فراوانی جهش‌های ژن کانکسین26 در ناشنوایان غیرسندرمی اتوزومی مغلوب استان کرمانشاه (82 - 1380)

نجات مهدیه*؛ کارلا نیشیمورا ** ؛ کامران علیمددی***؛ هیلدا یزدان***؛ سعید کاظمی***؛ یاسر ریاض‌الحسینی*؛
ساناز ارژنگی*؛ نیلوفر بزازادگان*؛ مهدی توتونچی*؛ ریچارد جی.اچ.اسمیت **؛ حسین نجم آبادی*

چکیده

سابقه و هدف: *کاهش شنوایی شایع‌ترین نقص حسی با فراوانی 1 نفر از هر 1000 کودک تازه متولدشده در انسان است که بیش از 50 درصد از این موارد ژنتیکی هستند. جهش‌های ژن کانکسین 26 یا GJB2 به تنهایی مسئول نیمی از ناشنوایی‌های ژنتیکی از نوع غیرسندرمی حسی- عصبی اتوزومی مغلوب می باشند. هدف این مطالعه تعیین میزان جهش‌های ژن GJB2 در افراد مبتلا به ناشنوایی غیرسندرمی با توراث اتوزومی مغلوب در استان کرمانشاه بود.*

مواد و روش‌ها: *این مطالعه از نوع مشاهده‌ای و توصیفی است که در روی ناشنوایی های ژنتیکی اتوزومی مغلوب از نوع غیرسندرمی نوع حسی- عصبی صورت گرفت. برای غربال‌گری جهش‌های ژن GJB2 در 77 خانواده از بین ناشنوایان مراجعه‌کننده به مراکز مشاوره ژنتیک سازمان بهزیستی استان که دارای افراد مبتلا به ناشنوایی حسی- عصبی بودند، ابتدا با استفاده از تکنیک Allele-Specific PCR نمونه های با جهش هموزیگوت 35delG تشخیص داده شدند. سپس نمونه‌هایی که در آنالیز dHPLC پروفایل های ناهنجار داشتند، تعیین توالی مستقیم شدند. در نهایت فراوانی جهش‌ها برحسب تعداد افراد و کروموزوم ها محاسبه گردید.*

یافته‌ها: *در کل، 23/38 درصد افراد ناشنوا جهش در ژن GJB2 را نشان دادند. به عبارت دیگر، در این تحقیق 154 کروموزوم بررسی شد که 29 کروموزوم (18/83%) در ژن GJB2 جهش داشتند که بالاترین میزان به جهش 35delG (58/62% کل جهش‌ها) مربوط می شد. همچنین فراوانی این جهش از غرب به شرق استان کاهش می‌یافت. بعد از 35delG، سه جهش R32H، delE120 و IVS1+1G>A به میزان تقریباً یکسانی دارای بیشترین فراوانی بودند. در این جمعیت فراوانی جهش در اگزون 1 برابر با 10/34 درصد الل‌های جهش‌یافته بود.*

بحث: *فراوانی ناشنوایی‌های وابسته به ژن کانکسین 26 بر اساس این بررسی 23/38 درصد به‌دست آمد، یعنی ژن‌های دیگری نیز در ناشنوایان استان ممکن است نقش داشته باشند که برای شناسایی آن‌ها مطالعات بیشتری باید انجام داد. با توجه به نتایج این تحقیق، برای مراجعه‌کنندگان به مراکز مشاوره ژنتیک در قبل از ازدواج و یا قبل از بارداری، از بین تمام جهش‌ها، در وهلهٔ اول بررسی جهش‌های 35delG، R32H، delE120 و IVS1+1G>A پیشنهاد می‌گردد.*

کلید واژه‌ها: *35delG ، GJB2، ناشنوایی حسی- عصبی اتوزومی مغلوب غیرسندرومی، کرمانشاه.*

«دریافت: 83/7/8 پذیرش: تابستان 1384»

* مرکز مشاوره ژنتیک پزشکی سازمان بهزیستی استان کرمانشاه. پست الکترونیک: **nmahdieh@yahoo.com**

** مرکز تحقیقات ناشنوایی دانشگاه IOWA (آمریکا). *** مرکز تحقیقات ژنتیک دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی تهران.

* عهده‌دار مکاتبات: تهران، اوین، بلوار دانشجو، دانشگاه علوم بهزیستی وتوانبخشی، مرکز تحقیقات، تلفکس: **021-2407814**

مقدمه

ناشنوایی شایع‌ترین نقص حسی- عصبی است که براساس آمارهای جهانی فراوانی آن 1/2000 تا1/1000 کودک تازه‌متولدشده می‌باشد (6-1) و بیش از نیمی از این موارد اساس وراثتی دارند (4و6). به‌طور کلی حدود 70 میلیون ناشنوا در جهان وجود دارند که 84000 نفر از آن‌ها در ایران زندگی می‌کنند(7).

درک علل ژنتیکی ناشنوایی مزایای مهمی دارد؛ چرا که این فهم و آگاهی نه تنها به پزشکان و مشاوران اجازه می‌دهد تا در مورد داشتن بچه‌هایی با افت شنوایی به خانواده‌ها آگاهی دهند، بلکه در تیمار و کنترل ناشنوایی شخص هم اهمیت ویژه‌ای‌دارد. اگر عامل خاصی شناخته شود، چه بسا بتوان افت شنوایی را که در حال بدترشدن است، پیش‌بینی و در کنترل آن تلاش کرد (8). توسعه فناوری جدیدی که بتواند اختلالات شنوایی و ژنتیکی را به‌صورت پیش از تولد یا سریعاً پس از تولد مشخص کند، برای آموزش و تربیت طفل بسیار مفید خواهد بود. تشخیص سریع ناشنوایی به منظور رشد گفتار کودک و کسب مهارت‌های اجتماعی حایز اهمیت است و می‌تواند منجر به کیفیت زندگی بهتر برای این افراد شود و در استفاده از ابزارهای شنوایی از جمله کاشتن حلزون نیز به آن‌ها کمک کند(9). ناشنوایی ژنتیکی به دو صورت سندرمی و غیرسندرمی می‌باشد که در حدود 70 درصد به صورت غیرسندرمی است (4و10). این ناشنوایی‌ها طبق الگوهای مختلف به ارث می‌رسند. براساس آمارهای حاصل از مطالعات در کشورهای پیشرفته، ناشنوایی غیرسندرمی در 75 درصد موارد به صورت اتوزومی مغلوب به ارث می‌رسند. تاکنون لوکوس‌های ژنتیکی مختلفی برای این نوع ناشنوایی شناخته شده است، از بین‌آن‌ها DFNB1[1] به‌تنهایی مسئول نیمی‌از ناشنوایی‌های اتوزومی مغلوب می‌باشد که توسط جهش‌های ژن‌کانکسین 26 یا GJB2[2] یا Cx26[3] اتفاق می‌افتد (10). کانکسین26 ژن کوچکی است که در روی کروموزوم شماره 13 قرارگرفته است. طول این ژن 5/5 کیلوباز بوده و از دو اگزون تشکیل شده است که به‌وسیله یک اینترون با اندازه متفاوت از هم جدا می‌شوند؛ اما تنها توالی از GJB2 که دارای کد برای سنتز پروتئین کانکسین26 می‌باشد، اگزون 2 است(11و12). تاکنون بیش از 90 جهش در ژن‌کانکسین26 کشف‌شده است (13). 35delG[4] شایع‌ترین جهش بی‌معنا (Nonsense Mutation)[5] است (در حدود 70درصد الل‌های جهش‌یافته) که منجر به کدون خاتمه زودرس در موقعیت اسیدآمینه شماره13 می‌شود(14). در بعضی جمعیت‌ها این جهش به‌تنهایی باعث 10درصد از نقص‌های شنوایی است (15). با توجه به اینکه کانکسین26 درانواع بافت‌ها سنتزمی‌شود(16)، جالب است که 35delG تنها به نقص شنوایی منجر می‌شود. دراین بافت‌ها دیگر پروتئین‌های کانکسین ممکن است بتوانند فقدان کانکسین 26 را جبران کنند (12).

---

1. اولین لوکوسی که مشخص شد با ناشنوایی اتوزومی مغلوب در ارتباط است.

2. زیر واحد 2 پروتئین‌های اتصالی شکاف(Gap Junction subunit Beta 2).

3. Connexin26 gene که به اختصار Cx26 می‌نویسند.

4. حذف گوانین در موقعیت 35-30.

5. جهش بی‌معنا به جهشی گویند که یک کدون خاتمه به‌وجود آورد.

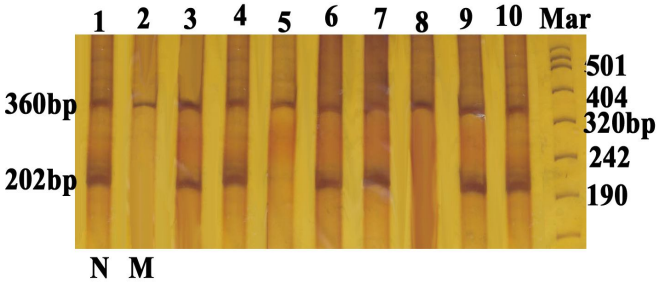
مقالات و گزارش‌های مختلف از سراسر جهان نشان داده‌اند که جهش‌های ژن کانکسین26 در مناطق جغرافیایی و اقوام مختلف با هم متفاوت هستند. در جمعیت‌های اروپایی و سفیدپوستان آمریکایی جهش 35delG **بیشترین شیوع را داراست، در صورتی که در یهودیان اشکنازی جهش دیگری به نام** 167delT**(حذف تیمین در موقعیت 167) شایع است. همین‌طور در جمعیت‌های شرق آسیا جهش** 235delC **شایع است. نکته قابل‌ملاحظه این است که جهش** 35delG **در بیشتر نقاط جهان گسترده شده است (2 و 20-5) و فراوانی آن از اروپا به آسیا و از کشورهای غرب آسیا به سمت کشورهای شرق آسیا کاهش می‌یابد(21). این جهش در بیشتر جمعیت‌های جهان با شیوع قومی متفاوتی دیده می‌شود. در ایران فراوانی این جهش در بین ناشنوایان ژنتیکی غیرسندرمی اتوزومی مغلوب 8/4 درصد گزارش شده است. کشور ایران متشکل از قوم‌های مختلفی می‌باشد؛ باتوجه به اینکه فراوانی جهش‌های** GJB2 **در اقوام مختلف با هم فرق می‌کند(1، 20، 22 و 23)، ضروری است که اقوام مختلف ایران به صورت جداگانه بررسی شوند؛ لذا این تحقیق به منظور تعیین میزان جهش‌های ژن** GJB2 **در افراد مبتلا به ناشنوایی غیرسندرمی با توراث اتوزومی مغلوب در استان کرمانشاه انجام گردید.**

مواد و روش‌ها

هدف کلی این پروژه تعیین میزان جهش‌های ژن GJB2 **در افراد مبتلا به ناشنوایی غیرسندرمی با توراث اتوزومی مغلوب در استان کرمانشاه بود. برای این منظور از مددجویانی که برای مشاوره ژنتیک به مراکز بهزیستی شهرستان‌های استان مراجعه می‌کردند، استفاده گردید و با ترسیم شجره‌نامه، از خانواده‌هایی که به مراکز مشاوره ژنتیک سازمان بهزیستی استان در سال‌های 80 و81 و نیمه اول سال 82 مراجعه کرده بودند، 77 خانواده معیارهای مورد نظر را داشتند. معیارهای مورد نظر در این مطالعه عبارت بودند از: 1) وجود حالت ناشنوایی غیرسندرمی با توارث اتوزومی مغلوب، 2) ناشنوایی با تأیید آزمایش‌های ادیولوژیک. ناشنوایی‌های ناشی از عوام محیطی از قبیل عفونت داخل رحمی، مننژیت، ضربات فیزیکی و ... از مقاله حذف گردیدند(1، 20 و 21).در این خانواده‌ها، میزان و نقش ژن** GJB2 **در ناشنوایی آن‌ها بررسی شد. این مطالعه از نوع مشاهده‌ای و توصیفی بود. از تمام افراد این خانواده‌ها 10 میلی‌لیتر نمونه خون گرفته و با استفاده از روش نمک اشباع‌شده، پروتئیناز** K **و ایزوپروپانل،** DNA**(ماده تشکیل دهنده ژنوم** Deoy Nucleic Acid**) آن‌ها استخراج گردید (1 و 21). غلظت** DNA **استخراج‌شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل** Bio-photometer **تعیین شد. پرایمرها بر اساس مقالات منتشرشده طراحی و ساخته شد(1). افراد پروباند (یک فرد مبتلا) از هر خانواده با روش** Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (AS/PCR)[1] **برای جهش** 35delG **مورد بررسی قرار گرفتند. برای هر فرد دو واکنش** PCR **(یکی برای الل سالم و دومی برای الل جهش‌یافته) انجام‌شد و قطعه مورد نظر به طول 202 جفت باز تکثیر گردید (باندهای پایینی در روی ژل- شکل1).**

1. PCR روشی است برای تکثیر **DNA** با توالی معلوم. این کار با استفاده از دوره‌های متناوب و مکرر حرارتی در دستگاهی به نام ترموسیکلر انجام می‌گیرد. طیفی از این تکنیک بر حسب استفاده وجود دارد.

شکل1- الکتروفورز محصولات PCR در روی ژل‌پلی‌اکریل آمید 8%



همراه با هرکدام از این واکنش‌ها از پرایمرهای کنترل داخلی (1و21) برای بررسی صحت انجام PCR استفاده گردید (باندهای 360 جفت بازی در روی ژل- باندهای بالایی که در تمام ردیف‌ها دیده می‌شوند). محصول PCR در روی ژل پلی‌اکریل آمید 8 درصد الکتروفورز شد. در شکل 1 ستون‌های 1و2 به‌ترتیب مربوط به الل سالم (N) و جهش‌یافته (M) یک فرد سالم و ستون‌های 3، 4، 9و10 مربوط به دو فرد هتروزیگوت و ستون‌های 5 و6 نیز متعلق به یک فرد هموزیگوت برای جهش 35delG می‌باشد. با استفاده از یک مارکر استاندارد (ستون انتهایی در سمت راست شکل1) نیز اندازه قطعاتی از DNA که با واکنش PCR تکثیر شده بود، مشخص شد. نمونه‌های هموزیگوت 35delG مشخص و کنار گذاشته شدند. در بقیه موارد پس از انجام dHPLC (Denaturing High Liquid Performance Chromatography) نمونه هایی که پروفایل غیرنرمال داشتند، مستقیماً تعیین توالی (Direct Sequencing) شدند تا دیگر جهش‌های این ژن شناسایی شود. به این ترتیب تمام جهش‌های ژن GJB2 مورد بررسی قرار گرفتند. پس از اتمام آزمایش‌ها، جواب آزمایش در سه نسخه یکی برای بیمار و دومی برای مرکز مشاوره ژنتیک استان ارسال و نسخه سوم نیز به پرونده بیمار پیوست و بایگانی شد. نهایتاً فراوانی هر جهش بر حسب تعداد کروموزوم‌های جهش‌یافته نسبت به کل کروموزوم‌ها و نیز تعداد افراد دارای جهش نسبت به کل افراد محاسبه گردید. همچنین فراوانی هر جهش در بین کل جهش‌ها(جدول 1 ستون فراوانی جهش بر حسب درصد کروموزم‌ها) محاسبه شد.

یافته‌ها

در این تحقیق، از 154 کروموزوم ، 29 مورد آن‌ها یعنی 18/83 درصد حاوی جهش در ژن GJB2 بودند (جدول 1). این فراوانی بر حسب خانواده‌های دارای ژن جهش‌یافته برابر18 مورد از 77 خانواده، یعنی 23/38درصد بود (جدول2). فراوانی جهش 35delG در جمعیت مورد مطالعه برابر11درصد (17 کروموزوم از 154 کروموزوم) و در بین سایر جهش‌های GJB2 58/62 درصد را به خود اختصاص داده بود (جدول 1). جهش‌هایی که در نتیجه انجام توالی‌یابی مستقیم DNA به‌دست آمدند، عبارتند از: delE120، R32H، R184P، R127H و IVS1+1G>A که جهش‌های اتوزومی مغلوب در ژن Cx26 می‌باشند. در این جمعیت فراوانی جهش در اگزون شماره 1 ژن کانکسین26 (جهش IVS1+1G>A) در بین سایر جهش‌ها 10/34درصد بود. میزان پلی‌مورفیسم V153I در ژن GJB2 برابر 5 کروموزوم (3/25 درصد) بود.

اگر شهرستان‌های استان بر اساس اینکه فراوانی جهش‌های ژن GJB2 در اروپا و آسیا از غرب به شرق کاهش می‌یابد، به سه منطقه جغرافیایی غرب، شرق و مرکز استان تقسیم شود، فراوانی‌های جهش 35delG و جهش‌های دیگر را می‌توان به صورت جدول 2 نشان داد؛ از خانواده‌های مورد مطالعه به‌ترتیب 19، 30 و 28 خانواده در قسمت غربی، مرکزی و شرقی قرار داشتند که بیشترین درصد جهش در کانکسین26 به قسمت غربی (36/84 درصد خانواده‌های قسمت غربی) مربوط می‌شد(جدول 2).

جدول1- توزیع فراوانی الل‌های جهش‌یافته ژن کانکسین26 در جمعیت مورد مطالعه

فراوانی / جهش	تعداد کروموزوم‌های جهش‌یافته	فراوانی جهش برحسب درصد کروموزم‌ها (n=29)	فراوانی جهش برحسب درصد در جمعیت (n=154)
35delG	17	58/62	11
R32H	4	13/8	2/6
delE120	3	10/34	1/95
IVS1+1G>A	3	10/34	1/95
R127H	1	3/45	0/65
R184P	1	3/45	0/65
مجموع	29	100	%18/83

جدول2- توزیع فراوانی جهش 35delG و جهش‌های دیگر ژن GJB2 در خانواده‌های مورد مطالعه برحسب مناطق جغرافیایی استان کرمانشاه

جهش / مناطق جغرافیایی		نیمه شرقی	مرکز استان	نیمه غربی	تعدادکل خانواده ها
GJB2	35delG	1 (3/57)	5 (12/5)	5 (26/32)	11 (14/28)
	سایر جهش‌ها به‌جز 35delG	2 (7/14)	3 (7/5)	2 (10/53)	7 (9/09)
	جمع	3 (10/71)	8 (20)	7 (36/84)	18 (23/38)
فاقد جهش در ژن GJB2		25	32	12	59

	(89/29)	(80)	(63/16)	(76/62)
کل خانواده‌ها	28 (36/36)	30 (51/95)	19 (24/68)	77 (100)

بحث

جهش‌هایی که طی این مطالعه در جمعیت کرمانشاه یافت شدند، عبارت بودند از: 35delG، delE120، R32H، R184P، R127H و IVS1+1G>A. از 77 خانواده 18 مورد (23/38 درصد) در ژن GJB2 جهش داشتند.

مطابق این مطالعه فراوانی جهش 35delG در استان کرمانشاه برابر 14/28درصد گزارش می‌شود، در حالی‌که در سال‌های 2001 و 2002 دکتر نجم آبادی طبق تحقیقی که در روی 83 خانواده ایرانی با ناشنوایی اتوزومی مغلوب انجام داد، فراوانی جهش‌های ژن GJB2 را برابر 11درصد (9 مورد از 83 خانواده مطالعه‌شده) گزارش نمود و بیشترین فراوانی مربوط به 35delG بود. در سال 2005 نتیجه مطالعه کامل‌تری از همین محقق که در روی 664 خانواده صورت گرفت، نشان داد که شیوع جهش‌های GJB2 در جمعیت ایران 16/7 درصد و میزان جهش 35delG برابر 12/6 درصد می‌باشد(21) که فراوانی‌های مذکور در مطالعه حاضر نسبت به هر دو مطالعه بیشتر است. به هر حال در این بررسی‌ها شیوع DFNB1 در جمعیت ایران بسیار کمتر از جمعیت‌های غربی گزارش شده است. هم‌اکنون مطالعه در روی جمعیت استان‌های همدان و کرمان در حال اتمام‌شدن و در استان‌های دیگر در دست اقدام است. در کرمان 2 فرد از 62 خانواده (3/23 درصد) جهش 35delG و در همدان این وفور 13/5 درصد گزارش شده است، در حالی‌که این میزان در استان کرمانشاه (نتایج این مطالعه) 14/28 درصد می‌باشد. به هر حال، فراوانی جهش‌های ژن کانکسین 26 در جمعیت کرمانشاه نسبت به ایران(23/38 درصد در مقابل 16/7و11 درصد) بیشتر می‌باشد.

با نگاهی به جدول 2 متوجه می‌شویم که فراوانی جهش 35delG از غرب به شرق استان کاهش می‌یابد و این مؤید مطالعاتی است که پیدایش این جهش را به یک فرد اولیه (اثر مؤسس) در اروپای شمالی نسبت می‌دهند (24و25) که بیشترین فراوانی را دارند. سپس با مهاجرت افراد حامل جهش به سمت شرق آسیا به‌تدریج از میزان جهش کاسته می‌شود، به‌طوری‌که در ژاپن و کره میزان جهش 35delG بسیار ناچیز است (19، 20، 23، 26 و 27).

در مطالعه حاضر 4 کروموزوم دارای جهش R32H (جایگزینی اسیدآمینه آرژنین شماره 32 پروتئین کانکسین 26 به وسیله هیستیدین) بودند؛ یعنی در 4 الل از 154 الل مورد مطالعه وجود داشت که نسبت به جمعیت ایران 0/4درصد بیشتر است. جهش IVS1+1G>A (تبدیل A به G در نوکلئوتید 3172 –) تنها دراین جمعیت مشاهده شده و هنوز در جای دیگری از ایران گزارش نشده است (21). فراوانی این جهش در بین کل جهش‌ها 10/34 درصد بود که تاکنون این وفور در هیچ‌کدام از جمعیت‌های جهان مشاهده نشده است و بنابراین توجه بیشتری را در برنامه‌های غربال‌گری جهش می‌طلبد. در 5

کروموزوم (3/25 درصد) نیز پلی‌مورفیسم V153I در پروتئین کانکسین 26 یافت شد که هنوز چگونگی ارتباط آن با ناشنوایی پیدا نشده است و بنابراین جهش محسوب نمی‌گردد (10)؛ بنابراین برای غربالگری جهش‌های GJB2 در جمعیت کرمانشاه، در مشاوره پیش از ازدواج و بارداری مجدد پس از بروز اولین معلولیت، شناسایی این جهش‌ها و به‌خصوص جهش 35delG با استفاده از PCR معمولی در وهله اول ضروری به نظر می‌رسد؛ چراکه آزمایش‌های تعیین توالی مستقیم بسیار پرهزینه می‌باشد.

درصد جهش‌های ژن کانکسین 26 در ایران و در جمعیت کرمانشاه نیز نسبت به سایر کشورهای اروپایی و آمریکایی پایین‌تر می‌باشد که این احتمال را نشان می‌دهد که در جمعیت ایرانی ژن‌های دیگری درگیر با ناشنوایی حسی عصبی اتوزومی مغلوب غیرسندرومی (ARNSD) می‌باشند. بهتر است این مطالعه تا بررسی دقیق و کامل فراوانی جهش‌های GJB2 ادامه یابد. علاوه بر آن می‌توان از خانواده‌هایی که فاقد جهش‌های GJB2 بودند، در ارتباط با شناسایی دیگر ژن‌های مسئول ناشنوایی استفاده کرد. به‌هر حال، کشف ژن‌هایی که عموماً در ناشنوایی‌های مادرزادی دخیل هستند، می‌تواند در مطالعات پاتوفیزیولوژی و توسعه راه‌کارهای مناسب در تیمار موارد پیشرونده ناشنوایی مفید باشد (28). برای یافتن سایر ژن‌های دخیل در ناشنوایی ایران و استان کرمانشاه به تحقیقات بیشتری نیاز می‌باشد.

امید است که هر چه زودتر در جهت غربالگری کودکان تازه‌متولدشده از آزمایش‌های ژنتیکی سود جست تا بتوان زمان تشخیص این عارضه را در کشور به حداقل رساند و با انجام اقدامات مشاوره و پیشگیری صحیح از بار روانی، اقتصادی، آموزشی و اجتماعی آن کاست.

تشکر و قدردانی

در پایان از عزیزانی که در بهزیستی و آموزش و پرورش کودکان استثنایی استان کرمانشاه که بدون چشم‌داشت زحمت کشیدند: خانم فاطمه امیری، آقایان بازدار، روشنی و میرزائی و همچنین تمام خانواده‌هایی که در این طرح شرکت کردند، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

1. Najmabadi H, Cucci RA, Sahebjam S, Kouchakian N, Farhadi M, Kahrizi K, et al. GJB2 mutations in Iranian with autosomal recessive non-syndromic sensorineural hearing loss. Hum Mutat 2002; 19:572.
2. Tekin M, Duman T, Bogoclu G, Incesulu A, Comak E, Ilhan I, et al. Spectrum of GJB2 mutations in Turkey comprises both Caucasian and oriental variants: roles of parental consanguinity and assertive mating. Hum Mutat 2003; 21:552-3.
3. Del Castillo I, Villamar M, Moreno-Pelayo MA, Del Castillo FJ, Alvarez A, Telleria D, et al. A deletion involving the connexin 30 gene in nonsyndromic hearing impairment. N Engl J Med 2002; 346:243-249.
4. Nance WE. The genetics of deafness. Ment Ret Develop Dis 2003; 9:109-19.

5. Ram Shankar M, Girirajan S, Dagan O, Ravi Shankar HM, Jalvi R, Rangasayee R, et al. Contribution of connexin26 (GJB2) mutations and founder effect to non-syndromic hearing loss in India. J Med Genet 2003; 40:E68.

6. Kemperman MH, Hoefsloot LH, Cremers CW. Hearing loss and connexin26. J R Soc Med 2002; 95:171-177.

۷. خسرو کیاني روشنک، صلايي مهين و گورابي خسرو. بررسي توصيفي استفاده از سمعک در مدارس ناشنوايان تهران. پایان‌نامه کارشناسی رشته شنوایی‌سنجی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، سال ۱۳۷۸، صفحه ۶۵.

8. Hamelmann C, Amedofu GK, Albrecht K, Muntau B, Gelhaus A, Brobby GW, et al. Pattern of connexin 26 (GJB2) mutations causing sensorineural hearing impairment in Ghana. Hum Mutat 2001; 18: 84-85.

9. Denoyelle F, Marlin S, Weil D, Moatti L, Chauvin P, Garabedian EN, et al. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counseling. Lancet 1999; 353:1298-303.

10. Tekin M, Arons KS, Pandya A. Advances in hereditary deafness. Lancet 2001; 358: 1082-90.

11. Goodenough DA, Goliger JA, Paul DL. Connexins, connexons, and intercellular communication. Annu Rev Biochem 1996; 65:475–502.

12. Kiang DT, Jin N, Tu ZJ, Lin HH. Upstream genomic sequence of the human connexin 26 gene. Gene 1997; 199: 165-71.

13. Ballana E, Ventayol M, Rabionet R, Gasparini P, Estivill X. Connexins and deafness Homepage. World Wide Web URL. Available at: http://www.crg.es/deafness

14. Zelante L, Gasparini P, Estivill X, Melchionda S, D'Agruma L, Govea N, et al. Connexin 26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterranean. Hum Mol Genet 1997; 6: 1605-9.

15. Kelley PM, Harris DJ, Comer BC, Askew JW, Fowler T, Smith SD, et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss. Am J Hum Genet 1998; 62: 792-99.

16. Zhang JT, Nicholson BJ. The topological structure of connexin 26 and its distribution compared to connexin 32 in hepatic gap junctions. J Membr Biol 1994; 139:15-29.

17. Uyguner O, Emiroglu M, Uzumcu A, Hafiz G, Ghanbari A, Baserer N, et al. Frequencies of gap- and tight-junction mutations in Turkish families with autosomal-recessive non-syndromic hearing loss. Clin Genet 2003; 64: 65-69.

18. Maheshwari M, Vijaya R, Ghosh M, Shastri S, Kabra M, Menon P. Screening of families with autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment (ARNSHI) for mutations in GJB2 gene: Indian Scenario. Am J Med Genet 2003; 120A: 180-4.

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

20. Kudo T, Ikeda K, Oshima T, Kure S, Tammasaeng M, Prasansuk S, et al. GJB2 (connexin 26) mutations and childhood deafness in Thailand. Oto Neurotol 2001; 22: 858-61.

21. Najmabadi H, Nishimura C, Kahrizi K, Riazalhosseini Y, Malekpour M, Daneshi A, et al. GJB2 mutations: passage through Iran. Am J Med Genet 2005; 133A:132-7.

22. Fuse Y, Doi K, Hasegawa T, Sugii A, Hibino H, Kubo T. Three novel connexin26 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic deafness. Neuroreport 1999; 10:1853-57.

23. Park HJ, Hahn SH, Chun YM, Park K, Kim HN. Connexin 26 mutations associated with nonsyndromic hearing loss. Laryngoscope 2000; 110: 1535-38.

24. Van Laer L, Coucke P, Mueller RF, Caethoven G, Flothmann K, Prasad SD, et al. A common founder for the 35delG GJB2 gene mutation in connexin 26 hearing impairment. J Med Genet 2001; 38:515-8.

25. Rothrock CR, Murgia A, Sartorato EL, Leonardi E, Wei S, Lebeis SL, et al. Connexin 26 35delG does not represent a mutational hotspot. Hum Genet 2003; 113: 18–23.

26. Abe S, Usami S, Shinkawa H, Kelley PM, Kimberling WJ. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese. J Med Genet 2000; 37: 41-43.

27. Wang YC, Kung CY, Su MC, Su CC, Hsu HM, Tsai CC, Lin CC, Li SY. Mutations of Cx 26 gene (GJB2) for prelingual deafness in Taiwan. Europ J Hum Genet 2002; 10:495-98.

28. 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; 351: 394-98.