

# تنوع ژنتیکی مارکر DVS2420 در پنج قوم از جمعیت ایرانی: یک مارکر به شدت اطلاع‌دهنده در تشخیص‌های مولکولی ناشنوایی غیرسندرمی اتوزومی مغلوب

مرجان مجتبی نائینی<sup>۱</sup>، صادق ولیان بروجنی<sup>۲</sup>، مرتضی هاشم‌زاده چالشتی<sup>۱\*</sup>

۱. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲. بخش ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

**چکیده/** جهش‌های ژن *SLC26A4* پس از ژن *GJB2* مهم‌ترین عامل ژنتیکی ایجاد کننده ناشنوایی غیرسندرمی با وراثت اتوزومی مغلوب (autosomal Recessive Non-syndromic Hearing Loss, RNSHL) هستند که امروزه در تشخیص‌های مولکولی مورد بررسی قرار می‌گیرند. در پایگاه داده‌ها تعداد زیادی از مارکرهای STR مرتبط با این ناحیه معرفی شده است. در این مطالعه، خصوصیات و اطلاع‌دهندگی مارکر DVS2420 با توالی‌های تکراری C، که در ناحیه ۵ ژن *SLC26A4* می‌باشد، در پنج قوم مختلف جمعیت ایرانی مورد بررسی قرار گرفت. تعیین ژنوتیپ جایگاه ژنی مارکر DVS2420 در ۱۶۵ فرد شنوای غیرخویشاوند از پنج قوم فارس، آذری، ترکمن، گیلک و عرب توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی (PCR) و سپس ژل الکتروفورز پلی‌اکریل‌آمید (PGE) و در نهایت الکتروفورز فلورسنت موئینه صورت گرفت. در این مطالعه از نرم‌افزارهای GeneMarker HID Human STR Identity به منظور آنالیز نتایج الکتروفورز موئینه و GenePop برای تعیین فراوانی آللی، درصد هتروزیگوسیتی و بررسی تعادل هاردی-وینبرگ و Microsatellite Tools برای تخمین مقدار PIC (Polymorphism Information Content) استفاده شد. بررسی آلل‌های مارکر DVS2420 بیانگر وجود ۱۱ آلل در جمعیت ایرانی است که آلل ۲۸۸ جفت بازی با فراوانی ۲۴٪ در جمعیت ایرانی فراوان‌ترین آلل به شمار می‌آید. هتروزیگوسیتی مشاهده شده در کلیه اقوام، بالای ۷۰٪ است، که از میان آن‌ها بالاترین هتروزیگوسیتی متعلق به قوم فارس به میزان ۸۷/۹٪ می‌باشد. بررسی تعادل هاردی واینبرگ (HWE) نشان می‌دهد که کلیه اقوام جمعیت ایرانی برای مارکر DVS2420 در تعادل هستند. در انتها، بررسی مقدار PIC مارکر حاکی از اطلاع‌دهندگی شدید (Highly Informative) آن در اقوام مورد بررسی جمعیت ایرانی می‌باشد (مقدار PIC بالاتر از ۰/۷). نتایج به دست آمده در این مطالعه مارکر DVS2420 را به شدت اطلاع‌دهنده در تشخیص‌های مولکولی ناشنوایی غیرسندرمی وابسته به *SLC26A4* با توارث اتوزومی مغلوب به روش آنالیز پیوستگی در جمعیت ایرانی معرفی می‌نماید.

**واژگان کلیدی:** توالی ریزماهوره ای؛ SLC264؛ ناشنوایی غیرسندرمی اتوزومی مغلوب؛ جمعیت ایرانی.

## مقدمه

۷۰ درصد و نوع سندرمی (SHL) ۳۰٪ درصد کل ناشنوایی‌های وراثتی را تشکیل می‌دهند. ناشنوایی غیرسندرمی براساس سن آغاز علائم اصطلاحاً پیش‌گفتاری<sup>۳</sup> و پس‌گفتاری<sup>۴</sup> خوانده می‌شوند و با توجه به الگوی وراثتی به چهار دسته اتوزومی غالب (DFN)، اتوزومی مغلوب (DFNB)، وابسته به X (DFN) و میتوکندریایی (DFNM) طبقه‌بندی می‌گردند (۳). ناشنوایی غیرسندرمی با وراثت اتوزومی مغلوب (RNSHL)<sup>۵</sup> با فراوانی ۸۰-

ناشنوایی مادرزادی متداولترین نقص حسی در انسان است و شیوع آن ۱ در ۱۰۰۰ نوزاد می‌باشد (۱). عوامل مختلفی موجب ناشنوایی می‌گردند که بیش از ۵۰ درصد موارد مادرزادی، وراثتی هستند (۲). ناشنوایی وراثتی به دو دسته سندرمی و غیرسندرمی دسته‌بندی می‌شود. نوع غیرسندرمی (NSHL)<sup>۱</sup>

1. Non-syndromic Hearing Loss
2. Syndromic Hearing Loss
3. Prelingual
4. Postlingual
5. utosomal Recessive Non-syndromic Hearing Loss

\* مرتضی هاشم‌زاده چالشتی، PhD

استاد ژنتیک دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

شهرکرد، رحمتیه، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

پست الکترونیک: mchalesh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۰۹ • تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۱۶

ژنی در تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت تعریف می‌شود که به تعداد آلل‌ها و هتروزیگوسیتی مارکر بستگی دارد و بنابراین در جمعیت‌های مختلف به دلیل ساختارهای ژنتیکی متفاوت متغیر می‌باشد (۱۱،۱۲). در نتیجه به منظور غربالگری بهینه جهش‌ها به روش غیرمستقیم، مارکرهای مورد استفاده بایستی در جمعیت‌های مختلف ارزیابی شوند و مارکرهای اطلاع‌دهنده هر جمعیت به طور جداگانه معرفی گردند.

تاکنون هیچ مطالعه‌ای مبنی بر بررسی مارکرهای اطلاع‌دهنده مرتبط با ژن *SLC26A4* در جمعیت ایران صورت نگرفته است. در پایگاه داده‌ها مارکرهای مختلفی در ناحیه ژن *SLC26A4* معرفی شده است. یکی از مارکرهای پیوسته به ژن *SLC26A4* D7S2420 می‌باشد که در ناحیه ۵ این ژن قرار دارد و دارای هتروزیگوسیتی بالا در پایگاه‌های گزارش شده می‌باشد و بنابراین برای بررسی در جمعیت ایرانی انتخاب شد (۱۳،۱۴). در این مطالعه خصوصیات و اطلاع‌دهندگی این مارکر در پنج قوم جمعیت ایرانی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفته است که نتایج آن می‌تواند موجب بهینه سازی تشخیص‌های مولکولی ناشنوائی‌های وابسته به ژن *SLC26A4* و همچنین تقویت اطلاعات ساختاری ژنتیکی جمعیت ایرانی گردد.

### روش بررسی

در این مطالعه، از تعداد ۱۶۵ فرد شنوای غیرخویشاوند از پنج قوم مختلف ایرانی شامل فارس، آذری، ترکمن، گیلک و عرب با میزان تقریباً برابر از خانم‌ها و آقایان نمونه‌گیری به عمل آمد (۸۲ مرد و ۸۳ زن). پس از کسب رضایت نامه کتبی، با روش نمونه‌گیری آسان ۱۰ میلی لیتر از خون تام فرد را در لوله حاوی یک میلی لیتر از EDT با غلظت ۰/۵ M جمع‌آوری و پس از ثبت اطلاعات افراد بر روی آن تا زمان آزمایش در °C ۲۰- نگهداری شد. DN نمونه‌های خون به روش استاندارد فنل-کلروفورم استخراج گردید و کمیت حاصله با استفاده از دستگاه (Nano Drop ( Isogen, Rockland/Montcha) مورد بررسی قرار گرفت. کلیه مارکرهای STR ناحیه

۷۵ درصد، از میان چهار گروه دارای بیشترین فراوانی می‌باشد (۴). در بسیاری از جمعیت‌های جهان از جمله جمعیت ایرانی شایع‌ترین جهش‌های مسئول ناشنوائی RNSHL جهش‌های ژن *GJB2* و پس از آن ژن *SLC26A4* هستند (۵،۶).

به علت هتروژنی بالا و نقش کم بسیاری از ژن‌های ایجاد کننده ناشنوائی، غربالگری کامل جهش‌ها در تشخیص‌های مولکولی امکان‌پذیر نمی‌باشد و در بسیاری از نقاط جهان در تشخیص‌های مولکولی، غربالگری جهش‌ها تنها برای دو ژن *GJB2* و *SLC26A4* صورت می‌گیرد (۵).

تشخیص مولکولی ناشنوائی بر پایه دو روش بررسی مستقیم جهش و بررسی غیرمستقیم توسط آنالیز پیوستگی انجام می‌شود. انتخاب روش در تشخیص‌های مولکولی به ویژگی‌های ژن مورد بررسی بستگی دارد و اولویت آن‌ها در ژن‌های مختلف متفاوت است (۷). روش بررسی مستقیم، شامل تعیین توالی ژنوم بیماران برای تشخیص جهش‌های ایجادکننده بیماری می‌باشد که برای جهش‌های ژن *GJB2* به علت طول کم ژن، و شیوع بالای جهش 35delG از میان جهش‌ها مناسب به نظر می‌آید (۸). در حالی که به دلیل طول زیاد ژن *SLC26A4* و پراکندگی جهش‌های مشاهده شده در جمعیت ایرانی در نواحی مختلف ژن و نیز شیوع تقریباً یکسان این جهش‌ها، روش مستقیم یک روش ایده‌آل برای بررسی جهش‌های این ژن نمی‌باشد و بهتر است به منظور صرفه‌جویی در وقت و هزینه از روش غیرمستقیم استفاده گردد (۹).

بررسی غیرمستقیم جهش‌ها یا آنالیز پیوستگی توسط مارکرهای چندشکلی متصل به ژن انجام می‌شود. یکی از مارکرهای مورد استفاده در بررسی غیرمستقیم توالی‌های تکراری از دسته ریزماهورهای موجود در ژنوم هستند که به مقدار بسیار زیاد و به شکل تصادفی در طول ژنوم پراکنده می‌باشند و به آن‌ها توالی‌های تکراری پشت سر هم (STR) می‌گویند (۱۰). چندشکلی‌های STR از تغییر در تعداد تکرارهای پشت سر هم مربوط به واحدهای توالی کوتاه ۲ تا ۴ نوکلئوتیدی ایجاد می‌شوند. در آنالیز پیوستگی برای افزایش کیفیت بررسی بایستی از مارکرهای اطلاع‌دهنده استفاده شود.

اطلاع‌دهندگی یک مارکر توسط فاکتور ظرفیت اطلاعاتی چند شکلی (PIC) <sup>۷</sup> اندازه‌گیری می‌شود. مقدار PIC برای جایگاه‌های

6. Short Tandem Repeat  
7. Polymorphism Information Content.

آل‌بندی شدند.

آنالیز آماری نتایج به دست آمده از تعیین ژنوتیپ افراد شامل تخمین فراوانی آلی، درجه هتروزیگوسیتی و فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده و مورد انتظار فنوتیپ‌های هموزیگوت و هتروزیگوت و همچنین بررسی تعادل هاردی-واینبرگ (HWE) با استفاده از نرم‌افزار پایگاه Ge- nePop انجام شد (۱۶). روش‌هایی که تاکنون برای بررسی تعادل هاردی-واینبرگ استفاده شده است در دو گروه قرار می‌گیرند. روش اول استفاده از آزمون  $\chi^2$  است.

این آزمون وقتی که اندازه نمونه کوچک باشد و یا آل‌های نادر وجود داشته باشد قابل اعتماد نیست. روش دیگر بر اساس آزمون دقیق فیشر است. آزمون فیشر وقتی که آل‌های نادر وجود دارد مناسب هستند و بنابراین بایستی برای مارکرهایی که تعداد زیادی آل دارند همانند لوکوس‌های ریزماهواره استفاده شود (۱۷، ۱۸). این نرم‌افزار با استفاده از آزمون دقیق فیشر به بررسی تعادل می‌پردازد.

در نهایت با استفاده از نرم‌افزار Microsatellite Tools میزان PIC را تخمین زده و به بررسی اطلاع‌دهندگی مارکر در اقوام مختلف پرداخته شد (۱۹).

فاکتور PIC یک فاکتور محاسباتی برای تعیین اطلاع‌دهندگی مارکرها به منظور استفاده در آنالیز پیوستگی می‌باشد. این فاکتور برای جایگاه مارکرهای دارای تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت تعریف می‌شود که به تعداد و فراوانی آل‌ها و هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جمعیت وابسته است. مقدار PIC بالاتر از ۰/۷ نشان‌دهنده اطلاع‌دهندگی شدید<sup>۱۱</sup> مارکر در آنالیز پیوستگی برای ژن متصل به آن است. هنگامی که مقدار آن مابین ۰/۴۴ و ۰/۷ باشد، مارکر از اطلاع‌دهندگی متوسط<sup>۱۲</sup> برخوردار است و اگر کمتر از ۰/۴۴ باشد، مارکر اطلاع‌دهنده‌ای ضعیف به شمار می‌آید (۱۲).

## یافته‌ها

محصول PCR نمونه‌های افراد شنوای غیرویشاوند برای مارکر

ژن *SLC26A4* موجود در پایگاه داده UniSTS بررسی شدند و در نهایت مارکر (D7S2420 (UniSTS:33672) به منظور مطالعه بیشتر به علت گزارش هتروزیگوسیتی بالا در پایگاه داده‌هایی از جمله Genethon center انتخاب گردید (۱۴).

پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق، از تحقیقات پیشین و پایگاه داده UniSTS در سایت NCBI استخراج شد. توالی پرایمر پیشرو (F)<sup>۸</sup> و پرایمر پیرو (R)<sup>۹</sup> به صورت زیر می‌باشد که با انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) قطعاتی با طول متغیر ۲۴۰-۲۹۲ جفت باز تولید می‌نماید (۱۵).

F: 5'-CCTGTTGGGGCCT-3'

R: 5'-TTGCTGGGCTCC-3'

انجام PCR بر روی نمونه‌های DNA ژنومی با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (STEC PC818-Japan) طبق جدول شماره ۱ انجام شد.

جدول ۱: برنامه بهینه‌شده نهایی دستگاه ترموسایکلر برای مارکر D7S2420

مرحله	دما	مدت	تعداد سیکل
۱	۹۴	۳ دقیقه	۱
۲	۹۴	۳۰ ثانیه	۱۰ سیکل تاچ داون
	۶۲-۵۳	۳۰ ثانیه (کم شدن یک درجه در هر سیکل)	
	۷۲	۳۰ ثانیه	
۳	۹۴	۳۰ ثانیه	۲۵ سیکل معمولی
	۵۲	۳۰ ثانیه	
	۷۲	۳۰ ثانیه	
۴	۷۲	۷ دقیقه	۱

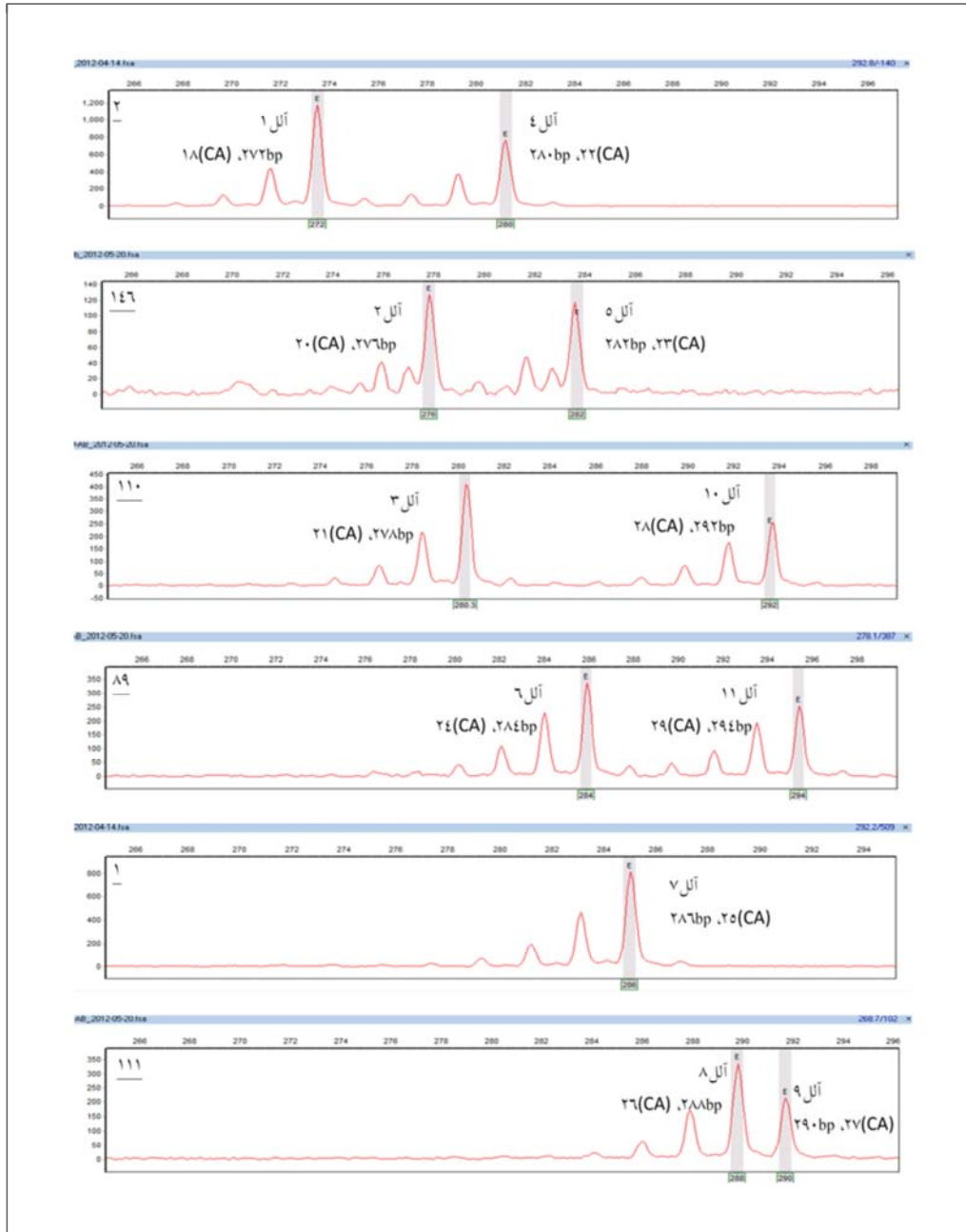
شرایط واکنش PCR شامل: ۱μl از دو پرایمر (10Pm), 1μl از Taq DN Polymerase (5U/μl), 0.5μl از dNTP (10mM), 2.5μl از mix از TaqDNbuffer (10X), 2μl از (MgCl2) 50mM و 2μl از DN (80ng) که با ddH2O به حجم 25μl رسانیده شد.

کلیه محصولات واکنش بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد (نسبت ۱ بیس‌اکریل آمید: ۱۹ اکریل آمید) به مدت سه ساعت با ولتاژ ۲۰۰ ولت رانده شد و ژل به دست آمده با نیترات نقره رنگ آمیزی گردید. پس از تأیید کیفیت باندها محصولات توسط الکتروفورز موئینه فلئورسنت مورد بررسی قرار گرفتند. در انتهای ۵ پرایمر R، به منظور تعیین طول محصولات PCR توسط تکنیک الکتروفورز موئینه رنگ فلئورسنت ROX (رنگ قرمز) افزوده شده است که توسط دستگاه BI Prism 3130 خوانده می‌شود و در نهایت نتایج به صورت نمودار نمایش می‌گردند. نمودارهای به دست آمده توسط نرم‌افزار GeneMarker HID Human STR تعیین ژنوتیپ و

8. Forward Primer  
9. Reverse Primer.  
10. Hardy-Weinberg Equilibrium  
11. Highly Informative  
12. Moderately Informative.

فلئورسنت تعیین ژنوتیپ و آلل‌بندی شدند. این آلل‌بندی‌ها به دو صورت تعداد جفت باز طول محصولات و تعداد تکرارهای C بیان شده است. نتایج حاصل نشان‌دهنده وجود مجموع ۱۱

D7S2420 ابتدا با روش الکتروفورز بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸٪ مورد مشاهده و ارزیابی قرار گرفتند و پس از اطمینان از وجود محصولات PCR مناسب با استفاده از الکتروفورز موئینه‌ای



شکل ۱: تعیین تعداد آلل‌های مارکر DV52420. نمونه‌های ۲، ۱۴۶، ۱۱۰، ۸۹ و ۱۱۱ هتروزیگوت و نمونه ۱ هموزیگوت می‌باشند. در این ۶ نمونه ۱۱ آلل مشاهده شده در کلیه نمونه‌ها نشان داده شده است.

مشاهده شده و مورد انتظار برای هر یک از قوم‌ها به صورت جداگانه و در نهایت برای جمعیت ایرانی محاسبه شد. چنانچه در جدول شماره ۳ نشان داده شده است، هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جمعیت ایرانی ۸۲/۴٪، قوم فارس ۸۷/۹٪، آذری ۷۸/۸٪، ترکمن ۸۴/۸٪، گیلک ۸۱/۸٪ و عرب ۷۸/۸٪ می‌باشد. در حالی که

نوع آلل مختلف در جمعیت ایران است (شکل شماره ۱). از میان تمامی آلل‌ها، قوم فارس ۸ آلل، آذری ۸ آلل، ترکمن ۹ آلل، گیلک ۹ آلل و عرب ۸ آلل را دارا بودند. در جدول شماره ۲ فراوانی آلل‌ها به طور جداگانه در هر قوم و به طور کلی در جمعیت ایران بیان شده است. پس از تعیین ژنوتیپ افراد، درصد هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی

جدول ۲: آلل‌ها و درصد فراوانی‌های آللی مارکر D7S2420 در اقوام مختلف ایرانی.

شماره	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	قوم
آلل	C <sub>18</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>21</sub>	C <sub>22</sub>	C <sub>23</sub>	C <sub>24</sub>	C <sub>25</sub>	C <sub>26</sub>	C <sub>27</sub>	C <sub>28</sub>	C <sub>29</sub>	
فراوانی آللی	۰/۹۱	۰/۹۱	۶/۰۷	۸/۱۸	۱۵/۴۵	۲۰/۳	۱۵/۷۶	۲۴/۲۴	۶/۳۶	۱/۳۲	۰/۳	کلیه اقوام (جمعیت ایرانی)
		۲/۰۳	۱۰/۶۱	۷/۵۸	۱۶/۶۷	۱۳/۶۴	۱۵/۱۵	۲۲/۷۳	۱۰/۶۱			فارس
		۱/۵۲	۷/۵۸	۱۰/۶۱	۱۶/۶۷	۱۵/۱۵	۲۱/۳۱	۲۴/۲۴	۳/۰۳			آذری
			۶/۰۶	۶/۰۶	۷/۵۸	۲۲/۷۳	۲۲/۷۳	۲۵/۷۶	۱/۵۲	۶/۰۶	۱/۵۲	ترکمن
		۱/۵۲	۴/۵۵	۶/۰۶	۱۵/۱۵	۲۴/۲۴	۱۶/۶۷	۲۲/۷۳	۷/۵۸	۱/۵۲		گیلک
		۳/۰۳	۱/۵۲	۱۰/۶۱	۱۶/۶۷	۲۵/۷۶	۷/۵۸	۲۵/۷۶	۹/۰۹			عرب

هتروزیگوسیتی مورد انتظار برای جمعیت ایرانی ۸۳/۹٪، قوم فارس ۸۶/۳٪، آذری ۸۴٪، ترکمن ۸۲/۶٪، گیلک ۸۴٪ و عرب ۸۲/۶٪ محاسبه شد. به تبع آن هموزیگوسیتی مشاهده شده برای جمعیت ایرانی ۱۷/۵٪، قوم فارس ۱۲/۱٪، آذری ۲۱/۲٪، ترکمن ۱۵/۲٪، گیلک ۱۸/۲٪ و عرب ۲۱/۲٪ می‌باشد. در صورتی که هموزیگوسیتی مورد انتظار جمعیت ایرانی ۱۶/۱٪، قوم فارس ۱۳/۷٪، آذری ۱۶٪، ترکمن ۱۷/۴٪، گیلک ۱۶٪ و عرب ۱۷/۴٪ بود.

در این مطالعه بررسی تعادل هاردی-واینبرگ برای جایگاه مارکر در قوم‌های مختلف و همچنین به طور کلی در جمعیت ایران

جدول ۳: درصد هتروزیگوسیتیو هموزیگوسیتیمشاهده شده و مورد انتظار مارکر

D7S2420 با استفاده از پایگاه اینترنتی GenePop

قوم	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (%)	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (%)	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (%)	هتروزیگوسیتی انتظار (%)
کلیه اقوام (جمعیت ایرانی)	۸۲/۴	۸۳/۹	۱۷/۵	۱۶/۱
فارس	۸۷/۹	۸۶/۳	۱۲/۱	۱۳/۷
آذری	۷۸/۸	۸۴/۰	۲۱/۲	۱۶
ترکمن	۸۴/۸	۸۲/۶	۱۵/۲	۱۷/۴
گیلک	۸۱/۸	۸۴/۰	۱۸/۲	۱۶
عرب	۷۸/۸	۸۲/۶	۲۱/۲	۱۷/۴

نتیجه این مارکر برای تمامی اقوام به شدت اطلاع‌دهنده می‌باشد.

### بحث

این مطالعه به منظور شفاف‌سازی ویژگی‌ها و خصوصیات مارکر D7S2420 در جمعیت ایرانی و در اقوام مختلف آن صورت گرفته است که خود به انتخاب بهینه مارکرهای مورد استفاده در تشخیص مولکولی جهش‌های SLC26A4 مسئول ناشنوایی به روش غیر مستقیم کمک می‌نماید و در پیشرفت روش‌های تشخیصی در جمعیت ایران موثر می‌باشد. همچنین نتایج این مطالعه موجب تقویت اطلاعات ساختاری ژنتیکی جمعیت ایرانی و اقوام مختلف آن می‌گردد.

در مطالعه حاضر بر روی مارکر D7S2420 از بین ۱۱ آلل شناسایی شده، آلل ۸ (۲۸۸ جفت باز) با فراوانی ۲۴/۲۴٪ و آلل ۱۱ (۲۹۴ جفت باز) با فراوانی ۰/۳٪ به ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی را در جمعیت ایران نشان دادند (جدول شماره ۲). براساس اطلاعات پایگاه داده UniSTS:33672 UniSTS آلل‌های این مارکر از محصول PCR با طول ۲۴۰ جفت باز آغاز می‌شود که با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه طول آلل‌ها در جمعیت ایرانی از ۲۷۲ جفت باز آغاز شده و در نتیجه آلل‌های کوتاه‌تر از ۲۷۲ جفت باز را دارا نمی‌باشد.

براساس گزارشات Genethon center در فرانسه برای مارکر DVST۴۲۰ ۱۱ آلل با طول محصول PCR ۲۷۲-۲۹۲ جفت باز معرفی شده است (۱۴). همچنین، پایگاه Mammalian Genotyping Service آلل‌های این مارکر را مشابه با Genethon center بیان نموده است (۱۳). براساس نتایج مطالعه حاضر، برخلاف گزارشات دیگر جمعیت‌ها آلل ۲۷۴ در جمعیت ایرانی مشاهده نشد و همچنین آلل دارای ۲۹۴ جفت باز به عنوان یک واریانت نادر جدید در جمعیت ایرانی معرفی می‌شود. بر اساس نتایج تعیین ژنوتیپ در این مطالعه، به عنوان یک نتیجه‌گیری کلی آلل‌های ۲۷۲، ۲۷۶ و ۲۹۴ واریانت‌های نادر در جمعیت ایران به حساب می‌آیند.

ژنوتیپ‌های بررسی شده از قوم فارس حاکی از وجود ۸ آلل از این مارکر بود که در میان آن‌ها آلل‌های ۲۷۲، ۲۹۲ و ۲۹۴ جفت بازی وجود نداشتند. در این قوم آلل ۲۸۸ جفت باز با فراوانی ۲۲/۷۳٪ شایع‌ترین و آلل ۲۷۶ با فراوانی ۳/۰۳٪ کمیاب‌ترین آلل‌ها بودند (جدول شماره ۲). قوم آذری از ۱۱ آلل جمعیت ایرانی تنها ۸ آلل را دارا بود که از میان آن‌ها آلل ۲۸۸ جفت

جدول ۴: تعادل هاردی-واینبرگ مارکر D7S2420 در جمعیت ایرانی و اقوام مختلف آن

قوم	P-value
کلیه اقوام (جمعیت ایرانی)	۰/۳۱۳۰
فارس	۰/۷۱۶۳
آذری	۰/۵۸۹۳
ترکمن	۰/۵۵۸۹
گیلک	۰/۴۳۳۹
عرب	۰/۷۷۱۰

توسط نرم‌افزار GenePop بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد که مقدار P محاسبه شده از آزمون دقیق فیشر برای جمعیت ایرانی ۰/۳۱۳۰، قوم فارس ۰/۷۱۶۳، آذری ۰/۵۸۹۳، ترکمن ۰/۵۵۸۹، گیلک ۰/۴۳۳۹ و عرب ۰/۷۷۱۰ می‌باشد (جدول شماره ۴). قابل توجه است که مقدار P محاسبه شده در تمامی اقوام و جمعیت ایرانی بزرگتر از ۰/۰۵ می‌باشند که نمایانگر وجود تعادل هاردی-واینبرگ است.

در انتها، به دلیل وجود تعادل هاردی-واینبرگ در جایگاه ژنی مارکر مورد بررسی در اقوام مورد بررسی و با توجه به اطلاعات به دست آمده از فراوانی آلل‌ها و هتروزیدگوسیتی مشاهده شده، مقدار PIC

جدول ۵: مقدار PIC برای مارکر D7S2420 در جمعیت ایرانی و اقوام مختلف آن

قوم	PIC value
کلیه اقوام (جمعیت ایرانی)	۰/۸۱۶
فارس	۰/۸۳۲
آذری	۰/۸۰۴
ترکمن	۰/۷۸۸
گیلک	۰/۸۰۴
عرب	۰/۷۸۸

در هر قوم به طور جداگانه محاسبه شد (جدول شماره ۵). این نتایج نشان می‌دهد که مقدار PIC برای جمعیت ایرانی ۰/۸۱۶، قوم فارس ۰/۸۳۲، آذری ۰/۸۰۴، ترکمن ۰/۷۸۸، گیلک ۰/۸۰۴ و عرب ۰/۷۸۸ می‌باشد که تمامی مقادیر PIC بزرگتر از ۰/۷ می‌باشند و در

است که خود منجر به افزایش هموزیگوسیتی و کاهش هتروزیگوسیتی می‌گردد. در حالی که این حالت در قوم فارس کمتر دیده می‌شود و در نتیجه دارای بالاترین هتروزیگوسیتی از میان سایر اقوام می‌باشند.

پس از تخمین فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی داده‌ها، وجود تعادل هاردی-واینبرگ مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور فرض صفر در این آزمون مبنی بر وجود تعادل هاردی-واینبرگ در اقوام و جمعیت مورد بررسی است. در صورتی که مقدار  $P$  کمتر از  $0/05$  بدست آید فرضیه صفر مبنی بر وجود تعادل هاردی-واینبرگ رد می‌شود (۲۱).

مقدار  $P$  بیشتر از  $0/05$  برای مارکر D7S2420 در جمعیت ایرانی نشان دهنده وجود تعادل هاردی-واینبرگ در این جمعیت می‌باشد (جدول شماره ۴).

همچنین، مقدار  $P$  محاسبه شده برای پنج قوم مورد بررسی بیشتر از  $0/05$  هستند و در نتیجه همه اقوام برای جایگاه مارکر مورد بررسی در تعادل هاردی-واینبرگ می‌باشند. این موضوع نشان دهنده این است که با احتمال زیاد عوامل بر هم زننده تعادل هاردی-واینبرگ همانند جهش، انتخاب، رانش ژنی و ازدواج‌های غیر تصادفی در جمعیت ایرانی برای جایگاه مارکر D7S2420 اثر چشمگیر و قابل توجهی نداشتند.

بر اساس نتایج بدست آمده، مقدار PIC محاسبه شده در این مطالعه در پنج قوم مختلف و جمعیت ایرانی، بالاتر از  $0/7$  هستند و بنابراین مارکر D7S2420 در پنج قوم مورد بررسی و به طور کلی جمعیت ایرانی برای بررسی جهش‌های ژن *SLC26A4* به روش آنالیز پیوستگی به شدت اطلاع دهنده می‌باشد. مارکر D7S2420، از میان اقوام مختلف از شدیدترین اطلاع دهنده‌گی برای قوم فارس برخوردار است ( $PIC \text{ value} = 0.832$ ) که احتمالاً به علت بالاتر بودن هتروزیگوسیتی مشاهده شده در این قوم نسبت به سایرین می‌باشد.

با توجه به کمتر بودن هتروزیگوسیتی و تعداد آلل‌های گزارش شده توسط پایگاه داده‌ها، به نظر می‌رسد که جمعیت ایرانی دارای مقدار PIC بالاتری برای این مارکر است و در نتیجه نسبت به سایر جمعیت‌ها از اهمیت تشخیصی بیشتری نیز برخوردار است.

در مجموع، با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، مارکر

باز با فراوانی  $24/24\%$  و آلل  $276$  با فراوانی  $1/52\%$  به ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی را نشان دادند.

در قوم آذری نیز سه آلل  $272$ ،  $292$  و  $294$  جفت بازی مشاهده نشد (جدول شماره ۲). بررسی‌های انجام شده بر روی افراد قوم ترکمن نشان‌دهنده وجود ۹ آلل از مارکر D7S2420 در این قوم می‌باشد.

در قوم ترکمن نیز آلل  $288$  جفت باز با فراوانی  $25/76\%$  شایع‌ترین و آلل‌های  $290$  و  $294$  جفت باز هر کدام با فراوانی  $1/52\%$  کمیاب‌ترین آلل‌های این قوم می‌باشند. بررسی ژنوتیپ‌های افراد این قوم حاکی از فقدان آلل‌های  $272$  و  $276$  جفت بازی بود.

گیلکی‌ها نیز ۹ آلل از مارکر مورد بررسی را دارا بودند که فراوان‌ترین آلل، آلل  $284$  جفت باز با فراوانی  $24/24\%$  بود. همچنین دو آلل  $272$  و  $292$  جفت باز با فراوانی  $1/52\%$  کمترین فراوانی را در این قوم داشتند. آلل‌های  $276$  و  $294$  جفت باز در این قوم مشاهده نشد. در انتها، در قوم عرب از میان ۸ آلل مشاهده شده جمعیت ایرانی آلل  $284$  و  $288$  جفت باز هر کدام با فراوانی  $25/76\%$  شایع‌ترین آلل‌ها بودند، در حالی که آلل  $278$  جفت باز با فراوانی  $1/52\%$  کمیاب‌ترین به شمار می‌آید. آلل‌های  $276$ ،  $292$  و  $294$  جفت بازی جمعیت ایرانی در قوم عرب دیده نشد. در کل بر اساس نتایج بدست آمده مشاهده می‌شود که مارکر D7S2420 در اقوام مختلف دارای بیش از ۸ آلل می‌باشد.

درصد هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای مارکر D7S2420 در جمعیت ایرانی  $82/4\%$  است که کمی کمتر از درصد هتروزیگوسیتی مورد انتظار ( $83/9\%$ ) می‌باشد. درصد هتروزیگوسیتی گزارش شده توسط پایگاه‌های اطلاعات ژنومی Genethon center و Mammalian Genotyping Service به ترتیب  $80\%$  و  $81\%$  هستند.

در نتیجه درصد هتروزیگوسیتی مارکر D7S2420 در جمعیت ایرانی بیشتر مقادیر گزارش شده است ( $13,14$ ). بالاترین درصد هتروزیگوسیتی مشاهده شده متعلق به قوم فارس ( $88\%$ ) و پایین‌ترین متعلق به اقوام آذری و عرب ( $78\%$ ) بودند. احتمالاً یکی از مهم‌ترین دلایل پایین بودن درصد هتروزیگوسیتی در اقوام آذری و عرب، تمایل این افراد به درون زادآوری قومی

D7S2420 واقع در ناحیه ژنی *SLC26A4*، که از بیش از ۸ آلل و هتروزیگوسیتی ۸۲/۴٪ و همچنین مقدار PIC ۰/۸۱۶ در جمعیت ایرانی برخوردار است، به عنوان یک مارکر با اطلاع دهنده شدید در تشخیص‌های مولکولی ناشنوایی غیرسندرمی وابسته به *SLC26A4* با توارث اتوزومی مغلوب به روش آنالیز پیوستگی در جمعیت ایرانی معرفی می‌گردد. همچنین به دلیل آللهای بیشتر این مارکر و هتروزیگوسیتی بالاتر آن در جمعیت ایرانی نسبت به سایر جمعیت‌ها این

مارکر در ایران از ارزشمندی بیشتری برخوردار می‌باشد.  
**تشکر و قدردانی**  
 بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد جهت تأمین بودجه (شماره گرانت ۱۰۴۵) و از کلیه کارکنان محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی شهرکرد و هم چنین تمام افرادی که در دادن نمونه ما را یاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد. قابل ذکر است که این مقاله منتج از پایان نامه می‌باشد.

#### References / منابع

- Marazita ML, Ploughman LM, Rawlings B, Remington E, Arnos KS, Nance WE. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the US school-age population. *American Journal of Medical Genetics*. 2005;46(5):486-491.
- Lee KY, Choi SY, Bae JW, et al. Molecular analysis of the GJB2, GJB6 and SLC26A4 genes in Korean deafness patients. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2008;72(9):1301-1309.
- Hilgert N, Smith RJH, Van Camp G. Forty-six genes causing nonsyndromic hearing impairment: which ones should be analyzed in DNA diagnostics? *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 2009;681(2):189-196.
- Hone SW, Smith RJH. Genetic screening for hearing loss. *Clinical Otolaryngology & Allied Sciences*. 2003;28(4):285-290.
- Smith RJH, Robin NH. Genetic testing for deafness GJB2 and SLC26A4 as causes of deafness. *Journal of Communication Disorders*. 2002;35(4):367-377.
- Tabatabaiefar MA, Alasti F, Zohour MM, et al. Genetic linkage analysis of 15 DFNB loci in a group of Iranian families with autosomal recessive hearing loss. *Iranian Journal of Public Health*. 2011;40(2):34-48.
- Zhao H, Pfeiffer R, Gail MH. Haplotype analysis in population genetics and association studies. *Pharmacogenomics*. 2003;4(2):171-178.
- Rabionet R, Zelante L, Lopez-Bigas N, et al. Molecular basis of childhood deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene. *Human Genetics*. 2000;106(1):40-44.
- Yazdanpanahi N, Chaleshtori MH, Tabatabaiefar MA, et al. Two novel SLC26A4 mutations in Iranian families with autosomal recessive hearing loss. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2012;76(6):845-850.
- Gibbs RA, Belmont JW, Hardenbol P, et al. The international HapMap project. *Nature*. 2003;426(6968):789-796.
- Elahi E, Kumm J, Ronaghi M. Global genetic analysis. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 2004;37(1):11-27.
- Hildebrand CE, David C, Torney WRP, Wagner P. Informativeness of polymorphic DNA markers. *Los Alamos Science*. 1992;20(20):100-102.
- Mammalian Genotyping Service [database on the Internet]. [cited. Available from: <http://research.marshfieldclinic.org/genetics/home/index.asp>]
- Genethon Center [database on the Internet]. [cited. Available from: <http://www.genethon.fr/>]
- UniSTS Database [database on the Internet]. [cited. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/unists/>]



16. Raymond M, Rousset F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*. 1995;86(3):248-249.
17. Weir BS. *Genetic data analysis II: methods for discrete population genetic data*. Sinauer associates, Inc; 1996.
18. Engels WR. Exact tests for Hardy-Weinberg proportions. *Genetics*. 2009;183(76):1431-1441.
19. Park SDE. Trypanotolerance in West African cattle and the population genetic effects of selection. Ph D thesis, University of Dublin. 2001.
20. Guo SW, Thompson EA. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*. 1992;48(2):361-372.

Archive of SID