مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۴، شماره ۳/ مرداد و شهریور ۱۳۹۱/ ۳۹-۳۰

مقاله پژوهشی

مطالعه سه جهش معمول میتوکندریایی در ناشنوایان غیر سندرومیک عرب استان خوزستان

گل اندام بنی طالبی دهکردی[۱]، مصطفی منتظر ظهوری[۲]، عفت فرخی[۱]، مرضیه ابوالحسنی[۱]، سمیه رئیسی[۳]، ثریا حیدری[٤]، زهره عطایی[۱]، فاطمه آزادگان[۱]، دکتر اعظم حسینی پور[٥]، دکتر سید حسین ماجد[۱]، دکتر مرتضی هاشم زاده چالشتری[۱]*

[۱]مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۲]مرکز تحقیقات ژنتیک بیماریهای غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران؛ [۳]گروه سلولی و مولکولی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران؛ [٤]گروه ژنتیک، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [٥]سازمان آموزش پرورش استثنایی کشور، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۰/٦/۲۵ اصلاح نهایی: ۹۰/۱۱/۳ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۹

چکیده:

زمینه و هدف: **ناشنوایی یکی از شایع ترین اختلالات حسی –عصبی است که در هر ۱۰۰۰ تولد زنده رخ می دهد. بیشتر ناشنوایی ها منشا ژنتیکی داشته و حدود ۲-۰٪ موارد ناشنوایی مربوط به جهش در ژن های میتوکندریایی است. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی سه جهش میتوکندریایی A1555G، A3243G وA7445G در ناشنوایان غیر سندرمیک استان خوزستان انجام شده است.**

روش بررسی: **در این مطالعه توصیفی ٦۲ دانش آموز ناشنوای غیر سندرومیک با الگوی اتوزومی مغلوب عرب استان خوزستان به روش آسان انتخاب شدند. DNA با روش استاندارد فنل کلروفرم استخراج و جهش های احتمالی در سه ژن میتوکندریایی شامل A1555G، G3243A وA7445G با روش چند شکلی طول قطعه محدود (PCR-RFLP) غربالگری شد. در نهایت جهش های احتمالی به روش توالی یابی مستقیم مورد بررسی و تائید قرار گرفتند.**

یافته ها: **در این مطالعه هیچ یک از جهش های A1555G، A3243G وA7445G یافت نشد، با این حال دو جهش G3316A و A7445C در دو بیمار مورد مطالعه یافت شد.**

نتیجه گیری: **این مطالعه نشان می دهد که جهش های میتوکندریایی G3316A وA7445C مسئول تعداد کمی از ناشنوایی های قبل از زبان باز کردن در جمعیت استان خوزستان می باشند و جهش های A1555G، A3243G و A7445G در ایجاد ناشنوایی در این جمعیت نقشی نداشته اند. مطالعه ی حاضر خواهد توانست مشاوران ژنتیک در استان خوزستان را در برنامه مشاوره ژنتیک ناشنوایی خانواده ی بیماران ناشنوا یاری کند.**

واژه های کلیدی: استان خوزستان، جهش، میتوکندریایی، ناشنوایی، چند شکلی طول قطعه محدود.

مقدمه:

ناشنوایی یکی از شایع ترین و متداول ترین اختلالات حسی-عصبی است. این اختلال شایع با فراوانی ۱ در ۱۰۰۰ تولد زنده رخ می دهد (۱). ناشنوایی به دو فرم سندرمی و غیر سندرمی طبقه بندی شده است.

تاکنون حدود ۳۵۰۰۰-۲۵۰۰۰ ژن هسته ای و ۳۷ ژن میتوکندریایی در انسان شناسایی شده است که حدود ۱ درصد از کل این ژن ها علت ناشنوایی های ارثی سندرمی و غیر سندرمی هستند (۳،۲).

ناشنوایی غیر سندرمی با توجه به سن شروع بیماری به دو دسته پیش کلامی (prelingual) و پس کلامی (postlingual) (۳) و با توجه به الگوی وراثتی

*نویسنده مسئول: شهرکرد-رحمتیه- دانشگاه علوم پزشکی- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی- تلفن: ۳۳٤٦٦۹۲- ۰۳۸۱، E-mail:mchalesh@yahoo.com

www.SID.ir

به چهار دسته: اتوزومی غالب (DFNA)، اتوزومی مغلوب (DFNB)، وابسته به X و میتوکندریایی تقسیم بندی می شود (۴).

در این میان ۸۰-۷۵ درصد از ناشنوایی های با علت ژنتیکی به صورت اتوزومی مغلوب ۲۰-۱۰ درصد به صورت اتوزومی غالب، ۵-۱ درصد وابسته به X و ۲-۰ درصد با علت میتوکندریایی می باشند (۶،۵).

در جمعیت های مختلف جهش های متفاوتی عامل ناشنوایی با پیش زمینه ژنتیک می باشد، مثلاً در ایران بر اساس مطالعات انجام شده جهش های ژنی GJB2 مسئول ۱۴/۶ درصد از ناشنوایی های غیر سندرمی با الگوی وراثتی مغلوب می با شد (۷).

کانکسین 26 (connexin 26) اولین جایگاه ژنی شناخته شده مسئول ناشنوایی غیر سندرمی می باشد. ژن کانکسین 26 در این جایگاه ژنی قرار گرفته است که پروتئین کانکسین 26 را کد می کند. جهش 35delG در کانکسین 26 مسئول نیمی از ناشنوایی های مادر زادی در جمعیت های جهان می باشد (۸).

ناشنوایی غیر سندرمیک می تواند به علت جهش در ژن های هسته ای یا میتوکندریایی رخ دهد، شیوع جهش های میتوکندریایی مرتبط با ناشنوایی مشخص نیست اما به نظر می رسد در کمتر از ۱ درصد کودکان با ناشنوایی پیش از تکلم و همچنین حدود ۲۰ درصد در ناشنوایی پس از زبان باز کردن بروز کند که شیوع آن در سنین بالاتر بیشتر است (۱۰،۹،۱).

ژن های 12S ribosomal RNA (MTRNR1)، tRNASer(MTTS1)و tRNALeu (MTTL1) از جمله ژن هایی هستند که جهش های میتوکندریایی در آن ها رخ می دهد (۱۱).

جهش A1555G که در ژن MTRNR1 رخ می دهد اولین جهش میتوکندریایی همراه با ناشنوایی غیر سندرمی شناخته شده می باشد (۱۲).

جهش های 7472insC، T7511C و A7445G هم در ژن MTTS1 کد کننده tRNA Ser همراه با ناشنوایی حسی – عصبی مشخص شده است (۱۳).

جهش A7445G اولین بار در یک خانواده اسکاتلندی و سپس در خانواده های نیوزیلندی، ژاپنی، فرانسوی، اوکراینی، پرتغالی و مجارستانی گزارش شده است (۱۶،۱۵،۱۴).

در ژن MTTL1 کد کننده ی tRNALeu نیز سه جهش A3243G، T3271C و T4216C شناسایی شده که جهش A3243G در ۰/۳ درصد جمعیت ناشنوایان ژاپنی پیدا شده است. همچنین این جهش در ۴/۷۶ درصد افراد دیابت ملیتوس نیز مشاهده شده است (۱۳).

با توجه به نقش مهم میتوکندری در ایجاد ناشنوایی و عدم انجام چنین مطالعه ای در ایران، مطالعه ی حاضر با هدف غربالگری سه جهش میتوکندریایی A1555G ژن MTRNR1، A3243G ژن MTTL1 و A7445G ژن MTTS1 در بیماران نا شنوای عرب زبان استان خوزستان که بخشی از یک مطالعه وسیع کشوری می باشد انجام گرفته است.

روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی - آزمایشگاهی، تعداد ۶۲ دانش آموزان ناشنوای عرب تحت نظارت سازمان بهزیستی استان خوزستان با میانگین سنی ۱۵ سال شامل ۳۲ پسر و ۲۹ دختر با روش نمونه گیری آسان وارد مطالعه شدند. شرط ورود به این مطالعه داشتن ناشنوایی ژنتیکی غیر سندرمی با الگوی توارث اتوزومال مغلوب بود و افراد ناشنوای سندرمی و همچنین افراد مثبت از لحاظ جهش 35delG به دلیل فرکانس بالای این جهش در ایجاد ناشنوایی های غیر سندرمیک اتوزومال مغلوب، از این مطالعه حذف شدند.

پس از اخذ رضایت نامه کتبی از بیماران و والدین بیماران زیر ۱۸ سال، اطلاعات دموگرافی و بالینی آنها از طریق پرسشنامه جمع آوری و سپس از هر بیمار به میزان ۵ میلی لیتر خون جهت انجام

Archive of SID

www.SID.ir

آزمایشات مولکولی در لوله حاوی ضد انعقاد EDTA (۰/۵ مولار) گرفته و به مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد ارسال شد.

DNA نمونه های خون با روش استاندارد فنل -کلروفرم استخراج گردید و کمیت DNA حاصله با استفاده از اسپکتروفتومتر (Unico2100 USA) اندازه گیری شد (۱۷). سپس با استفاده از توالی ژن میتوکندریایی به رمز دسترسی (NC-012920) و نرم افزار Primer 3 توالی های آغازگر F و R برای تشخیص سه جهش این ژن طراحی و از شرکت ژن فن آوران ایران خریداری شد (جدول شماره ۱).

انجام PCR بر روی نمونه های DNA با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (ASTEC PC818-Japan) طبق شرایط دمایی زیر انجام شد: هر واکنش شامل ۳۲ سیکل حرارتی بود که در هر سیکل حرارت از ۹۴ °C به مدت ۴۰ ثانیه جهت واسرشته شدن رشته های DNA، اتصال پرایمرها به DNA هدف در ۶۰-۵۸ °C به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ °C جهت ساخت رشته های مکمل به مدت ۴۵ ثانیه استفاده شد (جدول شماره ۱). شرایط واکنش PCR برای سه جهش یکسان و شامل: 1µl از هر دو پرایمر (۱۰ Pm) 1µl از Taq DNA polymerase (5U/µl)، 0.5µl از dNTP mix (10mm)، 2.5µl از TaqDNAbuffer (10X)، 1.5µl از MgCl2 (50mm) و 1µl از DNA (80ng) که با dH2O به حجم 25µl رسانده شد.

جدول شماره ۱: توالی پرایمرها، دمای چسبیدن و اندازه محصولات PCR برای هر جفت پرایمر مورد استفاده در تشخیص جهش های میتوکندریایی.

نوع جهش	توالی پرایمر	دمای چسبیدن (°C)	اندازه قطعه ایجاد شده (bp)	آنزیم هضم کننده برای واکنش (10U/µl)	طول قطعات در نمونه نرمال (bp)	طول قطعات در نمونه جهش یافته (bp)
A1555G	F: 5́CACAAAATAGACTACGAAAGTGG3́ R: 5́ ACTTACCATGTTACGACTGG '3	۵۸	۵۶۷	Hae III	۴۶۵ ۱۱۱	۴۵۶ ۹۱ ۲۰
A3243G	F: 5́CCTCCCTGTACGAAAGGGAC'3́ R: 5́GCGATTAGAATGGGTACAATG3́	۶۰	۲۳۸	Hae III	۱۶۹ ۳۲ ۳۷	۹۷ ۷۲ ۳۲ ۳۷
A7445G	F: 5́GAGAAGCCTTCGCTTCGAAG' 3́ R:5́GAGGGCGTGATCATGAAAGGT'3́	۶۰	۳۴۹	XbaI	۲۲۹ ۱۲۰	۳۴۹

کلیه محصولات برای تائید نهایی روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد (نسبت 19:1 بیس اکریل آمید: اکریل آمید) به مدت یک ساعت با ولتاژ ۲۰۰V الکتروفورز شد و ژل بدست آمده توسط نیترات نقره رنگ آمیزی گردید.

به منظور بررسی جهش ها از روش PCR-RFLP استفاده شد، برای این منظور در هر میکروتیوب 10µl از محصولات PCR را با 1µl آنزیم محدود کنندهٔ مورد نظر (10U/µl) و 2µl بافر و 7µl آب مقطر مخلوط نموده و به مدت یک شبانه روز در ºC

Archive of SID

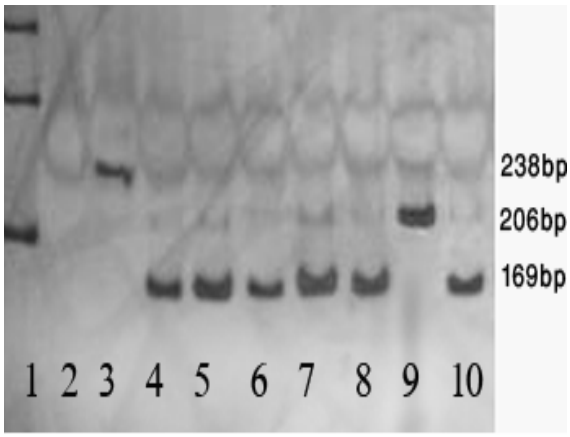
www.SID.ir

۳۷ قرار دادیم، سپس محصولات بدست آمده بر روی ژل ۱۲ درصد پلی آکریل آمید به مدت ۳ ساعت و با ولتاژ ۲۰۰V الکتروفورز گردیدند.

یافته ها:

نتایج حاصل از PCR-RFLP بر روی نمونه های بیماران جهت بررسی جهش A3243G نشان دهنده یک الگوی متفاوت از تغییر در ژن MTTL1 به صورت G3316A بود به این صورت که به واسطه تغییر نوکلئوتیدی در محل ۳۳۱۶ یکی از سایت های آنزیم در محصول PCR تخریب شده و قطعاتی به طول 206 bp و 32 bp ایجاد شد (تصویر شماره ۱).

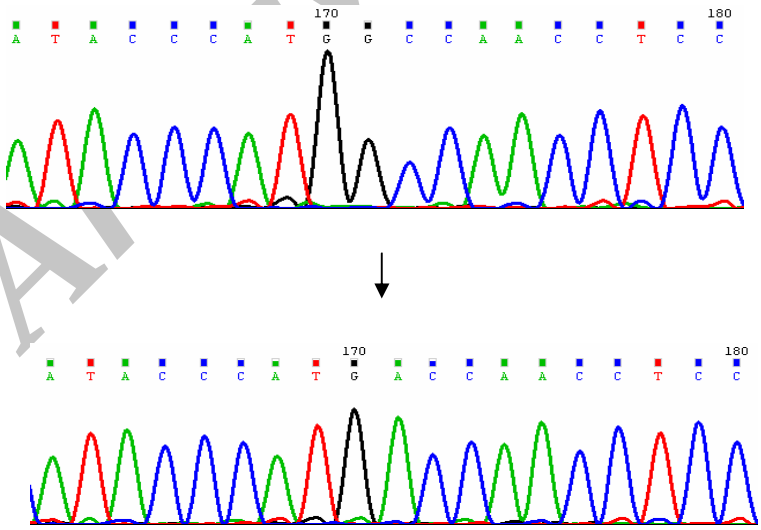
نتایج فوق با روش تعیین توالی مستقیم مورد بررسی و تایید قرار گرفت (تصویر شماره ۲).



تصویر شماره ۱: محصولات PCR-RFLP بر روی ژل پلی اکریل آمید ۱۲ درصد جهت بررسی جهش A3243G.

ستون ۱-مارکر، ستون ۲- کنترل منفی (بدون DNA)، ستون۳- کنترل مثبت (بدون آنزیم)، ستون ۸-٤ و ۱۰ نمونه های بیماران (فاقد جهش A3243G)، ستون ۹- واریانت G3316A (باند 32 bp از ژل خارج شده و مشاهده نمی شود).

الف)



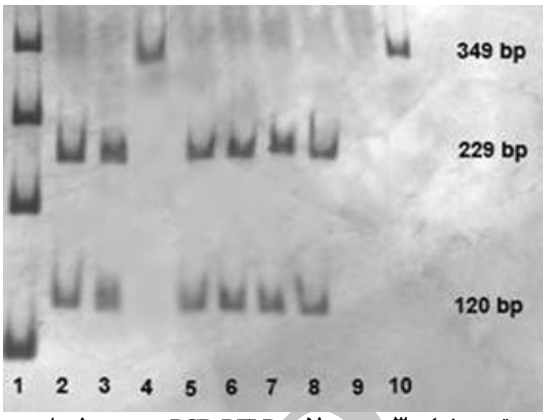
ب)

تصویر شماره ۲: کروماتوگرام ژن MTTL 1 کد کننده TRNAleu

الف : توالی نرمال.ب: توالی موتانت (G3316A).

Archive of SID

www.SID.ir



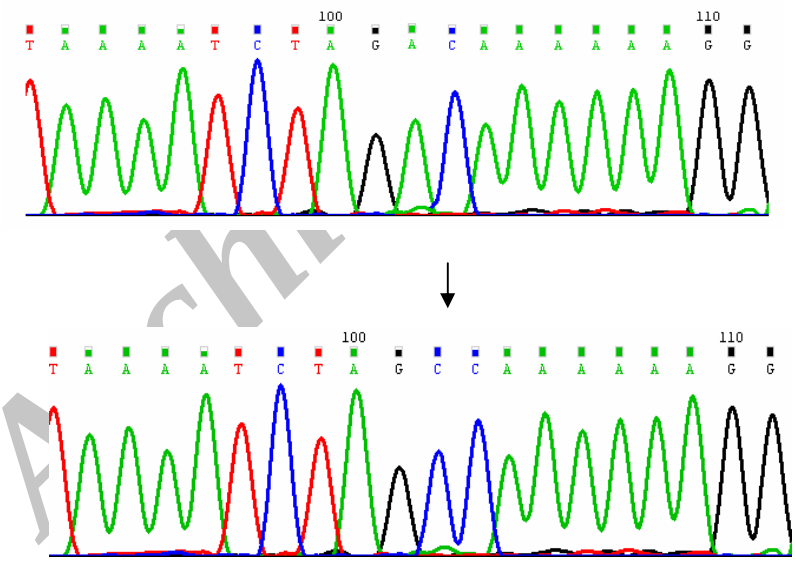
تصویر شماره ۳: محصولات PCR-RFLP بر روی ژل پلی اکریل آمید ۱۲ درصد جهت بررسی جهش A7445G

ستون ۱- مارکر، ستون ۸-۵، ۲،۳- نمونه های بیماران (فاقد جهش A7445G) سالم، ستون ۹- کنترل منفی (بدون DNA)، ستون ۱۰- کنترل مثبت (بدون آنزیم). ستون ٤- جهش A7445C

همچنین در بررسی جهش A7445G، در نتایج حاصل از PCR-RFLP یک جهش در همین موقعیت نوکلئوتیدی در جایگاه سایت آنزیم Xba1 مشاهده شدکه در اثر جهش الگوی باند به طول ۳۴۹bp در ژل مشاهده شد (تصویر شماره ۳) و برای تعیین دقیق نوع جهش توالی یابی مستقیم انجام شد و جهش به صورت A7445C مورد تائید قرار گرفت (تصویر شماره ۴).

در نمونه های مورد بررسی جهش A3243G و A1555G یافت نشد.

الف



ب

تصویر شماره ۴: کروموتوگرام ژن MTTS1 کد کننده tRNA Ser (UCN).

الف: توالی نرمال. ب: توالی موتانت (A7445C)

بحث:

این مطالعه با هدف بررسی ارتباط بین ناشنوایی و جهش در ژن های میتوکندریایی روی ۶۲ دانش آموز ناشنوا با قومیت عرب در استان خوزستان انجام گرفت.

نتایج حاصله شامل دو مورد واریانت آللی A3316G و A7445C (3.2%) در ژن tRNALeu (UUR) (MTTL 1) ودر ژن tRNA Ser (UCN) (MTTS1) بود.

تاکنون مطالعه ای در زمینه بررسی ارتباط بین جهش های میتوکندریایی و ناشنوایی در کشور صورت نگرفته اما بر اساس تحقیقات صورت گرفته در

Archive of SID

www.SID.ir

سایر نقاط دنیا ارتباط سه ژن میتوکندریایی با ناشنوایی مورد بررسی و تایید قرار گرفته که شامل موتاسیون A1555G در ژن MTRNA1 کد کننده 12SRNA، سه موتاسیون 7472insc, T7511C, A7445G در ژن MTTS1 کد کننده tRNA Ser (UCN) و سه موتاسیون A3243G، T3271C و T4216C در ژن tRNAleu (UUR) (MTTL1) می باشند (۱۶-۱۳).

جهش A1555G که در ژن MTRNR1 کد کننده 12S rRNA به همراه جهش 35delG ژن GJB2، احتمالاً شایع ترین جهش های ایجاد کننده ناشنوایی و همچنین این جهش شایع ترین جهش میتوکندریایی می باشد به گونه ای که در ۱-۰/۵ درصد نژاد قفقازی گزارش شده است، اگرچه با یک فرکانس بالاتری در جمعیت های اسپانیایی و آسیایی نیز دیده شده اند (۳۳-۱۸).

جهش A1555G برای اولین بار در جمعیتی از ناشنوایان غیر سندرمیک کره ای مورد بررسی قرار گرفت که طی آن ۲۲۷ بیمار غیر خویشاوند بررسی شدند و دو نفر با جهش A1555G شناسایی گردیدند (۳۴). در مطالعه ای دیگر بیماران با جهش A1555G ژن 12S rRNA میتوکندری یک خطر افزایش یافته از تکامل کری بعد از تیمار با آمینوگلیکوزید داشتند لیکن ناقلین جهش، ناشنوایی بدون در معرض دارو قرار گرفتن را نیز نشان دادند (۳۶،۳۵). در مطالعه ای دیگر جهش A1555G در ۲ درصد از بیماران با ناشنوایی پیش زبانی گزارش شد (۳۷). با وجود فرکانس بالای جهش A1555G در جمعیت های مختلف در مطالعه حاضر این جهش یافت نشد.

بر اساس مطالعات انجام گرفته در بیماران ژاپنی جهش A3243G در ژن tRNALeu (UUR) مشاهده شده است، جهش A3243G در ژن tRNAleu (UUR) (MTTL1) در ۴/۷۶ درصد افراد دیابت ملیتوس نیز مشاهده گردید (۱۷). در این مطالعه ما به واریانت متفاوتی برخورد کردیم که به صورت G3316A مورد تائید قرار گرفت. طبق مطالعات انجام شده تغییر G3316A همراه با تغییر آمینواسیدآلانین به ترئونین در بیماران دیابت ملیتوس گزارش شده، همچنین به نظر می رسد این واریانت در نوروپاتی ارثی عصب بینایی لبر (LHON) و هایپرتروفیک کاردیومیوپاتی نیز دخیل باشد، اما هنوز ارتباط آن با ناشنوایی مورد تائید قرار نگرفته و نیاز به مطالعات بیشتری دارد (۳۲،۳۱).

جهش A7445G در ژن MTTS1 کد کننده $tRNA^{Ser(UCN)}$ اولین بار در یک خانواده اسکاتلندی پیدا شد و سپس در یک خانواده نیوزلندی، ژاپنی، فرانسوی اوکراینی پرتغالی و مجارستانی پیدا شدند (۱۴،۱۳، ۲۸-۱۹). در مطالعه حاضر این جهش در همان جایگاه ژنی ولی به صورت A7445C و با فرکانس ۱/۶۱ درصد رویت شد. طبق مطالعات انجام شده در تعدادی از دانش آموزان مغولی فرکانس جهش A7445G به میزان ۰/۳۳ درصد برآورد شده است (۳۸). تبدیل نوکلئوتید A به C در این کدون باعث عدم رونویسی ژن های میتوکندریایی در کدون پایان و اضافه شدن سه اسید آمینه (Ser-Gln-Lys) به انتهای C-terminal زنجیره H از mt-DNA شده است، این تغییر در بخش ۳ از پیش ساز L-strandRNA در نزدیکی محل اندونوکلئاز آن صورت می گیرد و در نهایت باعث ایجاد ناشنوایی می شود (۳۰).

از آنجا که میزان ازدواج های فامیلی در استان خوزستان همانند اکثر مناطق ایران بالا است، این جمعیت منبع بسیار با ارزشی جهت تحقیق بر روی بیماری های ژنتیکی با توارث اتوزومال مغلوب از جمله ناشنوایی می باشد. نظر به اینکه به دلیل کمبود حجم نمونه نتایج این مطالعه قابل تعمیم به کل جامعه نیست لذا جا دارد که مطالعات بیشتر و وسیع تری در این زمینه در خوزستان و سایر نقاط ایران نیز صورت پذیرد. تحقیقات جهت تعیین نوع جهش ها و تاثیر هر یک از جهش ها در ایجاد ناشنوایی، مانند تعیین

Archive of SID
www.SID.ir

فراوانی جهش های ژن میتو کندریایی در کشور مقدمه ای راه گشا در جهت بالا بردن کیفیت مشاوره های ژنتیکی و یا مداخلات درمانی خواهد بود.

نتیجه گیری:

این مطالعه نشان می دهد که جهش های میتوکندریایی A3316G وA7445C مسئول تعداد کمی از ناشنوایی های قبل از زبان باز کردن در جمعیت استان خوزستان می باشند و جهش های A1555G، A3243G و A7445G در ایجاد ناشنوایی در این جمعیت نقشی نداشته اند. مطالعه ی حاضر خواهد توانست مشاوران ژنتیک در استان خوزستان را در برنامه مشاوره ژنتیک ناشنوایی خانواده ی بیماران ناشنوا یاری کند.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از سازمان بهزیستی استان خوزستان و کلیه ناشنوایان و والدین آنها که صمیمانه ما را در اجرای این مطالعه یاری رساندند و همچنین از سازمان بهزیستی استان چهارمحال و بختیاری و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد جهت تامین بودجه (با شماره گرانت ۵۳۵) و از کلیه کارکنان محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی شهرکرد تشکر و قدردانی ویژه می گردد.

منابع:

1. Marazita ML, Ploughman LM, Rawling B, Remington E, Arnos KS, Nance WE. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the U.S. school-age population. Am J Med Genet. 1993 Jun; 46(5): 486-91.

2. Martini A, Mazzoli M, Kimberling W. An introduction to the genetics of normal and defective hearing. Ann NY Acad Sci. 1997 Dec; 830: 361-74.

3. Tekin M, Arnos KS, Pandya A. Advances in hereditary deafness. Lancet. 2001 Sep; 358(9287): 1082-90.

4. Hone SW, Smith RJ. Genetic screening for hearing loss. Clin Otclinotolaryngol Allied Sci. 2003 Aug; 28(4): 285-90.

5. Petersen MB. Non-syndromic autosomal-dominant deafness. Clin Genet. 2002 Jul; 62(1): 1-13.

6. 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(21): 1500-5.

7. Hashemzadeh-Chaleshtori M, Farhud DD, Patton MA. Familial and sporadic GJB_2-related deafness in Iran: Review of gene mutations. Iran J Public Health. 2007; 36(1): 1-14.

8. Delmaghani S, del Castillo FJ, Michel V, Leibovici M, Aghaie A, Ron U, et al. Mutations in the gene encoding pejvakin, a newly identified protein of the afferent auditory pathway, cause DFNB59 auditory neuropathy. Nat Genet. 2006 Jul; 38(7): 770-8.

9. Davis AC. The prevalence of hearing impairment and reported hearing isability among adults in Great Britain. Int J Epidemiol. 1989 Dec; 18(4): 911-7.

10. Estivill X, Govea N, Barcelo E; Badenas C, Romero E, Moral L, et al. Familial progressivesensorineural deafness is mainly due to the mtDNAA1555G mutation and is enhanced by reatment ofaminoglycosides. Am J Hum Genet. 1998 Jan; 62(1): 27-35.

11. Hutchin T, CortopassiG. Mitochondrial defects and hearing loss. Cell Mol Life Sci. 2000 Dec; 57(13-14): 1927-37.

Archive of SID

www.SID.ir

12. Bravo O, Ballana E, Estivill X. Cochlear alterations in deaf and unaffected subject carrying the deafness associated A1555G mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene. Biochem Biophys Commun. 2006 Jun; 344(2): 511-6.

13. Usami S, Abe S, Akita J, Namba A, Shinkawa H, Ishii M, et al. Prevalence of mitochondrial gene mutations among hearing impaired patients. J Med Genet. 2000; 37(1): 38-40.

14. Fischel-Ghodsian N, Prezant TR, Fournier P, Stewart IA, Maw M. Mitochondrial mutation associated whit nonsyndromic deafness. Am J Otolaryngol. 1995; 16(6): 403-8.

15. Sevior KB, Hatamochi A, StewartI A. Mitochondrial A7445G mutation in two pedigrees whit palmoplantar Keratoderma and deafness. Am J Med Genet. 1998 Jan; 75(2): 179-85.

16. Reid FM, Vernham GA, Jacobs HT. A novel mitochondrialpoint mutation in a maternal pedigree with sensorineuraldeafness. Hum Mutat. 1994; 3(3): 243-7.

17. Kleihues P, Schavble B. Tumors associated with P53 germ line mutations a synopsis of 91 families. Am J Pathol. 1997; 150(1): 1-13.

18. Sue CM, Tanji K, Hadjigeorgiou G. Maternally inherited hearing loss in large kindred with a novel T7511C mutation in the mitochondrial DNA tRNA (Ser (UCN)) gene. Neurology. 1999; 52(9): 1905-8.

19. Kupka S, Toth T, Wrobel M. Zeissler U, Szyfter W, Szyfter K, et al. Mutation A1555G in the 12S rRNA gene and its epidemiological importance in German, Hungarian, and Polish patients. Hum Mutat. 2002; 19(3): 308-9.

20. Martin L, Toutain A, Guillen C, Haftek M, Machet MC, Toledano C, et al. Inherited palmoplantar keratoderma and sensorineural deafness associated with A7445G point mutation in the mitochondrial genome. Br J Dermatol. 2000; 143(4): 876-83.

21. Hutchin TP, Lench NJ, Arbuzova S, Markham AF, Mueller RF. Maternally inherited hearing impairment in a family with the mitochondrial DNA A7445G mutation. Eur J Hum Genet. 2001; 9(1): 56-8.

22. Caria H, Matos T, Oliveira-Soares R, Santos AR, Galhardo I, Soares-Almeida L,et al. A7445G mtDNA mutation present in a Portuguese family exhibiting hereditary deafness and palmoplantar keratoderma. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2005; 19(4): 455-58.

23. Kokotas H, Petersen MB, Willems PJ. Mitochondrial deafness. Clin Genet. 2007; 71(5): 379-91.

24. Gasparini P, Rabionet R, Barbujani G, Melchionda S, Petersen M, Brondum-Nielsen K, et al. The genetic analysis consortium of GJB2 35delG. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. Eur J Hum Genet. 2000; 8(1): 19-23.

25. Storm K,Willocx S, Flothmann K, Van Camp G. Determination of the carrier frequency of the common GJB2 (connexin-26) 35delG mutation in the Belgian population using an easy and reliable screening method. Hum Mutat. 1999; 14(3): 263-6.

26. Denoyelle F, Weil D, Maw MA, Wilcox SA, Lench NJ, Allen-Powell DR, et al. Prelingual deafness: high prevalence of a 30delG mutation in the connexin 26 gene. Hum Mol Genet. 1997; 6(12): 2173-7.

27. Lucotte G, Bathelier C, Champenois T. PCR test for diagnosis of the common GJB2 (connexin 26) 35delG mutation on dried blood spots and determination of the carrier frequency in France. Mol Cell Probes. 2001; 15(1): 57-9.

28. Antoniadi T, Rabionet R, Kroupis C, Aperis GA, Economides J, Petmezakis J, et al. High prevalence in the greek population of the 35delG mutation in the connexin 26 gene causing prelingual deafness. Clin Genet. 1999; 55(5): 381-2.

29. Estivill X, Fortina P, Surrey S, Rabionet R, Melchionda S, D'Agruma L, et al. Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. Lancet. 1998 Feb; 351(9100): 394-8.

Archive of SID

www.SID.ir

30. Chen J, Yuan H, Lu J, Liu X, Wang G, Zhu Y, et al. Mutations at position 7445 in the precursor of mitochondrial tRNA(Ser(UCN)) gene in three maternal Chinese pedigrees with sensorineural hearing loss. Mitochondrion. 2008 Sep; 8(4): 285-92.

31. Dachun D, Yajie L, Zhibin C, 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 Commun. 2008 Dec; 377(4): 1152-5.

32. Odawara M, Maki H, Yamada N. Pathogenicity of homoplasmic mitochondrial DNA mutation and nuclear gene involvement. J Med Genet. 1999 Dec; 36(12): 934-5.

33. Pacifico C, Tessa A, Giannotti A. Prevalance of non-Mendelianmitochondrial inheritance in pediatric sensorineural hearingimpairment research. Proceedings of the 3rd international meeting, bibioue. Italy; 1999.

34. Woong BJ, Yup LK, YoungCS, Lee SH, Park HJ, Kim UK, et al. Molecular analysis of Mitochondrial gene mutations in Korean patients with nonsyndromic hearing loss. Int J Mol Med. 2008 Aug; 22(2): 175-80.

35. Schahawi M, Lopez de Munain A, Sarrazin AM, Shanske AL, Basirico M, Shanske S, et al.Two large spanish pedigrees with nonsyndromic sensorineural deafness and the mtDNA mutation at nt 1555 in the 12 s rRNA gene: evidence of heteroplasmy. Neurology. 1997 Feb; 48(2): 453-6.

36. Prezant TR, Agapian JV, Bohlman MC, Bu X, Oztas S, Qiu WQ, et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. Nat Genet. 1993 Jul; 4(3): 289-94.

37. Jacobs HT. Disorders of mitochondrial protein synthesis. Hum Mol Genet. 2003 Oct; 12 Spec No 2: R293-301

38. Pandya A, Xia XJ, Erdenetungalag R, Amendola M, Landa B, Radnaabazar J, et al. Heterogenous point mutations in the mitochondrial $tRNA^{Ser(UCN)}$ precursor coexisting with the A1555G mutation in deaf students from mongolia. Am J Hum Genet. 1999 Dec; 65(6): 1803-6.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2012 July, Aug; 14(3): 30-39.

Original article

Study of three common mitochondrial mutations in Arab patients with nonsyndromic hearing loss in Khuzestan province, I.R.Iran

Banitalbi-Dehkordi GA (MSc)[1], Montazer-Zohouri M (PhD)[2], Farrokhi E (MSc)[1], Abolhasani M (BhD)[1], Raisee S (MSc)[3], Heidari S (MSc)[4], Ataee Z (MSc)[1], Azadegan F (BSc)[1], Hoseinipour A (MD)[5], Majed H (MD)[1], Hashemzadeh-Chaleshtori M (PhD)[1]*

[1]Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran; [2]Genetics of Non-Communicable Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, I.R.Iran; [3]Cellular and Molecular Dept., Isfahan University, Isfahan, I.R. Iran; [4]Gentics Dept., Shahrekord University, Shahrekord, I.R.Iran; [5]General Special education organization, Tehran, I.R.Iran.

Received: 15/Sep/2011 Revised: 25/Jan/2012 Accepted: 28/Apr/2012

Background and aims: Hearing Impairment (HI) is the most prevalent neurosensory disorder occurs in 1/1000 newborn. The majority of hearing deficiencies are of genetic origin. About %0-2 of the genetic HI cases are due to mutations in mitochondrial genes. In the present study we investigated the frequency of 3 mtDNA A1555G, A3243G and A7445G mutation of 62 patients with nonsyndromic hearing loss in Khuzestan province.

Methods: In this descriptive study, we investigated the presence of three mitochondrial mutations; A1555G, A3243G and A7445G in 62 Arab subjects with autosomal recessive non syndromic hearing loss in Khuzestan province**.** DNA was extracted using standard phenol – chloroform method. The screening of the mitochondrial gene mutations was performed by PCR-RFLP procedure.The possible mutations were confirmed by direct sequencing.

Results: None of the investigated mutations; A1555G, A3243G and A7445G were detected in this study. However PCR-RFLP revealed two mutations; G3316A, A7445C in 2 deaf subjects studied.

Conclusion: This study is shown that mtDNA mutations consist of G3316A and A7445C are responsible for few of ARNSHL in sample studied and none of the A1555G, A3243G and A7445G mutations are responsible for ARNSHL in this population. The data presented here will improve the genetic counseling of hearing impaired patients in Khuzestan province.

Keywords: **Khuzestan province, Hearing loss, Mitochondrial, Mutation, PCR-RFLP.**

Cite this article as: Banitalbi-Dehkordi GA, Montazer-Zohouri M, Farrokhi E, Abolhasani M Raisee S, Heidari S, et al. Study of thrcecommon mitochondrial mutations in Arab patients with nonsyndromic hearing loss in Khuzestan province, I.R. Iran. J Sharekord Univ Med Sci. 2012 July, Aug; 14(3): 30-39.

***Corresponding author:**
Cellular and Molecoular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Rahmatieh, Shahrekord, I.R.Iran. Tel: 00983813346692, E-mail: mchalesh@yahoo.com

www.SID.ir