

## Genetic Linkage Analysis of DFNB2 Locus with Autosomal Recessive Hearing Loss in Families Negative for *GJB2* Mutations in Khuzestan Province

Parisa Tahmasebi<sup>1</sup>, Seyed Reza Kazemi Nezhad<sup>2\*</sup>, Mohammad Amin Tabatabaiefar<sup>3</sup>, Javad Mohammadi Asl<sup>4</sup>, Nader Saki<sup>5</sup>

- 1- PhD Student, Department of Genetics, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
- 2- Associate Professor, Department of Genetics, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
- 3- Associate Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
- 4- Assistant Professor, Department of Medical Genetics, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
- 5- Associate Professor, Department of Otolaryngology, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

Received: 30 April 2016, Accepted: 15 Jun 2016

### Abstract

**Background:** Hearing loss is a common sensory impairment in humans which half of its causes are genetic reasons. Genetic hearing loss can be divided into the two types of syndromic and non-syndromic, which 80% of non-syndromic cases is Autosomal Recessive Non-Syndromic Hearing Loss. The aim of the present research is to determine the contribution of DFNB2 locus (*MYO7A* gene) in causing an autosomal recessive hearing loss in the one group of the deaf families of Khuzestan province.

**Materials and Methods:** This study was conducted on 26 families with autosomal recessive hearing loss (with 4 patients) and negative for *GJB2* mutations in Khuzestan province. 22 families suffered from ARNSHL and 4 families suffered from Usher syndrome. Linkage analysis was performed by using STR (Short Tandem Repeat) markers related to DFNB2 locus. Each family's genotype was determined by PCR-PAGE method. Furthermore, haplotypes drawing and LOD score calculations were performed.

**Results:** From 26 families with hearing loss participating in this research, following genetic linkage analysis and haplotypes drawing, two families (7.7% of the families) showed linkage to DFNB2 locus. One family (4.5%) suffered from ARNSHL and another family suffered from Usher syndrome.

**Conclusion:** The results of the present research show that the contribution of DFNB2 locus in causing hearing loss in the population of Khuzestan province was similar to other studies conducted in Iran and this locus with other important loci should be considered to check in the hearing loss panel.

**Keywords:** Autosomal recessive hearing loss, DFNB2 locus, Genetic Linkage.

\*Corresponding Author:

Address: Department of Genetics, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Email: kazemi\_reza@yahoo.de

## بررسی پیوستگی ژنتیکی لوکوس DFNB2 با ناشنوایی اتوزومی مغلوب در خانواده‌های فاقد جهش‌های GJB2 در استان خوزستان

پریسا طهماسبی<sup>۱</sup>، سیدرضا کاظمی نژاد<sup>۲\*</sup>، محمد امین طباطبایی فر<sup>۳</sup>، جواد محمدی اصل<sup>۴</sup>، نادر صاکی<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه ژنتیک، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲- دانشیار، گروه ژنتیک، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳- دانشیار، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۴- استادیار، گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

۵- دانشیار، گروه گوش، حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۲۶

### چکیده

**زمینه و هدف:** ناشنوایی یک نقص حسی رایج در انسان است که نیمی از موارد آن به دلایل ژنتیکی است. ناشنوایی ژنتیکی به انواع نشانگانی و غیر نشانگانی تقسیم می‌شود که ۸۰ درصد موارد غیر نشانگانی از نوع ناشنوایی غیر نشانگانی اتوزومی مغلوب می‌باشند. هدف از پژوهش حاضر تعیین سهم لوکوس DFNB2 (ژن MYO7A) در ایجاد ناشنوایی اتوزومی مغلوب در گروهی از خانواده‌های ناشنوای استان خوزستان می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه بر روی ۲۶ خانواده دارای ناشنوایی اتوزومی مغلوب با حداقل ۴ فرد ناشنوا و منفی برای جهش‌های GJB2 در استان خوزستان انجام گردید. ۲۲ خانواده دارای ARNSHL و ۴ خانواده دارای سندرم آشر بودند. تجزیه و تحلیل پیوستگی با استفاده از نشانگرهای STR (تکرار پشت سر هم کوتاه) مربوط به لوکوس DFNB2 انجام شد. ژنوتیپ مربوط به هر خانواده با روش PCR-PAGE تعیین گردید. هم چنین رسم هاپلوتایپ و محاسبه امتیاز LOD انجام گردید.

**یافته‌ها:** از مجموع ۲۶ خانواده ناشنوای مورد مطالعه در این تحقیق، پس از بررسی پیوستگی و رسم هاپلوتایپ، دو خانواده (۷/۷ درصد) به لوکوس DFNB پیوستگی نشان دادند. از میان خانواده‌ها، یک خانواده (۴/۵ درصد) دارای ARNSHL و یک خانواده دارای سندرم آشر بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که سهم لوکوس DFNB2 در ایجاد ناشنوایی در جمعیت استان خوزستان مشابه با سایر مطالعات انجام شده در کشور است و این لوکوس بایستی به همراه سایر لوکوس‌های مهم جهت بررسی در پانل ناشنوایی مورد توجه قرار گیرد.

**واژگان کلیدی:** ناشنوایی اتوزومی مغلوب، لوکوس DFNB2، پیوستگی ژنتیکی

\* نویسنده مسئول: ایران، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، گروه ژنتیک

Email: kazemi\_reza@yahoo.de

## مقدمه

مطابق با تخمین سازمان بهداشت جهانی، ۵/۳ درصد از جمعیت دنیا (۳۶۰ میلیون نفر) دارای نقص شنوایی هستند که ۹۱ درصد (۳۲۸ میلیون نفر) آن‌ها را افراد بالغ و ۹ درصد (۳۲ میلیون نفر) این تعداد را کودکان تشکیل می‌دهند (۱). شیوع ناشنوایی در کشورهای در حال توسعه نسبت به کشورهای توسعه یافته بالاتر است. این نقص حسی می‌تواند بر اثر علل محیطی، ژنتیکی یا ترکیبی از این دو ایجاد گردد. ناشنوایی ژنتیکی به دو دسته نشانگان غیر نشانگانی تقسیم می‌شود. همانند سایر نقایص، در ناشنوایی نشانگانی تنوع آسیب گسترده است، در حالی که در نوع غیر نشانگانی تنها نشان و ویژگی بالینی نقص شنوایی در فرد است که در ۸۰ درصد موارد الگوی اصلی وراثت آن اتوزومی مغلوب است و به نام ناشنوایی غیر نشانگانی اتوزومی مغلوب معرفی می‌گردد (۲).

تخمین زده می‌شود که حدود ۱ درصد ژن‌های انسان در فرآیند شنوایی دخالت داشته باشند (۳). امروزه با پیشرفت تکنیک‌های مهندسی ژنتیک شاهد رشد چشم‌گیری در شناسایی لوکوس‌ها و ژن‌های مربوط به ناشنوایی هستیم، به طوری که تاکنون بیش از ۸۰ لوکوس در ARNSHL پیدا شده است و نیمی از ژن‌های مربوط به این لوکوس‌ها نیز شناسایی شده‌اند (۴). با توجه به طبیعت فوق العاده ناهمگن این بیماری، تنوع جمعیتی و هم چنین سهم کم جهش‌های *GJB2* (۱۸/۱۷ درصد) (۵) در کشور ما نسبت به جمعیت‌های آمریکای شمالی، مدیترانه‌ای و اروپایی، جهش‌های *GJB2* علل بیش از نیمی از موارد در این جمعیت‌ها هستند (۶). بررسی لوکوس‌های دیگر ناشنوایی برای اقوام مختلف ایران ضروری به نظر می‌رسد. از سوی دیگر مطالعات اولیه در استان خوزستان نشان می‌دهد که فراوانی نرخ جهش *GJB2* بسیار کم‌تر از میانگین کشور است (۴/۱ درصد و صفر درصد) (۷، ۸) و ژن‌های دیگری مسئول ناشنوایی در این استان می‌باشند.

لوکوس DFNB2 یکی از جایگاه‌های مهم در ایجاد ناشنوایی اتوزومی مغلوب است. ژن این لوکوس یعنی

*MYO7A* کد کننده میوزین VIIA است که به طور اختصاصی در بافت‌های اپی تلیال از جمله گوش داخلی و شبکه چشم بیان می‌شود. در انسان جهش در ژن *MYO7A* باعث ناشنوایی غیر نشانگانی اتوزومی مغلوب (DFNB2) با شدت عمیق می‌شود. هم چنین مشخص شده است که جهش‌های این ژن با ناشنوایی غیر نشانگانی اتوزومی غالب (DFNA11) و سندرم آشر تیپ ۱ در ارتباط است (۹، ۱۰). بیش از ۲۰۰ موتاسیون در ناشنوایی اتوزومی مغلوب مرتبط با این ژن شناسایی شده است، اما بیش‌تر آن‌ها منجر به سندرم آشر تیپ ۱ می‌شوند که با نشان ویژگی‌های ناشنوایی مادرزادی، از نوع حسی-عصبی، دو طرفه عمیق، عدم پاسخ دهلیزی و رتیت پیگمنتوزا با سن شروع بزرگ‌سالی همراه است (۱۰، ۱۱).

هدف از پژوهش حاضر که برای اولین بار در جمعیت ناشنوای استان خوزستان انجام گردید، تعیین سهم لوکوس DFNB2 در ایجاد ناشنوایی در گروهی از خانواده‌های ناشنوای این استان می‌باشد. با توجه به تعداد زیاد ناشنوایان در این استان، نرخ بالای ازدواج خویشاوندی و حضور گروه‌های قومیتی مختلف در آن، انجام این مطالعه ضروری به نظر می‌رسد.

## مواد و روش‌ها

## نمونه‌برداری و استخراج DNA

در این مطالعه توصیفی-آزمایشگاهی، ۲۶ خانواده بزرگ فاقد جهش‌های پاتوژنیک *GJB2* با حضور ۴ ناشنوا یا بیش‌تر در شجره، الگوی توارث بیماری به صورت اتوزوم مغلوب، عدم دخالت عوامل محیطی (مانند عفونت‌ها و داروهای سمی برای گوش) در ایجاد بیماری، بیماران حاصل از ازدواج خویشاوندی و دارای والدین سالم از میان خانواده‌های ناشنوای استان خوزستان انتخاب شدند. ناشنوایی به صورت پیش از تکلم و غیرپیش رونده بود. هم چنین، کلیه بیماران برای ریخت شناسی ظاهری گوش، خصوصیات بدریختی چهره، عقب افتادگی ذهنی بررسی و موارد مثبت از مطالعه خارج شدند. چهار خانواده از خانواده‌های مذکور

لوکوس DFNB2 از طریق تجزیه و تحلیل پیوستگی ژنتیکی مورد بررسی قرار گرفت. انتخاب نشانگرهای STR براساس جستجو در NCBI MapViewer و انتخاب پرایمرها مطابق با NCBI Uni STS صورت گرفت (جدول ۱). از جمله شاخص‌های مهم انتخاب این نشانگرها، نزدیکی به لوکوس مورد نظر، وجود دامنه تغییرات در طول محصول PCR، دارا بودن کم‌ترین میزان باند ثانویه و هتروزیگوت بودن پدر و مادر برای یک نشانگر معین بود. در صورتی که برای هر یک از خانواده‌ها نشانگری بی‌معنی بود، از نشانگر دیگری در منطقه لوکوس مورد بررسی استفاده می‌گردید.

علائم سندرم آش را نشان دادند که جهت بررسی وارد مطالعه گردیدند. در ادامه پس از تکمیل پرسش‌نامه، ترسیم و بررسی شجره‌نامه و اخذ رضایت‌نامه، به میزان ۵ میلی‌لیتر خون محیطی در لوله‌های حاوی EDTA نیم مولار از کلیه افراد هر خانواده گرفته شد. سپس DNA به روش معمول فنل-کلروفرم استخراج گردید (۱۲). غلظت DNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ (UNICO 2100، آمریکا) اندازه‌گیری شد.

### انتخاب نشانگرهای STR جهت تحلیل پیوستگی

در این پژوهش که شجره‌های منفی برای جهش‌های ژن *GJB2* بررسی شدند، پیوستگی بیماری به

#### جدول ۱. اسامی نشانگرهای مورد استفاده و پرایمرهای مربوطه

لوکوس (ژن)	نشان‌گر	دامنه محصول (PCR)(bp)	توالی پرایمر پیش رو (۵'>۳')	توالی پرایمر معکوس (۳'>۵')
DFNB2 (MYO7A)	D11S4179	200-256	GGATGTAAGAGTAACTGGCTCCG	GAAAATGTTCTGCCTGAGGG
	D11S4186	154-175	ATTCTCCCAATCTATCGCTC	GGGCAGTAATGATGATGTG
	D11S4187	217-265	CAGCAAGATCCTGTCTCAA	CTCCTTAAAGTGGGGGAGTT
	D11S911	159-203	CTTCTCATGCTTGACCATT	CTTCTGAACAATGCCACAT

الکتروفورز شده و (۱۳) با نیترات نقره رنگ آمیزی شدند، سپس باندها رویت گردیدند.

#### جدول ۲. برنامه دمایی PCR مربوط به نشانگرهای لوکوس DFNB2

مرحله	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان	تعداد سیکل‌ها
۱. دناتوراسیون اولیه	۹۵	۵ دقیقه	۱
۲. مرحله دناتوراسیون، اتصال و گسترش	۶۱-۶۲*	۱ دقیقه	۲۵-۲۷*
۳. گسترش نهایی	۷۲	۱ دقیقه	۱

\* دمای اتصال و تعداد سیکل‌ها برای نشانگرهای مختلف متفاوت بود.

### تجزیه و تحلیل پیوستگی، محاسبه ارزش S-Link و امتیاز LOD

در شجره‌های مورد بررسی جهت محاسبه ارزش SLINK، از نرم افزار FastSlink نسخه ۲/۵۱ استفاده شد (۱۴). برای محاسبه امتیاز LOD پارامترهای دو نقطه‌ای و چند نقطه‌ای، به ترتیب از نرم افزار Superlink نسخه ۱/۶

### واکنش PCR برای تعیین ژنوتیپ نشانگرهای STR

در مخلوط واکنش PCR، برای هر کدام از نشانگرهای مورد بررسی از پرایمرهای مربوط به آن نشانگر به همراه سایر مواد لازم به قرار زیر استفاده گردید. هر میکروتیوب شامل ۱۲ میکرولیتر  $MgCl_2$  ۱۵ میلی مولار Taq2x Master Mix Red (Ampliqon، دانمارک)، ۱ میکرولیتر (۱۰ پیکو مول) از هر پرایمر، ۱ میکرولیتر از DNA الگو (۵۰ نانوگرم) بود که با آب مقطر به حجم نهایی ۲۵ رسانده شد. با توجه به دمای اتصال متفاوت پرایمرهای مربوط به هر نشانگر، تعداد سیکل‌های متفاوت جهت انجام مناسب هر PCR و هم‌چنین برنامه عمومی دمایی PCR در جدول ۲ آورده شده است. بعد از تکثیر قطعات مورد نظر با واکنش PCR، نمونه‌های مربوط به هر خانواده مستقل از خانواده‌های دیگر بر روی ژل پلی‌آکریل امید ۸ تا ۱۲ درصد با ولتاژ ۱۶۰ به مدت ۲ تا ۳ ساعت

پیوستگی و رسم هاپلوتایپ با نرم افزار مربوطه دو خانواده (۷/۷ درصد) به لوکوس DFNB2 پیوستگی نشان دادند.

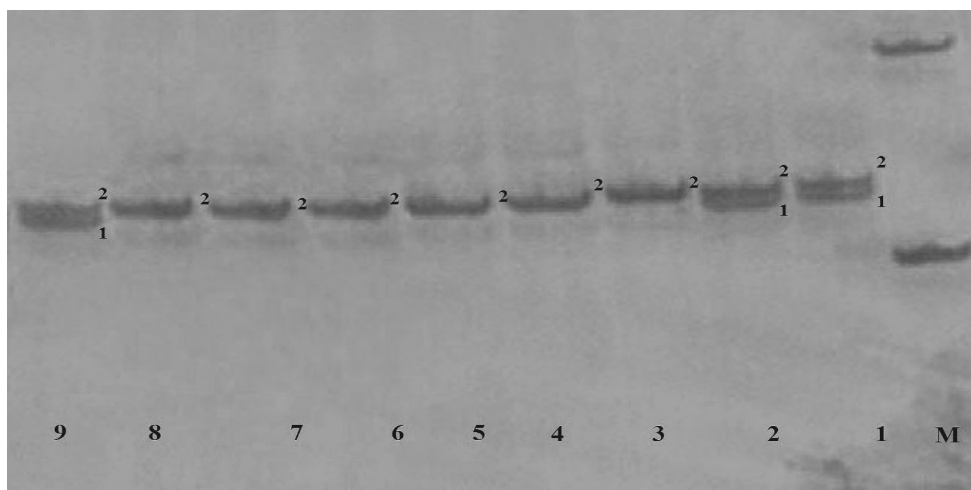
### خانواده Mas-3: این خانواده از قومیت

بختیاری و دارای ۶ فرد بیمار بود. با توجه به هموزیگوسیتی همه‌ی افراد ناشنوا برای ۴ نشانگر D11S4179، D11S4186، D11S911 و D11S4079، این خانواده به لوکوس DFNB2 پیوستگی نشان داد. تجزیه و تحلیل پیوستگی برای نشانگر D11S4179 بروی ژل آکریل امید ۸ درصد برای تعدادی از اعضای این خانواده در شکل ۱ نشان داده شده است. اعضای بیمار این خانواده ARNSHL را به صورت پیش از تکلم و شدید نشان دادند. در این خانواده هاپلوتایپ (۲-۳-۳-۲) به صورت هموزیگوت همراه با ناشنوایی تفکیک گردید (شکل ۲). امتیاز SLINK برای این خانواده ۵/۱۲، ماکزیمم امتیاز LOD دو نقطه‌ای ۳/۱۲ و ماکزیمم امتیاز LOD چند نقطه‌ای ۴/۸۶ بود.

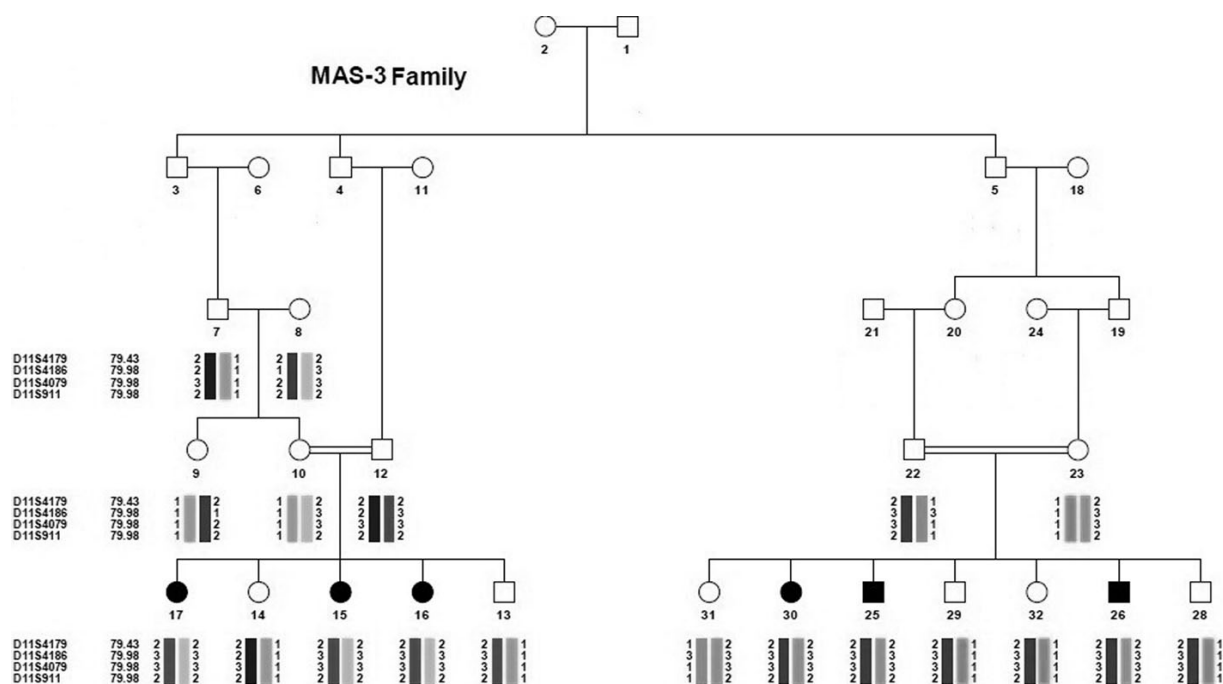
(۱۵) و Simwalk نسخه ۲/۹۱ (۱۶) استفاده شد. جهت محاسبه امتیاز LOD دو نقطه‌ای و چند نقطه‌ای، الگوی وراثتی مغلوب اتوزومی، نفوذ کامل، فنوکی صفر و فراوانی آلل بیماری یک هزارم، فراوانی نوترکیبی در مرد و زن برابر فرض گردید. پس از تجزیه و تحلیل پیوستگی نیز، ترسیم هاپلوتایپ (مجموعه ژنوتیپ نشانگرهای مجاور) با کمک نرم افزار HaploPainter نسخه ۲۹/۵ (۱۷) صورت پذیرفت.

### یافته‌ها

در این پژوهش که بروی خانواده‌های ناشنوا در استان خوزستان انجام گردید، تمام ۲۶ شجره دارای ملیت ایرانی و از اقوام مختلف ساکن این استان بودند. در این مطالعه، ۷۳ درصد خانواده‌ها از قومیت عرب، ۱۹/۳ درصد از قومیت بختیاری و ۷/۷ درصد از قومیت لر بودند. تمام بیماران از والدین سالم و حاصل ازدواج خویشاوندی بودند. اکثر بیماران دارای ناشنوایی شدید تا عمیق دو طرفه بودند. هم چنین الگوی وراثت ناشنوایی بر اساس اطلاعات حاصل از شجره به صورت اتوزومی مغلوب تایید گردید. در خانواده‌های مورد مطالعه جهت رد پیوستگی حداقل از دو نشانگر معنی‌دار استفاده گردید. در مجموع پس از بررسی



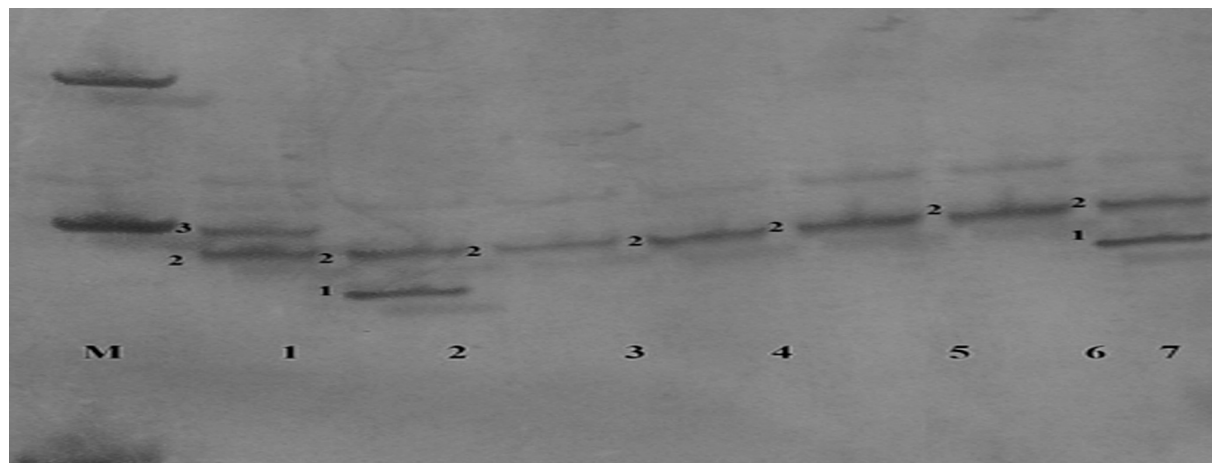
شکل ۱. تجزیه و تحلیل پیوستگی در خانواده Mas-3 برای نشانگر D11S4179 بروی ژل آکریل آمید. ستون M نشانگر اندازه (۱۰۰+bp): ۱: پدر، ۲: مادر، ۳-۸: افراد بیمار، ستون ۹: فرزند سالم. ژنوتیپ بیماران به صورت هموزیگوت یعنی یک باند منفرد مشاهده می‌گردد.



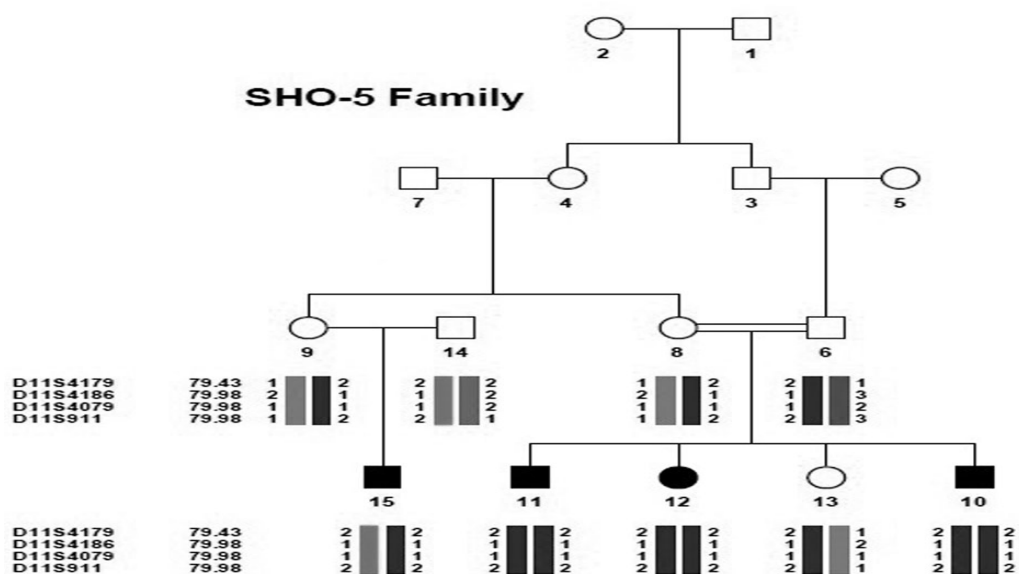
شکل ۲. پیوستگی خانواده Mas-3 به لوکوس DFNB2. هاپلوتیپ (۲-۳-۳-۲) در همه بیماران مشاهده گردید. ترتیب نشانگرها بر اساس نقشه Marshfield STR می‌باشد.

کوری، عدم تعادل مشاهده شد که به عنوان نشانگر آشر تشخیص داده شد. هم چنین بیماران دارای ناشنوایی عمیق بودند. در این خانواده هاپلوتیپ (۲-۱-۱-۲) به صورت هموزیگوت همراه با ناشنوایی تفکیک گردید (شکل ۴). امتیاز SLINK برای خانواده ۲/۴۱، ماکزیم امتیاز LOD دو نقطه‌ای ۱/۹۰ و ماکزیم امتیاز LOD چند نقطه‌ای ۲/۲۵ بود.

**خانواده Sho-5**: این خانواده از قومیت لر و دارای ۴ بیمار بود. با توجه به هموزیگوسیتی همه‌ی افراد ناشنوا برای ۴ نشانگر D11S911, D11S4186, D11S4179 و D11S4079 این خانواده به لوکوس DFNB2 پیوستگی نشان داد. تجزیه و تحلیل پیوستگی به کمک نشانگر D11S911 بروی ژل آکریل امید ۸ درصد برای تعدادی از اعضای این خانواده در شکل ۳ آورده شده است. در افراد بیمار این خانواده علاوه بر ناشنوایی، ضعف بینایی، شب



شکل ۳. تجزیه و تحلیل پیوستگی در خانواده Sho-5 برای نشانگر D11S911 بروی ژل آکریل آمید. ستون M نشانگر اندازه (۱۰۰ bp)، ۱: پدر، ۲: مادر، ۳-۶: افراد بیمار، ستون ۷: فرزند سالم. ژنوتیپ بیماران به صورت هموزیگوت یعنی یک باند منفرد مشاهده می‌گردد.



شکل ۴. پیوستگی خانواده Sho-5 به لوکوس DFNB2. هاپلوتیپ (۲-۱-۱-۲) در همه بیماران مشاهده گردید. ترتیب نشانگرها بر اساس نقشه Marshfield STR می‌باشد.

اکتین را برعهده دارند، در حالی که میوزین‌های غیر معمول بسیار متنوع هستند و نقش‌های سلولی مهمی از قبیل نقل و انتقال وزیکول و اندوسیتوز بر عهده دارند(۱۸). سلول‌های غیر ماهیچه‌ای چندین نوع متفاوت میوزین غیر معمول بیان می‌کنند که برخی برای فرآیند شنوایی ضروری هستند. *MYO7A* از جمله میوزین‌های غیر معمول است که دارای ۳ ناحیه ساختاری و عملکردی است و ۲۲۱۵ آمینو اسید دارد(۱۹). ژن *MYO7A* دومین ژن DFNB است که شناسایی گردید. چهار موتاسیون در ژن *MYO7A* مرتبط با ARNSHL گزارش شده است(۱۱، ۲۰، ۲۱). جهش در این ژن در جمعیت‌های مختلف ایرانی، پاکستانی، ترکی، عرب‌های فلسطین و یهودیان اسرائیلی در خاورمیانه گزارش شده است(۲). هم‌چنین مطالعات مختلف نشان می‌دهند که ژن *MYO7A* مسئول اصلی و اولین ژن کاندید جهت بررسی موارد ناشنوایی - نایبایی است و علت ۲۹ تا ۵۰ درصد این موارد در جمعیت‌های مختلف به جهش‌های این ژن مربوط می‌گردد(۹). نتایج حاصل از بررسی حاضر با مطالعات انجام گرفته در ایران و جهان هم‌سو می‌باشد.

در مطالعه‌ای که در کشور ترکیه توسط دومان و همکاران انجام شد (۲۰۱۱)، ۴۹ خانواده ناشنوا که در

## بحث

در این مطالعه به پیوستگی لوکوس DFNB2 با ناشنوایی در جمعیت استان خوزستان پرداخته شد. با استفاده از روش تجزیه و تحلیل پیوستگی و بررسی هاپلوتایپ نشانگرهای STR در محدوده لوکوس DFNB2، از مجموع ۲۶ شجره بزرگ (با اولویت ۴ ناشنوا یا بیشتر) مورد بررسی فاقد جهش‌های پاتوژنیک *GJB2*، دو خانواده (۷/۷ درصد خانواده‌ها) به این لوکوس پیوستگی نشان دادند. یک خانواده (۴/۵ درصد) دارای ARNSHL و یک خانواده دارای سندرم آشر بود. مطالعه حاضر اولین پژوهش جهت بررسی نقش این لوکوس در جمعیت ناشنوی این استان می‌باشد. به دلیل نقش این لوکوس در ایجاد ARNSHL و سندرم آشر، پیوستگی آن در تمام خانواده‌های دارای ARNSHL و چهار خانواده دارای سندرم آشر حاضر در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت.

میوزین VIIA عضوی از خانواده‌ی میوزین‌ها است. به طور کلی سوپر خانواده میوزین‌ها بر مبنای میزان شباهت توالی دمین حرکتی کاتالیتیکی حفاظت شده (سر میوزین) به دو دسته‌ی میوزین‌های معمول و غیر معمول طبقه‌بندی می‌شوند. دسته اول تنظیم انقباض فیلامنت‌های

بالای ۴ فرد ناشنوا انجام شده است. در مجموع مطالعات انجام شده در ایران نشان می‌دهد که لوکوس DFNB2 یکی از علل مهم ایجاد ناشنوایی در جمعیت ماست و این لوکوس بایستی در کنار لوکوس‌های حائز اهمیت دیگری هم چون DFNB1، DFNB3 و DFNB4 در پنل ناشنوایی مورد بررسی قرار گیرد (۲۵-۲۳).

این مطالعه هم‌چنین سهم مهم این لوکوس در ایجاد ناشنوایی را در جمعیت استان خوزستان نشان می‌دهد. موقعیت حساس و ویژه این استان به دلیل حضور گروه‌های قومیتی مختلف در آن پیشنهاد دهنده هتروژنی بالا در این جمعیت است. به علاوه از نظر تعداد بیماران مبتلا به ناشنوایی نیز جزو استان‌های با شیوع بالا در کشور محسوب می‌شود. از سوی دیگر نرخ بالای ازدواج خویشاوندی در میان برخی از گروه‌های قومیتی آن (از جمله قومیت عرب) نسبت به میزان متوسط ازدواج خویشاوندی در کشور (۳۸/۶ درصد) (۲۶) احتمالاً منجر به افزایش هموزیگوسیتی در برخی از لوکوس‌ها و موتاسیون‌ها درون آن قومیت می‌گردد.

در مطالعه حاضر، لوکوس DFNB2 نقشی در ایجاد ناشنوایی در قومیت عرب مورد بررسی که بیشترین درصد قومیتی (۷۳ درصد) در مطالعه را به خود اختصاص داده، ندارد، بنابراین احتمالاً این لوکوس در ایجاد ناشنوایی در این قومیت چندانی حائز اهمیت نیست و سایر لوکوس‌ها مسئول بیماری در آن هستند. البته با توجه به تعداد کم خانواده‌های حاضر در این مطالعه بایستی این لوکوس را در حجم نمونه‌ای بالاتر در قومیت مورد نظر بیشتر بررسی کرد. بنا به آنچه گفته شد استان خوزستان یکی از غنی‌ترین مخازن ژنتیکی جهت بررسی ناشنوایی اتوزوم مغلوب است. این امر لزوم مطالعه لوکوس‌های مهم در ناشنوایی و تعیین سهم هر یک از آن‌ها در ایجاد بیماری را در این استان روشن‌تر می‌سازد. به ویژه آن که طبق اطلاعات موجود مقدار اندکی از علت ناشنوایی در این جمعیت با جهش‌های *GJB2* در ارتباط است (۷، ۸).

از آن جا که ژن *MYO7A* یک ژن بزرگ و دارای ۴۹ اگزون می‌باشد، انجام کامل تعیین توالی اگزون‌ها

ژن‌های *GJB6, GJB2* و *MTRNR1* فاقد جهش بودند، بررسی شدند. این مطالعه نشان داد که ژن *MYO7A* چهارمین علت ناشنوایی در این جمعیت بوده و جهش‌های آن در ۳/۳ درصد از خانواده‌های مورد بررسی مشاهده گردید (۲۱).

از دیگر مطالعات در این زمینه می‌توان به مطالعه شاهین و همکاران (۲۰۱۰) اشاره کرد که بر روی ۲۰ خانواده فلسطینی دارای ۲ تا ۱۲ فرد ناشنوا انجام شد. در این مطالعه که بر اساس شناسایی مناطق هموزیگوت در مبتلایان به ناشنوایی انجام گردید، ارتباط ناشنوایی در ۱۴ خانواده با لوکوس‌های متفاوت نشان داده شد که در این میان لوکوس DFNB2 در یک خانواده به میزان ۵ درصد مسئول ناشنوایی بود (۲۲).

در ایران نیز چندین مطالعه به بررسی پیوستگی ژنتیکی لوکوس‌های مرتبط با ناشنوایی پرداخته‌اند. بابانژاد و همکاران در سال ۲۰۱۲ در یک مطالعه‌ی گسترده با استفاده از تجزیه و تحلیل پیوستگی نشانگرهای STR، نقش ۳۳ ژن را در ایجاد ناشنوایی در ۱۴۴ خانواده از استان‌های مختلف و دارای ۲ یا بیشتر فرد ناشنوا و منفی برای جهش‌های *GJB2* مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه، ۴ خانواده (۲/۷ درصد) به لوکوس پیوستگی DFNB2 نشان دادند (۲۳). در مطالعه‌ای که توسط طباطبائی فر و همکاران بر روی ۱۵ لوکوس در ۳۱ خانواده ARNSHL و منفی برای جهش‌های *GJB2* از مجموع ۷ استان انجام شد، یک خانواده (۳/۲ درصد) به DFNB2 پیوستگی نشان دادند (۲۴). صادقی و همکاران نیز (۲۰۰۹) در مطالعه‌ای بر روی سهم چهار لوکوس DFNB و ژن *GJB2* در ایجاد ARNSHL در ۴۰ خانواده ناشنوای ساکن استان‌های مرکزی و قم نشان دادند که میزان پیوستگی یک خانواده از میان ۴۰ خانواده، ۲/۵ درصد به لوکوس DFNB2 بود (۲۵).

یادآور می‌گردد اکثر مطالعات انجام شده در کشور بر روی ترکیبی از جمعیت چند استان مختلف و در خانواده‌های دارای ۲ فرد ناشنوا صورت گرفته و به ندرت مطالعاتی در یک جمعیت خاص در خانواده‌های با تعداد



اهواز جهت حمایت مالی و فراهم آوردن امکانات لازم جهت اجرای تحقیق نهایت تقدیر و تشکر را به عمل می‌آورند. هم‌چنین از تمام بیماران و خانواده‌های محترم آن‌ها جهت همکاری و شرکت در این تحقیق صمیمانه سپاس‌گزاری می‌نمایند.

### منابع

1. Organization WH. WHO global estimates on prevalence of hearing loss. Mortality and Burden of Diseases and Prevention of Blindness and Deafness WHO. 2012.
2. Najmabadi H, Kahrizi K. Genetics of non-syndromic hearing loss in the Middle East. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2014;78(12):2026-36.
3. Friedman TB, Griffith AJ. Human Nonsyndromic Sensorineural Deafness. *Annual review of genomics and human genetics*. 2003;4(1):341-402.
4. Hereditary Hearing Loss Homepage. <http://hereditaryhearingloss.org>. last update: May 13<sup>th</sup> 2015.
5. Mahdih N, Rabbani B, Wiley S, Akbari MT, Zeinali S. Genetic causes of nonsyndromic hearing loss in Iran in comparison with other populations. *Journal of human genetics*. 2010;55(10):639-48.
6. Frei K, Ramsebner R, Lucas T, Hamader G, Szuhai K, Weipoltshammer K, et al. GJB2 mutations in hearing impairment: identification of a broad clinical spectrum for improved genetic counseling. *The Laryngoscope*. 2005;115(3):461-5.
7. Hosseinipour A, Hashemzadeh Chaleshtori M, Sasanfar R, Farhud DD, Tolooi A, Doulati M, 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(1):47-50.
8. Galehdari H, Foroughmand AM, Soorki MN, Mohammadian G. Absence of mutations in GJB2 (Connexin-26) gene in an ethnic group of southwest Iran. *Indian journal of human genetics*. 2009;15(1):9-12.
9. Millán JM, Aller E, Jaijo T, Blanco-Kelly F, Gimenez-Pardo A, Ayuso C. An update on the

برای خانواده‌های پیوسته با این لوکوس کاری زمان‌بر و پرهزینه می‌باشد. بنابراین در آینده نزدیک، تعیین دقیق جهش‌ها در خانواده‌های پیوسته به این لوکوس با استفاده از تکنیک NGS (تعیین توالی نسل بعدی) صورت خواهد گرفت.

### نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر که نخستین بررسی در تعیین نقش لوکوس DFNB2 در ایجاد ناشنوایی در استان خوزستان است، نشان‌دهنده سهم ۴/۵ درصدی این لوکوس در ایجاد ناشنوایی در جمعیت مورد مطالعه است. به منظور پی بردن به علت بیماری در خانواده‌های باقی مانده این مطالعه، بایستی لوکوس‌هایی با شیوع بالاتر در کشور و منطقه را مورد بررسی قرار داد. هم‌چنین با توجه به بزرگی ژن *MYO7A*، در آینده از تکنیک NGS جهت تعیین واریانت‌های پاتوژنیک در خانواده‌های پیوسته به آن استفاده می‌گردد. پیشنهاد می‌شود که حجم نمونه بزرگ‌تری برای بررسی این جمعیت از لحاظ لوکوس DFNB2 انتخاب شود.

نتایج حاصل از بررسی‌های ژنتیکی از این قبیل می‌تواند در غربالگری ناشنوایی و به دنبال آن مشاوره ژنتیک جهت شناسایی حاملین و کنترل و کاهش میزان ناشنوایی ارثی هم‌چنین انتخاب راه‌کارهای درمانی مانند PGD در این جمعیت مورد استفاده قرار گیرد.

### تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه پریسا طهماسبی دانشجوی دکترای دانشگاه شهید چمران اهواز با عنوان "بررسی پیوستگی ژنتیکی ۵ لوکوس دخیل در ناشنوایی غیر سندرمی اتوزومی مغلوب در استان خوزستان" می‌باشد که در قالب طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز به شماره U-91074 انجام گرفت. نویسندگان این مقاله از دانشگاه شهید چمران اهواز و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور

- genetics of usher syndrome. *Journal of ophthalmology*. 2010;2011.
10. Rong W, Chen X, Zhao K, Liu Y, Liu X, Ha S, et al. Novel and recurrent MYO7A mutations in Usher syndrome type 1 and type 2. *PLoS One*. 2014;9(5):e97808.
  11. Riazuddin S, Nazli S, Ahmed ZM, Yang Y, Zulfiqar F, Shaikh RS, et al. Mutation spectrum of MYO7A and evaluation of a novel nonsyndromic deafness DFNB2 allele with residual function. *Human mutation*. 2008;29(4):502-11.
  12. Grimberg J, Nawoschik S, Belluscio L, McKee R, Turck A, Eisenberg A. A simple and efficient non-organic procedure for the isolation of genomic DNA from blood. *Nucleic acids research*. 1989;17(20):8390-.
  13. Rezaeian F, Tabatabaiefar MA, Heybati F, Reisi S, Parchami S, Abolhasani M, et al. Genetic linkage analysis of DFNB93 locus in a group of families with autosomal recessive non-syndromic hearing loss in Chahar Mahal & Bakhtiari and Kohkiluyeh & Boyer Ahmad provinces of Iran. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 2014;16(4).
  14. Ott J, Lathrop G. SLINK: a general simulation program for linkage analysis. *Am J Human Genet*. 1990;47:A204.
  15. Fishelson M, Geiger D. Exact genetic linkage computations for general pedigrees. *Bioinformatics*. 2002;18(suppl 1):S189-S98.
  16. Sobel E, Sengul H, Weeks DE. Multipoint estimation of identity-by-descent probabilities at arbitrary positions among marker loci on general pedigrees. *Human heredity*. 2001;52(3):121-31.
  17. Thiele H, Nürnberg P. HaploPainter: a tool for drawing pedigrees with complex haplotypes. *Bioinformatics*. 2005;21(8):1730-2.
  18. Thompson RF, Langford GM. Myosin superfamily evolutionary history. *The Anatomical Record*. 2002;268(3):276-89.
  19. Weil D, Blanchard S, Kaplan J, Guilford P, Gibson F, Walsh J, et al. Defective myosin VIIA gene responsible for Usher syndrome type 1B. *Nature*. 1995;374(6517):60-1.
  20. Hildebrand MS, Thorne NP, Bromhead CJ, Kahrizi K, Webster JA, Fattahi Z, et al. Variable hearing impairment in a DFNB2 family with a novel MYO7A missense mutation. *Clinical genetics*. 2010;77(6):563-71.
  21. Duman D, Sirmaci A, Cengiz FB, Ozdag H, Tekin M. Screening of 38 genes identifies mutations in 62% of families with nonsyndromic deafness in Turkey. *Genetic testing and molecular biomarkers*. 2011;15(1-2):29-33.
  22. Shahin H, Walsh T, Rayyan AA, Lee MK, Higgins J, Dickel D, et al. Five novel loci for inherited hearing loss mapped by SNP-based homozygosity profiles in Palestinian families. *European Journal of Human Genetics*. 2010;18(4):407-13.
  23. Babanejad M, Fattahi Z, Bazazzadegan N, Nishimura C, Meyer N, Nikzat N, et al. A comprehensive study to determine heterogeneity of autosomal recessive nonsyndromic hearing loss in Iran. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2012;158(10):2485-92.
  24. Tabatabaiefar MA, Alasti F, Montazer Zohour M, Shariati L, Farrokhi E, Farhud DD, et al. Genetic Linkage Analysis of 15 DFNB Loci in a Group of Iranian Families with Autosomal Recessive Hearing Loss Iranian J PubHealth. 2011;40(2):34-48.
  25. Sadeghi A, Sanati M, Alasti F, Hashemzadeh Chaleshtori M, Mahmoudian S, Ataei M. Contribution of GJB2 mutations and Four common DFNB loci in autosomal recessive non-syndromic hearing impairment in Markazi and Qom provinces of Iran. *Iran J Biotechnol*. 2009;7(2):108-211.
  26. Saadat M, Ansari-Lari M, Farhud DD. Consanguineous marriage in Iran. *Ann Hum Biol*. 2004;31(2):263-9.