

غربالگری ناشنویان غیر سندرمی جسمی مغلوب برای جایگاه کروموزومی ناشنویایی غیر سندرمی با وراثت مغلوب نوع I (DFNB1) در استان‌های آذربایجان شرقی و غربی

چکیده

زمینه و هدف: کاهش شنوایی، ۱ نفر از هر ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ کودک تازه متولد شده را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بیش از ۵۰٪ از این موارد را به عوامل ژنتیکی نسبت می‌دهند. کاهش شنوایی غیر سندرمی بیش از ۷۰٪ از موارد ناشنویایی ارثی را شامل می‌شود که ۸۵٪ از آن را وراثت جسمی مغلوب تشکیل می‌دهد. ژنهای مختلفی با این ناشنویایی در ارتباط هستند که جهش در ژن کانکسین ۲۶ (GJB2) واقع در جایگاه کروموزومی ناشنویایی غیر سندرمی با وراثت مغلوب نوع I (DFNB1) به عنوان عامل عمده در ایجاد کاهش شنوایی غیر سندرمی جسمی مغلوب برآورد شده است. بعلاوه جهش‌ها GJB2 حذف Δ (GJB6-D13S1830) در ژن GJB6 (که همچنین در جایگاه DFNB1 قرار دارد) در بیماران زیادی که برای یک جهش ژن GJB2، هتروزیگوت بوده‌اند، شناسایی شده است. هدف از این مطالعه، غربالگری بیماران برای جهش‌ها ژن کانکسین ۲۶ در جمعیت ناشنویان ترک ساکن در استان‌های آذربایجان شرقی و غربی ایران بود.

روش بررسی: غربالگری جهش‌ها با استفاده از تکنیک ARMS/PCR (Allele Refraction Mutation System) Polymerase Chain Reaction) برای تشخیص 35delG آغاز شد، نمونه‌هایی که با این روش برای 35delG، هتروزیگوت بودند، کنار گذاشته شدند و سپس نمونه‌هایی که هتروزیگوت و یا منفی بودند با روش DHPLC (Denaturing high performance Liquid Chromatography) و Direct sequencing برای شناسایی سایر جهش‌های GJB2، بررسی شدند.

یافته‌ها: در این تحقیق که به صورت کاربردی - بنیادی می‌باشد، ۲۷۶ کروموزوم (۱۲۸ مبتلا) برای جهش‌های GJB2 بررسی شد. ۷۵ کروموزوم (۲۷٪)، حامل جهش در ژن GJB2 بودند که شامل 35delG، W24XdeE120، 1370G>A، 363delC، E129K، Y155X، Q80L بودند. در بین آنها جهش 35delG بالاترین درصد را داشت و جهش‌های 363delC و Q80L، جهش‌های جدیدی می‌باشند که در هیچ جمعیت دیگری گزارش نشده‌اند. ۳۵ بیمار در ۲ آلل، جهش در ژن GJB2 (۳/۲۵٪) داشتند و ۵ فرد مبتلا در ۱ آلل، جهش در ژن GJB2 داشتند. جهش (GJB6- D13S1830) Δ در هیچ یک از افراد هتروزیگوت مورد بررسی، پیدا نشد. دو پلی‌مورفیسم V1531 و V271 نیز در این جمعیت مشخص شده است. نتیجه‌گیری: با توجه به وفور نسبی جایگاه ژنی DFNB1 به عنوان مسوول ناشنویایی در مناطق شمال غرب ایران، غربالگری جمعیت ناشنویان این مناطق برای جایگاه ژنی مذکور توصیه می‌شود. همچنین متفاوت بودن نتایج بدست آمده در مقایسه با سایر کشورها بیانگر وجود احتمالی ژنها و جایگاه‌های ژنی دیگر دخیل در این منطقه می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: ۱- جی.جی.بی.۶ (GJB6) ۲- جی.جی.بی.۲ (GJB2)

۳- دی.اف.ان.بی.۱ (DFNB1) ۴- کاهش شنوایی غیر سندرمی اتوزومی مغلوب

تاریخ دریافت: ۸۳/۱۱/۷، تاریخ پذیرش: ۸۴/۴/۲۱

- (I) متخصص بیماری‌های زنان و زایمان، مرکز مشاوره ژنتیک سازمان بهزیستی استان آذربایجان شرقی، تبریز، ایران.
- (II) استادیار و متخصص بیماری‌های کودکان، مرکز تحقیقات ژنتیک، اوین، بلوار دانشجو، خیابان کودکان، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی تهران، تهران، ایران.
- (III) دانشیار و متخصص بیماری‌های گوش و حلق و بینی و جراحی‌های سر و گردن، بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص)، خیابان ستارخان، خیابان نیاش، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.
- (IV) کارشناس ارشد سلولی - مولکولی، مرکز تحقیقات ژنتیک، اوین، بلوار دانشجو، خیابان کودکان، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی تهران، تهران، ایران.
- (V) پزشک عمومی، مرکز مشاوره و ژنتیک سازمان بهزیستی استان آذربایجان شرقی، تبریز، ایران.
- (VI) دانشیار ژنتیک، مرکز تحقیقات ژنتیک، اوین، بلوار دانشجو، خیابان کودکان، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی تهران، تهران، ایران (*مؤلف مسوول).

مقدمه

ناشنوایی، اختلالی هتروژن است که علت‌های محیطی و ژنتیکی فراوانی دارد.^(۱) نقص شنوایی ژنتیکی شایع‌ترین اختلال حسی عصبی ارثی است که تقریباً ۱ نفر از ۲۰۰۰-۱۰۰۰ کودک تازه متولد شده را تحت تاثیر قرار می‌دهد.^(۲،۳) حدود ۷۰٪ از ناشنوایی‌های ژنتیکی، غیرسندرمی می‌باشد که در آن فرد ناشنوا هیچ اختلال دیگری ندارد.^(۴) کاهش شنوایی حسی عصبی جسمی مغلوب غیر سندرمی ARNSHL (Autosomal Recessive Nonsyndromic Hearing Loss)، شایع‌ترین فرم کاهش شنوایی ارثی از نوع شدید است^(۴) که ۸۵٪ موارد ناشنوایی را به خود اختصاص می‌دهد.^(۵)

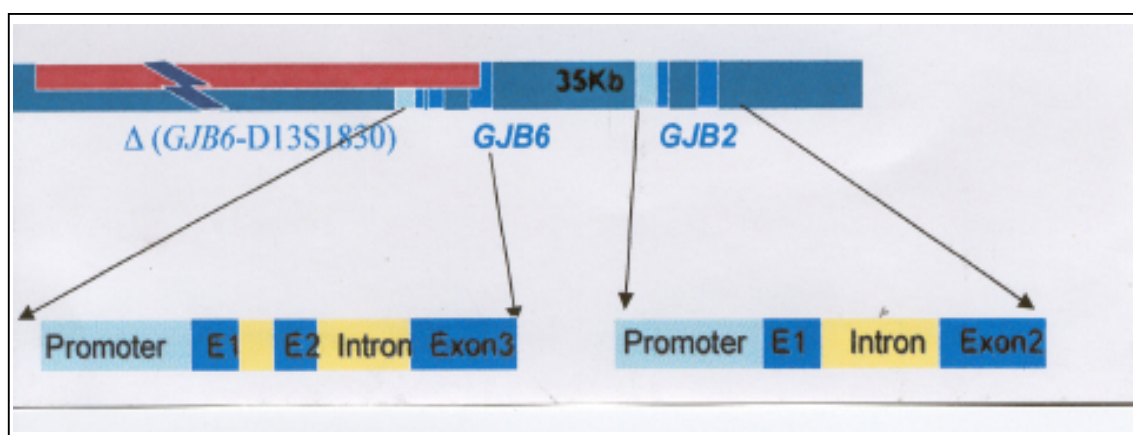
در سال‌های اخیر پیشرفت‌های قابل ملاحظه‌ای در شناسایی ژن‌های دخیل در ناشنوایی غیرسندرمی به وقوع پیوسته است. ژن‌های مختلفی باعث این اختلال می‌شوند که در نهایت ۱۰۰ لوکوس برای آن تخمین زده شده است. از میان آنها DFNB1، به تنهایی مسوول ۵۰٪ از ناشنوایی‌های جسمی مغلوب می‌باشد که توسط جهش‌های ژن کانکسین ۲۶ (CX26) و کانکسین ۳۰ (CX30) اتفاق می‌افتد (شکل شماره ۱).

بوده و از ۲ اگزون تشکیل شده است که به وسیله ۱ اینترون از هم جدا می‌شوند. اما تنها توالی از GJB2 که دارای کد برای سنتز پروتئین کانکسین ۲۶ می‌باشد، اگزون ۲ است.^(۶،۷)

پروتئین کانکسین ۲۶، عضوی از خانواده کانال اتصال باز بتا ۲ (GJB2) (Gap Junction Beta 2) می‌باشد که بعد از این، با نام کانکسین ۲۶ خوانده می‌شود. این پروتئین، مسوول ایجاد اتصالات باز بین سلولی است که اجازه انتقال به مولکول‌های کوچک می‌دهد.

تا کنون بیش از ۹۰ جهش در ژن کانکسین ۲۶ کشف شده است.^(۸) 35delG، شایع‌ترین جهش در این ژن (در حدود ۷۰٪) می‌باشد که منجر به ایجاد کدون خاتمه زودرس در موقعیت اسید آمینه شماره ۱۳ می‌شود.^(۹)

در ژن کانکسین ۲۶، ۶ تکرار از باز گوانین در موقعیت ۳۰-۳۵ منطقه کد کننده وجود دارد که حذف یکی از این نوکلئوتیدها باعث ایجاد جهش 35delG یا 30delG می‌شود.^(۱۰) این جهش اولین بار توسط Zelante و همکارانش در سال ۱۹۹۷ گزارش شد، بعدها مشخص شد که این جهش عمومی‌ترین علت ناشنوایی‌های مادرزادی اسپورادیک و ارثی است.



شکل شماره ۱- تصویر شماتیک از جایگاه کروموزومی DFNB1

این جهش شایع‌ترین نوع جهش در جمعیت سفید پوست است.^(۱۱)

کانکسین ۲۶، ژن کوچکی است که بر روی کروموزوم شماره ۱۳ قرار گرفته است. طول این ژن، ۵/۵ کیلو باز

شیوع جهش‌های ژن کانکسین ۲۶ در جمعیت ایران بسیار کمتر از جمعیت‌های غربی گزارش شد. از آنجا که ایران از اقوام مختلفی تشکیل شده و نیز با توجه به اینکه شیوع ال‌های جهش‌دار در جمعیت‌های مختلف، متفاوت است، ضروری به نظر می‌رسد که اقوام مختلف به صورت جدا بررسی شوند.

در مطالعه‌ای که در کرمان بر روی ۶۵ فرد ناشنوای غیر سندرمی جسمی مغلوب توسط دکتر نجم‌آبادی و همکارانشان انجام شده است، تنها ۳ کروموزوم (۲/۳٪) جهش 35delG را نشان دادند.^(۱۸) در این مطالعه نیز، ناشنوایان غیر سندرمی آذربایجان با ۱۳۸ خانواده مورد بررسی قرار گرفتند که جهش در ژن GJB2 در ۲۷٪ موارد مشاهده شد. همچنین جهش (GJB6-D13S1830)Δ در هیچ یک از افراد هتروزیگوت مشاهده نشد. این امر نشان دهنده میزان شیوع پایین این جهش نسبت به گزارش‌های انجام شده در کشورهای غربی است.^(۱۹-۲۱)

نتیجه‌گیری

با توجه به وفور نسبی جایگاه ژنی DFNB1 به عنوان مسوول ناشنوایی در مناطق شمال غرب ایران، غربالگری جمعیت ناشنوای این مناطق برای جایگاه ژنی مذکور توصیه می‌شود. همچنین این نتایج نشان می‌دهد که در جمعیت ما احتمالاً ژنهای دیگری، علت ایجاد ناشنوایی غیرسندرمی جسمی مغلوب (ARNSD) می‌باشند. بنابراین با توجه به اینکه جمعیت ایرانی ترکیبی از قبایل مختلف است، با بررسی آنها می‌توان به نتایج جدیدتری دست یافت که نهایتاً کمک شایانی به امر مشاوره ژنتیک، کنترل و درمان این گروه از بیماران خواهد کرد.

فهرست منابع

1- Nance WE. The genetics of deafness. Ment Retard Dev Disabil Res Rev 2003; 9(2): 109-119.

2- Zelante L, Gasparini P, Estivill X, Melchionda S, D'Agruma L, Govea N, et al. Connexin 26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1)

جدول شماره ۱- ژنوتیپ‌های یافت شده در بیماران

ژنوتیپ	فراوانی
35delG/35delG	۲۷
35delG/-3170G>A	۳
delE120/35delG	۱
35delG/W24X	۱
363delC/35delG	۱
35delG/Y155X	۱
Q80L/Q80L	۱
delE120/wt	۲
E129K/wt	۱
35delG/wt	۲

بحث

کاهش شنوایی ارثی (Hereditary Hearing Loss) از جمله بیماری‌های هتروژن است، با وجود این، جهش در ژن کانکسین ۲۶ عامل عمده ARNSHL می‌باشد. جهش در این ژن، عامل نیمی از ناشنوایی‌ها از نوع خفیف تا شدید در جمعیت‌های مختلف است.^(۱۴ و ۱۵)

در جمعیت‌های مختلف جهش‌های خاصی شایع است؛ مثلاً در کشورهای شرق آسیا، جهش 235delC در یهودیان اشکنازی، جهش 167delT و در کشورهای اروپایی، جهش 35delG از بیشترین شیوع برخوردار است. جهش 35delG در بیش‌تر جمعیت‌های جهان با فراوانی‌های متفاوتی دیده می‌شود.

در مطالعه اولیه‌ای که توسط دکتر نجم‌آبادی و همکارانشان انجام گرفت، ۸۳ خانواده مطالعه شد که تنها در ۹ خانواده (۱۱٪) ناشنوایی وابسته به GJB2 تشخیص داده شد، که بیش‌ترین ژنوتیپ مربوط به 35delG بود. بطوری که ۴ خانواده از ۹ خانواده، ژنوتیپ هموزیگوت 35delG داشتند.^(۱۶) همچنین در مطالعه بعدی همین گروه در سال ۲۰۰۴، فراوانی این جهش در بین ناشنوایان ژنتیکی غیر سندرمی جسمی مغلوب ایران، ۱۲/۶٪ گزارش شده است.

از ۶۶۴ خانواده مورد مطالعه، تنها ۱۶/۷٪ جهش در ژن GJB2 را نشان دادند.^(۱۷) به هر حال در این بررسی نیز

- childhood deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene. *Hum Genet* 2000; 106: 40-44.
- 16- Najmabadi H, Cucci RA, Sahebjam S, Kouchakian N, Farhadi M, Kahrizi K, et al. GJB2 mutations in Iranians with autosomal recessive non-syndromic sensorineural hearing loss. *Hum Mutat* 2002; 19(5): 572.
- 17- Najmabadi H, Nishimura C, Kahrizi K, Riazalhosseini Y, Malekpour M, Daneshi A, et al. GJB2 mutations-passage through Iran. *A J Med Genet* 2005; 133A: 132-137.
- ۱۸- بزازادگان - نیلوفر، میرحسینی - نوشین، ضیاءالدینی - حسن، اسدی - علیرضا، کهریزی - کیمیا، ارژنگی - سانان، آستانی - اکرم، محسنی - مرضیه، ریاض‌الحسینی - یاسر، نجات - مهدیه، جلالوند - خدیجه، اسمیت - ریچارد، نیشیمیورا - کارلا و نجم‌آبادی - حسین. وفور نسبی جهش 35delG در ژن GJB2 در جمعیت ناشنویان غیرسندرمی جسمی مغلوب استان کرمان. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان. ۱۳۸۳؛ دوره ۱۱، شماره ۳، ۱۴۰-۱۳۶.
- 19- Fuse Y, Doi K, Hasegawa T, Sugii A, Hibino H, Kubo T. Three novel connexin 26 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic deafness. *Neuro Report* 1999; 10: 1853-1857.
- 20- Abe S, Usami S, Shinkawa H, Kelley PM, Kimberling WJ. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese. *J Med Genet* 2000; 37: 41-43.
- 21- Kudo T, Ikeda K, Kure S, Matsubara Y, Oshima T, Watanabe K, et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) responsible for childhood deafness in the Japanese population. *Am J Med Genet* 2000; 90: 141-145.
- 3- Falk MM. Biosynthesis and structural composition of gap junction intercellular membrane channels. *Eur J Cell Biol* 2000; 79(8): 564-574.
- 4- Reardon W. Genetic deafness. *J Med Genet* 1992; 29: 521-526.
- 5- Lefebvre PP, Van De Water TR. Connexins, hearing and deafness: clinical aspects of mutations in the connexin 26 gene. *Brain res rev* 2000; 32(1): 159-162.
- 6- Goodenough DA, Goliger JA, Paul DL. Connexins, connexon, and intercellular communication. *Annu Rev Biochem* 1996; 65:475-502.
- 7- Kiang DT, Jin N, Tu ZJ, Lin HH. Upstream genomic sequence of the human connexin 26 gene. *Gene* 1997; 199: 165-171.
- 8- Homepage/Web site Crg. es[homepage on the Internet]. Barcelona: The Center for Genomic Regulation; [updated 25/06/2005]. Available from: <http://www.crg.es/deafness>. Accessed June 25, 2005.
- 9- Zelante L, Gasparini P. Connexin 26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness(DFNB1) in Mediterraneans. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1605-1609.
- 10- Kelley PM, Harris DJ. Novel mutations in the connexin 26 gene(GJB2) that cause autosomal recessive hearing loss(DFNB1). *Am J Hum Genet* 1998; 62: 792-799.
- 11- Park HJ, Hahn SH, Chun YM, Park K, Kim HN. Connexin 26 mutations associated with non-syndromic hearing loss. *Laryngoscope* 2000; 110: 1535-1538.
- 12- Uyguner O, Emiroglu M. Frequencies of gap and tight-junction mutations in Turkish families with autosomal recessive non-syndromic hearing loss. *Clin Genet* 2003; 64: 65-69
- 13- Maheshwari M, Vijaya R. Screening of families with autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment (ARNSHL) for mutations in GJB2 gene: Indian Scenario. *Am J Med Genet* 2003; 120A: 180-4.
- 14- Maw Ma. The contribution of the DFNB1 locus to neurosensory deafness in caucasian population. *Am J Hum Genet* 1995; 57:629-
- 15- Rabionet R, Zelante L, Lopez-Bigas N, D'Agruma L, Melchionda S, Restagno G, et al. Molecular basis of

Screening for Autosomal Recessive Nonsyndromic Hearing Loss(DFNB1) among Deaf Patients of East and west Azarbaijan Provinces

I
II
III
IV
 F. Rayhanifar, MD K. Kahrizi, MD A. Daneshi, MD M. Mohseni, MS
V
IV
VI
 M. Zamani, MD Y. Riazalhosseini, MS *H. Najmabadi, PhD

Abstract

Background & Aim: Hereditary hearing loss(HHL) affects one in 1000-2000 newborns and more than 50% of these cases have a genetic base. About 70% of HHL are nonsyndromic with autosomal recessive forms accounting for 85% of the genetic load. Different genes have been reported to be involved, but mutations in GJB2 gene at DFNB1 locus have been established as the basis of autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. In addition to GJB2 mutations, the deletion of Δ (GJB6-D13S1830) involving GJB6 gene (also localizes to DFNB1 interval) has been detected in many patients heterozygous for one mutation in GJB2 gene. The aim of this project was to study the prevalence of GJB2 mutations in Turk deaf population living in East and West Azarbaijan provinces of Iran.

Material & Method: Mutation screening began by Amplification Refractory Mutation System(ARMS) - PCR for the detection of 35delG; then, we analyzed all samples excluding 35delG homozygotes by DHPLC and Direct Sequencing for other GJB2 mutations.

Results: We screened 276 chromosomes (138 probands) for GJB2 mutations. Seventy - five chromosomes (27%) carried GJB2 mutations including 35delG, delE120,-3170G>A, W24X, 363delC, E129k, Q80L, and Y155X. Among them, 35delG had the highest frequency, and Q80L and 363delC were novel mutations which have not been reported in any other populations. Thirty-five patients(25.3%) had biallelic GJB2 mutations and five probands had monoallelic GJB2 mutations. The Δ (GJB6-D13S1830) mutation was not found in heterozygous patients. Polymorphisms found were V1531 and V271.

Conclusion: Regarding high prevalence of DFNB1-related hearing loss in the north east of Iran, screening this population for this locus is recommended. Also, in comparison with other countries, our results suggest that other loci and genes can be responsible for nonsyndromic deafness in this population.

Key Words: 1) GJB6 2) GJB2 3) DFNB1
4) Autosomal Recessive Nonsyndromic Hearing Loss

I) Gynecologist and Obstetrician. Supervisor of Genetic Counseling Center. Social Welfare Organization. East Azarbaijan. Tabriz, Iran.

II) Assistant Professor of Pediatrics. Genetic Research Center. Faculty of Social Welfare and Rehabilitation Sciences. Tehran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

III) Associate Professor of ENT. ENT & Head and Neck Surgery Department. Rasoul-e-Akram Hospital. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

IV) MS in Cellular and Molecular Sciences. Genetic Research Center. Faculty of Social Welfare and Rehabilitation Sciences. Tehran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

V) General Practitioner. Genetic Counseling Center. Social Welfare Organization. East Azarbaijan. Tabriz, Iran.

*VI) Associate Professor of Genetics. Genetic Research Center. Faculty of Social Welfare and Rehabilitation Sciences. Koodakyar St., Daneshjoo Blvd., Evin. Tehran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran. (*Corresponding Author)*