser (UCN), la T7510C [5] et la T7511C [6] et dans le gène codeur du 12s rARN, la T1095C [7] et la A1555G [8]. Il existe aussi des mutations du mtADN qui peuvent être cause de d ficiency auditive non syndromique ou syndromique comme c'est le cas de la mutation A7445G du nucléotide adjacent au gène de tARN Ser (UCN) [9-10]. Un autre exemple en est la 7472insC (insertion d'une cytosine sur la position 7472) dans le tARN Ser (UCN), cause de d ficiency auditive associée à ataxie, myoclonies et arthropathie [11] ou uniquement de d ficiency auditive [12].

La mutation A1555G paraît être plus fréquente que les autres mutations mitochondriales [13] et se produit par la substitution d'une base nucléotidique, l'adénine, par une autre, la guanine, dans le gène 12s rARN ribosomal dans l'ADN mitochondrial. Elle a été largement décrite comme cause de SNS non syndromique, mais a aussi été publiée, dans 2 familles indépendantes, l'apparition d'une d ficiency auditive associée dans un cas à une myocardiopathie [14].

La prévalence de la mutation A1555G dans une population européenne à SNS varie entre 0,5% et 2,4% selon diverses études [15-18]. La prévalence dans une population espagnole avec SNS familiale non syndromique est plus élevée, avec des fréquences citées de 15% [19], 27,1% [20], et 28,5% [21]. Par contre, aucune mutation n'a été remarqu e chez 106 patients hypoacousiques en Gr ce [22] ou chez 202 malades qui, au Royaume-Uni, présentaient un SNS non syndromique   démarrage précoce [23]. De ce fait, la prévalence réelle de la mutation est encore incertaine.

De nombreuses études ont démontré que l'A1555G du mtADN rend l'individu sensible à l'ototoxicité induite par les aminoglycosides [8, 20, 24-28]

  des doses qui, normalement, ne devraient pas produire de dommage cochléaire. Cependant la prise de ces antibiotiques n'est pas indispensable au développement du déficit auditif; la SNS pouvant se survenir sans exposition à ce type de médicament [5, 20, 28] avec une expression phénotypique très variable qui va de la normalité auditive aux d ficiencies auditives pr cocces et profondes.

L'objectif de notre étude était de déterminer la fréquence de la mutation A1555G dans le gène 12s rARN de l'ADN mitochondrial chez des patients souffrant de SNS post linguale, bilatérale, héréditaire, avec un mode de transmission maternelle compatible avec un héritage mitochondrial.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Patients et familles

Il s'agit d'une étude rétrospective dans laquelle nous étudions la prévalence de la mutation A1555G du mtADN chez 15 patients, caucasiens, douze femmes (80%) et trois hommes (20%), avec SNS post linguale, non syndromique, familiale, avec un mode d'héritage maternel.

Cette population est issue de patients qui se sont présentés à l'Hôpital Général Vall d'Hebrón de Barcelone et chez qui nous avons diagnostiqué une SNS familiale avec un mode d'héritage mitochondrial.

Les patients appartenait à 15 familles non consanguines et non liées dont les ancêtres vivaient dans diverses régions bien que tous les cas étudiés résidaient dans la même région. La moyenne d'âge était de 46 ans (19-78 ans).

Les critères d'inclusion exigeaient que la SNS soit bilatérale, non justifiée par une cause secondaire en dehors de la prise d'aminoglycosides et qu'il y ait, dans la famille, deux membres au moins qui se trouvent affectés de perte auditive.

Méthodes

Dans chaque cas, un profil individuel a été établi, avec élaboration de l'arbre généalogique mentionnant les antécédents familiaux des d ficiencies auditives, la notion de prise d'aminoglycosides (AG), la présence d'un autre symptôme otologique (acouphènes, vertige) ; un examen otoscopique et une audiométrie tonale liminaire ont été réalisés.

Mutation A1555G et surdité génétique

Ces patients ont été considérés atteints de d ficien-
ce auditive lorsque leur seuil à l'audiométrie tonale se
situait au-dessous de 30 dB sur l'une des fréquences
 tudi es. Chez les patients atteints de déficit auditif, le
degré de perte a été calculé suivant le tableau publié
par l'American Medical Association (AMA) [29].
L'intensité de la d ficien-
ce auditive a été enregistrée
selon la classification suivante : légère (21 à 39 déci-
bels), moyenne (40 à 69 dB), sévère (70 à 89 dB), pro-
fonde (> 90 dB).

Analyse de l'ADN mitochondrial

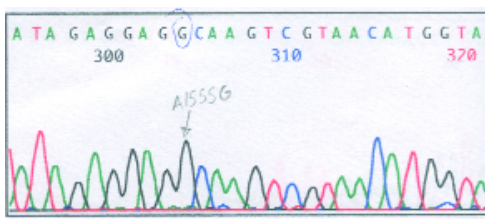
L'analyse de l'ADN a été réalisée à partir d'un échan-
tillon de sang périphérique. Avant le prélèvement san-
guin, tous les individus ont signé un consentement
 clair .

L'ADN total a été extrait de chaque échantillon san-
guin par une méthode avec phénol / chloroforme
/isoamyl-alcool, amplifiée par le système de PCR
(réaction en chaîne de la polymérase), le fragment de
PCR contenant la zone intéressante du gène ribosomal
12S, et en utilisant des amorces spécifiques (forward:
nt 1450-1470; reverse: nt 1721-1741). Les fragments
de PCR ont été séquencés avec le s quenciateur ABI
Prism 410 (Applied Biosystems Inc, Foster City, CA,
USA). La séquence d'ADN ainsi obtenue était alors
analys e manuellement et automatiquement pour
détecter la mutation et les changements nucl oti-
diques qui ont été comparés avec la séquence de r f -
rence du mtDNA humaine (Figure 1).

RÉSULTATS

Sur les 15 patients étudiés, 8 avaient la mutation
A1555G du gène 12s rARN du mtADN (53,3%).

**Figure 1 : Analyse automatique de la séquence
de ADN.**



On observe le changement d'une adénine par une
guanine dans la position 1555.

Quatre patients avaient un antécédent de prise d'ami-
noglucosides. Ces quatre patients avaient effective-
ment une mutation. Le nombre de parents affectés par
une d ficien-
ce auditive dans chaque famille a oscillé
entre 2 et 19 (moyenne = 6,8). (Tableau I).

Le degré de d ficien-
ce auditive a été défini comme
léger pour 2 patients, modéré pour 2, sévère pour 4,
profond pour 7. (Tableau II). Parmi les patients à
mutation, nous avons trouvé 1 cas avec SNS sévère, et
7 avec SNS profonde.

Sur les 4 patients avec antécédent de prise d'amino-
glucosides (AG), tous présentaient une SNS profonde.
Pour 2 patients, la date d'administration d'AG était
connue (6 ans et 17 ans) et la surdité est survenue de
façon précoce juste après la première dose d'AG. Pour
les deux autres patients, la d ficien-
ce auditive est

Tableau I : Population

| Famille | Age | Sexe | N  de parents SNS | AG | A1555G + |
|---------|-----|------|-------------------------|-----|----------|
| 1 | 47 | F | 8 | oui | oui |
| 2 | 57 | M | 4 | non | non |
| 3 | 45 | F | 4 | non | non |
| 4 | 72 | F | 3 | non | non |
| 5 | 43 | F | 4 | non | non |
| 6 | 78 | F | 5 | non | oui |
| 7 | 75 | F | 3 | non | non |
| 8 | 47 | F | 16 | non | oui |
| 9 | 51 | M | 5 | oui | oui |
| 10 | 36 | M | 6 | oui | oui |
| 11 | 33 | F | 9 | non | non |
| 12 | 35 | F | 7 | oui | oui |
| 13 | 25 | F | 7 | non | oui |
| 14 | 19 | F | 2 | non | non |
| 15 | 47 | F | 19 | non | oui |

AG = Aminoglucosides

M = masculin ; F = féminin

SNS = D ficien-
ce auditive sensorielle

**Tableau II: Intensité de la d ficien-
ce auditive.**

| | Patients (%) |
|----------|--------------|
| Légère | 2 (13,3%) |
| Moyenne | 2 (13,3%) |
| Sévère | 4 (26,6%) |
| Profonde | 7 (46,6%) |

Mutation A1555G et surdité génétique

aussi apparue pendant l'enfance et l'adolescence (5 ans et 16 ans), sans à priori de notion de relation avec l'administration d'un médicament. Les 4 autres patients ne se rappelaient plus l'âge à laquelle est apparue la SNS.

Les fréquences affectées étaient variables mais elles concernaient toujours les fréquences les plus hautes qui elles même présentaient les pertes les plus importantes.

Deux des cas porteurs de la mutation présentaient des acouphènes bilatéraux permanents et tous deux reliaient directement l'antécédent de prise d'AG avec l'apparition des acouphènes. Quatre patients ont présenté des antécédents de vertige périphérique, 2 d'entre eux avec des antécédents de prise d'AG mais ils ne liaient pas la prise médicamenteuse au vertige. En conséquence, l'ototoxicité de ces antibiotiques ne paraît pas provoquer de dommage vestibulaire aigu sur des sujets porteurs de la mutation.

DISCUSSION

L'ADN mitochondrial n'est transmis que par les femmes. Par conséquent, les hommes reçoivent le matériel génétique mitochondrial de leur mère et seront porteurs de la mutation, mais ils ne le transmettront pas à leur descendance.

La fréquence des mutations mitochondriales diffère beaucoup d'un pays à l'autre et nous ne disposons pas d'études comparatives. Dans notre échantillon, nous avons détecté la mutation dans 8 familles sur les 15 étudiées (53,3%), ce qui représente une fréquence élevée. D'autres études ont évalué que la SNS due à la mutation A1555G du gène 12S rARN du mtADN avait une prévalence de 15-30% en Espagne parmi des patients avec SNS non syndromique familiale [21-23]. La plus grande prévalence dans notre étude doit sans doute être attribuée au fait que le screening mutationnel a été réalisé dans des familles dont le pedigree sugg rait un héritage mitochondrial.

Les aminoglycosides (AG) constituent une famille d'antibiotiques introduits dans les années 50. Leur coût est peu élevé. Il s'agit de médicaments utilisés en première intention dans certaines maladies fréquentes comme la tuberculose. On les prescrit également dans la prophylaxie post-chirurgicale ou dans le traitement des infections de la blessure opératoire. Nombreuses sont les publications qui ont mentionné l'ototoxicité des aminoglycosides chez des patients porteur de la mutation A1555G du mtADN [8, 20, 24-

28]. Il existe au moins deux mécanismes de production d'ototoxicité différente liée aux aminosides ; l'un dose dépendante et le second dose non dépendante.

Les individus porteurs de la mutation subissent une ototoxicité par AG dose non dépendante. Tous les patients de notre étude qui ont pris de l'AG ont présenté un SNS bilatérale permanente et progressive. La mutation A1555G accroît la similitude du 12S rARN humain avec son homologue 16S bactérien sensible à l'AG, produisant une augmentation de la liaison de l'antibiotique. Mais cette hypothèse suggère que le dommage cochléaire se produirait seulement lors de la prise d'AG et que sans exposition, il n'y aurait pas de pathologie cochléaire. Il est raisonnable de supposer que le mécanisme pathogénique de la mutation A1555G dans le gène 12s rARN de l'ADN mitochondrial implique en plus une insuffisance cellulaire respiratoire importante (non AG dépendante) exprimant un défaut mitochondrial primaire de traduction ; d'où un déclin dans la production de triphosphate adénosine dans les cellules cochléaires (cellules ciliées/ stria vascularis) avec des effets dramatiques sur les pompes ioniques et par conséquent sur l'équilibre ionique essentiel pour la fonction auditive. Dans les cellules avec hautes demandes d'oxydation ou lors de situations de stress énergétique, une diminution de 50% du taux mitochondrial de synthèse protéique est observée et peut avoir de graves conséquences pour la cellule [8, 30].

Le fait que, dans notre étude, 100% des patients avec antécédent de prise d'AG souffrent d'une déficience auditive profonde nous amène à nous poser la question de systématiquement réaliser une recherche de la mutation A1555G mtADN avant d'administrer des AG. Compte tenu de la prévalence élevée de la mutation dans notre population étudiée (>50%), nous considérons qu'avant d'administrer l'AG, il faudrait s'enquérir auprès du patient de ses antécédents personnels et familiaux de déficience auditive et réaliser un arbre généalogique. S'il existe une surdité familiale avec un mode de transmission maternel, nous conseillerions de ne pas administrer d'AG chaque fois que la situation le permettra et de choisir un autre type d'antibiotiques ou de réaliser une détection de la mutation prétraitement s'il était strictement nécessaire d'utiliser l'AG.

On ne connaît pas la prévalence réelle de la mutation. Une possibilité serait un screening généralisé à la naissance, une autre la détection mutationnelle avant d'administrer l'AG, une troisième option, serait de le réaliser avant d'administrer l'AG à des patients

Mutation A1555G et surdité génétique

présentant une SNS familiale indépendante du mode héréditaire et, en dernier lieu, de limiter le screening à ceux chez qui le mode héréditaire serait compatible avec le mitochondrial. Il faut effectuer de nouvelles études de prévalence mutationnelle et évaluer le rapport coût-efficacité des méthodes de screening.

L'ototoxicité propre des AG et la mutation A1555G suivent des chemins pathogéniques différents qui contribuent à la mort des cellules ciliées avec apparition de la surdité ; mais la prise d'AG n'est pas obligatoire pour qu'apparaisse la d ficiance auditive chez des patients porteurs de la mutation A1555G sur le mtADN. Dans notre population d'étude, la SNS apparaît indépendamment des AG chez 4 patients.

CONCLUSION

Le difficulté de diagnostic de d ficiance auditive sensorielle familiale liée à une A1555G sur le mtADN nécessite de souligner l'importance du soupçon clinique pour en réaliser le diagnostic. Il est également important d'insister sur le caractère préventif du diagnostic, tant pour le conseil génétique que pour éviter que soient administrés des aminoglycosides aux parents porteurs de la mutation et non affectés de d ficiance auditive.

Avant toute prescription d'AG, il est important de demander les antécédents personnels et familiaux de d ficiance auditive et de réaliser un arbre généalogique, lorsque c'est possible. Chez les patients porteurs des mutations, les AG produisent une SNS bilatérale intense de manière dose indépendante. Il se produit aussi une SNS progressive d'apparition précoce chez ces patients, indépendamment de l'antécédent de prise d'AG.

RÉFÉRENCES

1. Fischel-Ghodsian N. Mitochondrial deafness mutations reviewed. *Hum Mutat.* 1999; 13: 261-270.
2. Van Camp G, Smith RJH. Maternally inherited hearing impairment. *Clin Genet.* 2000; 57: 409-414.
3. Goto Y, Nonaka I, Horai S. A mutation in the tRNA leu(uur) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalopathies. *Nature* 1990; 348: 651-653.
4. Yamasoba T, Oka Y, Tsukuda K, Nakamura M, Kaga K. Auditory findings in patients with maternally inherited diabetes and deafness harbouring a point mutation in the mitochondrial transfer RNA leu (UUR) gene. *Laryngoscope* 1996 ; 106: 49-53.
5. Hutchin TP, Parker MJ, Young ID et al. A novel mutation in the mitochondrial tRNA(Ser)UCN gene in a family with a non-syndromic sensorineural hearing impairment. *J Med Genet.* 2000; 37: 692-694.
6. Sue CM, Tanji K, Hadjigeorgiou G et al. Maternally inherited hearing loss in a large kindred with a novel T7511C mutation in the mitochondrial ADN tRNA(Ser)UCN gene. *Neurology* 1999; 52: 1905-1908.
7. Tessa A, Gionnotti A, Tieri L, Vilarinho L, Marotta G, Santorelli FM. Maternally inherited deafness associated with a T1095C mutation in the mtDNA. *Eur J Hum Genet.* 2001; 9: 147-149.
8. Prezant TR, Agapian JV, Bohlman MC et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet.* 1993 ; 4: 289-294.
9. Fischel-Ghodsian N, Prezant TR, Fournier P, Stewart IA, Maw M. Mitochondrial tRNA mutation associated with non-syndromic deafness. *Am J Otolaryngol.* 1995 ; 6: 403-408.
10. Seviour KB, Hatamochi A, Stewart IA et al. Mitochondrial A7445G mutation in two pedigrees with palmoplantar Keratoderma and deafness. *Am J Med Genet.* 1998; 75: 179-185.
11. Tiranti V, Chariot P, Carella F et al. Maternally inherited hearing loss, ataxia and myoclonus associated with a new point mutation in mitochondrial tRNA(Ser)UCN gene. *Hum Mol Genet.* 1995; 4: 1421-1427.
12. Verhoeven K, Ensink RJ, Tiranti V et al. Hearing impairment and neurological dysfunction associated with a mutation in the mitochondrial tRNA Ser(UCN) gene. *Eur J Hum Genet.* 1999 ; 7: 45-51.
13. Lehtonen MS, Uimonen S, Hassinen IE, Majamaa K. Frequency of mitochondrial DNA point mutations among patients with familial sensorineural hearing impairment. *Eur J Hum Genet.* 2000; 8: 315-318.
14. Santorelli FM, Tanji K, Manta P et al. Maternally inherited cardiomyopathy: an atypical presentation of the mtDNA 12S rRNA gene A1555G mutation. *Am J Hum Genet.* 1999; 64: 295-300.

Mutation A1555G et surdité génétique

15. Scrimshaw BJ, Faed JM, Tate WP, Yun K. Rapid identification of an A1555G in human mitochondrial DNA implicated in aminoglycoside-induced ototoxicity. *J Hum Genet.* 1999; 44: 388-390.
16. Kupka S, Toth T, Wrobel M et al. Mutation A1555G in the 12s rRNA gene and its epidemiological importance in German, Hungarian, and Polish patients. *Hum Mutat.* 2002; 19: 308-309.
17. Ostergaard E, Montserrat-Sentis B, Gronskov K, Brondum-Nielsen K. The A1555G mtDNA mutation in Danish hearing-impaired patients : frequency and clinical signs. *Clin Genet.* 2002; 62: 303-305.
18. Tekin M, Duman T, Bogoclu G et al. Frequency of mtDNA A1555G and A7445G mutations among children with prelingual deafness in Turkey. *Eur J Pediatr.* 2003; 162: 154-158.
19. Sarduy M, Del Castillo I, Villamar M et al. Genetic study of mitochondrially inherited sensorineural hearing impairment in eight large familias from Spain and Cuba. In: Stephens, D.; Read, A.; Martín, A.; eds. *Developments in genetic hearing impairment.* London: Whurr Publishers, 1998. pp 121-125.
20. Estivill X, Govea N, Barcel  A et al. Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA A1555G mutation and is enhanced by treatment with aminoglycosides. *Am J Hum Genet.* 1998; 62: 27-35.
21. Gallo J, Morales C, Del Castillo I et al. Incidencia de las mutaciones A1555 Gen el ADN mitocondrial y 35delG en el gen GJB2 (conexina 26) en familias con hipoacusia neurosensorial coclear; postlocutiva no sindrómica en Cantabria. *Acta Otorrinolaring Esp.* 2002; 53: 563-571.
22. Kleomitis E, Iliadis T, Voyiatzis N et al. Analysis of the A1555G mtDNA mutation in Greek patients with sensorineural deafness. Program Nr: 1879 from the 2000 ASHG (American Society of Human Genetics). *Am J Hum Genet.* 2000; 67(Suppl): 1879.
23. Hutchin TP, Thompson KR, Parker MJ, Newton V, Bitner-Glindzics M, Mueller RF. Prevalence of mitochondrial DNA mutations in childhood/ congenital onset non-syndromal sensorineural hearing impairment. *J Med Genet.* 2001; 38: 229-231.
24. Fischel-Ghodsian N, Prezant TR, Bu X, Ostaz S. Mitochondrial ribosomal RNA gene mutation in a patient with sporadic aminoglycoside ototoxicity. *Am J Otolaryngol.* 1993; 14: 399-403.
25. Hutchin TP, Haworth I, Higashi K et al. A molecular basis for human hypersensitivity to aminoglycoside antibiotics. *Nucleic Acids Res.* 1993; 21: 4174-4179.
26. Pandya A, Xia XJ, Radnaabazar J et al. Mutation in the mitochondrial 12S ribosomal RNA gene in two families from Mongolia with matrilineal aminoglycoside ototoxicity. *J Med Genetic* 1997; 34, 169-172.
27. Usami S, Abe S, Kasai M et al. Genetic and clinical features of sensorineural hearing loss associated with the 1555 mitochondrial mutation. *Laryngoscope* 1997; 107: 483-490.
28. Matthijs G, Claes S, Longo-Mbenza B, Cassiman JJ. Non-syndromic deafness associated with a mutation and polymorphism in the mitochondrial 12s ribosomal RNA gene in a large Zairean pedigree. *Eur j Hum Genet.* 1996; 4: 46-51.
29. American Academy of Otolaryngology Comitee on hearing and equilibrium. Guide for the evaluation of hearing handicap. *JAMA* 1979; 241: 2055-2059.
30. Guan M, Fischel-Ghodsian N, Attardi G. Nuclear background determines biochemical phenotype in the deafness-associated mitochondrial 12S rRNA mutation. *Human Mol Genet* 2001; 10: 573-580.