Archive of SID

مـجله علمی پژوهشی دانشگـــاه علـوم پزشـکی زنجـان
دوره ۱۴، شماره ۵۵ ، تابستان ۱۳۸۵، صفحات ۳۰ تا ۳۸

بررسی موتاسیون های شایع ژن های GJB2 و GJB6 در مبتلایان به بیماری ناشنوایی غیرسندرومی اتوزومی مغلوب در منطقه‌ی آذربایجان شرقی

دکتر مرتضی جبارپور بنیادی*، محسن اسماعیلی**، دکتر رضا یونس پور***، دکتر نادر لطفعلیزاده****،
ابوالفضل آبسواران*****

نویسنده‌ی مسئول: تبریز، دانشکده‌ی علوم طبیعی دانشگاه تبریز Jabbarpour@tabrizu.ac.ir

دریافت: ۸۵/۹/۹ پذیرش: ۸۵/۱۰/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: *ناشنوایی شدید یکی از شایع‌ترین اختلالات مادرزادی است که فراوانی آن در حدود ۱ در ۱۰۰۰ نوزاد متولد شده می‌باشد. ناشنوایی غیرسندرومی با توارث اتوزومال مغلوب (ARNSHL) شایع‌ترین نوع ناشنوایی دوران کودکی می‌باشد که در ۵۰ درصد موارد به واسطه‌ی جهش در دو ژن GJB2 (کانکسین ۲۶) و GJB6 (کانکسین ۳۰) واقع در لوکوس DFNB1 کروموزوم 13q ایجاد می‌شود. محصولات پروتئینی این دو ژن با ایجاد اتصالات شکافی (Gap Junction) نقش مهمی در برقراری ارتباطات بین سلولی در سطح گوش داخلی ایفا می‌کنند. هدف این مطالعه، بررسی ژنتیکی ناشنوایان ارجاع شده به مرکز ژنتیک تبریز و تخمین فراوانی دو موتاسیون شایع گزارش شده در دنیا در ناشنوایان ARNSHL آذربایجان شرقی می‌باشد.*

روش بررسی: *در این مطالعه، شایع‌ترین جهش ژن GJB2 (35delG) به همراه جهش del(GJB6-D13S1830) مربوط به ژن GJB6 در ۱۲۹ ناشنوای ARNSHL ارجاعی به مرکز ژنتیک پزشکی از ۱۰۰ خانواده‌ی غیرخویشاوند، مورد بررسی قرار گرفت. روش‌های مورد استفاده برای بررسی این جهش‌ها به ترتیب ARMS-PCR و Multiplex-PCR بودند که امکان بررسی والدین و افراد ناقل خانواده‌ها را نیز میسر می‌نمود.*

یافته‌ها: *۲۱ درصد خانواده‌های ارجاعی دارای جهش 35delG کانکسین ۲۶ بودند. از بین ۲۰۰ کروموزوم مطالعه شده، ۳۶ کروموزوم (۱۸ درصد) دارای موتاسیون 35delG بوده ولی کروموزوم حاوی جهش del(GJB6-D13S1830) کانکسین ۳۰ مشاهده نگردید. موتاسیون 35delG در والدین و سایر افراد خانواده‌ها نیز جهت تشخیص ناقلین مورد بررسی قرار گرفت.*

نتیجه گیری: *جهش 35delG عامل ۱۸درصد ناشنوایی ARNSHL در جمعیت آذربایجان شرقی است، که این رقم با فراوانی های گزارش شده از سایر نقاط ایران متفاوت است. عدم وجود جهش در ژن کانکسین۳۰ می‌تواند بیانگر جد نیایی متفاوت با سایر مناطق دارای این جهش باشد.*

واژگان کلیدی : ناشنوایی غیرسندرومی اتوزومی مغلوب، GJB2 ، GJB6 ، آذربایجان شرقی

---

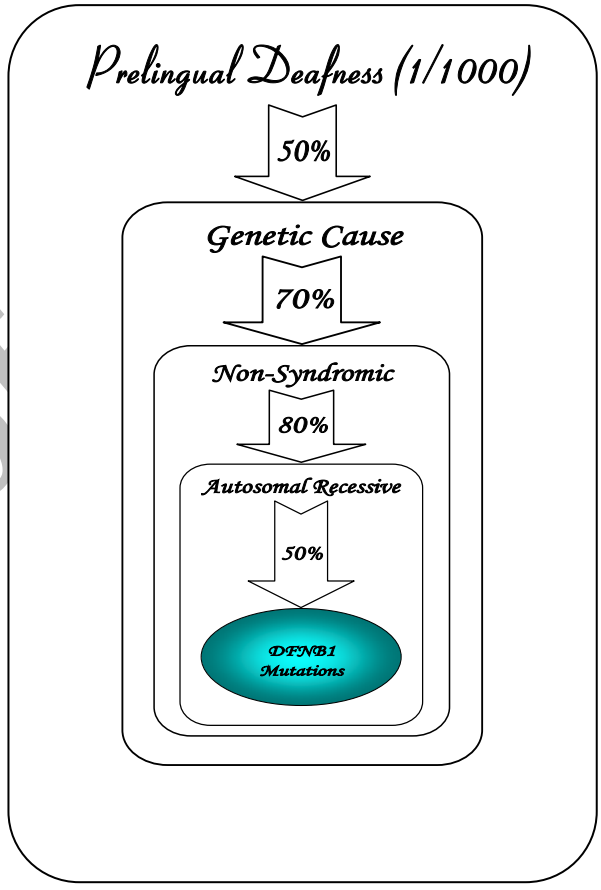
* دکترای تخصصی ژنتیک پزشکی مولکولی، استادیار دانشگاه تبریز
** کارشناس ارشد ژنتیک انسانی، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
***پزشک عمومی، مرکز بهداشت استان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
****متخصص کودکان، اداره‌ی کل بهزیستی استان آذربایجان شرقی
*****کارشناس شنوایی سنجی، مدیریت مدارس استثنایی آموزش و پرورش تبریز

Archive of SID
www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

ناشنوایی یکی از اختلالات بسیار متداولی است که می‌تواند هر مقطع سنی، از سنین نوزادی گرفته تا سنین پیری را درگیر نماید. حدود ۱ در هر ۱۰۰۰ کودک تازه متولد شده دچار اختلال شدید شنوایی بوده و تصور می‌شود که ۵۰ درصد این موارد منشأ ژنتیکی داشته باشند. علل ناشنوایی پری‌لینگوال در شکل (۱) آمده است (۱).



شکل ۱: علل ناشنوایی پری لینگوال

ناشنوایی غیرسندرومی با توارث اتوزومال مغلوب (Autosomal Recessive Non-Syndromic Hearing Loss[ARNSHL]) شایع ترین نوع ناشنوایی دوران کودکی می‌باشد که در ۵۰ درصد موارد به واسطه‌ی جهش در دو ژن GJB2 (کانکسین ۲۶) و GJB6 (کانکسین ۳۰) واقع در لوکوس DFNB1 کروموزوم 13q11-12 ایجاد می شود(۱). کانکسین ۲۶ و ۳۰ عضوهایی ازیک خانواده‌ی پروتئین‌های مربوط و منسوب به هم به نام کانکسین‌ها می‌باشند که کانال‌های بین‌سلولی موجود در اتصالات شکافی (Gap Junction) را شکل می‌دهند. کانکسین‌ها به صورت هگزامری الیگومریزه شده و کانال‌های نیمه بین‌سلولی (half-intercellular) به نام کانکسون‌ها را شکل می‌دهند(۲). این کانال‌های بین‌سلولی در عملکرد الکتریکی سیناپس‌ها، در انتقال مولکول‌های کوچک و نیز جریان‌های‌یونی بین سلول‌های گیرنده‌ی مجاور هم دخیل هستند. موتاسیون در ژن‌های کانکسین، ارتباطات بین‌سلولی از راه اتصالات شکافی را در سطح گوش داخلی مختل می‌کند(۳). جهش در این دو ژن می‌تواند به صورت هموزیگوت و یا به صورت هتروزیگوت ترکیبی باعث این نوع ناشنوایی شود(۴). اگرچه بیش از ۹۰ جهش در GJB2 و۲ جهش در GJB6 برای ناشنوایی ARNSHL گزارش شده است(۵،۶)، لیکن موتاسیون35delG شایع ترین موتاسیون (در حدود ۷۰ درصد) ژن GJB2 می‌باشد که با حذف یکی از۶ باز گوانین در موقعیت ۳۰ تا ۳۵ منطقه‌ی کد کننده، باعث تغییر در قالب خواندن پروتئین کانکسین ۲۶ و ایجاد کدون خاتمه‌ی زودرس در موقعیت اسید آمینه‌ی شماره‌ی ۱۳ می‌شود (۷، ۸). این جهش که برای اولین بار توسط زلانته و همکارانش گزارش شد(۷)، بعدها به عنوان عمومی‌ترین علت ناشنوایی‌های مادرزادی اسپورادیک و ارثی در جمعیت سفیدپوست عنوان شده است (۹).

براساس مطالعات گزارش شده طیف جهش‌های ژن GJB2 به طور قابل توجهی در بین جمعیت های مختلف متفاوت می‌باشد(۸). به طوری که در جمعیت‌های سفیدپوست جهش 35delG (۷، ۹،۱۰)، دریهودیان اشکنازی جهش دیگری به نام167delT (حذف تیمین در موقعیت ۱۶۷) (۱۱) و در جمعیت‌های شرق آسیا جهش 235delC شایع می‌باشد (۱۵-۱۲). نکته‌ی قابل‌ملاحظه این که جهش 35delG در بیشتر نقاط جهان گسترده شده است (۸) و فراوانی آن از اروپا به آسیا و از کشورهای غرب آسیا به سمت کشورهای شرق آسیا کاهش می‌یابد(۱۶). این جهش در بیشتر جمعیت‌های جهان با شیوع قومی متفاوتی دیده می‌شود. با توجه به این که فراوانی این جهش در بین قوم‌های مختلف ایران متفاوت

www.SID.ir

Archive of SID

گزارش شده است (۱۹-۱۷)، ضروری است که اقوام مختلف ایران به صورت جداگانه بررسی شوند. از این رو این تحقیق به منظور تعیین فراوانی شایع ترین جهش ژن GJB2 یعنی 35delG در افراد ناشنوای ARNSHL در استان آذربایجان شرقی در سال ۱۳۸۵-۱۳۸۴ انجام گردید. علاوه بر این هدف، در این بررسی موتاسیون در ژن دیگری به نام کانکسین ۳۰ که در مناطق دیگر جهان بسیار شایع گزارش شده است (۲۱ ،۲۰ ، ۴)، مورد بررسی قرار گرفت. در این ژن، حذف شدگی ۳۰۹ کیلوباز (GJB6-D13S1830)Δ یکی از شایع‌ترین موتاسیون‌هایی است که معمولاً در بین ناشنوایان ARNSHL در جوامع دیگر گزارش شده است.

روش بررسی

معرفی افراد مبتلا: دراین مطالعه‌ی توصیفی، از بین ناشنوایان معرفی شده از طرف متخصصین، مراکز مشاوره‌ی بهداشت استان، بهزیستی و مدارس استثنایی، ۱۰۰ خانواده‌ی مبتلای غیرخویشاوند که از نوع غیرسندرومی با الگوی وراثتی اتوزوم مغلوب بودند، انتخاب شدند. در مبتلایان این خانواده‌ها هیچ گونه ناهنجاری دیگری به غیر از ناشنوایی وجود نداشته (جهت رد ناشنوایی سندرومی) و حداقل دو عضو مبتلا با پدر و مادری سالم از نظر شنوایی (وراثت اتوزوم مغلوب) وجود داشت. از ۱۲۹ نفر مبتلا و ۵۹ عضو سالم (از نظر فنوتیپی) که متعلق به این خانواده‌ها بودند، پس از تهیه‌ی شجره نامه و اخذ رضایت کتبی خون گیری به عمل آمده و داکسی ریبونوکلئیک اسید (Deoxyribonucleic Acid[DNA]) آن‌ها متعاقباً استخراج گردید.

خون گیری و استخراج DNA: خون گیری توسط پرستار همکار از ۱۸۸ نفر از اعضای خانواده‌های مبتلای معرفی شده، به عمل آمد. جهت جلوگیری از انعقاد خون، مقدار ۲۰۰ تا ۴۰۰ میکرولیتر از اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (Ethylen Di Amin Tetra Acetic Acid [EDTA]) ۰/۵مولار به ازای۱۰ سی‌سی خون به نمونه‌ها اضافه و خیلی سریع به آزمایشگاه مرکز انتقال داده و در دمای منفی ۲۰ درجه‌ی سانتیگراد نگهداری شد.

برای استخراج DNA ژنومی از روش اصلاح شده‌ی فنل ـ کلروفرم استفاده گردید.جهت لیز کردن گلبول‌های قرمز، از بافر لیز کننده (بی کربنات سدیم ۱۰ میلی مولار، EDTA ۰/۱ میلی مولار، کلرید آمونیوم ۱۵۵ میلی‌مولار، pH حدود ۷/۲) استفاده شده و سپس جهت جدا کردن گلبول‌های سفید حاوی هسته از مایع حاصل از لیز گلبول‌های قرمز، محلول حاصل برای مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و در نهایت گلبول های سفید رسوب داده شده در بافر سالین- ای- دی-تی- آ([Saline-EDTA[SE]) (کلرید سدیم ۷۵ میلی مولار، EDTA ۲۵ میلی مولار، pH حدود ۸)، سدیم دودسیل سولفات (SDS) ۱۰ درصد و پروتئیناز K حل گردیده و جهت لیز سلول‌های سفید خون، به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ تا ۴۵ درجه‌ی سانتی گراد قرار داده شد. بعد از اضافه کردن فنل- کلروفرم به اندازه‌ی یکسان و سانتریفوژ کردن، محلول رویی که حاوی DNA است، جدا شده و سپس با افزودن اتانول مطلق سرد، رشته‌ی DNA ظاهر گردید. رشته‌ی DNA حاصل، در مقدار مناسبی از آب استریل و یا تریس- ای- دی- تی- آی([Tris-EDTA[TE]) بافر حل شد.

روشPCR: به منظور بررسی جهش 35delG از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از ویژه‌ی یک آلل (Allele- Specific Polymerase Chain Reaction ([Allele Specific PCR] بهره گرفته شد. در این روش برای هر فرد دو واکنش (یکی برای آلل سالم و دومی برای آلل جهش‌یافته) انجام شد و قطعه‌ی مورد نظر به طول ۲۰۲ جفت باز تکثیر گردید. برای انجام PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، از کلرید منیزیم($MgCl_2$) با غلظت نهایی ۱/۵ میلی‌مولار، بافر PCR با غلظت نهایی‌یک برابر، یک واحد آنزیم Taq پلیمراز، داکسی نوکلئوتیدتری فسفات (Deoxynucleotide Triphosphate[dNTP]) با غلظت نهایی ۰/۲ میلی مولار استفاده گردید(۲۲). افرادی که به صورت

www.SID.ir

Archive of SID

هموزیگوت دارای موتاسیون 35delG بودند کنار گذاشته شده و افراد هتروزیگوت و منفی برای این جهش جهت بررسی حذف ژن کانکسین ۳۰ انتخاب شدند. جهت بررسی جهش حذف شدگی ۳۰۹ کیلوباز (del(GJB6-D13S1830 در کانکسین ۳۰ از روش مولتی پلکس PCR استفاده شد(۲۳). در این بررسی با استفاده از ۴ جفت پرایمر، آلل دست نخورده و آلل دارای حذف این ژن به طور هم زمان تکثیر شدند. برای انجام PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، از $MgCl_2$ با غلظت نهایی ۱/۵ میلی مولار، بافر PCR با غلظت نهایی یک برابر، یک واحد آنزیم Taq پلیمراز، dNTP با غلظت نهایی ۰/۲ میلی‌مولار استفاده گردید.

الکتروفورز محصولات PCR : محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز گردیده و با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شده و زیر اشعه‌ی التراویوله بررسی شدند.

یافته ها

از کل ۱۲۹ نفر مورد مطالعه (۴۸ نفر مرد و ۸۱ نفر زن)، ۲۱ نفر به صورت هموزیگوت و ٦ نفر به صورت هتروزیگوت دارای جهش 35delG بودند. این فراوانی برحسب خانواده‌های دارای این جهش برابر ۲۱ مورد (۱۵ مورد هموزیگوت و ۶ مورد هتروزیگوت) از ۱۰۰ خانواده‌ی غیرخویشاوند، یعنی ۲۱ درصد بوده و در صورتی که از هر خانواده یک مبتلا و به عبارتی دو کروموزوم در نظر گرفته شود، فراوانی این جهش حدود ۱۸ درصد (۳۶ کروموزوم از ۲۰۰ کروموزوم) می باشد (جدول ۱).

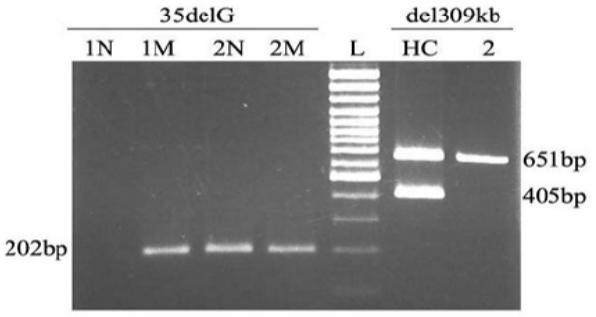
جدول ۱ : توزیع جهش 35delG در بین ۱۰۰ مبتلای ARNSHL غیرخویشاوند.

ژنوتیپ	مرد	زن	مجموع
35delG/35delG	۶	۹	۱۵* (۱۵)
35delG/wt[a]	۲	۴	۶ (۶)
wt/wt	۲۹	۵۰	۷۹ (۷۹)

a: wild type

* اعداد داخل پرانتز بیانگر درصد می باشند .

از طرف دیگر کروموزوم دارای جهش حذفی کانکسین ۳۰ del(GJB6-D13S1830) در این جمعیت مشاهده نشد.



شکل ۲ : محصولات حاصل از PCR . L : مارکر ۱۰۰bp ، N : واکنش پرایمر نرمال، M : واکنش پرایمر موتان، شماره‌ی ۱: یک فرد بیمار هموزیگوت برای 35delG ، شماره‌ی ۲: یک فرد بیمار هتروزیگوت برای 35delG که برای حذف کانکسین ۳۰ منفی می باشد، HC : کنترل مثبت هتروزیگوت برای موتاسیون del(GJB6-D13S1830) .

همان طور که در شکل (۲) مشاهده می‌شود برای بررسی جهش 35delG در هر فرد دو ستون دیده می‌شود که یکی برای تکثیر آلل نرمال (N) و دیگری مربوط به تکثیر آلل موتانت (M) می باشد. باند ۲۰۲ جفت بازی حاصل این تکثیرها می‌باشد. فرد سالم فقط در ستون نرمال باند خواهد داشت (در شکل نشان داده نشده است) در حالی که افراد هتروزیگوت (فرد شماره‌ی۲) و هموزیگوت (فرد شماره‌ی۱) برای 35delG ، به ترتیب در هر دو ستون و فقط در ستون موتانت این باند را نشان خواهند داد. وجود کنترل‌های مثبت و منفی و آب در هر سری، صحت واکنش‌ها را تأیید می‌کند. هم‌چنین در این شکل تکثیر ژن‌های سالم و دارای حذف کانکسین ۳۰ نیز مشاهده می‌گردد. باند ۶۵۱ جفت بازی که به عنوان کنترل داخلی نیز عمل می‌کند، حاصل تکثیر آلل سالم این ژن و باند ۴۰۵ جفت بازی حاصل تکثیر آلل دارای حذف ۳۰۹kb آن می باشد. افراد بدون جهش، افراد هتروزیگوت (فرد ناقل به آلل جهش‌یافته) (Heterozygous Control[HC]) و بیماران دارای حذف هموزیگوت در این ژن به ترتیب فقط باند۶۵۱ جفت بازی، هر دو باند و فقط باند ۴۰۵ جفت بازی را نشان خواهند داد.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

اگرچه بیش از ۲۳ ژن مختلف در ارتباط با ناشنوایی‌های ARNSHL گزارش شده است (۲۴)، لیکن ژن GJB2 یا کانکسین ۲۶ به عنوان عامل اصلی این دسته از ناشنوایی‌ها در جمعیت‌های مختلف ذکر شده است (۱) و جهش 35delG شایع‌ترین جهش از بین بیش از ۹۰ جهش گزارش شده برای این ژن در بین اکثر جوامع مطرح می باشد(۷)، به طوری که شیوع ناقلین۲ تا ۴ درصد برای آن در جمعیت سفیدپوستان گزارش شده است (۱۰ ، ۷). اما در عین حال این جهش در برخی اقوام شرق آسیا نادر می باشد (۱۵-۱۲). اگرچه مطالعات دقیقی از همسایگان ایران به غیر از ترکیه در دست نیست لیکن دریک مطالعه بر روی ناشنوایان پاکستان این موتاسیون یافت نشده است(۲۵)، ولی در بین جمعیت‌های عرب این موتاسیون شایع گزارش شده است(۸). مطالعات انجام‌یافته در ایران بر روی قوم های مختلف حاکی از متفاوت بودن فراوانی این جهش در بین اقوام مختلف بوده است، به طوری که در مازندران ۳۵/۵ (۲۶)، در گیلان ۲۷ (۱۷)، در تهران ۱۴/۷ (۲۷)، در کردستان ۱۴ (۱۹)، در همدان ۱۲/۵ (۲۸)، در خراسان و کرمانشاه ۱۱ (۲۹ ، ۱۷)، در گلستان ۹ (۱۹)، در چهارمحال و بختیاری ۶/۳ (۳۰)، در خوزستان ۶ (۱۹)، در کرمان ۲/۳ (۳۱)، در یزد ۱/۶ (۳۲) و در سیستان و بلوچستان و هرمزگان نزدیک به صفر درصد(۳۳ ، ۱۸) می باشد. این اعداد بیانگر کاهش فراوانی این جهش از شمال به جنوب و از غرب به شرق می‌باشد. با توجه به این الگو و قرار گرفتن استان آذربایجان شرقی در شمال غرب ایران و نیز وفور نسبی این جهش در کشور همسایه‌ی شمال غرب یعنی ترکیه (۳۵، ۳۴) به نظر می‌رسد که این جهش در شمال غرب ایران نیز از فراوانی نسبتاً بالایی برخوردار باشد. هم چنین تنوع این فراوانی نیز لزوم مطالعه‌ی جداگانه‌ی جمعیت شمال غرب و به خصوص آذربایجان شرقی را توجیه می‌نماید. نتایج به دست آمده در این مطالعه نیز این امر را به اثبات رساند، به طوری که فراوانی ۱۸ درصدی حاکی از پیروی از الگوی ذکر شده و قرابت با نتایج به دست آمده در ترکیه بوده و نشانگر تفاوت این فراوانی با نتایج اقوام دیگر بود. متفاوت بودن فراوانی این جهش در اقوام ایرانی، می‌تواند ناشی از اختلاف نژادی، فرهنگ متفاوت، عوامل اقتصادی، جغرافیایی و غیره باشد. اما در کل، فراوانی ۱۸ درصدی این جهش در استان می‌تواند نشانگر اختلاط نژادی یا جریان ژنی باشد. با ارایه‌ی مشاوره‌ی قبل از ازدواج برای ناقلین در خانواده‌های دارای جهش 35delG و با امکان تشخیص پیش از تولد از طریق بررسی مایع آمنیوتیک در موارد ضروری، می‌توان از تولد مبتلایان جدید پیشگیری به عمل آورد.

هم‌چنین علاوه بر این جهش، در برخی از مطالعات اولیه‌ی اروپایی و آمریکایی (۳۶) جهش del(GJB6-D13S1830) در کانکسین ۳۰ به عنوان دومین جهش شایع در ناشنوایان ARNSHL به صورت توارث مونوژنیک و دی ژنیک با کانکسین ۲۶ ذکر شده است. با توجه به این که اکثر مطالعات انجام یافته در ایران حاکی از درصد پایین دخالت سایر جهش‌های کانکسین ۲۶ در این دسته از ناشنوایان می‌باشند (۳۳ ، ۳۲ ، ۳۰-۲۸ ، ۱۹-۱۷)، بنابراین ژن های دیگری به عنوان علل ناشنوایی در این دسته از ناشنوایان مطرح شدند. هدف دوم این مطالعه نیز بررسی جهش شایع ژن کانکسین ۳۰ با توجه به گزارشات جهانی بود. عدم وجود جهش del(GJB6-D13S1830) در کل ۲۶۶ کروموزوم مورد مطالعه با نتایج اخیر ایران و ترکیه (۴۱-۳۷، ۳۴) مطابقت دارد. هم چنین عدم وجود این جهش علاوه بر ایران و ترکیه در سایرکشورها هم چون اتریش (۴۲)، چین (۴۳)، اردن (۴۴) و حتی آمریکا (۴۵) نیز گزارش شده است.

نتیجه گیری

آن چه که در مورد هر دو جهش می‌توان ذکر کرد، این است که نظریه‌ی تأثیر مؤسس یا اثر بنیانگذار (Founder Effect) به جای نقطه‌ی داغ (Hot Spot) بیشتر تقویت می‌شود و وجود یک جد مشترک برای این جهش‌ها بیشتر محتمل می‌باشد. هم‌چنین بررسی سایر جهش‌های ژن

www.SID.ir

Archive of SID

کانکسین ۲۶ و نیز سایر ژن های درگیر در ناشنوایی ARNSHL ضروری به نظر می‌رسد تا شاید بتوان از صدمات اقتصادی و اجتماعی و روانی ناشنوایی کاست.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از ریاست محترم مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، کاربردی دارویی و همکاران محترم در این مرکز (دانشگاه علوم پزشکی تبریز)، مدیریت مدارس استثنایی استان آذربایجان شرقی، سرکار خانم ابراهیمی و نیز تمامی خانواده‌های مبتلا کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

1- Kenneson A, Van Naarden Braun K, Boyle C. GJB2 (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: a HuGE review. ***Genet Med.*** 2002; 4: 258- 74.

2- Wolburg H, Rohlmann A. Structure-function relationships in gap junctions. ***Int Rev Cytol.*** 1995; 157: 315- 73.

3- Harris AL, Bevans CG. Exploring hemichannel permeability in vitro. ***Methods Mol Biol.*** 2001; 154: 357- 77

4- Del Castillo I, Villamar M, Moreno-Pelayo MA, et al. A deletion involving the connexin 30 gene in nonsyndromic hearing impairment. ***N Engl J Med.*** 2002; 346: 243- 9.

5- http://davinci.crg.es/deafness/index.php

6- Del Castillo FJ, Rodriguez-Ballesteros M, Alvarez A, et al. A novel deletion involving the connexin-30 gene, del(GJB6-d13s1854), found in trans with mutations in the GJB2 gene (connexin-26) in subjects with DFNB1 non-syndromic hearing impairment. ***J Med Genet.*** 2005; 42: 588- 94.

7- Zelante L, Gasparini P, Estivill X, et al. Connexin 26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in mediterraneans. ***Hum Mol Genet.*** 1997; 6: 1605- 9.

8- Snoeckx RL, Huygen PL, Feldmann D, et al. GJB2 mutations and degree of hearing loss: a multicenter study. ***Am J Hum Genet.*** 2005; 77: 945- 57.

9- Estivill X, Fortina P, Surrey S, et al. Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. ***Lancet.*** 1998; 351: 394- 8.

10- Green GE, Scott DA, McDonald JM, Woodworth GG, Sheffield VC, Smith RJ. Carrier rates in the Midwestern United States for GJB2 mutations causing inherited deafness. ***JAMA.*** 1999; 281: 2211- 16.

11- Morell RJ, Kim HJ, Hood LJ, et al. Mutations in the connexin 26 gene (GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness. ***N Engl J Med.*** 1998; 339: 1500- 5.

12- Abe S, Usami S, Shinkawa H, Kelley PM, Kimberling WJ. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese. ***J Med Genet.*** 2000; 37: 41- 3.

13- Ohtsuka A, Yuge I, Kimura S, et al. GJB2 deafness gene shows a specific spectrum of mutations in Japan, including a frequent founder mutation. ***Hum Genet.*** 2003; 112: 329- 33.

www.SID.ir

Archive of SID

14- Liu Y, Ke X, Qi Y, Li W, Zhu P. Connexin 26 gene (GJB2): prevalence of mutations in the Chinese population. ***J Hum Genet.*** 2002; 47: 688- 90.

15- Park HJ, Hahn SH, Chun YM, Park K, Kim HN. Connexin 26 mutations associated with nonsyndromic hearing loss. ***Laryngoscope.*** 2000; 110: 1535- 8.

16- Lucotte G, Mercier G. Meta-analysis of GJB2 mutation 35delG frequencies in Europe. ***Genet Test.*** 2001; 5: 149- 52.

17- Hashemzadeh Chaleshtori M, Dowlati M, Farhud DD, et al. Two novel mutations and predominant 35delG mutation in the Connexin 26 Gene (GJB2) in Iranian populations. ***Iranian J Publ Health.*** 2004; 33: 14- 19.

18- Sasanfar R, Tolouei A, Hoseinipour A, et al. Frequency of a very rare 35delG mutation in two ethnic groups of Iranian populations. ***Iranian J Publ Health.*** 2004; 33: 26- 30.

19- Hosseinipour A, Hashemzadeh Chaleshtori M, Sasanfar R, et al. Report of a new mutation and frequency of connexin 26 gene (GJB2) mutations in patients from three provinces of Iran. ***Iranian J Publ Health.*** 2005; 34: 47- 50.

20- Lerer I, Sagi M, Ben-Neriah Z, Wang T, Levi H, Abeliovich D. A deletion mutation in GJB6 cooperating with a GJB2 mutation in trans in non-syndromic deafness: A novel founder mutation in Ashkenazi Jews. ***Hum Mutat.*** 2001; 18: 460.

21- Pallares-Ruiz N, Blanchet P, Mondain M, Claustres M, Roux AF. A large deletion including most of GJB6 in recessive nonsyndromic deafness: A digenic effect?. ***Eur J Hum Genet.*** 2002; 10: 72- 6.

22- Scott DA, Kraft ML, Carmi R, et al. Identification of mutations in the Connexin 26 gene that cause autosomal recessive non-syndromic hearing loss. ***Hum Mutat.*** 1998; 11: 387- 94.

23- Wu BL, Kenna M, Lip V, Irons M, Platt O. Use of a multiplex PCR/Sequencing strategy to detect both Connexin 30 (GJB6) 342kb deletion and Connexin 26 (GJB2) mutations in cases of childhood deafness. ***Am J Med Genet.*** 2003; 121A: 102- 8.

24- Petersen MB, Willems PJ. Non-syndromic, autosomal-recessive deafness. ***Clin Genet.*** 2006; 69: 371- 92.

25- Santos RLP, Wajid M, Pham TL, et al. Low prevalence of connexin 26 (GJB2) variants in Pakistani families with autosomal recessive non-syndromic hearing impairment. ***Clin Genet.*** 2005; 67: 61- 8.

۲۶- خوش آیین عاطفه، نیک ذات نوشین، پور فاطمی فاطمه و همکاران. غربالگری ناشنوایان غیرسندرومی اتوزومال مغلوب برای جهش‌های ژن GJB2 (استان مازندران). ***فصلنامه علمی پژوهشی توانبخشی*** ۱۳۸۳ ؛ سال ۵ ، شماره‌های ۱۶ و ۱۷: صفحات ۲۷-۳۶.

27- Hashemzadeh Chaleshtori M, Farhud DD, Taylor R, Hadavi V, Patton MA, Afzal AR. Deafness-associated connexin 26 gene (GJB2) mutations in Iranian population. ***Iranian J Publ Health.*** 2002; 31: 75- 9.

www.SID.ir

Archive of SID

۲۸- شفقتی‌یوسف، ابراهیمی احمد، محسنی مرضیه و همکاران. طیف جهش‌های ژن کانکسین ۲٦ در جمعیت ناشنوایان غیرسندرومیک استان همدان. ***مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان*** ۱۳۸٤؛ سال ۱۲ ، شماره ۴ : صفحات ۲۷-۲۳.

۲۹- مهدیه نجات، نیشیمورا کارلا، علیمددی کامران و همکاران. فراوانی جهش‌های ژن کانکسین۲۶ در ناشنوایان غیرسندرومی اتوزومی مغلوب استان کرمانشاه (۸۲-۱۳۸۰) . ***بهبود*** ۱۳۸٤؛ سال ۹، شماره ۲ : صفحات ۴۰- ۳۲.

30- Hashemzadeh Chaleshtori M, Montazer Zohour M, Hoghooghi Rad L, et al. Autosomal recessive and sporadic non-syndromic hearing loss and the incidence of Cx26 mutations in a province of Iran. ***Iranian J Publ Health.*** 2006; 35: 88- 91.

۳۱- بزاززادگان نیلوفر. میرحسینی نوشین، ضیاالدینی حسن و همکاران. وفور نسبی جهش 35delG در ژن GJB2 در جمعیت ناشنوایان غیر سندرومی جسمی مغلوب استان کرمان. ***مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان*** ۱۳۸۳؛ سال۱۱، شماره ۳: صفحات۱۴۰-۱۳۶.

۳۲- مغنی باشی مهدی، خدایی حسین، سیفتی مرتضی و همکاران. طیف جهش‌های ژن GJB2 در ناشنوایان غیرسندرومی اتوزومی مغلوب استان‌یزد. ***مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد*** ۱۳۸۴؛ سال۱۳، شماره۴ : صفحات ۷۰ -۶۴ .

۳۳- نقوی آنوش، نیشی میورا کارلا، کهریزی کیمیا و همکاران. بررسی فراوانی جهش‌های ژن GJB2 در بیماران مبتلا به ناشنوایی غیرسندرومی با وراثت اتوزومی مغلوب در استان سیستان و بلوچستان. ***طبیب شرق*** ۱۳۸۴؛ سال ۷، شماره ۲ : صفحات ۹۲-۸۵ .

34- Kalay E, Caylan R, Kremer H, De Brouwer AP, Karaguzel A. GJB2 mutations in Turkish patients with ARNSHL: prevalence and two novel mutations. ***Hearing Research.*** 2005; 203: 88- 93.

35- Tekin M, Duman T, Bogoclu G, et al. Spectrum of GJB2 mutations in Turkey comprises both Caucasian and Oriental variants: roles of parental consanguinity and assortative mating. ***Hum Mutat.*** 2003; 21: 552- 3.

36- Del Castillo I, Moreno-Pelayo MA, Del Castillo FJ, et al. Prevalence and evolutionary origins of the del(GJB6-D13S1830) mutation in the DFNB1 Locus in hearing-impaired subjects: a multicenter study. ***Am J Hum Genet.*** 2003; 73: 1452- 8.

37- Riazalhosseini Y, Nishimura C, Kahrizi K, et al. Delta (GJB6-D13S1830) is not a common cause of non-syndromic hearing loss in the Iranian population. ***Arch Iranian Med.*** 2005; 8: 104- 8.

38- Mahdieh N, Nishimura C, Ali-madadi K, et al. The frequency of GJB2 mutations and the Δ(GJB6-D13S1830) deletion as a cause of autosomal recessive non-syndromic deafness in the Kurdish population. ***Clin Genet.*** 2004; 65: 506- 8.

39- Sadeghi A, Sanati MH, Alasti F, Hashemzadeh Chaleshtori M, Ataei M. Mutation analysis of connexin 26 gene and del(GJB6-D13S1830) in patients with hereditary deafness from two provences in Iran. ***Iran J Biotechnol.*** 2005; 3: 255- 8.

40- Tekin M, Bogoclu G, Arican ST, et al. Evidence for single origins of 35delG and delE120 mutations in the GJB2 gene in Anatolia. ***Clin Genet.*** 2004; 67: 31- 7.

www.SID.ir

Archive of SID

41- Sirmaci A, Akcayoz-Duman D, Tekin M. The c.IVS1+1G>A mutation in the GJB2 gene is prevalent and large deletions involving the GJB6 gene are not present in the Turkish population. ***J Genet.*** 2006; 85: 213- 16.

42- Gunther B, Steiner A, Nekahm-Heis D, et al. The 342-kb deletion in GJB6 is not present in patients with non-syndromic hearing loss in Austria. ***Hum Mutat.*** 2003; 22: 180.

43- Liu XZ, Xia XJ, Ke XM, et al. The prevalence of connexin 26 (GJB2) mutations in the Chinese population. ***Hum Genet.*** 2002; 111: 394-7.

44- Mahasneh AA , Al-Asseer MH. Screening of GJB6 Gene for the 342-kb deletion in patients from Jordan with non syndromic hearing loss. ***Int J Hum Genet.*** 2005; 5: 253-7.

45- Fitzgerald T, Duva S, Ostrer H, et al. The frequency of GJB2 and GJB6 mutations in the New York state newborn population: feasibility of genetic screening of hearing defects. ***Clin Genet.*** 2004; 65: 338- 42.

Archive of SID

www.SID.ir