غربالگری سه جهش شایع میتوکندریابی در بیماران ناشنوایی پیش زبانی با الگوی مغلوب اتوزومی در استان هرمزگان

اعظم عسگری [۱] مصطفی منتظر ظهوری [۲] عفت فرخی [۳] گل اندام بنی‌طالبی دهکردی [۴] مرضیه ابوالحسنی [۵] فاطمه آزادگان [۵] مجتبی ساعدی مرغملکی [۴] دکتر اعظم حسینی‌پور [۶] سوسن کشاورز [۶] کوروش اشرفی [۷] فاطمه تاجی [۱] دکتر مرتضی هاشم‌زاده چالشتری [۸]

[۱] کارشناسی ارشد فیزیولوژی، [۳] کارشناس ارشد بیوشیمی، [۴] کارشناس آزمایشگاه، [۵] کارشناس ژنتیک، [۶] پزشک عمومی، [۷] کارشناس ارشد میکروب شناسی، [۸] استاد ژنتیک انسانی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، [۲] دانشجوی دکتری ژنتیک پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران

مجله پزشکی هرمزگان سال پانزدهم شماره اول بهار ۹۰ صفحات ۷-۱

چکیده

مقدمه: *ناشنوایی شایع‌ترین اختلال حسی - عصبی می‌باشد که در یک نفر از هر ۱۰۰۰ تولد رخ می‌دهد. در حدود ۵۰٪ از ناشنوایی‌ها به علل ژنتیکی رخ می‌دهند. سه جهش میتوکندریایی A1555G ژن MTRNR1 A3243G ژن MTTL1 و A7445G ژن MTTS1 به عنوان مهمترین علت‌های ناشنوایی غیرسندرمیک حسی - عصبی در بعضی جمعیت‌ها شناخته می‌شوند. هدف این مطالعه تعیین فراوانی سه جهش شایع میتوکندریایی شامل A1555G A3243G و A7445G در ناشنوایان استان هرمزگان است.*

روش کار: *در این مطالعه تجربی، جهش‌های احتمالی در سه ژن میتوکندری شامل A1555G A3243G و A7445G در ۱۱۰ فرد ناشنوای ژنتیکی غیرسندرمی در استان هرمزگان بررسی شد. DNA با روش استاندارد فنل کلروفرم استخراج شد و با روش PCR-RFLP جهش‌های مذکور غربالگری و برای تأیید نهایی توالی‌یابی شد.*

نتایج: *در هیچکدام از ۱۱۰ ناشنوایی ژنتیکی غیرسندرمی مورد بررسی، جهش ژن میتوکندری شامل A1555G، A3243G و A7445G یافت نشد، هرچند PCR-RFLP ژن MTTL1 خرابی جایگاه برش ژن MTTL1 به علت تغییر G3316A را نشان داد.*

نتیجه‌گیری: *مطالعات نشان داد که جهش‌های میتوکندریایی A1555G، A3243G و A7445G در ایجاد ناشنوایی در استان هرمزگان نقش چندانی ندارند.*

کلیدواژه‌ها: ناشنوایی –جهش –اتوزوم مغلوب

نویسنده مسئول:
مرتضی هاشم‌زاده چالشتری
دانشکده پزشکی – مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
شهرکرد – ایران
تلفن: ۲۳٤٦٦۹۲ ۳۸۱ ۹۸+
پست الکترونیکی:
mchalesh@yahoo.com

دریافت مقاله: ۸۹/۱۱/۲۷ اصلاح نهایی: ۸۹/۳/۱۰ پذیرش مقاله: ۸۹/۳/۲۷

مقدمه:

شیوع ناشنوایی مادرزادی در حدود ۱ در ۱۰۰۰ تولد زنده است که بیش از نیمی از این موارد ژنتیکی است. حدوداً ۲۵۰۰۰-۳۵۰۰۰ ژن هسته‌ای و ۳۷ ژن میتوکندریایی در انسان شناسایی شده است، حدود یک درصد از کل ژن های انسان مسئول ناشنوایی برآورد شده است (۱،۲). تا کنون بیش از ۳۰ موقعیت ژنتیکی مختلف که موجب ناشنوایی شده‌اند، گزارش شده است که در بین آنها ۷۰٪ باعث ناشنوایی غیر سندرمیک و ۳۰٪ باعث ناشنوایی سندرمیک می‌شود. انواع غیرسندرمیک می‌تواند به چهار شکل اتوزومی غالب DFNA، اتوزومی مغلوب DFNB، وابسته به جنس DFN و میتوکندریایی باشند. در این میان ۸۰-۷۵ درصد از ناشنوایی‌ها به علل ژنتیکی مغلوب، ۲۰-۱۰ درصد به صورت اتوزومی غالب، ۵-۱ درصد وابسته به جنس و ۲ درصد میتوکندریایی می‌باشد. به طور کلی هر میتوکندری در ماتریکس خود ۱۰-۳ کروموزوم

Archive of SID
www.SID.ir

میتوکندریال دارد و هر یک از کروموزوم‌ها در انسان ۱۶۵۶۹ جفت باز دارد (۳،٤).

ناشنوایی به شیوه‌های متعددی طبقه‌بندی می‌شوند: بر اساس سن بروز به پیش زبانی(prelingual) یا مادرزادی و پس‌زبانی (postlingual) یا دیررس، بر اساس محل وقوع نقص در گوش به ناشنوایی هدایتی (درگیری گوش خارجی یا میانی)، ناشنوایی حسی – عصبی (درگیری گوش درونی یا عصب شنوایی) و ناشنوایی مختلط (درگیری همزمان قسمتهای مختلف گوش)، بر اساس علائم فیزیکی همراه ناشنوایی به سندرمی (همراه با دیگر علائم فیزیکی) یا غیرسندرومی (بدون علائم فیزیکی دیگر) تقسیم می‌شوند (۵).

انواع مختلفی از ناشنوایی وجود دارد که می‌تواند به علت جهش در ژن میتوکندریایی باشد. تعدادی از رایج‌ترین آنها عبارتند از ناشنوایی بعد از مصرف آنتی‌بیوتیکها (آمینوگلیکوزیدی)، ناشنوایی در اثر دیابت، ناشنوایی‌های حسی و عصبی (غیر سندرمیک)، ناشنوایی همراه با بیماریهای عصبی – عضلانی (۸-٦).

دو ژن میتوکندریال که باعث ناشنوایی غیرسندرمیک می‌شوند،12S rRNA و tRNASer (UCN) هستند. لازم به ذکر است که همه اشکال ناشنوایی در اثر جهش ژن میتوکندریایی از مادر به ارث می‌رسد و هر دو جنس را به یک میزان درگیر می‌کند (۹).

از زمان کشف اولین بیمار به علت جهش در ژن میتوکندریایی از سال ۱۹۸۸ بیش از ۷۰ جهش نقطه‌ای و انواع حذف و مضاعف شدن DNA میتوکندریایی که با انواع بیماریهای ارثی در انسان همراه هستند، شناسایی شده است.

جهش‌های مختلفی در ژن MTRNR1 کدکننده 12S rRNA می‌توانند باعث ناشنوایی غیرسندرومیک با توارث مادری شود که الگوی آن به دلایل مختلفی می‌تواند شبیه اتوزومال مغلوب شود. جهش A1555G که در ژن MTRNR1 کد کننده 12S rRNA رخ می‌دهد، اولین جهش میتوکندریایی همراه با ناشنوایی غیرسندرومیک بود (۱۰).

جهش‌های متعددی در ژن MTTS1 کد کننده tRNASer(UCN) همراه با ناشنوایی حسی – عصبی مشخص شد که شامل A7445G ،T7510C، T7511C و 7472insC می‌باشد (۱۱).

سه جهش A3243G ،T3271C و T4216C در ژن tRNALeu(UUR) (MTTL1) شناسایی شدند و جهش A3243G در ۰/۳۱٤٪ جمعیت ناشنوایان ژاپنی پیدا شد. همچنین جهش A3243G در افراد مبتلا به دیابت ملیتوس نیز مشاهده گردید (۱۲).

از آنجا که در کشور ما مطالعات مشابه اصولی و قاعده‌دار نسبتاً کمی در ناشنوایی غیرسندرمی با وراثت مغلوب صورت گرفته و بیشتر پژوهش‌های انجام شده به یک لوکوس خاص، بویژه DFNB1 که ژن connexin-26 را در بر دارد و حتی تعداد معدودی از جهش‌های شایع‌تر در جهان و منطقه در آن ژن در جمعیت ایرانی مشاهده شده است، معطوف بوده است. طبیعت فوق‌العاده هتروژن این بیماری به همراه تنوع جمعیتی کشورمان، لزوم مطالعه سیستماتیک‌تر مبتنی بر تنوع جمعیتی را بر روی این بیماری پیش روی پژوهشگران قرار می‌دهد تا بر اساس نوع قومیت و جمعیت به پژوهش ساختاری قاعده‌مند اقدام کنند. بنابراین، مطالعه ژن‌های مختلف درگیر بویژه ژنهای میتوکندری در ناشنوایی غیرسندرمی با وراثت مغلوب و ناشنوایان اکتسابی با زمینه ژنتیکی به منظور روشن‌سازی سبب‌شناسی و مکانیسم‌های احتمالی بیماری‌زایی آن و تداخل درمانی آینده، ضروری به نظر می‌رسد.

هدف، مطالعات بسیاری به نقش جهش‌های میتوکندریایی در ایجاد ناشنوایی اشاره کرده است، ولی تاکنون نقش این جهش در جمعیت ایرانی بررسی نشده است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف غربالگری سه جهش A1555G, A7445G, A3243G در استان هرمزگان انجام شده است.

روش کار:

در این مطالعه تجربی، تعداد ۱۱۰ نفر از ناشنوایان استان هرمزگان با روش نمونه‌گیری آسان وارد مطالعه شدند. شرط ورود به این مطالعه داشتن ناشنوایی ژنتیکی غیرسندرمی بود و افراد ناشنوای سندرمی از این مطالعه حذف شدند.

پس از اخذ رضایت‌نامه کتبی از کلیه بیماران، اطلاعات دموگرافی و بالینی آنها از طریق پرسشنامه جمع‌آوری و

Archive of SID
www.SID.ir

سپس از هر بیمار به میزان 5 ml خون جهت انجام آزمایشات مولکولی در لوله های حاوی ضد انعقاد 0.5 EDTA مولار گرفته شد.

DNA نمونه‌های خون با روش استاندارد فنل –کلروفرم استخراج گردید و کیفیت DNA حاصله با استفاده از اسپکتروفتومتر (Unico2100USA) اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از توالی ژن میتوکندریایی به رمز دسترسی NC-(012920) و نرم‌افزار Primer3 توالی‌های آغازگر F و R برای سه جهش این ژن طبق جدول شماره ۱ طراحی و خریداری شد.

برای بررسی سه جهش شایع میتوکندریایی A1555G، A3243G و A7445G بر روی نمونه‌های DNA استخراج شده بیماران، واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (ASTEC PC 818 Japan) انجام شد. برنامه PCR در دستگاه ترموسایکلر (ASTEC PC 818 Japan) شامل: دناتوراسیون اولیه در دمای ^{o}C ۹۵ به مدت ٤ دقیقه، سپس ۳۲ سیکل حرارتی شامل: دناتوراسیون در دمای ^{o}C ۹۵ به مدت 50s، دمای اتصال پرایمرها ^{o}C ۵۸ به مدت 50s و دمای بسط پرایمر ^{o}C ۷۲ به مدت 50 s و در مرحله آخر بسط نهایی پرایمر در دمای ^{o}C ۷۲ به مدت ۵ دقیقه می‌باشد (جدول شماره ۱).

شرایط واکنش PCR برای هر سه جهش یکسان و شامل: 0.5µl از پرایمر F (10PM)، 0.5 µl از پرایمر R (10PM)، 0.1µl Taq DNA polimeras(5U/µl)، 0.5µl از mixdNTP (۱۰mM)، ۲,۵ µl از TaqDNAbuffer (۱۰ X)، ۱,۵ µl از MgCL2 (۵۰ mM) و از 1 µl DNA (۸۰ ng) که با dH2O به حجم ۲۵ µl رسانده شد.

با توجه به برنامه PCR و مواد مورد استفاده در واکنش PCR، برای DNA استخراج شده تمام بیماران واکنش PCR انجام شد. سپس محصولات برای تأیید نهایی بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸٪ (نسبت ۲۹:۱ بیس اکریل آمید: اکریل آمید) به مدت یک ساعت با ولتاژ ۲۰۰V الکتروفورز شد و ژل بدست آمده توسط نیترات نقره رنگ‌آمیزی گردید.

برای نمونه‌هایی که واکنش PCR به خوبی انجام شد، واکنش RFLP برای بررسی سه جهش شایع انجام شد که آنزیم‌های بکار رفته و قطعات ایجاد شده در بیماران دارای جهش و فاقد جهش در جدول شماره ۱ کاملاً ذکر شده است (جدول شماره ۱).

در هر میکروتیوب ۱۰ µl پس از محصولات PCR را با ۱µl آنزیم محدودکننده مورد نظر (10U/ µl) و ۲ µl بافر و ۷ µl آب مقطر مخلوط نموده و به مدت یک شبانه روز در ^{o}C۳۷ قرار دادیم، سپس محصولات بدست آمده بر روی ژل ۱۲٪ پلی‌آکریل آمید به مدت ۳ ساعت و با ولتاژ ۲۰۰V الکتروفورز گردید.

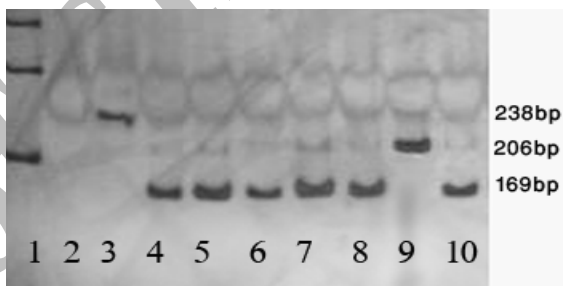
نتایج:

در این مطالعه توصیفی –آزمایشگاهی، ۱۱۰ ناشنوای زن و مرد مورد بررسی قرار گرفتند. هیچ یک از سه جهش A1555G، A3243G و A7445G مشاهده نشد، ولی در بررسی جهش A3243G یک جایگاه آنزیم Hae III در جایگاه غیر از این جهش از بین رفت که باعث ایجاد یک باند 206 bp در روی ژل پلی‌آکریل آمید شد که G3316A نام داشت و قبلاً در بیماری‌های دیابت و چشمی گزارش شده بود. بر روی نمونه‌هایی که جهت بررسی جهش A3243G انجام گرفت، نشان‌دهنده یک الگوی متفاوت در ژن میتوکندریایی به صورت G3316A بود، این واریانت در محل ۳۳۱٦ یکی از سایت‌های آنزیم در محصول PCR از بین می‌رود و به جای ایجاد قطعاتی با طول ۳۲ bp، ۳۷ bp و ۱٦۹ bp، قطعاتی به طول (۳۷ bp+ ۱٦۹ bp) 206 bp و 32 bp ایجاد شد. پس این واریانت با روش تعیین توالی مستقیم مورد تأیید قرار گرفت (شکل شماره ۱).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۱- مشخصات توالی پرایمرهای جهش مورد بررسی، دمای اتصال پرایمر و اندازه محصولات تکثیر شده PCR آنزیم بکار رفته برای RFLP در افراد نرمال و بیمار در ارتباط با جهش‌های شایع میتوکندریایی

انواع جهش مورد بررسی	توالی ۵´ ۳´	دمای Anealing (°C)	اندازه قطعه (bp)	آنزیم محدودکننده	طول قطعات ایجاد شده در نمونه‌های افراد بیمار فاقد جهش (bp)	طول قطعات ایجاد شده در نمونه‌های بیماران دارای جهش (bp)
A1555G	F: CAC AAA ATA GAC TAC GAA AGT GGC R: ACT TAC CAT GTT ACG ACT GG	۵۸	۵۶۷	Hae III	٤٥٦ III	٤٥٦ ۹۱ ۲۰
A3243G	F: 5´CCT CCC TGT ACG AAA GGG AC R: 5´GCG ATT AGA ATG GGT ACA ATG	۶۰	۲۳۸	Hea III	۱۶۹ ۳۲ ۳۷	۹۷ ۷۲ ۳۲ ۳۷
A7445G	F: GAG AAG CCT TCG CTT CGA AG R: GAG GGC GTG ATC ATG AAA GGT	۶۰	۳٤۹	XbaI	۲۲۹ ۱۱۹	۳٤۸



شکل شماره ۱- محصولات PCR-RFLP بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸٪ جهت بررسی جهش A3243G. باند ۱- مارکر، باند ۲- کنترل منفی (بدون DNA)، باند۳- کنترل DNA (بدون آنزیم)، باند ۴-۸و ۱۰و۱۱ نمونه‌های سالم، باند ۹- واریانت G3316A. (باند ۳۲ bp از ژل خارج شده و مشاهده نمی‌شود).

بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه با هدف بررسی نقش جهش میتوکندریایی در ناشنوایی روی ۱۱۰ ناشنوای استان هرمزگان انجام گرفت. در نمونه‌های مورد بررسی هیچگونه جهشی به صورت A1555G، A3243G و A7445G مشاهده نشد.

نتایج حاصله از این مطالعه نشان‌دهنده یک واریانت به صورت G3316A در یک بیمار بود و قطعاتی به طول 206 bp و 32 bp ایجاد شد.

به طور کلی بر اساس تحقیقات صورت گرفته در نقاط مختلف دنیا، ارتباط سه جهش شایع میتوکندریایی با ناشنوایی مورد بررسی قرار گرفته که شامل جهش A1555G در ژن MTRNA1 کد کننده 12SrRNA، سه جهش 7472insC, A7445G, T7511C در ژن MTTS1 کدکننده (tRNA Ser (UCN و سه جهش A3243G، T3271C و T4216C در ژ ن tRNAleu (UUR)(MTTL1) می‌باشند (۱۱).

تاکنون در ایران مطالعه‌ای در زمینه بررسی ارتباط بین جهش‌های میتوکندریایی و ناشنوایی صورت نگرفته اما بر اساس مطالعات انجام شده در بیماران ژاپنی جهش A3243G در ژن tRNALeu(UUR) مشاهده شد. همچنین جهش A3243G در افراد مبتلا به دیابت ملیتوس نیز مشاهده گردید. این جهش باید به عنوان علت ناشنوایی در بیمارانی که دیابت دارند، در نظر گرفته شود (۱۱). اما در این مطالعه ما به جهش متفاوتی برخورد کردیم که به صورت G3316A مورد تأیید قرار گرفت. طبق مطالعات انجام شده تغییر G3316A همراه با تغییر آمینواسید آلانین به ترئونین در بیماران دیابت ملیتوس گزارش شده اما هنوز ارتباط آن با ناشنوایی مورد تأیید قرار نگرفته و نیاز به مطالعات بیشتری دارد (۱۳).

Woongو همکارانش برای اولین بار در سال ۲۰۰۸ جهش‌های میتوکندریایی را در جمعیتی از بیماران کره‌ای با ناشنوایی غیرسندرمیک بررسی کردند. ۲۲۷ بیمار غیرخویشاوند بررسی شدند و دو نفر با جهش A1555G شناسایی شدند. به علاوه دو نوع جدید C895T و ژن 12S rRNA ممکن است یک محل داغ برای جهش‌های میتوکندریایی منجر به ناشنوایی در جمعیت کره‌ای باشد (۱٤).

Archive of SID
www.SID.ir

بررسی‌های Dachun و همکارانش نشان داد کـه بررسـی ژن‌های میتوکنـدریایی 12S rRNA و tRNA Ser (UCN) منجر به شناسایی جهـش‌هـای A1555G و T1095C در ژن 12S rRNA شد که تقریبـاً بـه فـرم هموپلاسـمیک اسـت. بـه علاوه دیگر انواع نوکلئوتیـد مـسئول در افـراد یافـت نـشد. ایـن یافته‌ها بیان می‌کند که نقـص بیوشـیمیایی در افـراد حاصـل از جهش A1555G ممکن است افزایش پیـدا کنـد. بنـابراین تغییـر سن حمله و انواع آسیب های شنوایی را در پی دارد (۱۵).

در مطالعه‌ای دیگر بیماران بـا جهـش A1555G ژن 12S rRNA میتوکندری یک خطر افزایش یافته از تکامل کری بعد از تیمار بـا آمینوگلیکوزیـد داشـتند لـیکن نـاقلین جهـش همچنـین ناشنوایی بدون در معـرض دارو قـرار گـرفتن را نـشان دادنـد (۱۶،۱۷). در مطالعـــه‌ای دیگـــر، جهـــش A1555G در ۲٪ از بیماران با ناشنوایی پیش زبانی گزارش شد (۱۸).

در جمعیت‌های شرقی، فراوانی جهـش‌هـای میتوکنـدریایی ممکن است بیشتر باشد. بویژه ژن‌های میتوکندریایی کد کننـده 12S ribosomal RNA (MTRNR1) و ژن هـای tRNA که همراه با ناشنوایی پیدا شـدند. در چنـد سـال گذشـته تعـداد زیـادی جهـش‌هـای میتوکنـدریایی جدیـد مـسبب ناشـنوایی غیرسندرومیک گزارش شدند (۱۹).

در تعدادی از خانواده‌هـای اسـکاتلندی، نیوزیلنـدی، ژاپنـی، فرانسوی، اوکراینی، پرتغـالی و مجارسـتانی جهـش A7445G در ژن MTTS1 کـد کننـده tRNA ser(UCN) شناسـایی و تأیید شده است (۲۰،۲۱).

با توجه به اینکه در ناشـنوایی بـا الگـوی وراثتـی حـداقل ۱ درصد ژنهای انسان نقـش دارد. همچنـین در مطالعـاتی کـه در دهه اخیر انجام شده است، بعـضی از ژنهـای میتوکنـدریایی از جمله ژنهای ذکر شده در ناشنوایی نقش دارنـد کـه البتـه نقـش آنها در ناشنوایی با الگوی مغلوب اتوزومی غیر سـندرمیک کـم اهمیت‌تر است. به طور کلی جهش‌های شـایع میتوکنـدریایی در ناشنوایی پیش زبانی با الگوی مغلوب اتوزومی کم اهمیت اسـت ولـی در تعـدادی از جمعیـت‌هـا شـامل چـین و اسـپانیا نقـش جهش‌هـای ژنهـای میتوکنـدریایی در مـوارد ناشـنوایی اهمیـت بیشتری دارد. بنابراین در مشاوره ژنتیک ناشنوایی در جمعیـت ایران نیاز است که نقـش جهـش‌هـای ژنهـای میتوکنـدریایی در ناشنوایی مشخص شود.

از آنجا که میزان ازدواج‌هـای فـامیلی در اسـتان هرمزگـان همانند اکثر مناطق ایران بالا است، این جمعیـت منبـع بـسیار بـا ارزشی جهـت تحقیـق بـر روی بیماریهـای ژنتیکـی بـا تـوارث اتوزومال مغلوب از جمله ناشنوایی می‌باشـد. نتـایج ایـن گونـه پژوهش‌ها بی‌تردید مـی‌توانـد بـه نحـو شـایانی بـه غربـالگری ناشنوایی در جمعیت ما و به تبع آن مشاوره ژنتیـک اصـولی و همچنین تشخیص ژنتیکی پیش از لانـه گزینـی (PGD) کمـک کند.

ایـن مطالعـه مـی‌توانـد در ارتبـاط بـا نقـش جهـش‌هـای میتوکندریایی در استان هرمزگان مؤثر باشد. بـه ایـن صـورت که جهش‌های میتوکندریایی نقش کـم اهمیتـی دارنـد. تحقیقـات جهت تعیین نوع جهش‌ها و تأثیر هر یک از جهـش‌هـا در ایجـاد ناشنوایی، مانند تعیین فراوانی جهش‌های ژن میتوکنـدریایی در کشور مقدمه‌ای راه‌گشا در جهت بالا بردن کیفیت مشاوره‌هـای ژنتیکی و یا مداخلات درمانی خواهد بود.

سپاسگزاری:

بدینوسیله از کلیه کسانی که در این پژوهش با ما همکاری کردند، تشکر بعمل می‌آوریم.

Archive of SID

www.SID.ir

References منابع

1. Martini A, Mazzoli M, Kimberling W. An introduction to the genetics of normal and defective hearing. *Ann N Y Acad Sci*. 1997;830:361-374.
2. Tekin M, Arnos KS, Pandya A. Advances in hereditary deafness. *Lancet*. 2001;358:1082-1090.
3. Hone SW, Smith RJ. Genetic screening for hearing loss. *Clin Otolaryngol Allied Sci*. 2003;28:285-290.
4. Petersen MB. Non-syndromic autosomal-dominant deafness. *Clin Genet*. 2002; 62:1-13.
5. Marazita ML, Ploughman LM, Rawlings B, Remington E, Arnos KS, Nance WE, et al. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the U.S. school-age population. *Am J Med Genet*. 1993;46:486–491.
6. Sue CM, Lipsett LS, Crimmins DS, Tsang CS, Boyayes SC, Presqrare CM, et al. Cochlear origin of hearing loss in MELAS syndrome. *Ann Neurol*. 1998:43:350-359.
7. Heidi L, Robin E, Margaret A, Kenna David P. Corey, Bruce R. Understanding the Genetics of Deafness A Guide for Patients and Families. Available From: URL: http://hearing.harvard.edu.
8. Nadol JB Jr, Merchant SN. Histopathology and molecular genetics of hearing loss in the human. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2001;61:1–15.
9. Hutchin T, Cortopassi GA. Mitochondrial defects and hearing loss. *Cell Mol Life Sci*. 2000;57:1927-1937.
10. Bravo O, Ballana E, Estivill X. Cochlear alterations in deaf and unaffected subjects carrying the deafness associated A1555G mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006:344:511–516.
11. Usami S, Abe S, Akita J, Namba A, Shinkakara H, Ishii M, et al. Prevalence of mitochondrial gene mutations among hearing impaired patients. *J Med Genet*. 2000;37:38–40.
12. Kelley PM, Harris DJ, Comer BC, Askew JW, Fowler T, Smith SD, et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss. *Am J Hum Gene.t* 1998;62:792-799.
13. Odawara M, Maki H, Yamada N. Pathogenicity of homoplasmic mitochondrial DNA mutation and nuclear gene involvement. *J Med Genet*. 1999; 36:934–935.
14. Bae SW, Lee KY, Choi SY, Lee SH, Park HJ, Kim UK. Molecular analysis of Mitochondrial gene mutations in Korean patients with nonsyndromic hearing loss. *Int J Mol Med*. 2008;22:175-180.
15. Dai D, Lu Y, Chen Z, Wei Q, Cao X, Xing G. Co-segregation of the T1095C with the A1555G mutation of the mitochondrial 12S rRNA gene in a patient with non-syndromic hearing loss. *Biochem Biophys Res Common*. 2008;377:1152–1155.
16. el-Schahawi M, LÓpez de Munain A, Sarrazin AM, Shanske AL, Basirico M, Shanke S, et al. Two large Spanish pedigrees with nonsyndromic sensorineural deafness and the mtDNA mutation at nt 1555 in the 12s rRNA gene: evidence of heteroplasmy. *Neurology*. 1997;48:453–456.
17. Prezant TR, Agapian JV, Bohlman MC, Oztas B, Qiu WQ, Jaber L, et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet*. 1993;4:289-294.
18. Jacobs HT. Disorders of mitochondrial protein synthesis. *Hum Mol Genet*. 2003;2:293-301.
19. Kokotas H, Petersen MB, Willems PJ. Mitochondrial deafness. *Clin Gent*. 2007;71:379-391.
20. Fischel-Ghodsian N, Prezant TR, Fournier P, Stewar TA, Maw M. Mitochondrial mutation associated with nonsyndromic deafness. *Am J Otolaryngol*. 1995;16:403–408.
21. 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;339:1500-1505.

Archive of SID

www.SID.ir

Mitochondrial gene mutation screening in hearing loss patients, Hormozgan, Iran

A, Asghari, MSc [1] M. Montazer Zohori, PhD [2] E. Farrokhi, MSc [3] G. Banitalebi Dehkordi, BSc [4]
M. Abolhasani, BSc [5] F. Azadeghan, BSc [5] M. Saeedi Morghmaleki, BSc [4] A. Hoseinipor, MD [6]
S. Keshavarz, MD [6] K. Ashrafi, MSc [7] F. Taji, MSc [1] M. Hashemzadeh Chaleshtori, PhD [8]

Master of Physiology [1], Master of Biochemistry [3], BSc of Laboratory Sciences [4], BSc of Genetics [5], General Practitioner [6], Master of Microbiology [7], Professor of Human Genetics [8], Cellular & Molecular Research Center Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. PhD Student of Medical Genetics [2], School of Medical Sciences – Tarbiat Modares University Tehran, Tehran, Iran.

(Received 31 Oct, 2009 Accepted 28 Jun, 2010)

ABSTRACT

Introduction: Hearing loss is the most frequent sensory disorder occurs in 1/1000 newborns. About 50% of hearing loss cases are due to genetic causes. Mutation in MTRNR1(A1555G), MTTL1(A3243G) and MTTS1(A7445G) are known to be one of the important cause of nonsyndromic Sensorineural hearing loos in some populations. This study aims to demonstrate the frequency of three mitochondrial mutations including A1555G, A7445G and A3243G in deaf subjects in Hormozgan province.

Methods: We investigated the presence of three mitochondrial mutations including A1555G، A3243G and A7445G in a cohort of 110 nonsyndromic Sensorineural hearing loss subjects. DNA was extracted using standard phenol – chloroform method. The screening of gene mutations was performed by PCR-RFLP procedure. Finally, the possible mutations were confirmed by direct sequencing.

Results: None of the 110 subjects were found to carry A1555G, A3243G and A7445G mutations. However, PCR-RFLP of the MTTL1 gene destroyed a restriction site due to G3316A substitution in a deaf subject.

Conclusion: We found that the association of A1555G، A3243G and A7445G mutations with hearing loss in Hormozgan is negligible.

Key words: Deafness – Mutation – Autosomal Recessive

Correspondence:
M. Hashemzade Chaleshtori, PhD.
Cellular & Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences.
Shahrekord, Iran
Tel:+98 381 3346692
Email: mchalesh@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir