مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و نهم/شماره ۱۳۹/هفته سوم تیر ماه ۱۳۹۰

مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۰/۲/۲۷

موتاسیون ژن Dual Oxidase 2 در بیماران مبتلا به کم‌کاری مادرزادی تیروئید دایمی و گذرا

دکتر نوشین رستم‌پور[۱]، محمد حسن تاج‌الدینی[۲]، دکتر مهین هاشمی‌پور[۳]، دکتر منصور صالحی[۴]، دکتر آوات فیضی[۵]، دکتر شقایق حق‌جوی جوانمرد[۶]، دکتر رویا کلیشادی[۷]، دکتر حسین صانعیان[۸]، دکتر سیلوا هوسپیان[۹]، دکتر مسعود امینی[۱۰]

خلاصه

مقدمه: با در نظر گرفتن شیوع بالای کم کاری مادرزادی در ایران و متفاوت بودن اتیولوژی بیماری در مقایسه با سایر جوامع، فراوانی بالای ازدواج‌های فامیلی و نقش ژن Dual Oxidase 2 (DUOX) در بروز کم‌کاری مادرزادی گذرای تیروئید و کم‌کاری مادرزادی دایمی تیروئید با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز، این مطالعه برای بررسی موتاسیون‌های ژن DUOX2 در بیماران مبتلا به کم‌کاری مادرزادی تیروئید دایمی با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز و گذرا، در شهر اصفهان انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی آینده‌نگر، کودکان مبتلا به کم‌کاری مادرزادی گذرا و یا کم‌کاری مادرزادی دایمی تیروئید با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز طی طرح غربالگری انتخاب و نمونه‌ی خون وریدی به منظور بررسی موتاسیون سه ژن Q36H، R376W، D506N و DUOX2 با استفاده از تکنیک Real-time polymerase chain reaction high resolution melt یا Real-time PCR HRM با پرایمرهای اختصاصی و آزمایشات مولکولی تکمیلی نظیر Sequencing مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته‌ها: در این مطالعه به ترتیب ۲۵ و ۳۳ کودک مبتلا به کم‌کاری مادرزادی گذرا یا دایمی تیروئید با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز و ۳۰ کودک به عنوان گروه شاهد مورد مطالعه قرار گرفتند. در بررسی سیتوژنتیکی بیماران از لحاظ دارا بودن سه موتاسیون Q36H، R376W و D506N هیچ موردی از موتاسیون گزارش نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های حاصل از این پژوهش به نظر می‌رسد مطالعات دیگری با استفاده از سایر روش‌های بررسی ژنی و نیز بررسی موتاسیون‌های سایر ژن‌های دخیل در اتیولوژی کم‌کاری مادرزادی گذرا و دیس‌هورمونوژنز تیروئید شامل ژن‌های کانال غشایی سدیم ید، تیروگلوبولین و پندرین ضروری باشد، تا بتوان بدین طریق به اساس ژنتیکی این بیماری شایع در منطقه پی برد.

واژگان کلیدی: کم‌کاری مادرزادی تیروئید، ژن Dual Oxidase 2.

Archive of SID

---

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی فوق تخصصی در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

[۱] دستیار فوق تخصصی غدد و متابولیسم، گروه کودکان، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات دارویی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۳] استاد، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، مرکز تحقیقات ارتقای سلامت کودکان، گروه کودکان، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۴] دانشیار، گروه ژنتیک و بیولوژی ملکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۵] استادیار، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۶] استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۷] استاد، مرکز تحقیقات ارتقای سلامت کودکان، گروه کودکان، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۸] استادیار، گروه کودکان، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۹] پزشک عمومی، پژوهشگر، مرکز تحقیقات ارتقای سلامت کودکان، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۱۰] استاد، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
نویسنده‌ی مسؤول: محمد حسن تاج الدینی
Email: tajaddini@pharm.mui.ac.ir

www.SID.ir

مقدمه

کم کاری مادرزادی تیرویید (CH یا Congenital hypothyroidism)، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های اندوکرین و متابولیک کودکان و از علل قابل پیش‌گیری عقب ماندگی ذهنی می‌باشد (۲-۱). میزان بروز این بیماری در جوامع مختلف متفاوت است ولی به طور متوسط ۱ مورد در هر ۳۰۰۰ تا ۴۰۰۰ تولد گزارش می‌شود (۳).

CH می‌تواند به دو صورت دایمی و گذرا وجود داشته باشد. در موارد دایمی نیاز به درمان به صورت مادام العمر می‌باشد در حالی که در نوع گذرا جهت جلوگیری از اثرات کمبود هورمون بر رشد و تکامل مغز حداکثر تا ۳ سالگی دارو به بیمار داده می‌شود. CH دایمی می‌تواند به علت اختلالات تکاملی غده‌ی تیرویید (آژنزی، اکتوپی، هیپوپلازی) باشد که در حدود ۸۵ درصد موارد CH را تشکیل می‌دهد و تحت عنوان دیسژنزی نامیده می‌شود. علل ایجاد دیسژنزی به طور کامل مشخص نیست ولی به نظر می‌رسد عوامل مولتی فاکتوریال نظیر عوامل محیطی و مداخلات پیچیده‌ی ژنی در بروز آن مؤثر باشد (۴). ۱۵ درصد موارد CH به علت دیس‌هورمونوژنز است که حاصل نقص در تولید هورمون یا نقص در فعالیت و عملکرد گیرنده‌ی هورمون تیرویید می‌باشد (۴).

CH گذرا می‌تواند به علت مواردی نظیر کمبود ید، در معرض ید قرار گرفتن مادر یا نوزاد، درمان‌های ضد تیرویید مادر، تیروییدیت اتوایمیون مزمن مادر، وجود آنتی‌بادی‌های بلوکه کننده‌ی گیرنده‌های TSH با منشأ مادری و استفاده‌ی روتین از محلول‌های ضد عفونی یددار حاصل شود (۴).

بر اساس مطالعات مولکولی انجام شده در این زمینه، نقص در ژن‌های مسؤول سنتز هورمون تیرویید یعنی ژن‌های تیرویید پراکسیداز (Thyroid peroxidase یا TPO)، تیروگلوبولین (Thymoglobulin یا TG)، ناقل سدیم و ید (Sodium iodide symporter یا NIS)، پندرین (Pendred syndrome یا PDS) و تیروئید اکسیداز ۲، ($THOX_2$)، که به تازگی شناسایی شده است، باعث CH خفیف دایم با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز می‌شوند (۸-۵). از طرفی بر اساس مطالعه‌ی Nose و همکاران ژن‌های مسؤول ایجاد CH گذرا می‌توانند CH خفیف دایم با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز ایجاد نمایند (۹).

ژن $THOX_2$، تحت عنوان ژن Dual Oxidase 2 یا DUOX2 نیز شناخته شده است. این ژن بر روی کروموزوم ۱۵ قرار گرفته و دارای ۳۳ اگزون کد کننده‌ی mRNA می‌باشد. این ژن به عنوان سیستم تولید کننده‌ی H_2O_2 طی روند تولید هورمون تیرویید شناخته شده است (۱۱-۱۰). بر اساس مطالعات انجام شده در این زمینه نقص در سیستم تولید کننده‌ی H_2O_2 باعث بروز CH می‌شود (۱۴-۱۲). بدین ترتیب نقص در ژن DUOX2 باعث عدم تولید H_2O_2 می‌شود. بنابراین این پروتئین و فعالیت ژن مربوطه برای سنتز هورمون تیرویید ضروری می‌باشد؛ چرا که TPO برای عمل کردن به عنوان کاتالیزور برای سنتز هورمون Iodide organification, coupling نیاز به H_2O_2 دارد.

مطالعات انجام شده در این زمینه گویای آن است که نقص یا موتاسیون‌های هتروژن ژن DUOX2 باعث نقص نسبی در ارگانیفیکاسیون ید شده و منجر به بروز نوع خفیف CH گذرا می‌گردد. در حالی که موتاسیون‌های هورموژن ژنDUOX2 باعث نقص کامل در ارگانیفیکاسیون ید شده و منجر به بروز نوع شدید و

Archive of SID
www.SID.ir

دایمی CH می گردد (۱۵). بااین وجود یافته های برخی مطالعات جدید، وجود موتاسیون‌های هورموژن ژن DUOX2 را در CH گذرا نیز گزارش نموده‌اند (۱۶). بر اساس این مطالعات این موتاسیون‌ها در موارد فامیلی نیز گزارش شده‌اند (۱۵).

لذا با در نظر گرفتن شیوع بالای CH در جامعه، متفاوت بودن اتیولوژی بیماری در مقایسه با سایر جوامع (فراوانی موارد CH گذرای و دایمی با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز) و نیز فراوانی بالای ازدواج‌های فامیلی در جامعه (۱۸-۱۷) و نیز با توجه به نقش ژن DUOX2 در بروز CH گذرای و دائمی با اتیولوژی دیس هورمونوژنز، هدف از این مطالعه بررسی موتاسیون‌های ژنDUOX2 در بیماران مبتلا به CH با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز در شهر اصفهان بود، چه بسا با تعیین اساس مولکولی این بیماری دستیابی به پاتوفیزیولوژی بیماری هموارتر شود.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی توصیفی آینده‌نگر، بر اساس نتایج مربوط به غربالگری نوزادان از سال ۱۳۸۱ تاکنون، بیماران مبتلا به CH که تحت درمان و پی‌گیری در مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم بودند و پس از طی دوران سه ساله‌ی ابتدایی درمان تحت بررسی قرار گرفت و تشخیص CH گذرا یا دایمی با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنزیس برای آن‌ها گذاشته شده بود (۱۷)، مورد مطالعه قرار گرفتند. یک گروه از کودکان با نتایج غربالگری طبیعی نیز به عنوان گروه شاهد فراخوان شدند.

طی طرح غربالگری CH پس از سه سال درمان و پی‌گیری، برای تشخیص CH گذرا یا دایمی، درمان کودک مبتلا به مدت ۴ تا ۶ هفته قطع شد و غلظت سرمی T4 و هورمون محرک تیروییید (TSH یا Thyroid stimulating hormone) اندازه‌گیری می‌شود. به علاوه سونوگرافی و یا اسکن تیروئید نیز انجام می‌شود. بر اساس نتایج حاصل از آزمایشات بیوشیمیایی و بررسی‌های رادیولوژیک موارد CH دایمی و گذرا مشخص می‌گردند. در صورت آزمایش غیر طبیعی و سونوگرافی یا اسکن طبیعی کودک تحت عنوان دیس‌هورمونوژنز و در صورت آزمایش طبیعی و سونوگرافی یا اسکن طبیعی تحت عنوان CH گذرا تلقی و مورد بررسی ژنتیک قرار خواهند گرفت.

این مطالعه توسط کمیته‌ی اخلاق و معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأیید و تصویب گردید. پس از انتخاب افراد مورد مطالعه و فراخوان آن‌ها به مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، والدین کودکان مورد مطالعه در مورد مراحل مطالعه و اهداف آن و اهمیت طرح توجیه شده، رضایت کتبی جهت مشارکت در طرح از آن‌ها کسب شد.

طی این طرح، پس از گرفتن شرح حال دقیق و تکمیل پرسش‌نامه‌ی مربوطه که شامل اطلاعات دموگرافیک و نیز اطلاعات مربوط به یافته‌های غربالگری (مقادیر T4 و TSH اولیه [غربالگری] و مقادیر T4 و TSH پس از قطع درمان در سه سالگی) بود، تکمیل شد. سپس کودکان مورد مطالعه، توسط پزشک عمومی همکار طرح معاینه شدند و پس از آن نمونه‌ی خون وریدی کوبیتال، از کودکان مبتلا جمع‌آوری و به آزمایشگاه ژنتیک ارسال شد.

در آزمایشگاه ژنتیک بررسی سیتوژنتیکی بیماران، استخراج DNA نمونه‌های دریافت شده، تهیه‌ی بانک DNA از بیماران، طراحی پرایمر و استفاده‌ی از تکنیک Real-time polymerase chain reaction high Resolution melt یا Real-time PCR HRM برای شناسایی جهش‌ها، تعیین توالی و تشخیص و تفسیر

Archive of SID
www.SID.ir

جهش‌های احتمالی؛ انجام شد. طی این مطالعه سه موتاسیون Q36H، R376W و D506N مورد بررسی قرار گرفتند.

اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون‌های آماری χ^2، لاندا، فی، کرامر و ضریب همبستگی Pearson مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه به ترتیب ۲۵ و ۳۳ کودک مبتلا به CH گذرا و دایمی با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز و ۳۰ کودک به عنوان گروه شاهد مورد مطالعه قرار گرفتند.

اطلاعات دموگرافیک افراد مورد مطالعه در سه گروه در جدول ۱ ارائه گردیده است.

بحث

در این مطالعه همگام با سایر بررسی‌های اتیولوژیک طی طرح غربالگری CH، نقش سه موتاسیون Q36H، R376W و D506N ژن DUOX2 در CH گذرا و دایمی با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز بررسی گردید. بر اساس یافته‌های این مطالعه هیچ موردی از موتاسیون مذکور در دو گروه مورد مطالعه گزارش نشد.

مطالعات انجام شده در کودکان مبتلا به کم کاری CH و نیز بر روی حیوانات نقش اساسی ژن DUOX2 را در سنتز هورمون تیروئید نشان داده‌اند (۱۹). نتایج اغلب مطالعات گویای آن است که موتاسیون‌های ژن DUOX2 در نوع دایمی از نوع هموژن و در نوع گذرا از نوع هتروژن می‌باشد، گرچه مواردی از موتاسیون‌های هموژن نیز در انواع گذرای بیماری گزارش شده است (۱۶-۱۵). تاکنون ۲۰ موتاسیون ژن DUOX2 شناخته شده است که شامل ۸ موتاسیون شبه پراکسیدازی خارج سلولی (Extracellular peroxidase-like domain)، ۱۱ جهش در حلقه‌ی اول بلند (First long intracellular loop) و یک جهش در حلقه‌ی دوم داخل سلولی (Second intracellular loop) می‌باشد. نوع موتاسیون‌های گزارش شده شامل ۸ موتاسیون Missense، ۶ موتاسیون Nonsense، ۵ موتاسیون Frame shift و ۱ موتاسیون Splice-site می‌باشند. کلیه‌ی موتاسیون‌های مذکور در طی غربالگری CH کشف شدند (۲۰).

جدول ۱. اطلاعات دموگرافیک و غلظت هورمون‌های مورد مطالعه در کودکان مبتلا به کم‌کاری مادرزادی گذرا و دایمی تیروئید با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز و گروه شاهد

	CH گذرا	CH با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز	کودکان سالم
سن (ماه)	۶۸/۲ ± ۲۵/۵	۶۴/۶ ± ۲۳/۷	۶۹/۳ ± ۲۷/۲
جنس (پسر/ دختر)	۱۸/۷	۱۵/۱۸	۱۹/۱۱
سابقه‌ی ازدواج فامیلی	۶۹	۶۲	۳۹
TSH (میلی‌واحد در لیتر)			
اولیه	۲۵/۵ ± ۱۹/۷	۴۷/۳ ± ۴۶/۱	۴/۵ ± ۲/۷
پس از قطع درمان	۳/۹ ± ۲/۰	۳۶/۵ ± ۳۰/۷	
T4 (میکروگرم در دسی‌لیتر)			
اولیه	۵/۷ ± ۳/۵	۶/۲ ± ۳/۵	۱۱/۶ ± ۳/۹
پس از قطع درمان	۸/۱ ± ۱/۹	۷/۱ ± ۲/۹	

CH: Congenital hypothyroidism

Archive of SID
www.SID.ir

فنوتیپ‌های بالینی موتاسیون ژن DUOX2 حتی در انواع مشخص آن در افراد مختلف متفاوت است و بر اساس مطالعه Vigone و همکاران ذخیره‌ی ید بدن می‌تواند باعث تغییر در فنوتیپ‌ها شود و عوامل محیطی نظیر دریافت ید در بروز انواع فنوتیپ‌ها نقش دارند (۲۱).

Grasberger و همکاران، در یک مطالعه‌ی کاربردی، سه موتاسیون Missense در حوزه‌ی شبه پراکسیدازی (Q36H، R376W و D506N) از ژن DUOX2 را در سلول‌های Cos-7 بررسی کردند. موتاسیون‌های Q36H و R376W انتقال DUOX را از شبکه‌ی اندوپلاسمی به غشای پلاسمایی متوقف می‌نمایند. در حالی که موتاسیون D506N انتقال داخل غشایی DUOX را کاهش می‌دهد. این جهش‌ها در شبکه‌ی اندوپلاسمی ذخیره می‌شوند. محققین در این مطالعه به این نتیجه رسیدند که پردازش Post-transitional حوزه‌ی شبه پراکسیدازی نقش مهمی در خروج DUOX2 از شبکه‌ی اندوپلاسمی و در نتیجه در تولید هورمون تیرویید دارند (۲۲).

موتاسیون‌های مذکور هر کدام پیش از این در مطالعات متفاوتی طی غربالگری CH کشف شدند. موتاسیون R376W توسط Vigone و همکاران (۲۱)، موتاسیون Q36H توسط Varela و همکاران (۲۳) و موتاسیون D506N توسط Pfarr و همکاران (۲۴) گزارش شد.

در مطالعه‌ی ما هیچ موردی از موتاسیون‌های فوق در دو گروه از کودکان مبتلا به CH گذرا و دایمی با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز گزارش نگردید. علت این یافته‌ها را می‌توان این گونه توضیح داد که به نظر می‌رسد مهم‌ترین دلیل تفاوت مذکور تفاوت‌های نژادی افراد مورد مطالعه است که در مطالعات پیشین نیز به آن اشاره شده است (۲۵). شاید جهش در سایر ژن‌های دخیل در CH گذرا و دیس‌هورمونوژنز شامل ژن‌های کانال غشایی سدیم ید، تیروگلوبولین و پندرین در بروز بیماری در جمعیت مورد مطالعه‌ی ما نقش داشتند که نیازمند بررسی‌های بیشتری است.

از طرفی، اگر چه مطالعات قبلی به نقش عوامل محیطی نظیر ذخیره‌ی ید در بروز فنوتیپ‌های مختلف موتاسیون‌های DUOX2 اشاره نمودند ولی به نظر می‌رسد این فاکتورها در بروز موتاسیون‌ها نیز نقش داشته باشند که نیازمند بررسی‌های بیشتری است.

افزون بر موارد ذکر شده برخی عوامل مربوط به روش بررسی موتاسیون‌ها نیز می‌توانند در نتایج حاصل نقش داشته باشند.

تعداد افراد بررسی شده در این مطالعه در مقایسه‌ی با سایر مطالعات همانند و یا حتی بیشتر بود. بنابراین کمبود حجم نمونه نمی‌تواند دلیل یافته‌های کنونی باشد.

در این تحقیق جهش ژنی در نواحی اگزونی ژن DUOX2 بررسی گردید. در حالی که بر اساس برخی مطالعات احتمال وجود جهش در ناحیه‌ی اینترونی و تنظیمی ژن مذکور می‌تواند وجود داشته باشد که نیازمند بررسی است (۲۶).

با توجه به یافته‌های حاصل از این پژوهش به نظر می‌رسد مطالعات دیگری با استفاده از سایر روش‌های بررسی ژنی و نیز بررسی موتاسیون‌های سایر ژن‌های دخیل در اتیولوژی CH گذرا و دیس‌هورمونوژنز تیروئید ژن‌های کانال غشایی سدیم ید، تیروگلوبولین و پندرین ضروری باشد تا بتوان بدین طریق به اساس ژنتیکی این بیماری شایع در منطقه پی برد.

Archive of SID
www.SID.ir

References

1. Knobel M, Medeiros-Neto G. An outline of inherited disorders of the thyroid hormone generating system. Thyroid 2003; 13(8): 771-801.
2. Grant DB, Smith I, Fuggle PW, Tokar S, Chapple J. Congenital hypothyroidism detected by neonatal screening: relationship between biochemical severity and early clinical features. Arch Dis Child 1992; 67(1): 87-90.
3. Castanet M, Polak M, Bonaiti-Pellie C, Lyonnet S, Czernichow P, Leger J. Nineteen years of national screening for congenital hypothyroidism: familial cases with thyroid dysgenesis suggest the involvement of genetic factors. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86(5): 2009-14.
4. Park SM, Chatterjee VK. Genetics of congenital hypothyroidism. J Med Genet 2005; 42(5): 379-89.
5. Abramowicz MJ, Targovnik HM, Varela V, Cochaux P, Krawiec L, Pisarev MA, et al. Identification of a mutation in the coding sequence of the human thyroid peroxidase gene causing congenital goiter. J Clin Invest 1992; 90(4): 1200-4.
6. Ieiri T, Cochaux P, Targovnik HM, Suzuki M, Shimoda S, Perret J, et al. A 3' splice site mutation in the thyroglobulin gene responsible for congenital goiter with hypothyroidism. J Clin Invest 1991; 88(6): 1901-5.
7. Fujiwara H, Tatsumi K, Miki K, Harada T, Miyai K, Takai S, et al. Congenital hypothyroidism caused by a mutation in the Na+/I- symporter. Nat Genet 1997; 16(2): 124-5.
8. Everett LA, Glaser B, Beck JC, Idol JR, Buchs A, Heyman M, et al. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). Nat Genet 1997; 17(4): 411-22.
9. Nose O, Harada T, Miyai K, Hata N, Ogawa M, Maki I, et al. Transient neonatal hypothyroidism probably related to immaturity of thyroidal iodine organification. J Pediatr 1986; 108(4): 573-6.
10. Dupuy C, Ohayon R, Valent A, Noel-Hudson MS, Deme D, Virion A. Purification of a novel flavoprotein involved in the thyroid NADPH oxidase. Cloning of the porcine and human cdnas. J Biol Chem 1999; 274(52): 37265-9.
11. De D, X, Wang D, Many MC, Costagliola S, Libert F, Vassart G, et al. Cloning of two human thyroid cDNAs encoding new members of the NADPH oxidase family. J Biol Chem 2000; 275(30): 23227-33.
12. Kusakabe T. Deficient cytochrome b5 reductase activity in nontoxic goiter with iodide organification defect. Metabolism 1975; 24(10): 1103-13.
13. Niepomniszcze H, Targovnik HM, Gluzman BE, Curutchet P. Abnormal H_2O_2 supply in the thyroid of a patient with goiter and iodine organification defect. J Clin Endocrinol Metab 1987; 65(2): 344-8.
14. Figueiredo MD, Cardoso LC, Ferreira AC, Campos DV, Da Cruz DM, Corbo R, et al. Goiter and hypothyroidism in two siblings due to impaired Ca(+2)/NAD(P)H-dependent H(2)O(2)-generating activity. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86(10): 4843-8.
15. Moreno JC, Bikker H, Kempers MJ, Van Trotsenburg AS, Baas F, De Vijlder JJ, et al. Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism. N Engl J Med 2002; 347(2): 95-102.
16. Maruo Y, Takahashi H, Soeda I, Nishikura N, Matsui K, Ota Y, et al. Transient congenital hypothyroidism caused by biallelic mutations of the dual oxidase 2 gene in Japanese patients detected by a neonatal screening program. J Clin Endocrinol Metab 2008; 93(11): 4261-7.
17. Hashemipour M, Hovsepian S, Kelishadi R, Iranpour R, Hadian R, Haghighi S, et al. Permanent and transient congenital hypothyroidism in Isfahan-Iran. J Med Screen 2009; 16(1): 11-6.
18. Hashemipour M, Amini M, Talaie M, Kelishadi R, Hovespian S, Iranpour R, et al. Parental consanguinity among parents of neonates with congenital hypothyroidism in Isfahan. East Mediterr Health J 2007; 13(3): 567-74.
19. Johnson KR, Marden CC, Ward-Bailey P, Gagnon LH, Bronson RT, Donahue LR. Congenital hypothyroidism, dwarfism, and hearing impairment caused by a missense mutation in the mouse dual oxidase 2 gene, Duox2. Mol Endocrinol 2007; 21(7): 1593-602.
20. Ohye H, Sugawara M. Dual oxidase, hydrogen peroxide and thyroid diseases. Exp Biol Med (Maywood) 2010; 235(4): 424-33.
21. Vigone MC, Fugazzola L, Zamproni I, Passoni A, Di Candia S, Chiumello G, et al. Persistent mild hypothyroidism associated with novel sequence variants of the DUOX2 gene in two siblings. Hum Mutat 2005; 26(4): 395.
22. Grasberger H, De D, X, Miot F, Pohlenz J, Refetoff S. Missense mutations of dual oxidase 2 (DUOX2) implicated in congenital hypothyroidism have impaired trafficking in cells reconstituted with DUOX2 maturation factor. Mol Endocrinol 2007; 21(6): 1408-21.

Archive of SID

www.SID.ir

23. Varela V, Rivolta CM, Esperante SA, Gruneiro-Papendieck L, Chiesa A, Targovnik HM. Three mutations (p.Q36H, p.G418fsX482, and g.IVS19-2A>C) in the dual oxidase 2 gene responsible for congenital goiter and iodide organification defect. Clin Chem 2006; 52(2): 182-91.

24. Pfarr N, Korsch E, Kaspers S, Herbst A, Stach A, Zimmer C, et al. Congenital hypothyroidism caused by new mutations in the thyroid oxidase 2 (THOX2) gene. Clin Endocrinol (Oxf) 2006; 65(6): 810-5.

25. Tonacchera M, De Marco G, Agretti P, Montanelli L, Di Cosmo C, Freitas Ferreira AC, et al. Identification and functional studies of two new dual-oxidase 2 (DUOX2) mutations in a child with congenital hypothyroidism and a eutopic normal-size thyroid gland. J Clin Endocrinol Metab 2009; 94(11): 4309-14.

26. Niu DM, Hwang B, Chu YK, Liao CJ, Wang PL, Lin CY. High prevalence of a novel mutation (2268 insT) of the thyroid peroxidase gene in Taiwanese patients with total iodide organification defect, and evidence for a founder effect. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87(9): 4208-12.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29. No 139. 3rd week. Julv 2011 Received: 1.2.2011 Accepted: 17.6.2011

The Mutation of Dual Oxidase 2 (DUOX2) Gene among Patients with Permanent and Transient Congenital Hypothyroidism

Nooshin Rostampour MD[1], Mohamadhasan Tajaddini[2], Mahin Hashemipour MD[3], Mansour Salehi PhD[4], Avat Feizi PhD[5], Shaghayegh Haghjooy Javanmard MD, PhD[6], Roya Kelishadi MD[7], Hosein Saneian MD[8], Silva Hovsepian MD[9], Massoud Amini MD[10]

Abstract

Background: Considering the high prevalence of congenital hypothyroidism (CH) in Isfahan and its different etiologies comparing with other countries, the high rate of parental consanguinity and the role of DUOX2 gene in transient CH and permanent CH due to dyshormonogenesis, the aim of this research was to investigate the mutations of DUOX2 gene in patients with transient or permanent CH due to dyshormonogenesis.

Methods: In this descriptive prospective study, patients diagnosed with transient CH and permanent CH due to dyshormonogenesis during CH screening program, were selected. Venous blood sample was obtained to determine the 3 mutations Q36H, R376W, D506N of DUOX2 gene using Real-time PCR HRM method by specific primers and complementary molecular methods such as Sequencing.

Findings: In this study 25 and 33 CH patients with transient CH and permanent CH due to dyshormonogenesis were studied respectively. 30 children studied as control group. We did not find any mutation of the mentioned three mutations of DUOX2 gene.

Conclusion: Considering the findings of current study, it seems that further studies with other methods and also with considering other gene mutations such as pendrin, NIS and thyroglobulin is needed for more accurate conclusion.

Keywords: Congenital Hypothyroidism, Dual Oxidase 2 (DUOX2) gene.

Archive of SID

* This paper derived from a specialty thesis in Isfahan University of Medical Sciences.

[1] Resident of Pediatrics Endocrinology, Department of Pediatrics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[2] MSc Student, Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Isfahan Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[3] Professor, Endocrine and Metabolism Research Center, Child Health Promotion Research Center, Department of Pediatrics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[4] Assosiate Professor, Department. of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[5] Assistant Professor, Department of Epidemiology and biostatics, School of Public Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[6] Assistant Professor, Applied Physiology Research Center and Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[7] Professor, Department of Pediatrics, Child Health Promotion Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[8] Assistant Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[9] General Practitioner, Research Assistant, Child Health Promotion Research Center, Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[10] Professor, Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Corresponding Author: Mohamadhasan Tajaddini, Email: tajaddini@pharm.mui.ac.ir

www.SID.ir