مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۸، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت۱۴۰۲(شماره پی در پی ۱۵۶)

بررسی فراوانی و طیف جهش‌های ژن *GJB2* در ناشنوایان غیرسندرومی استان سمنان

فرشید پروینی[۱*]، صدف نوآور[۲]، حسین فهیمی[۳]

[۱]گروه زیست شناسی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران، [۲]مرکز تحقیقات علوم دارویی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، [۳]گروه ژنتیک، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ وصول:۱۴۰۱/۰۵/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: ناشنوایی(HL) شایع‌ترین اختلال حسی ـ عصبی است. فراوانی اختلال شنوایی در جهان، یک در هر ۵۰۰ نوزاد تازه متولد شده می‌باشد. با این حال، در ایران، به‌دلیل نرخ بالای ازدواج‌های خویشاوندی، این میزان دو تا سه برابر بیشتر تخمین زده می‌شود. تاکنون، بیش از ۱۲۰ ژن عامل ناشنوایی غیرسندرومی(NSHL) در جهان شناخته شده است. از این میان، جهش‌های ژن *GJB2* شایع‌ترین علت NSHL اتوزوم مغلوب می‌باشد. هدف از این پژوهش تعیین و بررسی فراوانی و طیف جهش‌های ژن *GJB2* در جمعیت ناشنوایان غیرسندرومی استان سمنان بود.

روش بررسی: در این مطالعه کاربردی که در سال ۱۴۰۰ بر روی ۵۰ بیمار مبتلا به نقص شنوایی غیرسندرومی از ۵۰ خانواده غیرخویشاند انجام شد، ابتدا جهش بسیار شایع 35delG به روش واکنش زنجیره ای پلیمرازی اختصاصی آلل (ASPCR) غربال گردید. سپس، به منظور شناسایی سایر جهش‌های ژن *GJB2*، بیمارانی که برای جهش 35delG، منفی یا هتروزیگوت بودند به روش توالی‌یابی سنگر برای تمام نواحی اگزونی و جایگاه های پیرایشی ژن *GJB2* مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در این پژوهش ۱۰۰ کروموزوم(۵۰ فرد بیمار) بررسی شد. ۱۲ کروموزوم(۱۲ درصد) جهش در ژن *GJB2* را نشان دادند. از این میان، سهم هر یک از جهش‌های شناسایی شده 35delG، IVS1+1G>A و c.94C>T:p.Arg32Cys در جمعیت ناشنوایان استان سمنان به ترتیب؛ ۷، ۴ و ۱ درصد بود. بدین ترتیب، جهش شایع 35delG ۵۸/۳۴ درصد کل جهش‌های شناسایی شده را شامل می‌شود. همچنین، برخلاف سایر جمعیت های مطالعه شده در ایران جهش جایگاه پیرایش IVS1+1G>A شیوع نسبتا" بالایی در جمعیت ناشنوایان استان سمنان دارد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که جهش‌های ژن *GJB2* تنها ۱۲ درصد جهش‌های عامل نقص شنوایی در جمعیت ناشنوایان استان سمنان را شامل می‌شود که بر اهمیت استفاده از تکنیک‌های تولی‌یابی نسل جدید در شناسایی سایر ژن‌های عامل نقص شنوایی ارثی در این جمعیت تأکید می‌کند. چنین رویکردی، کمک قابل توجهی در انجام مشاوره ژنتیک، تشخیص قبل از تولد و مدیریت کلینیکی نقص شنوایی در استان سمنان خواهد کرد.

واژه‌های کلیدی: ناشنوایی غیرسندرومی، سمنان، ژن *GJB2*، جهش 35delG.

***نویسنده مسئول: فرشید پروینی،** سمنان، دانشگاه سمنان، گروه زیست شناسی

Email: f.parvini@semnan.ac.ir

مقدمه

ناشنوایی اختلال حسی شایع و بسیار هتروژن با درگیری عوامل ژنتیکی و محیطی می‌باشد. در کشورهای توسعه یافته، ۶۰ درصد ناشنوایی‌های مادرزادی منشا ژنتیکی دارند و ۷۰ درصد از این ناشنوایی‌های ژنتیکی، غیرسندرومی(نقص شنوایی تنها علامت غیرطبیعی فرد ناشنوا است) می‌باشند(۱). از جنبه توارثی، ۸۰ درصد ناشنوایی‌ها از الگوی توارث اتوزومی مغلوب(AR) پیروی می‌کنند(۲). در جوامع سنتی هم‌چون کشورهای خاورمیانه به دلیل نرخ بالای ازدواج‌های خویشاوندی و درون گروهی، نسبت ناشنوایان متولد شده با الگوی توارث AR ممکن است حتی بیشتر از این میزان باشد(۳). برای مثال، در ایران ضریب درون‌آمیزی ۰/۰۱۸۵ می‌باشد که موجب می‌گردد که نرخ بروز اختلال شنوایی ۱ در هر ۱۶۶ نفر باشد، در حالی که این نسبت در جوامع غربی ۱ تا ۲ در هر ۱۰۰۰ نفر می باشد(۴).

تا به امروز، بیش از ۱۰۰ ژن عامل ناشنوایی غیر سندرومی(NSHL)[1] شناخته شده است. از این میان، جهش‌های ژن *GJB2* عامل درصد قابل توجهی از NSHL در عمده جمعیت‌های دنیا می‌باشد(۵). ژن *GJB2* پروتیین اتصال باز کانکسین۲۶(CX26) را کد می‌کند که برای عملکرد فیزیولوژیکی سلول‌های پشتیبانی کننده واقع در حلزون گوش ضروری است(۶). بر اساس پژوهش‌های انجام شده، حدود ۲۰۰ جهش بیماری‌زا در ژن *GJB2* شناخته شده است(۷). از طرف دیگر، طیف جهش‌های ژن *GJB2* و فراوانی هر یک از این جهش‌ها در گروه‌های قومیتی مختلف بسیار متغیر است(۵). برای مثال، در قفقازی‌ها جهش c.35delG، در حالی که در جمعیت ناشنوایان ژاپن و هند به ترتیب دو جهش c.235delC و *p.Trp24 شایع‌ترین جهش‌های شناخته شده در ژن *GJB2* می باشند(۱۰-۸). طی ۱۷ سال گذشته به منظور بررسی شیوع و طیف جهش‌های ژن *GJB2*، پژوهش‌های متعددی بر روی جمعیت‌ها و قومیت‌های مختلف ایران انجام شده است و نشان می‌دهد که فراوانی جهش‌های مختلف ژن *GJB2* در جمعیت‌های مختلف ایران بسیار متغیر است(۱۱).[1]

اگر چه بزاززادگان و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی میزان شیوع جهش‌های ژن *GJB2* در مناطق مختلف ایران پرداخته‌اند و سمنان را نیز جزو منطقه مرکزی ایران معرفی و مورد بررسی قرار داده‌اند (البته نه ناشنوایان اصالتا سمنانی)، با این حال، تا به امروز هیچ مطالعه مستقلی به بررسی میزان شیوع و دامنه جهش‌های ژن *GJB2* در استان سمنان و به ویژه ناشنوایان اصالتاً سمنانی نپرداخته است. این مسئله از این بابت حائز اهمیت است که استان سمنان دارای میزان بالایی از ازدواج‌های فامیلی می‌باشد و در کنار اختلالات عصبی- عضلانی، ناشنوایی نیز از اختلالات شایع وراثتی در این استان به شمار می‌آید. از این رو، هدف از این پژوهش تعیین و بررسی فراوانی و طیف

1-Non-syndromic Hearing Loss(NSHL)

جهش‌هـــای ژن *GJB2* در جمعیـــت ناشـــنوایان غیرسندرومی استان سمنان بود.

روش بررسی

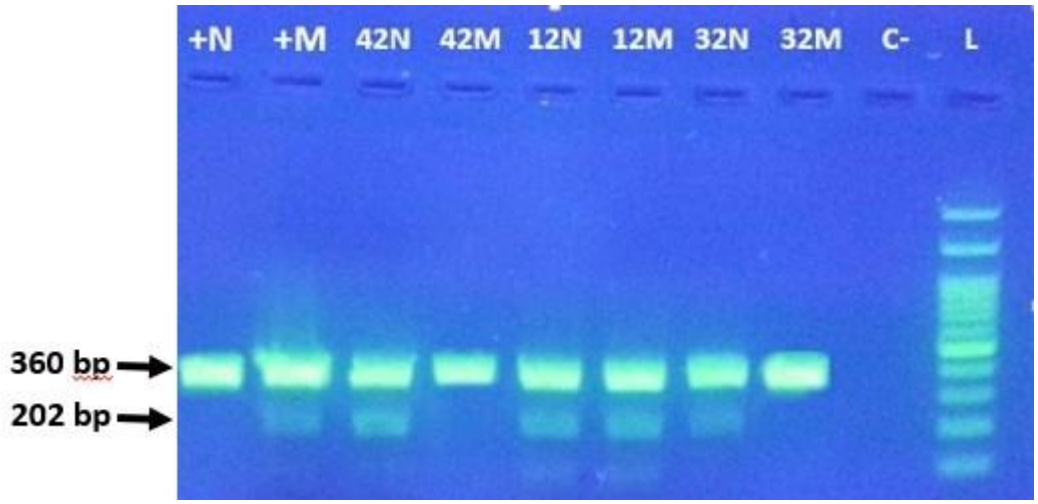
در این مطالعه کاربردی که در سـال ۱۴۰۰ بـر روی ۵۰ بیمار مبتلا به نقـص شـنوایی غیرسـندرومی انجـام شـد. ابتـدا، جهـش بسـیار شـایع 35delG بـه روش واکـنش زنجیـره‌ای پلیمـرازی اختصاصـی آلـل (ASPCR) غربال گردیـد. این مطالعه به تأییـد کمیتـه اخـلاق واحـد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی تهران رسیده است و رضایت نامه کتبی آگاهانه از والدین بیمـاران بـرای شرکت در ایـن پـژوهش و انتشـار نتـایج احتمـالی آن دریافت شد. از میان ناشـنوایان معرفـی شـده از اداره کـل بهزیســتی اســتان ســمنان، تعــداد ۵۰ فــرد غیرخویشاوند و مبتلا بـه نقـص شـنوایی متوسـط تـا شدید غیر سندرومی با الگوی توارث اتـوزوم مغلـوب انتخـاب گردیـد. خانواده‌هـای هـدف بررسـی، اصـالتا ســمنانی و حــداقل دارای دو فــرد مبــتلا بــه ناشنوایی/نقص شنوایی در خانواده خود بودند. پس از تکمیل پرسشنامه مربوطـه، جمـع‌آوری اطلاعـات لازم (اطلاعــات شــنوایی ســنجی و ادیــوگرام) و رســم شجره‌نامه خانوادگی مبتلایان هدف مطالعه، به منظـور استخراج DNA ژنـومی از هـر یـک از بیمـاران، ۳ تـا ۵ سی‌سی خون محیطی دریافت گردیـد. اسـتخراج DNA ژنومی از نمونه‌های خون با استفاده از کیت اسـتخراج DNA از خــون QIAamp mint(آلمــــان) و مطــــابق دسـتورالعمل سـازنده انجـام شـد. کیفیـت و کمیـت DNAهـــای اســـتخراج شـــده بـــا اســـتفاده از دستگاه اسـپکتروفوتومتر مـدل LAMBDA 365 شـرکت PerkinElmer سنجش شد.[۲]

به منظور بررسی و غربـال‌گری جهـش شـایع c.35delG ژن *GJB2*، از روش واکـــنش زنجیـــره‌ای پلیمرازی اختصاصـی آلـل یـا همـان سیسـتم جهشـی مقاوم به تکثیر(ARMS)[(۱)] استفاده شد. بدین منظـور، از آغازگرهـای کنتـرل داخلـی(control F و control R) و آغازگرهای ویـژه آللـی(35FM، 35FN و 35R) اسـتفاده گردید(جدول ۱). سپس، نمونه‌های PCR شده به روش ژل الکتروفورز آگارز ۲ درصـد مـورد بررسـی قـرار گرفتند(شـکل ۱). در مرحلـه بعـد، تمـامی نمونـه‌های 35delG منفی برای توالی کامـل اگـزون ۱ و بخـش کـد کننـده تـوالی اگـزون ۲ ژن *GJB2* و نیـز جایگاه‌هـای پیرایش '5 و '3 آن توالی‌یابی شـدند. بـدین منظـور، بـا اسـتفاده از نـرم افـزار بـرخط primer3 پرایمرهـای هدف(Exon1 F، Exon1 R، Exon2 F و Exon2 R) طراحی و صحت عملکـرد آنهـا بـا نرم‌افزارهـای آنـالیز کننـده الیگو (oligo analyzer) و هم ردیف‌سـازی NCBI (NCBI blast) تأییـد گردید(جـدول ۱). سـاختار شـماتیک ژن *GJB2* به همراه جایگاه تمامی پرایمرهای استفاده شـده در شکل ۲ آورده شده است.

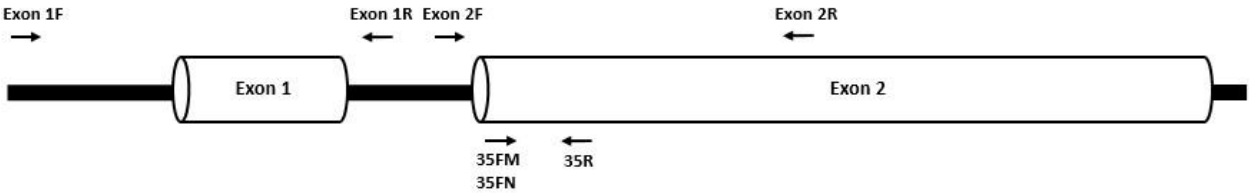
1- Amplification Refractory Mutation System(ARMS)

جدول ۱: دمای اتصال و طول محصول(bp) پرایمرهای مورد استفاده در روش ARMS-PCR و PCR عمومی (جهت توالی یابی سنگر) ژن *GJB2*.

ژن	نام پرایمر	توالی پرایمر	دمای ذوب پرایمر (سانتی‌گراد)	اندازه محصول (جفت باز)
GJB2	$35F_N$ $35F_M$ 35R	5'TTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGAG3' 5'TTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGAT3' 5'GAAGTAGTGATCGTAGCACACGTTCTTGCA3'	۶۲	۲۰۲
alpha-1 antitrypsin precursor	Control F Control R	5'CCCACCTTCCCCTCTCTCCAGGCAAATGGG3' 5'GGGCCTCAGTCCCAACATGGCTAAGAGGTG3'	۶۲	۳۶۰
GJB2 (exon 2)	Exon2 F Exon2 R	5'CTCCCTGTTCTGTCCTAGCT3' 5'CTCATCCCTCTCATGCTGTC3'	۵۹	۸۰۹
GJB2 (exon 1)	Exon1 F Exon 1R	5'GAAGGCGTTCGTTCGGATTG3' 5'CCAAGGACGTGTGTTGGTC3'	۶۰	۹۷۴



شکل ۱: نتیجه Multiplex/ARMS-PCR **ژن** *GJB2* **نمونه‌های** F12، F32 **و** F42 **مبتلا به ناشنوایی غیر سندرومی.** باند ۳۶۰ جفت بازی مربوط به ژن کنترل داخلی و باند ۲۰۲ جفت‌بازی، باند هدف مربوط به واکنش **ARMS** می‌باشد. **N**، پرایمر نرمال؛ **M**، پرایمر جهش یافته، **L**، **Ladder**، +، کنترل مثبت و **C-**، کنترل منفی. حضور باند ۲۰۲ جفت بازی در ستون‌های **12N** و **12M** نمونه ۱۲ نشان دهنده هتروزیگوت بودن این نمونه برای جهش **35delG** می‌باشد. حضور باند ۲۰۲ جفت‌بازی تنها در ستون **42N** و **32N** نمونه‌های ۴۲ و ۳۲ نشان دهنده فقدان جهش **35delG** در این نمونه‌ها می‌باشد.



شکل ۲: نمای شماتیک ساختار ژن *GJB2* **به همراه موقعیت پرایمرهای استفاده شده جهت انجام** ARMS-PCR (35FN/35FM-35R **با طول محصول** ۲۰۰bp**) و توالی‌یابی بخش‌های کدکننده و جایگاه‌های پیرایش** 5' **و** 3' (Exon2F-Exon2R **با طول محصول** ۸۰۹bp **و** Exon 1F-Exon 1R **با طول محصول** ۹۷۴bp**) ژن**

یافته‌ها

در این مطالعه، ۵۰ فرد مبتلا به NSHL مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج آنالیز ARMS-PCR جهت تشخیص جهش شایع 35delG نشان داد که از ۱۰۰ آلل بررسی شده، ۷ آلل معادل ۷ درصد جهش 35delG را دارا بودند. بدین صورت که این جهش در ۳ فرد NSHL به صورت هوموزیگوس و در ۱ فرد NSHL به صورت هتروزیگوس حضور داشت. در مرحله بعد، تمامی نمونه‌های 35delG منفی و نیز نمونه هتروزیگوس برای این جهش انتخاب و برای بررسی جهش‌های احتمالی در جایگاه‌های پیرایشی '۵ و '۳ و نیز تنها اگزون عملکردی ژن *GJB2* یعنی اگزون ۲ مورد توالی‌یابی سنگر قرار گرفتند. بر اساس نتایج به دست آمده، یک جهش هتروزیگوس c.94C>T:p.Arg32Cys و ۴ جهش جایگاه پیرایش '۵ به صورت IVS1+1G>A شناسایی گردید(جدول ۲). هم‌چنین، دو پلی‌مورفیسم(چند شکلی) تک نوکلئوتیدی c.368C>A:p.Thr123Asn و c.79G>A:p.Val27Ile نیز در یک فرد مبتلای هدف مطالعه شناسایی گردید. در مجموع، از کل ۵۰ فرد (۱۰۰ کروموزوم) مبتلای به NSHL مطالعه شده، ۸ نفر (۱۲ کروموزوم) معادل ۱۲ درصد واجد جهش‌هایی در ژن *GJB2* بودند.

بحث

استان سمنان بیش از ۸۰۰۰ ناشنوا دارد. با این حال، تاکنون هیچ مطالعه اختصاصی به منظور تعیین علت احتمالی توارثی بودن ناشنوایی و نقش جهش‌های ژن شایع *GJB2* در جمعیت ناشنوایان اصالتاً سمنانی انجام نشده است، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی فراوانی و طیف جهش‌های ژن *GJB2* در جمعیت ناشنوایان غیرسندرومی استان سمنان بود.

بدین منظور، ۱۰۰ کروموزوم از ۵۰ فرد بیمار غیرخویشاوند با تکنی‌های ARMS-PCR و توالی یابی سنگر بررسی شد و در مجموع، ۱۲ کروموزوم معادل ۱۲ درصد، جهش های 35delG (۷ درصد)، IVS1+1G>A (۴ درصد) و c.94C>T:p.Arg32Cys (۱ درصد) را در ژن *GJB2* را نشان دادند.

جدول ۲: طیف و فراوانی جهش های ژن GJB2 در جمعیت ناشنوایان مطالعه شده استان سمنان

نوع جهش	تعداد مبتلایان واجد جهش	تعداد کروموزوم	فراوانی جهش در بین جهش های ژن *GJB2* (درصد)	فراوانی جهش در جمعیت مطالعه شده (درصد)
35delG	۴	۷	۵۸/۳۴	۷
IVS1+1G>A	۳	۴	۳۳/۳۳	۴
*c.94C>T:p.Arg32Cys	۱	۱	۸/۳۳	۱
مجموع	۸	۱۲	۱۰۰	۱۲

* یکی از مبتلایان هدف مطالعه دارای جهش هتروزیگوس مرکب به صورت 35delG/c.94C>T:p.Arg32Cys بود.

GJB2 شایع‌ترین ژن عامل NSHL در بسیاری از جمعیت‌های دنیا است. با این حال، فراوانی و طیف جهش‌های این ژن در میان جمعیت های قومی مختلف بسیار متغیر است(۱۳ و ۱۲). در ایران نیز به منظور شناسایی جهش‌های ژن *GJB2*، پژوهش‌های گسترده‌ای بر روی جمعیت‌ها و قومیت‌های مختلف انجام شده است. بر اساس پژوهش‌های انجام شده، فراوانی جهش‌های ژن *GJB2* در جمعیت ناشنوایان اصفهان۱۷/۳۴ درصد(۱۴)، تبریز ۲۵/۳۵ درصد(۱۵)، کرمانشاه ۱۸/۸۳ درصد(۱۶)، همدان ۱۸/۱۰ درصد(۱۷)، لرستان ۱۷ درصد(۱۸)، کردستان ۱۵/۶۰ درصد(۱۹)، خوزستان ۱۳ درصد(۲۰)، چهارمحال و بختیاری ۱۱ درصد(۲۱)، سیستان و بلوچستان ۹ درصد(۲۲)، یزد ۶/۶۶ درصد(۲۳)، هرمزگان ۳/۷ درصد(۲۴)، آذربایجان غربی ۵/۴۲ درصد(۲۵)، ایلام ۱۱/۲۹ درصد(۲۶)، گیلان ۵۱/۶ درصد(۲۷)، گلستان ۳۰ درصد(۱۱)، مازندران ۳۳/۰۲ درصد(۲۸) و کرمان ۷/۸ درصد(۱۱) گزارش شده است. بر اساس نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، فراوانی جهش‌های ژن *GJB2* در جمعیت ناشنوایان استان سمنان ۱۲ درصد می‌باشد که به فراوانی جهش‌های این ژن در استان‌های کردستان و خوزستان بسیار نزدیک است. علاوه بر این، همچنان که پیشتر عنوان شد، بزاززادگان و همکاران در مطالعه‌ای میزان شیوع جهش‌های ژن *GJB2* در مناطق مختلف ایران را بررسی کرده‌اند و درصد شیوع جهش‌های ژن *GJB2* در مبتلایان استان سمنان را ۱۱/۵ درصد گزارش کرده‌اند که بسیار به نتیجه حاصل از این مطالعه نزدیک می‌باشد. با این حال، تفاوت اساسی این دو مطالعه در این است که مطالعه حاضر به بررسی خانواده ناشنوایان اصالتا سمنانی با حداقل دو فرزند ناشنوا پرداخته است، در حالی که مطالعه بزاززادگان و همکاران به بررسی خانواده ناشنوایان ساکن استان سمنان و نه اصالتا سمنانی و نه لزوما با دو فرزند ناشنوا پرداخته است. از طرف دیگر، تا به امروز هیچ مطالعه مستقلی به بررسی میزان شیوع و دامنه جهش‌های ژن *GJB2* در استان سمنان و به ویژه ناشنوایان اصالتا سمنانی نپرداخته است و همچون سایر پژوهش‌های مشابه انجام شده در دیگر جمعیت‌ها و قومیت‌های ایران، موید این نکته است که بر خلاف میزان شیوع حدود ۵۰ درصد جهش‌های ژن *GJB2* به عنوان عامل ناشنوایی غیر سندرومی در کشورهای غربی(۲۹ و۵)، میزان شیوع جهش‌های این ژن در جمعیت‌های مختلف کشور ایران به مراتب کمتر می‌باشد که خود نشان دهنده این واقعیت است که احتمالاً ژن یا ژن‌های دیگری در بروز NSHL در جمعیت‌ها و قومیت‌های مختلف ایران درگیر می‌باشند(۳۱ و ۳۰).

علی‌رغم این که فراوانی جهش شایع 35delG در بین کل جهش‌های شناسایی شده در این مطالعه به میزان ۷ درصد مشاهده شد، فراوانی آن در جمعیت اصفهان ۶/۱۲ درصد(۱۴) و در مطالعه دیگری ۳۱ درصد(۳۲)، تبریز ۱۷/۶۱ درصد(۱۵) و در مطالعه دیگری ۱۸ درصد(۳۳)، کرمانشاه ۵۸/۶۲ درصد(۱۶)،

همدان ۱۲/۵۰ درصد(۱۷)، لرستان ۹/۴۳ درصد(۱۸)، کردستان ۱۴/۷۰ درصد(۱۹)، خوزستان ۸ درصد(۲۰)، یزد ۱/۶۷ درصد(۲۳)، هرمزگان ۲/۴۸ درصد(۲۴)، آذربایجان غربی ۵/۰۴ درصد(۲۵)، ایلام ۲/۴۲ درصد(۲۶)، گیلان ۴۸/۳۹ درصد(۲۷)، گلستان ۲۸/۳۳ درصد(۱۱)، مازندران ۲۰/۶۱ درصد(۲۸) و کرمان ۲/۳ درصد(۳۴) گزارش شده است. همچنین، در استان سیستان و بلوچستان(۲۲) فراوانی این جهش صفر گزارش شده است.

در مجموع، نتایج این پژوهش و مقایسه آن با پژوهش‌های پیشین به روشنی ناهمگنی آللی بالا و توزیع متفاوت فراوانی جهش‌های ژن *GJB2* در جمعیت‌های مختلف ایران را نشان می‌دهد(۳۶ و ۳۵). هم‌چنین، پژوهش‌های انجام شده به وضوح شیب کاهشی شیوع جهش‌های ژن *GJB2* از استان‌های شمالی به استان‌های جنوبی را نشان می‌دهد. سهم نسبتاً پایین ژن *GJB2* دربروز نقص شنوایی توارثی در اغلب جمعیت‌های مطالعه شده ایران که به طور میانگین عدد ۱۷/۳۳ درصد را در کل کشور نشان می‌دهد، بر اهمیت استفاده از تکنیک توالی یابی نسل بعدی(next generation sequencing) در تشخیص سایر ژن‌های عامل نقص شنوایی ارثی در جمعیت‌های ایران تأکید می‌کند. چنین رویکردی، افقی روشن در انجام مشاوره ژنتیک هدفمند و مؤثر، تشخیص قبل از تولد و مدیریت کلینیکی نقص شنوایی در ایران را ترسیم می‌کند.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به تعداد پایین افراد ناشنوای هدف بررسی اشاره کرد. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که به منظور تخمین دقیق‌تر از نرخ جهش‌های ژن *GJB2* تعداد بسیار بیشتری از ناشنوایان اصالتا سمنانی مورد مطالعه قرار گیرد. هم‌چنین، با توجه به ناهمگنی لوکوسی بالای ناشنوایی، انجام آزمایش ژنتیک توالی یابی کل اگزوم(whole exome sequencing) یا توالی یابی هدفمند(targeted sequencing) برای تمامی موارد *GJB2* منفی پیشنهاد می‌گردد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل طرح پژوهشی درون دانشگاهی(دانشگاه سمنان) با کد اخلاق IR.IAU.PS.REC.1396.91 اخذ شده از واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی تهران می‌باشد، نویسندگان مراتب قدردانی خود را از کلیه بیماران و خانواده‌های محترم ایشان که با مهربانی برای پیوستن به مطالعه رضایت دادند، اعلام می‌دارند. هم‌چنین از دانشگاه سمنان جهت ارایه امکانات و همکاری‌های لازم جهت انجام مطالعه حاضر کمال تشکر را داریم.

REFERENCES

1.Petit C, Levilliers J, Hardelin JP. Molecular genetics of hearing loss. Annual Reviews 2001; 35: 589–646.
2.Morton NE. Genetic epidemiology of hearing impairment. Annals New York Academy of Sciences 1991; 630: 16-31.
3.Mahdieh N, Rabbani B, Wiley S, Akbari MT, Zeinali S. Genetic causes of nonsyndromic hearing loss in Iran in comparison with other populations. Journal of Human Genetics 2010; 55: 639–48.
4.Sloan-Heggen CM, Babanejad M, Beheshtian M, Simpson AC, Booth KT, et al. Characterising the spectrum of autosomal recessive hereditary hearing loss in Iran. Journal of Medical Genetics 2015; 52(12): 823-9.
5.Yu X, Lin Y, Xu J, Che T, Li L, Yang T, Wu H. Molecular epidemiology of Chinese Han deaf patients with bi-allelic and mono-allelic *GJB2* mutations. Orphanet Journal of Rare Diseases 2020; 15(1): 29.
6.Johnson SL, Ceriani F, Houston O, Polishchuk R, Marcotti W. Connexin-mediated signaling in nonsensory cells is crucial for the development of sensory inner hair cells in the mouse cochlea. The Journal of Neuroscience 2017; 37(2): 258–68.
7.Stenson PD, Mort M, Ball EV, Evans K, Hayden M, Heywood S, et al. The human gene mutation database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies. Human Genetics 2017; 136(6): 665–77.
8.Pandya A, Arnos KS, Xia XJ, Welch, KO, Blanton SH, et al. Frequency and distribution of *GJB2* (connexin 26) and *GJB6* (connexin 30) mutations in a large North American repository of deaf probands. Genetics in Medicine 2003; 5(4): 295–303.
9.Nishio SY, Usami SI. Deafness gene variations in a 1120 nonsyndromic hearing loss cohort: Molecular epidemiology and deafness mutation spectrum of patients in Japan. Annals of Otology Rhinology & Laryngology 2015; 124(1): 49S–60S.
10.Bhalla S, Sharma R, Khandelwal G, Panda NK, Khullar M. Low incidence of *GJB2*, *GJB6* and mitochondrial DNA mutations in North Indian patients with non-syndromic hearing impairment. Biochemical and Biophysical Research Communications 2009; 385(3): 445–8.
11.Bazazzadegan N, Nikzat N, Fattahi Z, Nishimura C, Meyer N. The spectrum of *GJB2* mutations in the Iranian population with non-syndromic hearing loss—a twelve year study. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology 2012; 76: 1164–74.
12.Zytsar MV, Bady-Khoo MS, Danilchenko VY, Maslova EA, Barashkov NA, et al. High rates of three common *GJB2* mutations c.516G>C, c.-23+1G>A, c.235delC in deaf patients from southern Siberia are due to the founder effect. Genes 2020; 11(7): 833.
13.Zheng J, Ying Z, Cai Z, Sun D, He Z. *GJB2* mutation spectrum and genotype phenotype correlation in 1067 Han Chinese subjects with non-syndromic hearing loss. Plos One 2015; 10(6): e0128691.
14.Abtahi SHR, Malekzadeh A, Soheilipour S, Salehi M, Taleban R, Rabieian R, et al. Evaluation of *GJB2* and *GJB6* mutations in patients afflicted with non-syndromic hearing loss. International Journal of Pediatrics 2019; 7(62): 9053-60.
15.Chaleshtori MH, Hoghooghi Rad L, Dolati M, Sasanfar R, Hoseinipour A, et al. Frequencies of mutations in the connexin 26 gene (*GJB2*) in two populations of Iran (Tehran and Tabriz). Iranian Journal of Public Health 2005; 34(1): 1-7.
16.Mahdieh N, Nishimura K, Alimadadi K, Yazdan H, Kazemi S. Frequency of connexin 26 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic hearing loss of Kermanshah province. Journal of Kermanshah University of Medical Sciences 2005; 9(2): 32-40.
17.Shafaghati Y, Ebrahimie A, Mohseni M, Ostadi F, Habibi H. Spectrum of connexin 26 gene mutations in hearing loss patients. Journal of Hamedan University of Medical Sciences 2005; 12(4): 23-7.
18.Sepahvand M, Kahrizi K, Daneshi A, Mohseni M, Riazalhosseini Y, Bazzazzadegan N, Najmabadi H. Determining the relative abundance of *GJB2* gene mutations in autosomal recessive non-syndromic deaf patients of Lorestan province. Yakhteh 2006; 8(2): 89-95.
19.Hosseinipour A, Hashemzadeh Chaleshtori M, Sasanfar R, Farhud DD, Tolooi A, et al. Report of a new mutation and frequency of connexin 26 gene (*GJB2*) mutations in patients from three provinces of Iran. Iranian Journal of Public Health 2005; 34(1): 47-50.
20.Kahrizi K, Sajadi A, Mohseni M, Riazalhasani Y, Bazzazzadegan N, Najmabadi H. Screening of *GJB2* gene mutations in autosomal recessive non-syndromic hearing loss patients of Khuzestan province. Journal of Rehabilitation 2006; 7(3): 34-7.

21.Amani S, Khoshdel A, Rahbarian J, Soleimani M, Shahinfard N. Genetic investigation of 45 large pedigrees of deafness and determination the frequency of connexin 26 gene mutations (*GJB2*) in Chaharmahal and Bakhtiari province. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences 2008; 10(4): 16-21.
22.Naghavi A, Nishimura C, Kahrizi K, Riazalhosseini Y, Suraki Aliabadib H. Prevalence of *GJB2* mutations among patients with autosomal recessive non syndromic hearing loss in Sistan and Baloochestan province. Tabib Shargh 2005; 7(2): 85-92.
23.Moghnibashi M, Khodaei H, Sifti M, Mirab M, Kahrizi K. Spectrum of *GJB2* gene mutations in autosomal recessive non-syndromic hearing patients of Yazd province. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences 2005; 13(4): 64-70.
24.Koohiyan M, Ahmadi AH, Koohian F, Aghaei S, Amiri B, Hashemzadeh-Chaleshtori M. An update of spectrum and frequency of *GJB2* mutations causing hearing loss in the south of Iran: A literature review. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology 2019; 119: 136-40.
25.Abdi Rad I, Bagheri M, Farhoudi F. The frequency of M34T, 167delT, 235delC and 35delG mutations in *GJB2* gene in autosomal recessive non-syndromic hearing loss patients in West Azarbaijan. Journal of Zanjan University of Medical Sciences 2011; 19(76): 39-9.
26.Mahdieh N, Mahmoudi H, Ahmadzadeh S, Bakhtiyari S. *GJB2* mutations in deaf population of Ilam (Western Iran): a different pattern of mutation distribution. European Archives of Oto-Rhino-Laryngology 2015; 273(5): 1161-5.
27.Pouriaye Biachal P, Ranji N, Nazemi A. Study of *GJB2* mutations in 31 non-syndromic hearing loss patients in Guilan province. Journal of Arak University of Medical Sciences 2021; 24(1): 53-60.
28.Hosseini E, Mousavi SS, Khoshaein A, Daneshpour F, Rajabi Vandchali M, Hashemi-Soteh SMB. *GJB2* gene related nonsyndromic hearing loss in Mazandaran province, North of Iran. Open Journal of Genetics 2020; 10(3): 51-63.
29.Denoyelle F, Marlin S, Weil D, Moatti L, Chauvin P, Garabédian EN, et al. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counselling. Lancet 1999; 353: 1298–303.
30.Noavar S, Behroozi S, Tatarcheh T, Parvini F, Foroutan M, Fahimi H. A novel homozygous frame-shift mutation in the *SLC29A3* gene: a new case report and review of literature. BMC Medical Genetics 2019; 29; 20(1): 147.
31.Fahimi H, Behroozi S, Noavar S, Parvini F. A novel recessive *PDZD7* bi-allelic mutation in an Iranian family with non-syndromic hearing loss. BMC Med Genomics 2021; 14(1): 37.
32.Rezaei H, Valiane-Borogeni S, Movahhedi R. High frequency of 35delG mutation in *GJB2* gene related with non-syndromic hearing loss in Isfahan province. Genetics in the 3rd Millennium 2010; 8(3): 2074-8.
33.Jabarpour-Boniadi M, Esmaeili M, Yonespour R, Lotfalizadeh N, Absavaran A. Study of common GJB2 and GJB6 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic hearing loss patients in East Azerbaijan region. Journal of Advances in Medical and Biomedical Research 2006; 14(55): 30-8.
34.Bazazzadegan N, Mirhoseini N, Ziaaddini H, Asadi AR, Kahrizi K. Relative frequency of 35delG mutation in GJB2 gene in autosomal recessive non-syndromic hearing loss (ARNSHL) patients in Kerman population. Journal of Kerman University of Medical Sciences 2004; 11(3): 136-40.
35.Koohiyan M, Azadegan-Dehkordi F, Koohian F, Abolhasani M, Morteza Hashemzadeh-Chaleshtori M. Genetics of hereditary hearing loss in east Iran population: A systematic review of GJB2 mutations. Intractable & Rare Diseases Research 2019; 8(3): 172-8.
36.Koohiyan M, Azadegan-Dehkordi F, Koohian F, Abolhasani M, Morteza Hashemzadeh-Chaleshtori M. Genetics of hereditary hearing loss in east Iran population: A systematic review of GJB2 mutations. Journal of Audiology and Otology 2019; 23(4):175-80.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Study of Frequency and Spectrum of *GJB2* Gene Mutations in Non-Syndromic Hearing Loss Patients of Semnan Province

Parvini F[1*], Noavar S[2], Fahimi H[3]

[1]Department of Biology, Semnan University, Semnan, Iran, [2]Pharmaceutical Sciences Research Center, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran, [3]Department of Genetics, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 27 Aug 2020 Accepted: 31 Dec 2022

Abstract:

Background & aim: Deafness (HL) is the most common sensorineural disorder. The frequency of hearing impairment in the world is one in every 500 newborns. However, in Iran, due to the high rate of consanguineous marriages, this amount is estimated to be two to three times higher. So far, more than 120 genes causing non-syndromic deafness (NSHL) have been known in the world. Among these, GJB2 gene mutations are the most common cause of autosomal recessive NSHL. The aim of this research was to determine and investigate the frequency and spectrum of GJB2 gene mutations in the non-syndromic deaf population of Semnan province.

Methods: The present practical study was conducted in 2021 on 50 patients with non-syndromic hearing loss from 50 unrelated families. First, the very common 35delG mutation was screened by allele-specific polymerase chain reaction (ASPCR). Then, in order to identify other mutations of the GJB2 gene, patients who were negative or heterozygous for the 35delG mutation were analyzed by trench sequencing for all exonic regions and splicing sites of the GJB2 gene. The collected data were analyzed using descriptive statistical tests.

Results: In the present study, 100 chromosomes (50 patients) were examined. 12 chromosomes (12%) indicated mutation in GJB2 gene. Among these, the share of each of the identified mutations 35delG, IVS1+1G>A and c.94C>T: p. Arg32Cys in the deaf population of Semnan province, respectively; 7, 4 and 1 percent. Thus, the common 35delG mutation includes 58.34% of all identified mutations. Also, unlike other populations studied in Iran, the IVS1+1G>A splice site mutation had a relatively high prevalence in the deaf population of Semnan province.

Conclusion: The results of the present study indicated that GJB2 gene mutations comprised only 12% of mutations causing hearing loss in the deaf population of Semnan province, which emphasizes the importance of using next generation sequencing techniques to identify other genes causing hereditary hearing loss in this population. Such an approach will significantly aid in carrying out genetic counseling, prenatal diagnosis and clinical management of hearing loss in Semnan province.

Keywords: Non-Syndromic deafness, Semnan, GJB2 Gene, 35delG mutation.

***Corresponding author: Parvini F,** Department of Biology, Semnan University, Semnan, Iran.
Email: f.parvini@semnan.ac.ir

Please cite this article as follows: Parvini F, Noavar S, Fahimi H. Study of Frequency and Spectrum of *GJB2* Gene Mutations in Non-Syndromic Hearing Loss Patients of Semnan Province. Armaghane-danesh 2022; 28(1): 112-121.