فراوانی جهش های ژن GJB2 در ناشنوایان مراجعه کننده به مراکز بهزیستی شهر ایلام: فقدان جهش 35delG

حمدالله محمودی[۱]، سمیه محمدیاری[۱]، معصومه سهراب جایدری[۲]، شاپور کردی[۳]، سالار بختیاری[۱*]، نجات مهدیه[٤*]

۱) کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

۲) مرکز مشاوره ژنتیک، سازمان بهزیستی ایلام

۳) سازمان بهزیستی ایلام ، ایلام

٤) معاونت تحقیقات و فناوری، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

تاریخ دریافت: ۹۲/۶/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۱۷

چکیده

مقدمه: ناشنوایی رایج ترین نقص حسی-عصبی است که شیوع آن ۱ نفر از ۱۰۰۰ کودک تازه به دنیا آمده است. هدف ما در این مطالعه، بررسی جهش های ژن GJB2 در ناشنوایان مراجعه کننده به مراکز مشاوره سازمان بهزیستی ایلام و تعیین فراوانی جهش ژن GJB2 در این افراد می باشد.

مواد و روش ها: از مددجویانی که جهت مشاوره ژنتیک به مرکز مشاوره ژنتیک شهر ایلام مراجعه کرده بودند، نمونه خون گرفته شد. مطالعه از نوع توصیفی بود. پس از استخراج DNA، جهش شایع 35delG به روش ARMS مورد بررسی قرار گرفت و در ادامه نمونه ها برای تعیین توالی مستقیم، PCR شدند.

یافته های پژوهش: تعداد ۲۵ خانواده دارای افراد مبتلا به ناشنوایی مطالعه شد. جهش 35delG در هیچ کدام از افراد یافت نشد. تنها در یک خانواده، جهشی به نام R32H یعنی از ۵۰ کروموزوم، ۲ کروموزوم(۴ درصد) در ژن GJB2 پیدا شد.

بحث و نتیجه گیری: این نتایج نشان می دهد پراکندگی این جهش در استان ایلام نسبت به سایر شهرهای ایران متفاوت بوده و ممکن است با جمعیت کشور همسایه مشابه باشد. از طرف دیگر، می توان از این یافته ها برای برنامه های غربالگری استفاده کرد.

واژه های کلیدی: ناشنوایی، GJB2، جمعیت ایلام، جهش 35delG

* **نویسنده مسئول:** کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، معاونت تحقیقات و فناوری، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

Email: *nmahdieh@yahoo.com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-03]

مقدمه

ناشنوایی رایج ترین نقص حسی-عصبی در انسان است به صورتی که ۱ فرد از هر ۱۰۰۰ نوزاد تازه متولد شده را مبتلا می سازد،(۱،۲). بیش از ۵۰ درصد ناشنوایی ها ریشه ژنتیکی دارند؛ تقریباً در ۳۰ درصد از موارد ژنتیکی، ناشنوایی به عنوان یکی از علائم سندرم خود را نمایان می سازد. ناشنوایی غیر سندرمی که ۷۰ درصد ناشنوایی های ژنتیکی را به خود اختصاص داده است، در حدود ۸۰ درصد موارد با الگوی وراثتی اتوزومی مغلوب(DFNB)، ۲۰ درصد با الگوی اتوزومی غالب(DFNA)، ۱ درصد وابسته به x و کمتر از ۱ درصد از الگوی میتوکندریایی تبعیت می کنند،(۳-۱). تاکنون بیش از ۱۰۰ لکوس که با بروز ناشنوایی همراه بوده، پیدا شده است که از این میان، جهش های لکوس DFNB1 (در 13q11-12) به تنهایی ۵۰ درصد از ناشنوایی های اتوزومی مغلوب را شامل می شود؛ در این لکوس، ژن های GJB2 (کدکننده کانکسین۲۶) و GJB6 (کدکننده کانکسین۳۰) قرار دارند،(۴). GJB2 ژن کوچکی است که روی کروموزوم ۱۳ قرار دارد، طول این ژن ۵/۵ کیلو باز می باشد و دارای دو اگزون است؛ فقط اگزون شماره ۲ کدکننده کانکسین ۲۶ می باشد،(۵،۶). mRNA ای که از این ژن پدید می آید حدود ۲/۴ Kb طول داشته و پروتئین تولیدی آن حاوی ۲۲۶ اسید آمینه می باشد،(۷،۸). این پروتئین یکی از پروتئین هایی است که در تشکیل کانال های اتصال باز(Gap Junction) بین سلولی نقش دارد و اجازه انتقال یون پتاسیم و مولکول های کوچک را می دهد.(۹)

مقالات و گزارش های مختلف از سراسر جهان نشان داده اند پراکندگی و نوع جهش های ژن GJB2 در مناطق جغرافیایی مختلف و اقوام مختلف با هم فرق می کنند مثلاً در جمعیت های آسیای شرقی جهشی با نام 235delG بیشترین میزان جهش در ژن کانکسین ۲۶ را به خود اختصاص داده است،(۱۰،۱۳)، در حالی جهش شایع در بین یهودیان اشکنازی 167delT است.(۱۴)

با توجه به مطالعات انجام شده در ایران بیشترین جهش در ژن GJB2 در استان گیلان و آذربایجان شرقی با بیش از ۳۷/۵ درصد و کمترین میزان درصد در استان سیستان و بلوچستان با ۳/۶ درصد گزارش شده است،(۱۵،۱۶). جهش شایع در جمعیت ناشنوای ایران، 35delG می باشد. جهش های ژن GJB2 در بیشتر استان های کشور از جمله استان های مجاور ایلام بررسی شده است،(۱۵،۱۶). تاکنون مطالعه ای بر روی جمعیت ناشنوای ایلام انجام نشده است. هدف ما در این مطالعه، بررسی جهش های ژن GJB2 در ناشنوایان مراجعه کننده به مرکز مشاوره سازمان بهزیستی ایلام و تعیین فراوانی جهش ژن مذکور در این افراد می باشد.

مواد و روش ها

این مطالعه از نوع توصیفی می باشد. هدف کلی آن، تعیین میزان جهش های ژن GJB2 در افراد مبتلا به ناشنوایی غیر سندرمی با توارث اتوزومی مغلوب در مراجعین به مرکز بهزیستی شهر ایلام در سال ۱۳۹۱ بود؛ برای این منظور از مددجویانی که برای مشاوره ژنتیک به مرکز مشاوره ژنتیک شهر ایلام مراجعه می‌کردند استفاده شد.

معیارهای ورود به مطالعه عبارت بودند از: ۱-مشاوره ژنتیک انجام شد و فرم رضایت نامه کتبی از تمام خانواده به دست آمد ۲-شجره نامه و پرسش نامه مرتبط با ناشنوایی از تمامی ناشنوایان ترسیم و تکمیل شد ۳-سابقه پزشکی مبتلایان جهت داشتن بیماری که منجر به ناشنوایی شده باشد مورد بررسی قرار گرفت ۴-ناشنوایی توسط تست اودیولوژیک تائید شده باشد یعنی اودیوگرام هر فرد مشاهده و تایید شد و ناشنوایی هایی با علل محیطی از قبیل عفونت داخل رحمی و مننژیت و... حذف گردید ۵-معاینه فیزیکی جهت تائید غیر سندرمی بودن ناشنوایی به عمل آمد ۶-تعیین نژاد والدین که با پرسش از افراد مراجعه کننده به دست آمد. پس از انجام مراحل فوق و رضایت خانواده ها میزان ۱۰ سی سی خون از افراد بیمار گرفته شد و برای جلوگیری از تشکیل لخته خون، خون داخل لوله های حاوی EDTA (Ethylen Diamine Tetra Acetic acid) نگهداری شد. استخراج DNA ژنومی به روش نمک اشباع شده(Salting out) انجام شد.(۱۷،۱۸)

افراد مورد مطالعه(یک نفر از هر خانواده) ابتدا برای جهش 35delG توسط روش ARMS مورد بررسی قرار گرفتند،(۱۶)، پرایمرها بر اساس مقالات منتشر شده طراحی و ساخته شدند،(۱۷). توالی پرایمرهای ARMS به شرح زیر می باشد:

35NOR: 5 TTG GGG CAC GCT GCA GAC GAT CCT GGG GAG
35MUT: 5 TTG GGG CAC GCT GCA GAC GAT CCT GGG GAT
35COM: 5GAA GTA GTG ATC GTA GCA CAC GTT CTT GCA.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-03]

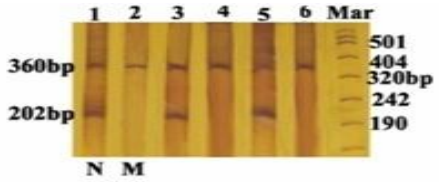
سپس تمام نمونه ها PCR شده(یک نفر از هر خانواده) و تعیین توالی مستقیم شدند تا دیگر جهش های ژن GJB2 مورد بررسی قرار گیرند. پرایمرهای استفاده شده برای PCR:

F: CTTGCTTACCCAGACTCAGAGA
R: CCTCATCCCTCTCATGCTGTC

می باشند. بدین ترتیب تمام جهش های ژن GJB2 مورد بررسی قرار گرفت. پس از انجام آزمایش ها، جواب آزمایش را در سه نسخه یکی برای درج در پرونده و بایگانی، دومی برای مرکز مشاوره و نسخه سوم به بیمار ارجاع داده شد. در نهایت فراوانی جهش ها بر حسب تعداد کروموزوم های جهش یافته نسبت به کل کروموزوم ها و نیز افراد جهش دار در ژن GJB2 نسبت به کل افراد محاسبه گردید.

یافته های پژوهش

در این مطالعه، جهش 35delG در هیچ کدام از افراد یافت نشد. از ۲۵ خانواده بررسی شده در یک خانواده و یک نفر از افراد ناشنوای آن خانواده و از ۵۰ کروموزوم، ۲ کروموزوم یعنی ۴ درصد حاوی جهش در ژن GJB2 بودند.(جدول شماره ۱) این فراوانی بر حسب خانواده های دارای ژن جهش یافته برابر ۱ مورد از ۲۵ خانواده، یعنی ۴ درصد بود. جهشی که از تعیین توالی مستقیم به دست آمد R32H بود که به صورت هموزیگوت در یک نفر از مبتلایان یافت شد. میزان پلی مورفیسم V43V در ژن GJB2 برابر ۲ کروموزوم(۴ درصد) بود.



شکل شماره ۱. الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل پلی اکریل‌آمید ۸ درصد

در این شکل: ۱ و ۲- ردیف های مربوط به فرد سالم
۱- در این ردیف از پرایمر نرمال استفاده شده که باند ۲۰۲ جفت بازی را تولید می کند.
۲- در این ردیف از پرایمر جهش یافته استفاده شده که باندی برای این فرد ایجاد نمی شود.
۴ و ۳- ردیف های مربوط به فرد سالم
۳- در این ردیف از پرایمر نرمال استفاده شده که باند ۲۰۲ جفت بازی را تولید می کند.
۴- در این ردیف از پرایمر جهش یافته استفاده شده که باند ۲۰۲ جفت بازی را تولید نمی کند.
۶ و ۵- ردیف های مربوط به فرد سالم
۵- در این ردیف از پرایمر نرمال استفاده شده که باند ۲۰۲ جفت بازی را تولید می کند.
۶- در این ردیف از پرایمر جهش یافته استفاده شده که باند ۲۰۲ جفت بازی را تولید نمی کند.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه که بر روی ۲۵ خانواده(از هر خانواده یک نفر) صورت گرفت جهش شایع 35delG یافت نشد. در دو کروموزوم یعنی ۴ درصد جهش R32H به صورت هموزیگوت مشاهده گردید و پلی مورفیسم V43V به صورت هتروزیگوت در دو کروموزوم دیده شد.

جهش R32H برای اولین بار در سال ۲۰۰۱ توسط Mustapha و همکاران گزارش شد. این جهش در اثر جایگزینی G به وسیله A در اسید نوکلئیک شماره ۹۵ ایجاد شده که در نتیجه آن اسید آمینه آرژنین شماره ۳۲ به هیستیدین تبدیل می شود. این جهش در اولین ناحیه داخل سلولی کانکسین ۲۶ قرار دارد،(۱۹). در مطالعه ای که مهدیه و همکاران در کرمانشاه بر روی ۷۷ خانواده انجام دادند میزان جهش R32H ، ۲/۶ درصد بود،(۱۶). تغییر دیگری که در این بررسی پیدا شد واریانت V43V یعنی تغییر نوکلئوتیدی ازوع جایگزینی باز بوده که در نهایت هیچ اثری بر روی اسید آمینه مربوطه نداشته است. این تغییر از نوع پلیمورفیسم است و اثر پاتوژنیک ندارد.

در این بررسی جهش 35delG یافت نشد که نشان می دهد پراکندگی این جهش در استان ایلام نسبت به بقیه ایران متفاوت می باشد. در استان کرمانشاه میزان این جهش ۱۱ درصد،(۱۶)، و در استان چهارمحال و بختیاری میزان جهش 35delG، ۲/۲۲ درصد گزارش شده است،(۱۵)، ولی نتایج مطالعه حاضر ممکن است با جمعیت کشور همسایه مشابه باشد. نتایج این مطالعه نشان می دهد جهش در ژن های دیگری ممکن است در بروز ناشنوایی ناشنوایان استان ایلام تاثیرگذار باشد و این زمینه را برای

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-03]

مطالعات بیشتر بر روی ژن های دیگر فراهم کرده است. پیشنهاد می شود در مطالعات بعدی، این ژن در نمونه های بیشتری و به ویژه جهش R32H بررسی گردد و سپس ژن های دیگری مورد بررسی قرار گیرند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از کمک های سرکار خانم سعدیه کوهی و نیز از تمام خانواده هایی که در این مطالعه شرکت کردند تشکر و قدردانی می گردد.

References

1.Prasad S, Cucci RA, Green GE, Smith RJH. Genetic testing for hereditary hearing loss: C-onnexin 26 (GJB2) allele variants and two novel deafnesscausing mutations (R32C and 645-648delTAGA). Human Mutation 2000; 16: 502-8.

2.Snoeckx RL, Huygen PLM, Feldmann D, Marlin S, Denoyelle F, Waligora J, et al. GJB2 mutations and degree of hearing loss: a multicenter study. Am J Hum Genet 2005; 77: 945-57.

3.Petersen MB, Willems PJ. Non-syndromic, autosomal-recessive deafness. Clin Genet 2006; 69: 371-92.

4.Kenneson A, Van Naarden Braun K, Boyle C. GJB2 (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: a HuGE review. Genet Med 2002; 4: 258-74.

5.Kiang DT, Jin N, Tu ZJ, Lin HH. Upstream genomic sequence of the human connexin 26 gene. Gene 1997; 199: 165-71.

6.Goodenough DA, Goliger JA, Paul DL. Connexins, connexons, and intercellular communication. Annu Rev Biochem 1996; 65:475–502.

7.Goodenough DA, Goliger JA, Paul DL. Connexins, connexons, and intercellular comm.unication. Annu Rev Biochem 1996; 65: 475–502.

8.Kemperman MH. Hearing loss and connexin26. J R Soc Med 2002; 95: 171-7.

9.Harris AL. Emerging issues of connexin channels: biophysics fills the gap. Q Rev Biophys 2001; 34: 325-472.

10.Abe S, Usami S, Shinkawa H, Kelley PM, Kimberling WJ. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese. J Med Genet 2000; 37: 41-3.

11. Ohtsuka A, Yuge I, Kimura S, Namba A, Abe –S, Van Laer L, Van Camp G, Usami S. GJB2 deafness gene shows a specific spectrum of mutations in Japan, including a frequent founder mutation. Hum Genet 2003; 112: 329-33.

12.Liu Y, Ke X, Qi Y, Li W, Zhu P. Connexin26 gene (GJB2): prevalence of mutations in the Chinese population. J Hum Genet 2002; 47: 688-90.

13.Park HJ, Hahn SH, Chun YM, Park K, Kim HN. Connexin26 mutations associated with nonsyndromic hearing loss. Laryngoscope 2000; 110: 1535-8.

14.Morell RJ, Kim HJ, Hood LJ, Goforth L,-Friderici K, Fisher R, et al. Mutations in the connexin 26 gene (GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness. N Engl J Med 1998; 339: 1500-5.

15.Tabatabaiefar M, Shariati L, Montazer-Zohour M, Ashrafi K, Saffari-Chaleshtori J, Ghasemikhah R, et al . [Mutation screening of GJB2 and GJB6 and genetic linkage study of three prevalent DFNB loci in Iranian families with autosomal recessive non-syndromic hearing loss]. J Shahrekord Uni Med Sci 2010; 12:65-75. (Persian)

16.Mahdieh N, Ali-Madadi K, Nishimura C, Yazdan Y, Riazalhosseini Y, Totonchi M, et al. [Frequency of connexin26 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic deafness in Kermanshah (2002-4)]. Behbood 2005; 9:32-40. (Persian)

17.Najmabadi H, Cucci RA, Sahebjam S, Kouchakian N, Farhadi M, Kahrizi K, et al. GJB2 mutations inIranian with autosomal recessive non-syndromic sensorineural hearing loss. Hum Mutat 2002; 19:572-7.

18.Najmabadi H, Nishimura C, Kahrizi K, Riazalhosseini Y, Malekpour M, Daneshi A, et al. GJB2 mutations: passage through Iran. Am J Med Genet 2005; 133A:132-7.

19.Mustapha M. Autosomal recessive nonsyndromic hearing loss in the Lebanese population: prevalence of the 30 delG. J Med Genet 2001; 38:E36.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-03]

The Frequency of Mutations in GJB2 Gene in Deaf Subjects Referring to the Welfare Centers of Ilam City: Lack of 35delG Mutation

Mahmoudi H[1], Mohammadyari S[1], Sohrab Jaydari M[2], Kordi S[3], Bakhtiyari Salar[1], Mahdieh N[4]**

(Recived: September 18, 2013 Accepted: December 8, 2013)

Abstract

Introduction: Hearing loss is the most common sensory deficit affecting 1 in 1000 newborns. The aim of this study was to investigate GJB2 mutations among deaf people referring to genetic counseling center of Ilam Welfare and Rehabilitation Organization.

Materials & Methods: Blood samples were taken from deaf individuals referred to genetic counseling centers of Ilam city. After DNA extraction, the common GJB2 mutation, 35delG, was checked and then the gene was amplified by PCR for sequencing.

Findings: 35delG mutation was not found in any of the samples under study. GJB2 mutations were determined in one of the 25 samples (2 out of 100 chromosomes or 4 % of alleles).

Discussion & Conclusion: These results show that the distribution of the 35delG mutation and other GJB2 mutations in Ilam is different from other parts of Iran and it may similar to the neighbor country. In the other hand, the results may be used in screening programs.

Keywords: Hearing loss; GJB2; Ilam population, 35delG mutation

1.Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
2.Genetic Counseling Center, Ilam Organization of Welfare and Rehabilitation, Ilam, Iran
3.Ilam Organization of Welfare and Rehabilitation, Ilam, Iran
4.Deputy of Research and Technology, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran
** (Corresponding author)*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-03]