

مقاله پژوهشی

بررسی جهش‌های ژن *GJB2* در ۳۱ فرد ناشنوای غیرسندرمی در استان گیلان

پدرام پوریاری بیاجال^۱، نجمه رنجی^۲، علی ناظمی^۱

۱. گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.
۲. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: ناشنوایی غیرسندرمی یک ناهنجاری ناهمگن ژنتیکی است. جهش در ژن *GJB2* یکی از مهم‌ترین علل ناشنوایی غیرسندرمی در بسیاری از کشورها است. هدف از این مطالعه ارزیابی جهش‌های ژن *GJB2* در ۳۱ فرد ناشنوا در استان گیلان بود. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه توصیفی مقطعی، نمونه‌های خونی از ۳۱ فرد ناشنوای غیرسندرمی از شهرهای رشت و بندرانزلی جمع‌آوری شد. بعد از جداسازی DNA، ژن *GJB2* به روش PCR تکثیر و سپس تعیین توالی شد. **ملاحظات اخلاقی:** این مقاله مورد تایید دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد قرار گرفته است (کد: IR.IAU.MSHD.REC.1398.027).

یافته‌ها: در این مطالعه، سه جهش در هجده فرد ناشنوا شناسایی شد. جهش 35delG بالاترین فراوانی (۴۸/۳۸ درصد) را در افراد ناشنوا به صورت هموزیگوت (در چهارده فرد) و به صورت هتروزیگوت (در دو فرد) داشت. یک بیمار با جهش V153I به صورت هتروزیگوت و یک بیمار با 35delG/G200R جهش به صورت هتروزیگوت مرکب شناسایی شد. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد که جهش 35delG یک جهش شایع در ژن *GJB2* در افراد ناشنوای غیرسندرمی در استان گیلان باشد.

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۲۳ تیر ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: ۵ آبان ۱۳۹۹

تاریخ انتشار: ۱۲ فروردین ۱۴۰۰

کلیدواژه‌ها:

ژن *GJB2*، حذف ژنی، ناشنوایی، توالی‌یابی

درصد از موارد ایجاد ناشنوایی غیرسندرمی می‌شود [۲].

دو ژن *GJB2* و *GJB6* در این لوکوس وجود دارند که به طور هم‌زمان بیان می‌شوند. ژن *GJB2* دارای دو آگزون بوده که فقط یکی از دو آگزون قابل ترجمه است [۱]. محصول ژن *GJB2* یک پروتئین اتصال به نام کانکسین ۲۶ است [۲] که ۲۶ کیلو دالتون (26kDa) وزن داشته و از ۲۲۶ آمینو اسید تشکیل شده است [۱].

کانکسین ۲۶ در گوش داخلی به عنوان یک تنظیم‌کننده مهم هموستازی یون پتاسیم (+K) عمل می‌کند. در صورت عدم تبادلات +K، سلول‌های شنوایی قادر به واکنش در پاسخ به صدا نخواهند بود [۲]. قابل توجه است که همراهی یک جهش در *GJB2* و جهش دوم در *GJB6*، در بعضی موارد ناشنوایی گزارش شده است. محصول ژن *GJB6*، کانکسین سی (30kDa) با ۲۶۱ آمینو اسید است که در انتقال یون‌ها و بعضی متابولیت‌ها در محل اتصالات سلول‌های شنوایی نقش دارد [۱].

جهش در ژن *GJB2*، به عنوان مهم‌ترین علت ناشنوایی ارثی

مقدمه

ناشنوایی یکی از مهم‌ترین نواقص شناختی و حسی عصبی است که سازمان بهداشت جهانی تخمین زده است که حدود ۳۶۰ میلیون فرد با ناشنوایی خفیف تا شدید در جهان زندگی می‌کنند. ناشنوایی یک اختلال هتروژن بوده که به واسطه عوامل محیطی یا علل ژنتیکی ایجاد می‌شود [۱].

امروزه بیش از ۱۵۰ لوکوس ژنی در ایجاد ناشنوایی غیرسندرمی^۱ نقش دارند که الگوی وراثت آنها اتوزومی غالب (۱۰ درصد)، اتوزومی مغلوب (۸۰ درصد)، وابسته به X (۱ درصد)، وابسته به Y (۱ درصد) و میتوکندریایی (۱ درصد) است [۱]. بیش از ۱۲۰۰ جهش مختلف در ژنوم انسان در بروز ناشنوایی تعیین شده است.

فراوانی این جهش‌ها در جمعیت‌های مختلف یکسان نیست. با وجود تنوع ژنتیکی ناشنوایی در جمعیت‌های مختلف، لوکوس DFNB1 (در موقعیت کروموزومی 12-13q11) باعث حدود ۵۰

1. Non-syndromic Hearing Loss (NSHL)

* نویسنده مسئول:

دکتر نجمه رنجی

نشانی: رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی.

تلفن: +۹۸ (۱۳) ۳۳۴۲۴۰۸۰

پست الکترونیکی: n_ranji@iaurasht.ac.ir

ناشنا (با تأیید پزشک معالج موجود در پرونده بیمار)، با محدوده سنی هفده تا پنجاه سال انتخاب و خون‌گیری از آن‌ها انجام شد.

سپس نمونه‌های خونی از ۳۱ فرد ناشنوی غیرسندرومی غیرخویشاوند در لوله‌های حاوی EDTA نیم مولار قرار گرفته و به آزمایشگاه انتقال داده شدند و تا زمان استفاده در فریزر منفی ۲۰ در حالت انجماد نگهداری شدند.

تخلیص DNA ژنومی

از نمونه‌های خونی ۳۱ فرد ناشنوی غیرخویشاوند و یک فرد سالم با استفاده از کیت WizPrepTM gDNA Mini Kit (شرکت Wizbiosolutions، کره جنوبی) تخلیص DNA صورت گرفت. جهت اطمینان از تخلیص صحیح و سالم بودن DNA هر فرد، نمونه‌ها در ژل آگارز ۱/۵ درصد با ولتاژ نود ولت به مدت ۴۵ دقیقه الکتروفورز شد.

تکثیر ژن GJB2 به روش PCR و تعیین توالی آن

جهت تکثیر ژن *GJB2* از کیت Pfu master mix (شرکت PhiloKorea، کره جنوبی) در حجم نهایی ۲۵ μl استفاده شد. به این منظور با افزودن DNA ژنومی، جفت پرایمر (۲۰ pM) و آب استریل به مسترمیکس (حاوی آنزیم، کوفاکتور و بافر مخصوص) اجزای واکنش PCR مخلوط شد.

بعد از طراحی جفت پرایمر، سنتز پرایمرها (جدول شماره ۱) توسط شرکت Bioneer صورت گرفت. واکنش PCR با استفاده از ترموسایکلر Analytik jena (آلمان) طبق برنامه زیر انجام شد:

یک مرحله واسرشت شدن ابتدایی در 95°C به مدت سه دقیقه، 30 سیکل در دمای 95°C به مدت سی ثانیه، 67°C به مدت سی ثانیه، 72°C به مدت یک دقیقه و یک مرحله گسترش نهایی در دمای 72°C به مدت پنج دقیقه. توالی پرایمرها در جدول شماره ۱ ذکر شده است.

بعد از اطمینان از تک باند بودن محصولات PCR با طول ۸۸۵ جفت باز، نمونه‌ها با حفظ زنجیره سرمایی به شرکت BGI group (چین) ارسال و تعیین توالی با پرایمر برگشتی صورت گرفت. به دلیل اینکه در انتهای ۵' ژن، جهش حذفی رخ داده بود و توالی خوانده شده با پرایمر مستقیم با طول کمی خوانده می‌شد، در نتیجه همه توالی‌ها با پرایمر برگشتی (از انتهای ۳') خوانده شد و جهت تأیید توالی برای بار دوم با پرایمر برگشتی تعیین توالی شد.

نتایج حاصل از تعیین توالی به کمک نرم‌افزار CLC main workbench v3.5 و نرم‌افزار برخط «بلاست» از نظر وجود جهش در افراد ناشنوا در مقایسه با ژن رفرنس موجود در سایت NCBI مطالعه و بررسی شد.

در دنیا شناخته شده است؛ بنابراین بررسی جهش‌های این ژن یکی از مهم‌ترین روش‌های غربالگری جهت تشخیص ناشنوایی در دنیا محسوب می‌شود [۳]. جهش‌های از نوع حذف که منجر به تولید پروتئین کوتاه‌شده^۲ و به عبارتی سنتز ناقص پروتئین *GJB2* می‌شوند [۴]، بسته به تعداد دومین حذف‌شده پروتئین، باعث فقدان همه یا بخشی از عملکردهای پروتئین می‌شوند.

شایع‌ترین جهش در ژن *GJB2*، جهش 35delG است؛ در اثر این جهش، یک نوع تغییر قالب خواندن در اثر حذف یک گوانوزین (G) در نوکلئوتید ۳۵ ژن رخ داده و به ختم زودرس (TGA) منجر شده و در نتیجه یک پروتئین کوتاه‌شده از کانکسین ۲۶ تولید می‌شود [۵]، در حالی که جهش‌های دیگری که منجر به ختم زودرس رونویسی و تغییر قالب خواندن نمی‌شوند (از جمله جابه‌جایی‌ها)، بسته به موقعیت جهش ممکن است فقط تا حدی روی عملکرد پروتئین تأثیرگذار باشند [۴].

بر اساس مطالعات قبلی به نظر می‌رسد جهش c.35delG (p.G12VfsX2) از یک جد باستانی در اروپا (شرق مرکزی یا مدیترانه) به واسطه مهاجرت در دیگر نقاط دنیا منتشر شده باشد [۶]. جهش 35delG شایع‌ترین جهش *GJB2* در جمعیت‌های قفقازی با شیوع ۸۵ درصدی بوده که باعث تولید پروتئین کوتاه‌شده غیرعملکردی می‌شود.

میانگین فراوانی ناقلین این جهش در اروپا یک در ۵۱ تولد زنده بود که با فراوانی آن در آمریکای شمالی و استرالیا تفاوت قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌دهد، در حالی که فراوانی آلی جهش 35delG در ژن *GJB2* به عنوان شایع‌ترین جهش در مناطق جغرافیایی مختلف ایران، بین ۵ درصد تا ۲۲ درصد گزارش شده است [۴]. هدف از این مطالعه، بررسی جهش‌های موجود در ژن *GJB2* در ۳۱ فرد ناشنوی غیرسندرومی در استان گیلان بود که به روش PCR تعیین توالی ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

بیماران

در این مطالعه توصیفی مقطعی، در مجموع ۸۵ فرد ناشنوا غیرخویشاوند از ۸۵ خانواده مراجعه‌کننده به اداره کل بهزیستی استان گیلان و اداره بهزیستی شهرستان رشت، کانون ناشنوایی رشت و کانون ناشنوایی سکوت سفید (در بندرانزلی) شناسایی شدند.

اطلاعات بیماران با همکاری این مراکز و با توجه به اطلاعات مندرج توسط پزشک متخصص در پرونده هر فرد جمع‌آوری شد. در این بین، ۳۱ فرد مبتلا به ناشنوایی غیرسندرومی با ناشنوایی دوطرفه، ناشنوایی از بدو تولد و با داشتن یک یا چند خویشاوند

2. Truncated Protein

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR

نام پرایمر	توالی پرایمر	طول محصول
GJB2-F	5'-ATGCTTGCTTACCCAGACTCAG-3'	885 bp
GJB2-R	5'-TGTTGGGAAATGCTAGCGACTG-3'	

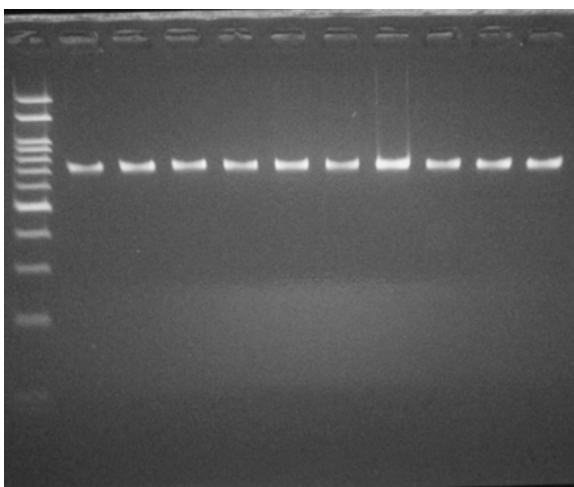


هرمزگان حدود ۶ درصد گزارش شد [۱۰]. در مطالعه جهانگیری و همکاران در تبریز از بین پنجاه فرد ناشنوای مادرزادی ۳۹ درصد موارد دارای جهش در این ژن بودند [۱۱].

در مطالعه کالای و همکاران در ترکیه شیوع جهش در این ژن ۲۵ درصد [۱۲] و در مطالعه مینارلیک و همکاران در پاکستان شیوع آن ۶۱ درصد بود [۱۳]. در مقایسه با مطالعات یادشده در چندین استان و دو کشور همسایه به نظر می‌رسد شیوع جهش در *GJB2* در استان گیلان نرخ بالایی داشته باشد و توصیه می‌شود در غربالگری‌های ژنتیکی در خط اول آزمایشات در افراد در خطر در این استان قرار گیرد.

در مطالعه هاشمی و همکاران، فراوانی آللی جهش 35delG حدود ۷ درصد و جهش V153I حدود ۶ درصد به عنوان شایع‌ترین جهش‌ها گزارش شدند. در این مطالعه، هر دو جهش هم به صورت هتروزیگوت و هم هموزیگوت در ناشنوایان شناسایی شد [۴]. در مطالعه ابطحی و همکاران در اصفهان جهش 35delG با فراوانی ۶/۱۲ درصد (به عنوان شایع‌ترین جهش) و جهش V153I با فراوانی آللی ۲/۰۴ درصد بین ۴۶ ناشنوا گزارش شد [۱].

در مطالعه آزادگان و دهکردی، جهش 35delG با فراوانی



تصویر ۱. محصولات PCR مربوط به ژن *GJB2* در ژل آگارز ۱/۵ درصد با طول ۵۸۸ جفت باز
لدر ۰۰۱ جفت بازی در چاهک اول از سمت چپ لود شده است.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۳۱ فرد ناشنوای غیرسندرمی از بین ۸۵ فرد ناشنوا از استان گیلان شرکت داده شدند که ۲۲ نفر زن (۷۱ درصد) و ۹ نفر مرد (۲۹ درصد) بودند. میانگین سنی ناشنوایان در این مطالعه ۳۳/۳۳ سال بود. مطابق تصویر شماره ۱ بعد از اطمینان از تک باند بودن محصولات PCR، نمونه‌ها تعیین توالی شد.

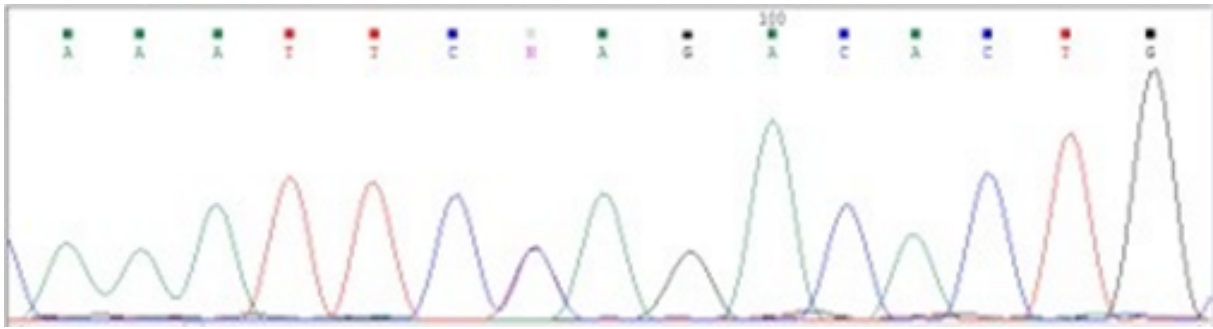
در این مطالعه (جدول شماره ۲)، در شانزده بیمار جهش 35delG شناسایی شد که در این بین، چهارده بیمار به صورت هموزیگوت (تصویر شماره ۲) و دو بیمار به صورت هتروزیگوت (تصویر شماره ۳) این جهش را داشتند. در یک بیمار نیز جهش V153I به صورت هتروزیگوت مشاهده شد (تصویر شماره ۴).

در یکی از دو بیمار با جهش هتروزیگوت 35delG، واریانت بیماری‌زای G200R نیز به صورت هتروزیگوت مشاهده شد (35delG/G200R) (تصویر شماره ۵). توالی ژن *GJB2* در فرد سالم در سه ناحیه جهش‌یافته در این مطالعه به ترتیب در سه تصویر ۶، ۷ و ۸ نشان داده شده است.

ناشنوایی غیرسندرمی در اثر اختلال در ژن‌های مختلفی ایجاد می‌شود. فراوانی جهش‌های بیماری‌زای مؤثر در ناشنوایی در ژن‌های مختلف در هر جمعیت بسته به مواردی نظیر الگوی وراثت، میزان جهش‌پذیری هر ژن و جریان ژنی متغیر است.

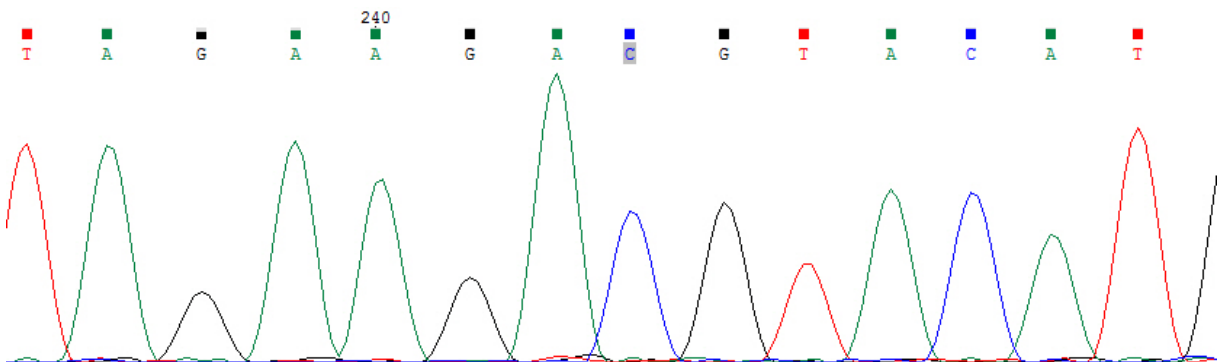
در مطالعه حاضر در استان گیلان با بررسی ۳۱ فرد ناشنوای غیرسندرمی غیرخوشاوند، نزدیک به ۵۲ درصد افراد دارای جهش در ژن *GJB2* بودند. در این افراد سه جهش و یک واریانت بیماری‌زای ژنی شناسایی شد و جهش 35delG با بیشترین فراوانی در این مطالعه گزارش شد.

در مطالعه هاشمی و همکاران، جهش در ژن *GJB2* در افراد ناشنوا در شهر شیراز با فراوانی ۳۰ درصدی گزارش شد [۴]. شیوع جهش در این ژن در مطالعه بهرامی و همکاران در استان کردستان ۲۰ درصد [۷]، در مطالعه بنیادی و همکاران در جمعیت آذری‌های ترک ایران ۲۸٪ [۸] و در مطالعه ابطحی و همکاران در اصفهان حدود ۲۴ درصد [۱] و در مطالعه محمودی و همکاران در ایلام ۴ درصد [۹] و در مطالعه آهنگری و همکاران در

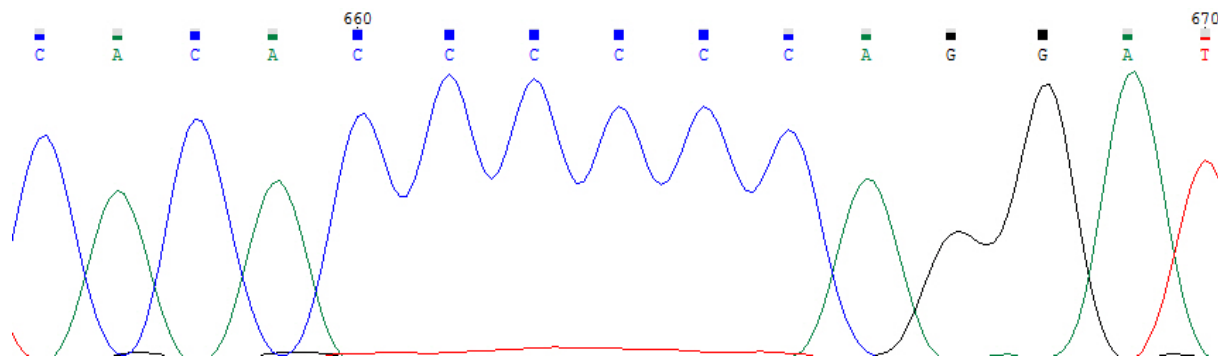


تصویر ۵. الکتروفورگرام مربوط به واریانت بیماری‌زای $G200R(p)598G>A.C$ به صورت هتروزایگوت در یک فرد ناشنوا

جهش در توالی reverse نشان داده شده که $CCT>TCT$ در این رشته (خوانش توالی از سمت راست به چپ)، معادل $GGA>AGA$ در رشته فرورارد با شروع از نقطه شروع ترجمه است.



تصویر ۶. الکتروفورگرام مربوط به فرد سالم در محدوده کدونی ۳۵۱ در ژن *GJB2*



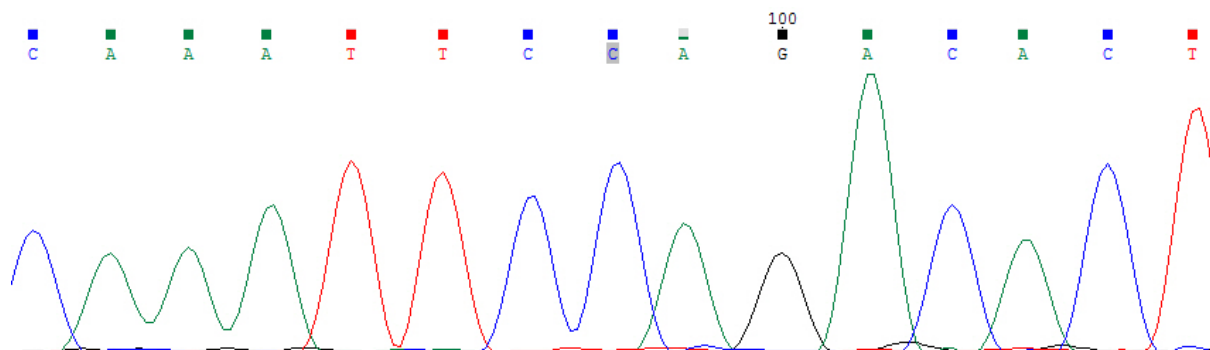
تصویر ۷. الکتروفورگرام مربوط به فرد سالم در محدوده کدونی ۵۳ در ژن *GJB2*

حدود ۹/۴ درصد موارد دارای جهش 35delG و حدود ۲/۸ درصد افراد دارای جهش V153I بودند [۱۶].

مطالعه حاضر از نظر جهش 35delG بین ۳۱ فرد ناشنوی غیرخویشاوند (۴۸/۳۸ درصد) ظاهراً با مطالعات جهانگیری و همکاران در تبریز و ندافنیا و همکاران در قم از نظر فراوانی بالا شباهت بیشتری دارد، درحالی‌که در بعضی از مناطق ایران، از جمله کردستان، آذربایجان، اصفهان و کشورهای همسایه

آلی ۱۳/۳۳ درصد بین ۴۵ ناشنوی گرد مشاهده شد [۱۴]. در مطالعه ندافنیا و همکاران روی ۱۳۱ فرد ناشنوا در قم، شیوع بالای این جهش (۶۱/۹ درصد) گزارش شد [۱۵]. در مطالعه جهانگیری و همکاران در تبریز از بین ۵۰ فرد ناشنوی مادرزادی همه ۳۹ درصد مورد دارای جهش در ژن *GJB2* از نوع 35delG بودند و جهش دیگری در این افراد مشاهده نشد [۱۱].

در مطالعه سپهوند و همکاران روی ۵۳ فرد ناشنوا در لرستان



تصویر ۸. الکتروفورگرام مربوط به فرد سالم در محدوده کدونی ۰۰۲ در ژن *GJB2*

درصد در بین ۵۶ ناشنوا در ترکیه گزارش شد [۱۸]. قابل ذکر است فراوانی جهش 35delG در مطالعه بزاز زادگان، با فراوانی آن در مطالعات انجام شده در هر استان به تنهایی و با مطالعه حاضر دارای تفاوت مشهودی است. به عنوان نمونه مطالعه ابطحی و همکاران در اصفهان جهش 35delG با فراوانی ۶/۱۲ درصد گزارش شد، در حالی که در مطالعه بزاز زادگان در اصفهان با نرخ ۷۶ درصد مشاهده شد.

در مطالعه حاضر در استان گیلان جهش 35delG با نرخ ۴۸/۳۸ درصد گزارش شد و در مطالعه بزاز زادگان در گیلان با نرخ ۸۴ درصد گزارش شد. عوامل مختلفی می تواند باعث تفاوت این گزارشات شود.

مطالعه حاضر نمونه گیری از ناشنوایان طی یک دوره شش ماهه صورت گرفته، در حالی که در مطالعه بزاز زادگان طی دوازده سال شناسایی افراد ناشنوا در کل کشور صورت گرفت.

در مطالعه حاضر، نمونه گیری از ناشنوایان از دو شهر رشت و انزلی صورت گرفت، در حالی که در مطالعه بزاز زادگان محل نمونه گیری در استان گیلان ذکر نشده است. همچنین علاوه بر تفاوت در فراوانی آللی جهش 35delG، جهش های دیگر گزارش شده در دو مطالعه کاملاً متفاوت است. در مطالعه بزاز زادگان و همکاران جهش های E110DfsX4، R184P و D46N

(ترکیه و پاکستان) با وجود شایع بودن این جهش در این مناطق، ظاهراً شیوع پایین تری مشاهده شده است.

به خاطر نرخ بالای جهش در این ژن در شهرهای مورد مطالعه (رشت و انزلی) در استان گیلان می توان انتظار داشت که جهش در این ژن در بروز ناشنوایی در این شهرها دارای اهمیت بسزایی باشد. همچنین جهش V153I در بعضی مطالعات یادشده به عنوان جهش شایع گزارش شده، در حالی که در مطالعه حاضر تنها در یک آلل گزارش شد و احتمالاً در استان گیلان فراوانی بالایی در بین ناشنوایان نداشته باشد.

از سوی دیگر، در یک مطالعه دوازده ساله توسط بزاز زادگان و همکاران روی ۲۳۲۲ ناشنوا از سراسر ایران، شیوع بالای جهش 35delG در اردبیل (۷۵ درصد)، آذربایجان (۷۸ درصد)، اصفهان (۷۶ درصد)، شیراز (۸۱ درصد) و گیلان (۸۴ درصد) در سال ۲۰۱۲ گزارش شد. در بعضی از استانها احتمال می رود به دلیل تعداد بسیار کم نمونه این جهش یافت نشد. با این حال در سیستان و بلوچستان با وجود مطالعه روی ۲۱ ناشنوا، این جهش در هیچ یک از بیماران وجود نداشت. در کل، شیوع این جهش در ایران قابل ملاحظه (۶۴/۷ درصد) است [۱۷].

در مطالعه ایبرچی^۳ و همکاران فراوانی آللی این جهش ۱۳/۴

3. Eyerci

جدول ۲. جهش های مشاهده در ژن *GJB2* در افراد ناشنوا در استان گیلان

تعداد بیماران	نام جهش	نوع جهش	تعداد آللها	فراوانی نسبی (%)	تغییرات بازی
۱۶	c.35delG p.G12VfsX2	حذف تک نوکلئوتیدی با تغییر قالب خواندن	۳۰	۴۸/۳۸	GGT>GTG CCA>CAC
۱	c.457G>A p.V153I	جابه جایی بدمعی	۱	۱/۶۱	GTC>ATC
۱	c.598G>A p.G200R	جابه جایی بدمعی (وارثت بیماری زا)	۱	۱/۶۱	GGA>AGA
جمع کل	-	-	۳۲	۵۱/۶	-



۳۱ فرد ناشنوا با سابقه فامیلی را از بین ۸۵ فرد ناشنوا شناسایی و از نظر جهش‌های ژن GJB2 بررسی کنیم.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، حدود ۵۲ درصد از افراد ناشنوا از کانون‌های ناشنوایی رشت و بندرانزلی در ژن GJB2 دارای جهش بودند که شایع‌ترین جهش در بین این ناشنوایان جهش 35delG بود. با توجه به شیوع بالای جهش 35delG در استان گیلان، در غربالگری‌های ژنتیکی ناشنوایی در گیلان لازم است ژن GJB2 به عنوان مهم‌ترین ژن مؤثر در ناشنوایی غیرسندرمی بررسی شود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مقاله مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن با کد اخلاق پزشکی به شماره IR.IAU.TON.REC ۱۳۹۸/۰۱۵ قرار گرفته است.

حامی مالی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول در گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن است.

مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی: نجمه رنجی و علی ناظمی؛ روش پژوهش و نمونه‌گیری: پدram پوریاری بیچال؛ تحلیل داده‌ها، نگارش متن و بازبینی: تمامی نویسندگان.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچ‌گونه تعارضی در منافع اعلام نکردند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از اداره کل بهزیستی استان گیلان، بهزیستی شهرستان رشت، کانون‌های ناشنوایی استان گیلان مستقر در شهرهای رشت و بندرانزلی به دلیل همکاری بی‌شائبه در شناسایی ناشنوایان و تهیه نمونه خونی از ایشان کمال تشکر و قدردانی را دارند. همچنین از آقای سبحان درویشی به جهت طراحی پرایمر و کمک در آنالیز نتایج کمال تشکر را داریم.

R32C گزارش شد [۱۷]، درحالی‌که هیچ‌کدام از این جهش‌ها در افراد ناشنوا در مطالعه حاضر شناسایی نشدند.

همچنین نتایج مطالعه بزاز زادگان و همکاران از نظر زمانی نسبت به مطالعه حاضر قدیمی‌تر است، به‌طوری‌که تفاوت دو مطالعه در زمان نمونه‌گیری طی دو دهه اخیر (۲۰۰۰ تا ۲۰۱۹) در نوع و نرخ جهش‌های آن تأثیرگذار بوده و با مقایسه نتایج این دو مطالعه پیشنهاد می‌شود که برای آگاهی از آمار صحیح جهش‌ها، جهت استفاده در غربالگری‌های ژنتیکی ناشنوایی در هر استان این سری از مطالعات هرچند سال یکبار در بین ناشنوایان هر استان تکرار و آمار دقیق جهش‌ها گزارش شود تا شیوع این ناهنجاری بین خانواده‌های ایرانی کاهش یابد (۱۷).

مطالعه هاشمی و همکاران در شیراز [۴] و ابطحی و همکاران در اصفهان [۱] نیز نتایج بسیار متفاوتی با مطالعه بزاز زادگان در فراوانی آللی 35delG نشان می‌دهد که به نظر می‌رسد به خاطر تفاوت در زمان یا بازه زمانی مورد مطالعه باشد و از این لحاظ مطالعه حاضر نرخ بالای این جهش را همچنان بعد از دو دهه در گیلان نشان می‌دهد که به پیگیری‌های بیشتر جهت کاهش نرخ بیماری در استان نیاز است. در مطالعه یو و همکاران روی ۱۸۵۲ فرد ناشنوا در شانگهای چین واریانت G200R به عنوان یک واریانت بیماری‌زا معرفی شد [۱۹]. در مطالعه هاشم‌زاده چالشتری و همکاران در تهران و تبریز روی افراد ناشنوا، واریانت بیماری‌زای G200R در مبتلایان تهرانی گزارش شد [۲۰].

فراوانی این واریانت بیماری‌زا بین ۱۵۲ خانواده ناشنوای مراکشی حدود ۰/۶۶ درصد گزارش شد [۲۱]. در مطالعه مروری مهدیه و همکاران مشخص شد که در مطالعات قبلی در ایران این واریانت بیماری‌زا تنها در دو آللی با فراوانی ۰/۰۵ درصد گزارش شده بود. این واریانت بیماری‌زا در دومین چهارم (TM۴) قرار داشته [۲۲] و اهمیت آن در بیماری‌زایی هنوز ناشناخته است.

با اینکه مهدیه و همکاران، فراوانی کمی از این واریانت را در بیش از ده مطالعه در ایران یافته‌اند؛ قابل توجه است که فقط در استان گیلان این واریانت بیماری‌زا با فراوانی در یک آلل مشاهده شد. هرچند برای بررسی اهمیت آن لازم است جمعیت بیشتری از ناشنوایان و هم افراد شنوا مورد بررسی قرار گیرند که در مطالعه حاضر امکان انجام آزمایشات به این گستردگی وجود نداشت.

با توجه به اینکه ژن‌های مختلفی در بروز ناشنوایی دخیل است از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به پیچیدگی شجره‌های ناشنوایی و دخیل بودن ژن‌های مختلف در تفسیر این شجره‌ها اشاره کرد که به صرف هزینه و زمان زیادی جهت شناسایی عوامل ژنتیکی بروز این ناهنجاری نیاز دارد.

همچنین از دیگر محدودیت‌های تحقیق نحوه برقراری ارتباط با ناشنوایان است؛ بنابراین با توجه به حمایت‌های بی‌شائبه کانون‌های ناشنوایی رشت و بندرانزلی در این تحقیق توانستیم

Reference

- [1] Abtahi SHR, Malekzadeh A, Soheilipour S, Salehi M, Taleban R, Rabieian R, et al. Evaluation of GJB2 and GJB6 mutations in patients afflicted with non-syndromic hearing loss. *Int J Pediatr* 2019; 7(2):9053-60. [DOI:10.22038/IJP.2018.34154.3017]
- [2] Amritkumar P, Jeffrey JM, Chandru J, Kalaimathi M, Ramakrishnan R, Karthikeyan NP, et al. Role of DFNB1 mutations in hereditary hearing loss among assortative mating hearing impaired families from South India. *BMC Med Genet*. 2018; 19:105. [DOI:10.1186/s12881-018-0609-6] [PMID] [PMCID]
- [3] Abe S, Nishio SY, Yokota Y, Moteki H, Kumakawa K, Usami SI. Diagnostic pitfalls for GJB2-related hearing loss: A novel deletion detected by Array-CGH analysis in a Japanese patient with congenital profound hearing loss. *Clin Case Rep*. 2018; 6(11):2111-6. [DOI:10.1002/ccr3.1800] [PMID] [PMCID]
- [4] Hashemi SB, Ashraf MJ, Saboori M, Azarpira N, Darai M. Prevalence of GJB2 (CX26) gene mutations in South Iranian patients with autosomal recessive nonsyndromic sensorineural hearing loss. *Mol Biol Rep*. 2012; 39(12):10481-7. [DOI:10.1007/s11033-012-1929-9] [PMID]
- [5] Missoum A. The role of gene GJB2 and connexin 26 in hearing impairment. *Ukr Biochem J*. 2018; 90(6):5-11. [DOI:10.15407/ubj90.06.005]
- [6] Zytars MV, Barashkov NA, Bady-Khoo MS, Shubina-Olejnik OA, Danilenko NG, Bondar AA, et al. Updated carrier rates for c.35delG (GJB2) associated with hearing loss in Russia and common c.35delG haplotypes in Siberia. *BMC Med Genet*. 2018; 19:138. [DOI:10.1186/s12881-018-0650-5] [PMID] [PMCID]
- [7] Bahrami T, Jalilian N, Karbasi G, Noori-Dalooi MR. Specific distribution of GJB2 mutations in Kurdistan province of Iran; Report of a relatively isolated population. *J Sci Islam Repub Iran*. 2017; 28(1):5-11. https://jsciences.ut.ac.ir/article_59397.html
- [8] Bonyadi M, Esmaeili M, Abhari M, Lotfi A. Mutation analysis of familial GJB2-related deafness in Iranian Azeri Turkish patients. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2009; 13(5):689-92. [DOI:10.1089/gtmb.2009.0026] [PMID]
- [9] Mahmoodi H, Mohamadiari S, Sohrab jaidari M, Kordi S, Bakhtiari S, Mahdieh N. [The frequency of mutations in GJB2 gene in deaf subjects referring to the welfare center of Ilam: Lack of 35delG mutation (Persian)]. *J Ilam Univ Med Sci*. 2014; 22(3):41-5. <https://www.magiran.com/paper/1299261>
- [10] Ahangari N, Masoudi M, Poursadegh A, Nejatizadeh A. [Investigating the relationship of genetic mutations in GJB2 and linkage analysis of DFNB4 Locus in a group of non-syndromic hearing impaired people with autosomal recessive inheritance in Hormozgan (Persian)]. *Jorjani Biomed J*. 2014; 2(2):11-8. <http://goums.ac.ir/jorjanijournal/article-1-311-en.html>
- [11] Jahangiri S, Onshori H. [Investigation of the GJB2 gene mutations among subjects with non-syndromic sensorineural hearing loss (Persian)]. *Razi J Med Sci*. 2017; 24(155):33-9. http://rjms.iuams.ac.ir/browse.php?a_id=4475&sid=1.&slc_lang=en
- [12] Kalay E, Caylan R, Kremer H, de Brouwer AP, Karaguzel A. GJB2 mutations in Turkish patients with ARNSHL: Prevalence and two novel mutations. *Hear Res*. 2005; 203(1-2):88-93. [DOI:10.1016/j.heares.2004.11.022] [PMID]
- [13] Minarik G, Ferakova E, Ficek A, Polakova H, Kadasi L. GJB2 gene mutations in Slovak hearing-impaired patients of Caucasian origin: Spectrum, frequencies and SNP analysis. *Clin Genet*. 2005; 68(6):554-7. [DOI:10.1111/j.1399-0004.2005.00529.x] [PMID]
- [14] Azadegan-Dehkordi F, Bahrami T, Shirzad M, Karbasi G, Yazdanpanahi N, Farrokhi E, et al. Mutations in GJB2 as major causes of autosomal recessive non-syndromic hearing loss: First report of c.299-300delAT mutation in Kurdish population of Iran. *J Audiol Otol*. 2019; 23(1):20-6. [DOI:10.7874/jao.2018.00185] [PMID] [PMCID]
- [15] Naddafnia H, Noormohammadi Z, Irani S, Salahshoorifar I. Frequency of GJB2 mutations, GJB6-D13S1830 and GJB6-D13S1854 deletions among patients with non-syndromic hearing loss from the central region of Iran. *Mol Genet Genomic Med*. 2019; 7(7):e00780. [DOI:10.1002/mgg3.780] [PMID] [PMCID]
- [16] Sepahvand M, Kahrizi K, Daneshi A, Riaz Alhosseini Y, Mohseni Marzieh BN. [Relative frequency of GJB2 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic hearing loss (ARNSHL) patients in Lorestan population (Persian)]. *Yafte*. 2007; 8(2):89-95. <http://yafte.lums.ac.ir/article-1-1018-en.html>
- [17] Bazazzadegan N, Nikzat N, Fattahi Z, Nishimura C, Meyer N, Sahraian S, et al. The spectrum of GJB2 mutations in the Iranian population with non-syndromic hearing loss—a twelve year study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2012; 76(8):1164-74. [DOI:10.1016/j.ijporl.2012.04.026] [PMID]
- [18] Eyerci N, Altaş E, Pirim I. GJB2 mutations in Turkish patients with non-syndromic hearing loss. *Meta Gene*. 2016; 10:56-60. [DOI:10.1016/j.mgene.2016.10.006]
- [19] Yu X, Lin Y, Xu J, Che T, Li L, Yang T, et al. Molecular epidemiology of Chinese Han deaf patients with bi-allelic and mono-allelic GJB2 mutations. *Orphanet J Rare Dis*. 2020; 15:29. [DOI:10.1186/s13023-020-1311-2] [PMID] [PMCID]
- [20] Hashemzadeh Chaleshtori M, Hoghooghi Rad H, Dolati M, Sasanfar R, Hoseinipour A, Montazer Zohour M, et al. Frequencies of mutations in the connexin 26 Gene (GJB2) in two populations of Iran (Tehran and Tabriz). *Iran J Publ Health*. 2005; 34(1):1-7. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/emr-71101>
- [21] Bakhchane A, Bousfiha A, Charoute H, Salime S, Detsouli M, Snoussi K, et al. Update of the spectrum of GJB2 gene mutations in 152 Moroccan families with autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *Eur J Med Genet*. 2016; 59(6-7):325-9. [DOI:10.1016/j.ejmg.2016.05.002] [P:D]
- [22] Mahdieh N, Rabbani B, Wiley S, Akbari MT, Zeinali S. Genetic causes of nonsyndromic hearing loss in Iran in comparison with other populations. *J Hum Genet*. 2010; 55(10):639-48. [DOI:10.1038/jhg.2010.96] [PMID]

This Page Intentionally Left Blank