

# تعیین جهش‌های ژن پژواکین مرتبط با ناشنوایی در دانش آموزان استان کهگیلویه و بویراحمد

## چکیده

**مقدمه و هدف:** ناشنوایی یک اختلال عمومی است که میلیون‌ها نفر در سراسر جهان به آن مبتلا هستند. ناشنوایی می‌تواند به علت‌های ژنتیکی، محیطی و یا هر دو رخ دهد. ناشنوایی ژنتیکی بسیار هتروژن است و بیش از ۱۰۰ ژن را عامل این اختلال در انسان می‌دانند. به تازگی ژن پژواکین را عامل ناشنوایی در بعضی جمعیت‌ها معرفی کرده‌اند. هدف از این مطالعه بررسی جهش‌های ژن پژواکین در ناشنوایان ژنتیکی غیرسندرمی بود.

**مواد و روش‌ها:** این یک مطالعه تجربی است که در سال ۱۳۸۸ در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شد. DNA نمونه‌های خون محیطی ۸۸ نفر مبتلا به ناشنوایی با استفاده از روش استاندارد فنل کروفورم استخراج گردید. تجزیه و تحلیل جهش‌های ژن پژواکین با استفاده از روش غربالگری PCR-SSCP/HA انجام شد. نمونه‌های مشکوک که به صورت باندهای شیف‌دار بر روی ژل پلی‌اکریل آمید آشکار شدند، از طریق تعیین توالی تأیید گردیدند.

**یافته‌ها:** دو پلی مورفیسم ژن پژواکین شامل c.793C>G و c.793C>T به ترتیب در ۸ و ۱ نفر از افراد ناشنوا آشکار گردید.

**نتیجه‌گیری:** در کل منطقه کد کننده ژن پژواکین، هیچ جهشی مربوط به این ژن در بیماران مورد مطالعه پیدا نشد. در نتیجه هیچ ارتباطی بین جهش‌های ژن پژواکین و ناشنوایی در بیماران مورد مطالعه وجود ندارد.

**واژه‌های کلیدی:** ناشنوایی، پژواکین، جهش ژنی

مریم طاهرزاده قهفرخی\*

عفت فرخی\*

سید ابوالفتح شیرمردی\*\*

ثریا قاسمی\*\*\*

مرضیه ابوالحسنی\*\*\*\*

فاطمه آزادگان\*\*\*\*

سمیه رئیسی\*\*\*\*\*

مرضیه رئیسی\*\*\*\*\*

گل اندام بنی طالبی\*\*\*\*\*

مرتضی هاشم زاده چالشتری\*\*\*\*\*

\* کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی

شهرکرد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

\*\* پزشک عمومی، سازمان بهزیستی استان چهارمحال

و بختیاری

\*\*\* کارشناس ارشد ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی

شهرکرد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

\*\*\*\* کارشناس ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد،

مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

\*\*\*\*\* دانشجوی کارشناسی ارشد زیست سلولی مولکولی

دانشگاه اصفهان

\*\*\*\*\* تکنسین علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم

پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

\*\*\*\*\* استاد ژنتیک انسانی، دانشگاه علوم پزشکی

شهرکرد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

تاریخ وصول: ۱۳۸۸/۱۰/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۱/۱۸

مؤلف مسئول: مرتضی هاشم‌زاده چالشتری

پست الکترونیک: mchalesh@yahoo.com

## مقدمه

نقص شنوایی از شایع‌ترین ناهنجاری‌های بدو تولد می‌باشد که در کشور ایران تا کنون مطالعه جامعی در مورد شیوع و پراکنش ناشنوایی و سهم علل مختلف آن صورت نگرفته است (۱). از هر ۱۰۰۰ نفر موالید زنده یک نفر مبتلا به ناشنوایی عمیق می‌باشند که در ۵۰ درصد از این افراد علت ژنتیکی به عنوان منشأ این بیماری مشخص شده است و در ۵۰ درصد دیگر علل اکتسابی نظیر؛ نارسی، هیپوکسی نوزادی و عفونت قبل یا حین نوزادی می‌باشد. علل ژنتیکی بسیار هتروژن بوده و پیش‌بینی می‌شود بیش از ۱۰۰ ژن در ایجاد ناشنوایی دخیل باشند. در هر حال حدود ۷۰ درصد از عوامل ایجاد ناشنوایی غیر سندرمی و ۳۰ درصد دیگر از عوامل ایجاد ناشنوایی سندرمی هستند. در این میان ۷۵-۸۰ درصد از ناشنوایی‌ها با علت ژنتیکی به صورت اتوزوم مغلوب، ۲۰-۱۰ درصد اتوزوم غالب، ۵-۱ درصد وابسته به X و ۲-۰ درصد با علت میتوکندریایی می‌باشند (۲-۵).

تا کنون بیش از ۶۱ لوکوس در رابطه با نقص شنوایی اتوزوم مغلوب نقشه‌برداری شده است که برای ۲۶ مورد از این لوکوس‌ها، ژن‌های مسبب تشخیص داده شده‌اند (۶). در این بین جهش‌های ژن GJB2 با فراوانی ۱۵-۱۰ درصد بیشترین سهم را در ناشنوایی اتوزوم مغلوب به خود اختصاص داده است و بر خلاف آن جهش در ژن‌های دیگر در تعداد کمی از خانواده‌ها با ناشنوایی غیر سندرمی اتوزوم مغلوب گزارش شده است. از جمله این ژن‌ها، ژن

پژواکین<sup>(۱)</sup> است که یک پارالوگ از DFNA5 محسوب می‌شود و بر روی بازوی بلند کروموزوم ۲ قرار دارد (۷).

ژن پژواکین دارای ۷ اگزون است که البته اگزون اول آن کد کننده نیست. پژواکین، محصول پلی‌پپتیدی این ژن، در کل مسیر شنوایی آوران از حلزون گوش داخلی تا مغز میانی بیان می‌شود. پژواکین با ۳۵۲ اسید آمینه، عضوی از خانواده پروتئین‌های MLZE و گازدرمین‌ها محسوب می‌شود که فقط در مهره‌داران گزارش شده‌اند (۷).

علی‌رغم ناشناخته بودن مکانیسم مولکولی این پروتئین، نقش‌های حیاتی و مهمی در فیزیولوژی نورون‌های شنوایی برای آن پیش‌بینی می‌شود (۸). تا کنون ۴ جهش بد معنی شامل؛  $c.161C>T$ ،  $c.547C>T$ ،  $c.499C>T$ ،  $c.731T>G$  و ۵ جهش تغییر غالب شامل؛  $c.988delG$ ،  $c.122delA$ ،  $c.113-114$ ،  $c.726delT$ ،  $insT$  و  $c.509-512delCACT$  در این رابطه گزارش شده است (۸-۱۲). نظرات مختلفی در ارتباط با نوع ناشنوایی حاصل از جهش‌های ژن پژواکین وجود دارد که حاکی از متنوع بودن مکانیسم‌های بیماری‌زایی جهش‌های این ژن محسوب می‌شود. نظر به این که محاسبه فراوانی و تعیین شیوع یک معلولیت ابزار بسیار مهم و مفیدی برای تعیین بار آن معلولیت در جامعه است و در طراحی برنامه‌های خدمات بهداشتی از ارزش ویژه‌ای برخوردار است (۱) و با توجه به این که تحقیقات گسترده‌ای در مورد ژن

1-DFNB59(MIM#610219)

'5'ACAGATGAATGAGTTGGCACTCC3' با  
طول قطعه ۲۳۶ جفت باز و دمای  
اتصال ۵۵ درجه سانتی‌گراد با  
پرایمرهای جلو برنده؛  
'5'ACTGAGTTTCTTCTAT(G)AAAGG3' و در معکوس؛  
'5'TTAGGATTATTATACTGACCG3' با طول  
قطعه ۲۸۲ جفت باز و دمای اتصال ۵۶ درجه  
سانتی‌گراد، با پرایمرهای جلو برنده؛  
'5'TACTATTAGGTGAACAT(C)GAATG3' و در معکوس؛  
'4:5'AGTTAGTAAGAGAACCCAAC3' و با طول  
قطعه ۱۹۲ جفت باز و دمای اتصال ۵۸ درجه  
سانتی‌گراد با پرایمرهای جلو برنده؛  
'5'AGCTATCCTTACATGTTAT(G)GATCC3' و در معکوس؛  
'5'CATGCAGACCCTTAACCTCAC3' با طول  
قطعه ۲۳۱ جفت باز و دمای اتصال ۵۳ درجه  
سانتی‌گراد با پرایمرهای جلو برنده  
'5'TTCATCACCCATCAAACAA3' و در معکوس؛  
'5'TCATGTGTTAAGCCAGGA3' با طول  
قطعه ۲۱۵ جفت باز و دمای اتصال ۵۳ درجه  
سانتی‌گراد با پرایمرهای جلو  
برنده؛ '5'CACATTCTTTTCTGTTTT3' و در معکوس؛  
'5'GAAGTTCATCCACAGA3' با طول  
قطعه ۲۳۸ جفت باز و دمای  
اتصال ۵۸ درجه سانتی‌گراد با پرایمرهای جلو  
برنده؛ '5'GAAGGGACCCATATCCGAGT3' و در معکوس  
'5'GTGGCACAACCTG AACTAAA3' طراحی شدند. لازم  
به ذکر است که از طریق تکنیک Site Direct Mutation

پژواکین در کشور ایران صورت نگرفته است، لذا این  
مطالعه با هدف بررسی میزان فراوانی جهش‌های ژن  
پژواکین انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این یک مطالعه تجربی است که در سال ۱۳۸۸  
در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم  
پزشکی شهرکرد با همکاری بهزیستی استان کهگیلویه و  
بویر احمد انجام شد. ۸۸ نفر از دانش‌آموزان ناشنوای  
مدارس استثنایی شهرستان‌های یاسوج و گچساران در  
استان کهگیلویه و بویراحمد، شامل: ۳۹ زن و ۴۹ مرد با  
میانگین و انحراف معیار  $14/34 \pm 4/67$  سال مشروط به  
داشتن ناشنوایی ژنتیکی غیرسندرمی با روش  
نمونه‌گیری آسان وارد مطالعه شدند. سپس با کسب  
رضایت از بیماران و یا والدین بیماران زیر سن قانونی،  
با تکمیل پرسشنامه اطلاعات بالینی و دموگرافیک آنها  
جمع‌آوری گردید و از هر بیمار به میزان ۵ میلی‌لیتر  
خون جهت انجام آزمایش‌های مولکولی گرفته شد.

با روش استاندارد فنل کرفرم DNA  
نمونه‌های خون استخراج و کیفیت DNA استخراجی با  
اسپکتروفنومتر مورد بررسی قرار گرفت. به کمک  
نرم‌افزار پرایمر ۳ و با استفاده از توالی ژن پژواکین  
با رمز دسترسی (MIM:610219) پرایمر اگزون‌های  
مربوطه به این شرح طراحی شد؛ اگزون ۲ با طول  
قطعه ۲۹۶ جفت باز و دمای اتصال ۵۲ درجه  
سانتی‌گراد با پرایمرهای جلو برنده؛  
'5'ATGGATTATCTGGGGGTTC3' و در معکوس؛

آغازگرهای جلوبرنده جدید برای آگزون‌هایی که نمونه کنترل آنها در دسترس نبود طراحی شد و از محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مران<sup>(۱)</sup> آن به عنوان نمونه کنترل در تکنیک PCR-SSCP/HA<sup>(۲)</sup> استفاده گردید.

مواد مورد استفاده در هر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مران شامل: ۰/۲ میکرولیتر از هر یک از دو آغازگر جلوبرنده و معکوس (۵۰ پیکومول)، ۲/۵ میکرولیتر کلرید منیزیم (۵۰ میلی‌مولار)، ۲/۵ میکرولیتر از بافر تگ DNA، ۰/۵ میکرولیتر از مخلوط dNTP (۱۰ میلی‌مولار)، ۰/۱ میکرولیتر از DNA تگ پلی‌مران (۵ واحد بر میکرولیتر) و ۱ میکرولیتر از DNA (۱۰۰ نانوگرم) که با آب مقطر دو بار تقطیر شده به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسانده شد، می‌باشند.

سپس توالی‌های آگزونی در دستگاه ترموسایکلر تحت شرایط دمایی بهینه شامل ۳۰ الی ۳۵ سیکل مشتمل بر دمای واسرشته شدن ۹۶ درجه سانتی‌گراد، دمای اتصال ۵۸ - ۵۲ درجه سانتی‌گراد و دمای ساخت ۷۲ درجه سانتی‌گراد تکثیر شدند.

پس از آن الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مران بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸ درصد با جریان ۵۰ میلی‌آمپر به مدت ۱ ساعت انجام و باندهای اختصاصی با رنگ آمیزی نترات نقره رؤیت شدند (۱۳). سپس از دو تکنیک غربالگری PCR-SSCP و HA به طور هم‌زمان جهت تشخیص احتمالی جهش بهره گرفته شد (۱۶-۱۴). در روش غربالگری PCR-SSCP برای هر نمونه ۸ میکرولیتر از محصول واکنش زنجیره‌ای

پلی‌مران با ۶ میکرولیتر SSCP Dye مخلوط و در دمای ۹۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. پس از آن نمونه‌ها بلافاصله روی یخ قرار گرفتند. به منظور انجام HA، ۲ میکرولیتر محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مران و هر نمونه با ۲ میکرولیتر EDTA نیم مولار داخل میکروتیوب مخلوط گردید. سپس تحت برنامه حرارتی ترموسایکلر شامل: ۱ سیکل حرارتی ۹۶ درجه سانتی‌گراد در ۵ دقیقه و ۶۰ سیکل ۲۰ ثانیه‌ای که از ۹۶ درجه شروع و به ۳۷ درجه ختم می‌شد به طوری که در هر سیکل ۱ درجه سانتی‌گراد دما کاهش می‌یافت قرار داده شد. قبل از بارگیری نمونه‌های آماده شده برای SSCP محتویات میکروتیوب‌های هم شماره PCR-SSCP و HA با هم مخلوط شده و سپس درون چاهک‌های ژل پلی‌اکریل‌آمید بارگیری شدند. لازم به ذکر است که شرایط PCR-SSCP آگزون‌های مختلف متفاوت است که با کسب تجربه بهترین شرایط به این شرح ذیل به دست آمد؛ در مورد آگزون ۲، ژل با غلظت ۶ درصد، ولتاژ ۲۸۰، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در مدت زمان ۵ ساعت باندها از هم تفکیک شدند. آگزون ۳، ژل ۶ درصد، ولتاژ ۲۰۰ با دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت صورت گرفت. تفکیک باندهای آگزون ۴ در ژل با غلظت ۱۰ درصد، ولتاژ ۲۰۰ و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ ساعت انجام شد. در مورد آگزون ۵ ژل ۶ درصد، ولتاژ ۲۰۰، دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در طی مدت زمان ۵ ساعت تفکیک باندها حاصل شد.

1-Polymerase Chain Reaction (PCR)  
2-Heteroduplex Analysis

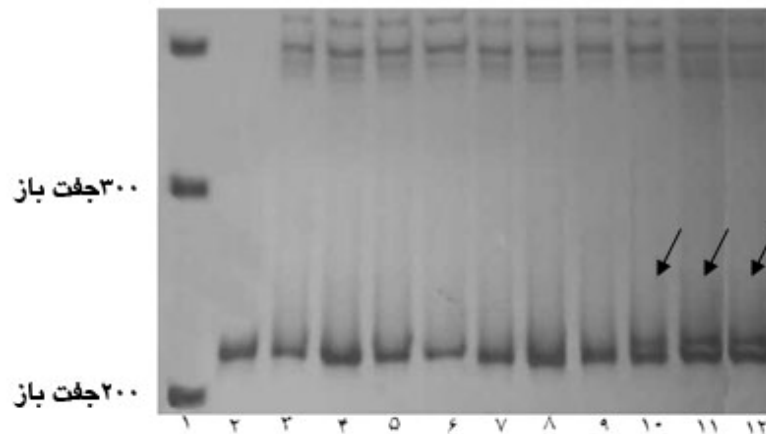
وسیله روش تعیین توالی از نظر صحت وجود جهش مورد تأیید قرار گرفتند.

#### یافته‌ها

با روش غربالگری PCR-SSCP و HA در مجموع در ۱۰/۲۲ درصد از بیماران تغییرات ژنی در ژن پژواکین مشاهده شد که همگی پلی مورفیسم بودند. ۲ نوع پلی مورفیسم ژنی c.793C>G, c.793C>T (تصویر ۱) به ترتیب با فراوانی ۸ و ۱ مورد در اگزون ۷ آشکار شد (جدول ۱). در مورد بقیه اگزون‌ها هیچ‌گونه شیفت و اختلاف الگو بر روی ژل‌های پلی‌اکریل آمید مشاهده نشد.

ژل با غلظت ۸ درصد، ولتاژ ۱۰۰، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در زمان ۶ ساعت برای اگزون ۶ استفاده شد. بهترین شرایط جهت تفکیک باندهای اگزون هفت A شامل؛ ژل ۱۰ درصد، ولتاژ ۲۰۰، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۶ ساعت است. در مورد اگزون هفت B شرایط ایده‌آل شامل؛ ژل ۸ درصد، ولتاژ ۲۸۰، دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۵ ساعت به دست آمد.

سپس باندهای DNA به روش نیترا نقره رنگ شدند و روی میز نور بررسی گردیدند. کلیه نمونه‌های دارای الگوی متفاوت بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید به



تصویر ۱: ژل پلی‌اکریل‌آمید محصول واکنش PCR-SSCP/HA مربوط به اگزون ۷ شماره ۱؛ مارکر، شماره‌های ۹-۲ نمونه‌های سالم، شماره ۱۰ و ۱۱ پلی مورفیسم c.793 C>G و شماره ۱۲ پلی مورفیسم c.793 C>T

جدول ۱: مشخصات تغییرات نوکلئوتیدی یافت شده در ۹ نفر از ۸۸ نفر بیمار ناشنوای مطالعه شده

نوع تغییر	تعداد افراد دارای تغییر ژنتیکی	تعداد کروموزوم	تغییرات نوکلئوتیدی	تغییرات اسید آمینه
بد معنی	۱	۱	c.793C>T	P.R265C
بد معنی	۸	۸	c.793C>G	P.R265G

## بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به این که ژن پژواکین اخیراً کشف شد و تاکنون تحقیقات اندکی در ارتباط با این ژن در نقاط مختلف دنیا انجام شده است (۹ و ۸)، هدف از مطالعه حاضر، بررسی جهش‌های ژن پژواکین در ناشنوایان ژنتیکی غیرسندرمی بود.

در مطالعه حاضر از ۸۸ بیمار ناشنوای مورد بررسی در ۹ مورد تغییرات ژنی پلی مورفیزم مشاهده شد. نتایج این مطالعه حاکی از آن است که جهش‌های ژن پژواکین در ایجاد ناشنوایی غیر سندرمی اتوزوم مغلوب در جمعیت مورد مطالعه نقشی ندارند.

مطالعه‌هایی که در این زمینه در کشور ایران صورت گرفته است حاکی از وجود دو جهش  $c.161C>T$  و  $c.547C>T$  است که به وسیله دلمقانی و همکاران در ۴ خانواده ایرانی گزارش شد (۸)، همچنین جهش‌های  $c.726delT$  و  $c.988delG$  که به وسیله هاشم زاده و همکاران در دو خانواده ایرانی گزارش شد (۹). اخیراً هم مطالعه‌ای به وسیله بزازادگان و همکاران انجام شد که ۵۰ خانواده ایرانی با ناشنوایی مغلوب جسمی بررسی شده و جهش  $c.122delA$  را در ۴ درصد جمعیت مورد مطالعه گزارش کردند (۱۷) که این جهش قبلاً به وسیله اسکواندر هم گزارش شد (۱۲).

در تحقیقی که طاهرزاده و همکاران بر روی ۱۰۰ ناشنوای اتوزوم مغلوب در استان چهارمحال و بختیاری انجام دادند، در مجموع ۱۵ درصد جمعیت

مورد مطالعه، تغییرات ژنی در ژن پژواکین نشان دادند که تنها ۱ درصد آن بیماری‌زا بود (۱۸). مطالعه‌هایی که در نقاط مختلف جهان انجام شده نیز بیانگر آن است که جهش‌های ژن پژواکین نقش چشمگیری در ایجاد ناشنوایی ندارند. به عنوان مثال در تحقیقی که به وسیله کولین و همکاران (۲۰۰۷)<sup>(۱)</sup> روی یک خانواده خویشاوند ترک صورت گرفته است، دخالت جهش‌های ژن پژواکین در ایجاد اختلال شنوایی غیر سندرمیک در خانواده مورد مطالعه بررسی و منجر به شناسایی یک جهش جدید  $c.499 C>T$  و همچنین یک مورد جهش شناخته شده  $c.547C>T$  در ژن مزبور شد. در مطالعه فوق علاوه بر جمعیت ترک، یک گروه ۸۳ نفره از بیماران هلندی نیز بررسی شدند که نتیجه آن شناسایی دو جهش جدید به صورت هتروزیگوت  $c.509-512delCACT$  و  $c.731T>G$  بود. هرچند جهش‌های مزبور باعث ناشنوایی غیر سندرمیک می‌گردند، اما علت عمده اختلال شنوایی غیر سندرمیک در جمعیت‌های بررسی شده نیستند (۱۰).

در مطالعه‌ای که ابرمن و همکاران (۲۰۰۷)<sup>(۲)</sup> بر روی خانواده بزرگ مراکشی با اختلال شنوایی انجام دادند، یک مورد جهش  $c.113-114 ins T$  را یافتند (۱۱). در چین مطالعه‌ای بر روی یک شجره با ناشنوایی اتوزوم غالب، جهت بررسی جهش‌های ژن پژواکین صورت

1-Collin et al  
2-Ebermann et al

زمان کشف این ژن در سال ۲۰۰۶ تاکنون، پژوهش‌های گسترده‌ای در این زمینه صورت نگرفته است، با این حال نتایج بررسی‌ها در نقاط مختلف دنیا نیز گویای نقش کم‌رنگ جهش‌های این ژن در ایجاد ناشنوایی ژنتیکی غیر سندرمی است.

با توجه به سهم اندک ژن پژواکین در ایجاد ناشنوایی در این استان، پیشنهاد می‌شود که منطقه پرموتر این ژن و جهش‌های ژن‌های دیگر مرتبط با ناشنوایی، با تعداد نمونه بیشتر مورد بررسی قرار گیرند.

#### تقدیر و تشکر

از سازمان بهزیستی استان کهگیلویه و بویراحمد، کلیه دانش‌آموزان ناشنوای شرکت کننده و خانواده‌های آنها به خاطر همکاری صمیمانه در انجام این تحقیق، قدردانی می‌شود. همچنین از پرسنل محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد کمال تشکر را داریم. این مطالعه بخشی از پروژه بررسی جهش‌های ژن پژواکین در دانش‌آموزان ناشنوای کشور است که از نظر مالی به وسیله سازمان بهزیستی استان چهارمحال و بختیاری و دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد حمایت شده است.

گرفت، ولی هیچ نوع جهشی در این رابطه آشکار نشد (۱۹). با این اوصاف تا کنون تعداد معدودی جهش در ژن پژواکین بیماران ناشنوا گزارش شده است. هر چند تحقیقات انجام شده به نقش ناچیز جهش‌های این ژن در ایجاد ناشنوایی تأکید دارند، بررسی‌های بیشتر می‌تواند ارتباط این ژن را با انواع ناشنوایی روشن‌تر کند.

عمده کار در تحقیق حاضر استفاده هم‌زمان از تکنیک PCR-SSCP و HA بود که برای کلیه آگزون‌ها استفاده شد. PCR-SSCP روشی معمول در شناسایی جهش‌ها محسوب می‌شود و با استفاده هم‌زمان با تکنیک HA میزان خطا به طور چشمگیری کاهش می‌یابد. با توجه به این که این مطالعه بر روی ۸۸ دانش‌آموز مبتلا به ناشنوایی ژنتیکی غیر سندرمی صورت گرفت، لذا مطالعه‌های وسیع‌تر بر روی قومیت‌های مختلف کشور می‌تواند سهم این ژن را در ایجاد ناشنوایی در کشور ایران روشن‌تر سازد و بالطبع راه‌های پیشگیری و درمانی مربوط به این اختلالات در نظر گرفته شود.

یافته‌های این مطالعه حاکی از آن است که جهش‌های ژن پژواکین علت اصلی ناشنوایی غیر سندرمی اتوزوم مغلوب در این استان محسوب نمی‌شوند، به طوری که در جمعیت مورد مطالعه هیچ‌گونه جهشی از این دست یافت نشد. هر چند از

# DFNB59 Gene Mutations and its Association with Deafness in Schoolchildren in Kohgiluyeh & Boyer-Ahmad Province

Taherzadeh Ghahfarrokhi M<sup>\*</sup>,  
Farrokhi E<sup>\*</sup>,  
Shirmardi A<sup>\*\*</sup>,  
Ghasemi S<sup>\*\*\*</sup>,  
Abolhasani M<sup>\*\*\*\*</sup>,  
Azadegan F<sup>\*\*\*\*</sup>,  
Reisi S<sup>\*\*\*\*\*</sup>,  
Reisi M<sup>\*\*\*\*\*</sup>,  
Banitalebi G<sup>\*\*\*\*\*</sup>,  
Hashemzadeh Chaleshtori M<sup>\*\*\*\*\*</sup>.

<sup>\*</sup>MSc in Biochemistry, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

<sup>\*\*</sup>General Physician, Welfare Organization, Chaharmahal va Bakhtiari, Iran

<sup>\*\*\*</sup>MSc in Genetic, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

<sup>\*\*\*\*</sup>BSc in Genetic, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

<sup>\*\*\*\*\*</sup>MSc in Student, Cellular and Molecular Biology, Esfahan Univ, Esfahan, Iran

<sup>\*\*\*\*\*</sup>Technician laboratory Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

<sup>\*\*\*\*\*</sup>Professor of Human Genetics, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Received:12/01/2010

Accepted:07/02/2010

**Corresponding Author: Hashemzadeh Chaleshtori M**

**Email: mchalesh@yahoo.com**

## ABSTRACT:

**Introduction & Objective:** Hearing loss is a common disease affecting millions of people worldwide. Hearing loss can be caused due to genetic or environmental factors or even both. The genetic of hearing defect is highly heterogeneous and more than 100 genes are predicted to cause this disorder in humans. A newly identified gene (DFNB59) has been shown to cause deafness in some populations. Here we report mutation analysis for DFNB59 gene in 88 genetic non-syndromic hearing loss subjects.

**Materials & Methods:** In this descriptive-lab based study which was conducted at the Cellular and Molecular Research Center of Shahrekord University of Medical Sciences, DNA was extracted from the peripheral blood samples using standard phenol chloroform procedure. Mutation analysis for DFNB59 gene was performed using PCR-SSCP/HA protocol. The suspected DFNB59 which was detected as shifted bands on PAGE were then confirmed by direct sequencing strategy.

**Results:** Two DFNB59 polymorphisms including c.793C>G and c.793C>T were detected in 8 and 1 deaf subjects respectively.

**Conclusion:** We conclude that there is no association between DFNB59 mutations and deafness in the studied patients in the region.

**Keywords:** Deafness, DFNB59, PCR-SSCP, Heteroduplex Analysis.



## REFERENCES:

1. Fyrvzbkht M, Ardebili A, Hasan, Rahimi A, Ansari Dezfuli M, Ismail-Zadeh M. Prevalence of hearing loss in the centers of provinces. *Journal of School Health and Public Health Research Institute* 2007; 5 (4): 1-9.
2. Wilson J. Deafness in developing countries. Approaches to a global program of prevrntion. *Arch Otolaryngol* 1985; 111(1): 2-9.
3. Nadol JBJr, Merchant SN. Histopathology and molecular genetics of hearing loss in the human. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2001; 61(1):1-15.
4. Ciesla CJ, Lee KJ. Audiology. In: Lee KJ (editor). *Essential Otolaryngology*, 6<sup>th</sup> edn. Connecticut: Appleton & Lange; 1995; 45.
5. Cohn ES, Kelley PM. Clinical phenotype and mutations in connexin 26 (DFNB1/GJB2), the most common cause of childhood hearing loss. *Am J Med Genet* 1999; 89(3):130-6.
6. Hone SW, Smith RJ. Genetic screening for hearing loss. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 2003; 28(4): 285-90.
7. Petersen MB, Willems PJ. Non-syndromic, autosomal-recessive deafness. *Clin Genet* 2006; 69: 371-92.
8. Delmaghani S, Del Castillo FJ, Michel V, Leibovici M, Aghaie A, Ron U, et al. Utations in the gene encoding pejvakin, a newly identified protein of the afferent auditory pathway, cause DFNB59 auditory neuropathy. *Nat Genet* 2006 ; 38(7): 770-8.
9. Hashemzadeh Chaleshtori M, Simpson MA, Farrokhi E, Dolati M, Hoghooghi Rad L, Amani Geshnigani S, et al. Novel mutations in the pejvakin gene are associated with autosomal recessive non-syndromic hearing loss in Iranian families. *Clin Genet* 2007; 72(3): 261-3.
10. Collin RW, Kalay E, Oostrik J, Caylan R, Wollnik B, Arslan S, et al. Involvement of DFNB59 mutations in autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment. *Hum Mutat* 2007; 28(7): 718-3.
11. Ebermann I, Walger M, Scholl HPN, Charbel Issa P, Luke Ch, Nurnberg G, et al. Lang. Truncating mutation of the DFNB59 gene causes cochlear hearing impairment and central vestibular dysfunction. *Hum Mutat* 2007; 28(6): 571-7.
12. Schwander M, Sczaniecka A, Grillet N, Bailey JS, Avenarius M, Najmabadi H, et al. A forward genetics screen in mice identifies recessive deafness traits and reveals that pejvakin is essential for outer hair cell function. *J Neurosci* 2007; 27(9): 2163-75.
13. Dale JW, Schantz MV. Purification and separation of nucleic acid In: *From Genes to genomes*. 3<sup>th</sup> ed. University of Surrey UK: John Wiley; 2002; 31-3.
14. Fujita K, Silver J. Single-strand conformational polymorphism. genome. Cshlp org on September. Published by Cold Spring Harbor Laboratory Press 2009; 7; 137-40.
15. Glavac D, Dean M. Optimization of the single-strand conformation polymorphism (SSCP) technique for detection of point mutations. *Hum Mutat* 1993; 2(5): 404-14.
16. Nataraj AJ, Olivos-Glander I, Kusakawa N, Highsmith WE Jr. Single-strand conformation polymorphism and heteroduplex analysis for gel-based mutation detection. *Electrophoresis* 1999; 20(6): 1177-85.
17. Bazaz zadegan N , Meyer N , Kahrizi K , Khosh aien A , Mohseni M , Nikzad N , et al. Linkage analysis of DFNB59 locus in 50 Iranian families autosomal recessive non syndromic hearing loss. Abstract Article. Iran genetic congress, Center of Razi Congress: 1387 Khordad. 1-3: Tehran .
18. Taherzadeh Ghahfarrokhi M, Farrokhi E, Saffari Chaleshtori J, khademi S, Moradi MT, Mobini Gh, et al. DFNB59 gene mutations in association with deafness in Chaharmahal va Bakhtiari. *Journal of Shahrekord Univ* 2009; 10(4):77-82.
19. Xu S, Chen Z, Lu Y, Wei Q, Cao X, Xing G, Bu X. Sequence analysis of DFNB59 gene in a Chinese family with dominantly inherited auditory neuropathy. Department of Otolaryngology , the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University. Nanjing 2008; 22(19): 880-2.