

بررسی فراوانی جهش‌های ژن GJB2 در بیماران مبتلا به ناشنوایی غیر سندرمی با وراثت اتوزومی مغلوب در استان سیستان و بلوچستان

آنوش نقوی*، کارلا نبی میورا**، دکتر کیمیا کهریزی***، یاسر ریاض الحسینی***
دکتر حسین سوراکی علی آبادی****، نجات مهدیه***، دکتر ریچارد اسمیت**، دکتر حسین نجم آبادی***

* دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی

** بخش تحقیقات گوش و حلق، دانشگاه آیوا، امریکا

*** دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی تهران، مرکز تحقیقات ژنتیک

**** پزشک عمومی

تاریخ دریافت مقاله: ۸۳/۱۱/۲۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۴/۴/۲۹

چکیده

زمینه و هدف: اختلال در شنوایی ارثی یک بیماری هتروژن است که با وراثت‌های مختلف دیده می‌شود. جهش‌های ژن GJB2، به خصوص جهش 35delG، به عنوان عامل عمده ایجاد کننده ناشنوایی ارثی سندرمی و غیر سندرمی در جمعیت‌های مختلف شناخته شده‌اند. از آنجایی که اقوام مختلف از تنوع ژنتیکی گوناگونی برخوردارند بررسی جداگانه آنها ضروری به نظر می‌رسد. هدف این مطالعه بررسی شیوع و طیف جهش‌های ژن GJB2 در دو قوم بلوچ و سیستانی در استان سیستان و بلوچستان می‌باشد.

مواد و روش کار: در این مطالعه که در سال ۸۳-۱۳۸۲ انجام شد، تعداد ۱۰۰ خانواده از دو قوم بلوچ و سیستانی (۴۷ خانواده بلوچ و ۵۳ خانواده سیستانی) که از ناشنوایی غیر سندرمی با وراثت اتوزومی مغلوب رنج می‌بردند، مورد بررسی قرار گرفتند. غربالگری برای جهش‌های ژن GJB2 به وسیله روش ASPCR (Allele-Specific Polymerase Chain Reaction) به منظور شناسایی جهش 35delG انجام شد. نمونه‌هایی که برای جهش 35delG منفی بودند، به وسیله روش‌های DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography) و تعیین توالی (Sequencing) برای یافتن جهش‌های دیگر GJB2 مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: جهش‌های GJB2 در ۱۸ کروموزوم (۹٪) از ۲۰۰ کروموزوم مورد مطالعه یافت شد. این جهش‌ها عبارتند از R127H, W24X, 167delT, M93I, K112I. در میان این جهش‌ها جهش W24X دارای بالاترین فراوانی بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به این نتایج احتمالاً ژن‌ها و جهش‌های دیگری به عنوان عوامل اصلی ایجاد ناشنوایی در جمعیت این استان، پیشنهاد می‌شود. (مجله طبیب شرق، سال هفتم، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۴، ص ۸۵ تا ۹۲)

کل‌واژه‌ها: ناشنوایی، DHPLC، GJB2

مقدمه

ناشنوایی اختلالی هتروژن است که علل محیطی و ژنتیکی فراوانی دارد^(۱) به ازای هر ۱۰۰۰ نوزاد متولد شده، یک نوزاد با ناشنوایی مادرزادی به دنیا می‌آید که در ۵۰ درصد موارد ناشنوایی ارثی و در حدود ۵۰ درصد موارد، اکتسابی است.^(۱-۵) اختلال در شنوایی می‌تواند همراه با علائم دیگر و به عنوان بخشی از یک بیماری بروز کند که به آن ناشنوایی سندرمیک

(syndromic) اطلاق می‌گردد و یا این‌که به صورت تنها علامت و بدون هیچ نقص دیگری بروز نماید که به عنوان ناشنوایی غیر سندرمیک (non Syndromic) شناخته می‌شود. فرم‌های غیر سندرمیک ناشنوایی وراثتی در ۷۵ درصد موارد دارای الگوی وراثتی اتوزومال مغلوب (A.R)، در ۲۰ تا ۲۵ درصد موارد دارای الگوی وراثتی اتوزومال غالب (A.D) و

فلسطين جهش 167delT و در جمعیت های شرق آسیا جهش 235delC شایع می باشد.^(۱۴-۱۸) مطالعات انجام شده در پاکستان و هندوستان نیز نشان می دهند که دو جهش W24X و W77X بیشترین شیوع را در این دو جمعیت دارا می باشند.^(۱۹ و ۲۰)

حال با توجه به شیوع بالای ناشنوایی و کم شنوایی ارثی، وقوع ازدواج های فامیلی و تمایل ناشنوایان به ازدواج با یکدیگر، مشخص کردن جهش های شایع در ایجاد ناشنوایی به عنوان اولین گام و فراهم نمودن امکان پیشگیری از بروز آن در خانواده ها از طریق انجام مشاوره ژنتیک و بررسی ناقل بودن افراد به ظاهر سالم خانواده ضروری و لازم است.

هدف کلی در این تحقیق، تعیین میزان شیوع جهش های ژن GJB2 در افراد ناشنوای غیر سندرمی با توارث اتوزومی مغلوب در استان سیستان و بلوچستان بود. این استان در طول تاریخ معبر و گذرگاه میان شرق و غرب بوده و به همین دلیل ترکیب قومی آن نیز همواره در معرض تغییر و تحول و دگرگونی بوده است. از دید کلی، ساکنان بومی استان را می توان به دو گروه عمده سیستانی (ساکنان بخش های شمالی استان) و بلوچ (اهالی منطقه مرکزی و جنوبی استان) تقسیم کرد.

روش کار

در این مطالعه مددجویان مراجعه کننده به سازمان بهزیستی و همچنین دانش آموزان ناشنوای مدارس استثنایی در شهر زاهدان مورد مطالعه قرار گرفتند. معیارهای مورد نظر در این مطالعه عبارت بودند از:

۱. وجود ناشنوایی و کم شنوایی غیرسندرمی با توارث اتوزومی مغلوب.
۲. عدم همراهی کاهش شنوایی با سایر اختلالات بالینی.
۳. تأیید ناشنوایی و کم شنوایی با استفاده از آزمون های شنوایی سنجی.
۴. شنوایی پدر و مادر طبیعی بوده و والدین معمولاً با یکدیگر نسبت خانوادگی دارند.

در کمتر از ۲ درصد موارد دارای الگوی وراثتی وابسته به X می باشند.^(۶) با توجه به این که حدود ۷۵ درصد موارد ناشنوایی ارثی دارای وراثت اتوزومال مغلوب می باشد، معمولاً شیوع آن در مناطقی که ازدواج فامیلی رواج دارد، شایع تر است.

در سال های اخیر پیشرفت های قابل ملاحظه ای در شناسایی ژن های دخیل در ناشنوایی غیر سندرمی به وقوع پیوسته است. تاکنون لوکوس های ژنتیکی مختلفی برای این نوع ناشنوایی شناخته شده است، از بین آنها DFNB1 به تنهایی مسئول ۵۰ درصد ناشنوایی های اتوزومی مغلوب می باشد که توسط موتاسیون های ژن کانکسین ۲۶ (CX26) یا GJB2 اتفاق می افتد.^(۷)

تاکنون بیش از ۹۰ جهش در ژن کانکسین ۲۶ کشف شده است.^(۸) کانکسین ۲۶ پروتئینی است که از بروز ژن کدکننده اتصال باز بتا ۲ (GJB2) به وجود می آید. این پروتئین مسئول ایجاد اتصالات باز بین سلولی است که اجازه انتقال به مولکول های کوچک را می دهد. این ژن بر روی کروموزوم شماره ۱۳ قرار دارد.^(۹ و ۱۰) جهش های ژن GJB2 به عنوان علت اصلی ناشنوایی غیر سندرمیک اتوزومال مغلوب (DFNB1) شناخته شده است.^(۱۱ و ۱۲ و ۱۴)

در ژن GJB2 در موقعیت ۳۰ تا ۳۵، ۶ تکرار از نوکلئوتید گوانین وجود دارد که شایع ترین جهش، حذف یک نوکلئوتید در این ناحیه است. این جهش به نام 35delG شناخته شده و علت عمده ناشنوایی های مادرزادی تک موردی و ارثی در جمعیت سفید پوست می باشد و فراوانی ناقلین آن در شمال اروپا معادل ۱/۲۶ درصد و در جنوب اروپا ۱/۹۶ درصد گزارش شده است.^(۱۳)

گزارش های گوناگون از سراسر جهان نشان داده اند که شیوع جهش های ژن GJB2 در مناطق جغرافیایی و اقوام مختلف، متفاوت است. در جمعیت های اروپایی و سفید پوستان آمریکایی جهش 35delG، در یهودیان اشکنازی و جمعیت

۵. وجود بیش از یک فرد مبتلا در خانواده

ابتدا با پر کردن پرسشنامه‌های تهیه شده به این منظور و جمع‌آوری اطلاعات و رسم شجره خانوادگی، ۱۰۰ خانواده با الگوی وراثتی جسمی مغلوب انتخاب شدند، سپس با اخذ رضایت از بیماران، ۵ تا ۱۰ سی سی خون جهت استخراج DNA ژنومی گرفته شد. DNA بیماران با روش نمک اشباع شده با استفاده از پروتئیناز K و ایزوپروپانول استخراج گردید. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده توسط اسپکتروفتومتری بررسی شد. سپس یک فرد بیمار از هر خانواده با روش Allele-Specific-PCR برای جهش 35delG مورد بررسی قرار گرفت. در این روش از آغازگرهای کنترل داخلی و مشترک و آغازگرهای ویژه آلی استفاده می‌شود (تصویر ۱).

CONTROL A: 5 CCC ACC TTC CCC TCT CTC CAG GCG AAT GGG
CONTROL B: 5 GGG CCT CAG TCC CAA CAT GGC TAA GAG GTG
35NOR: 5 TTG GGG CAC GCT GCA GAC GAT CCT GGG GAG
35MUT: 5 TTG GGG CAC GCT GCA GAC GAT CCT GGG GAT
35COM: 5GAA GTA GTG ATC GTA GCA CAC GTT CTT GCA

تصویر ۱

برای تعیین نمونه های هموزیگوت و هتروزیگوت و یا نرمال از نظر وجود جهش 35delG، نمونه‌های PCR شده بر روی ژل پلی آکریل آمید، الکتروفورز شدند (شکل ۲).

به علت عدم وجود نمونه های هموزیگوت و هتروزیگوت برای 35delG در جمعیت مورد مطالعه کلیه نمونه ها به منظور یافتن جهش های دیگر ژن GJB2 به وسیله روش DHPLC پرایمرهای استفاده شده برای آگزون ۲:

CX26-50R 5'-CGTCTTTTCCAGAGCAAACCGC-3'
CX26-80L 5'-CGCCCATCCCTCTCATGCTGTCT-3'

پرایمرهای استفاده شده برای آگزون ۱:

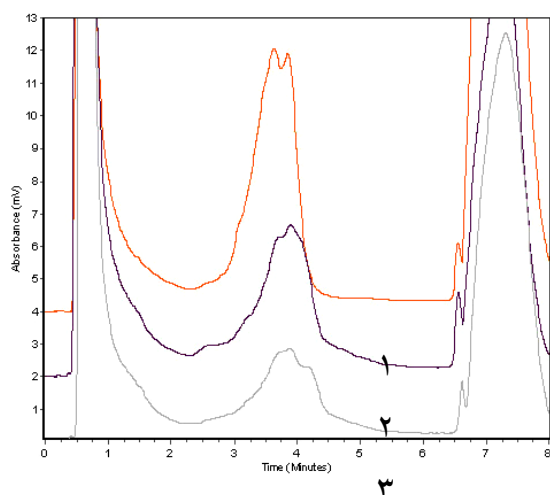
CX26-32R 5'-TGTGGGGTGC GG TAAAAGGCGCCACGG-3'
CX26-33L 5'-GCAACCGCTCTGGGTCTCGCGTCCCT-3'

Denaturing High Performance Liquid Chromatography) مورد بررسی قرار گرفتند و نمونه هایی که پروفایل غیر طبیعی داشتند، مستقیماً تعیین توالی شدند. پرایمرهای استفاده شده در روش DHPLC در زیر مشاهده می‌شود.

آنالیز DHPLC با استفاده از سیستم Trans genomic WAVE DHPLC انجام گردید (شکل ۱). به منظور محاسبه دمای اپتیمم، زمان لازم و گرادیان مصرفی از Wave maker 4.1.34 استفاده شد. برای آنالیز آگزون دوم ژن GJB2 با روش DHPLC، از گرادیان B ۵۴ تا ۶۶ درصد در دماهای ۶۳/۲، ۶۲ و ۵۸ درجه سانتی گراد استفاده شد و برای آنالیز آگزون اول GJB2 با روش DHPLC، از گرادیان B ۵۳ تا ۶۲ درصد در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد استفاده گردید. زمان لازم برای بررسی هر آگزون ۴/۵ دقیقه است. جهت تعیین توالی DNA از پرایمرهای استفاده شده برای آنالیز DHPLC استفاده گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه ۱۰۰ پروباند از ۱۰۰ خانواده از دو قوم سیستانی (۵۳ خانواده) و بلوچ (۴۷ خانواده) مورد مطالعه قرار گرفتند و ۲۰۰ کروموزوم بررسی شد. آلل های جهش یافته GJB2 در ۱۰ کروموزوم (۱۱٪) در جمعیت بلوچی شناسایی گردید.



شکل ۱- نمودار DHPLC

نمودار ۱- نمودار مربوط به نمونه کنترل
نمودار ۲- نمودار مربوط به فرد حامل جهش 35delG
نمودار ۳- نمودار مربوط به فرد حامل پلی مورفیسم M34T

بحث

تاکنون جهش‌های ژن GJB2 را در اکثر جوامع جهان گزارش کرده اند. جهش‌های این ژن عامل ایجاد کننده نیمی از ناشنوایی‌ها از نوع خفیف تا شدید در جمعیت‌های مختلف است.^(۸-۲۶-۱۹) در جمعیت‌های متفاوت جهش‌های خاصی شایع است، به عنوان مثال در کشورهای شرق آسیا جهش 235delC، در یهودیان اشکنازی جهش 167delT و در کشورهای اروپایی جهش 35delG از شیوع بالایی برخوردار است. در اکثر مطالعاتی که در شمال اروپا انجام شده، عامل عمده ایجاد کننده ناشنوایی جسمی مغلوب غیر سندرمی جهش‌های GJB2 و به خصوص جهش 35delG می باشد. این موتاسیون دارای پیشینه قدیمی است که تقریباً از ۱۰۰۰۰ سال پیش به وجود آمده است.^(۲۴) جهش 35delG در بیشتر جمعیت‌های جهان با شیوع قومی متفاوتی دیده می شود. در ایران فراوانی این جهش در بین ناشنوایان ژنتیکی غیر سندرمی اتوزومی مغلوب ۶/۲ درصد گزارش شده است.^(۱)

این جهش‌ها عبارتند از: R127H، W24X که افراد مبتلا در ۴ خانواده برای جهش W24X هموزیگوت بودند. در بیماران سیستمی جهش‌های ژن GJB2 در ۸ کروموزوم (۷/۲٪) شناسایی شدند (جدول ۱).

جدول ۱- ژنوتیپ‌های تشخیص داده شده در جمعیت بلوچ و

سیستانی

ژنوتیپ	تعداد خانواده	
R127H/wt	۲	جمعیت بلوچ
W24X/W24X	۴	
R127H/R127H	۱	جمعیت سیستانی
167delT/167delT	۱	
W24X/W24X	۱	
M93I/wt	۱	
K122I/wt	۱	

این جهش‌ها عبارتند از W24X، R127H، 167delT، M93I و K122I. دو جهش M93I و K122I تاکنون در هیچ نژاد دیگری از اقوام ایرانی مشاهده نشده است. علاوه بر جهش‌های یاد شده دو پلی مورفیسم V27I و E114G فقط در جمعیت سیستانی و پلی مورفیسم V153I در هر دو گروه بیماران بلوچ و سیستانی تشخیص داده شدند. به طور کلی ناشنوایی وابسته به ژن GJB2 در ۷ خانواده (۷٪ از کل بیماران مطالعه شده) یافت شد و فراوانی آلل‌های جهش یافته ژن GJB2 در بیماران مورد بررسی برابر با ۹ درصد بود (جدول ۲).

جدول ۲- فراوانی جهش‌های ژن GJB2 در بیماران مورد

مطالعه در استان

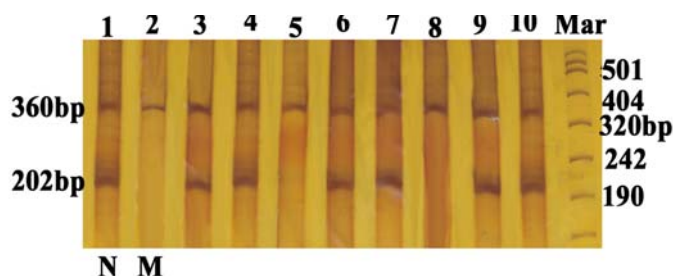
جهش	تعداد در		تعداد کل
	جمعیت بلوچ	جمعیت سیستانی	
W24x	۸	۲	۱۰
R127H	۲	۲	۴
167delT	-	۲	۲
M93I	-	۱	۱
K122I	-	۱	۱
مجموع	۱۰	۸	۱۸

۱۱- شاخص تعیین اندازه مولکولی DNA با طول کمتر از یک کیلو باز (مارکر ۸)

تاکنون این مطالعه بر روی جمعیت کم شنوا و ناشنوی استان‌های کرمان، همدان و کرمانشاه انجام شده و در استان‌های یزد، اصفهان، خوزستان، مازندران و گیلان نیز در حال انجام است. در همدان و فور جهش 35delG ۱۱/۶ درصد و در کرمان ۲/۳ درصد گزارش شده است.^(۲۸،۲۷) همچنین طبق مطالعه‌ای که در استان کرمانشاه انجام گرفته، جهش‌های GJB2 عامل ۲۲ درصد از ناشنوایی‌های اتوزومال مغلوب غیر سندرمی گزارش شده که تقریباً دو برابر فراوانی ناشنوایی وابسته به GJB2 در ایران (۱۱٪) می‌باشد.^(۱،۲۸) در این مطالعه در استان سیستان و بلوچستان، ۲۰۰ کروموزوم (۱۰۰ بیمار از ۱۰۰ خانواده) از دو نژاد بلوچ و سیستانی مورد بررسی قرار گرفتند که ۱۸ کروموزوم (۹٪) جهش در ژن GJB2 را نشان دادند. جهش‌هایی که در این جمعیت باعث ناشنوایی شده‌اند، عبارتند از: W24, W24X, R127H, 167delT, M93I, K122I نسبت به سایر جهش‌ها از بالاترین میزان فراوانی برخوردار است. این جهش قبلاً در هندوستان و پاکستان همچنین در نژاد اسلواک رومانی گزارش شده است.^(۱۹،۲۰) همچنین جهش‌های M93I و K122I جزو جهش‌های نادر بوده که تاکنون در جمعیت ایران گزارش نشده است. این نتایج نشان می‌دهد که در جمعیت مورد مطالعه، احتمالاً ژن‌های دیگری در ایجاد ناشنوایی غیر سندرمی با وراثت اتوزومی مغلوب دخیل می‌باشند و با توجه به اینکه جمعیت ایران ترکیبی از اقوام و نژادهای مختلف است، با بررسی آنها می‌توان به نتایج جدید دست یافت، همچنین می‌توان از مطالعه خانواده‌هایی که فاقد جهش‌های GJB2 بودند برای شناسایی دیگر ژن‌های مسئول در ناشنوایی استفاده کرد.

سپاسگزاری

کشور ایران متشکل از اقوام مختلفی است، با توجه به اینکه فراوانی جهش‌های GJB2 در اقوام مختلف متفاوت است^(۲۷-۲۵)، ضروری است که اقوام مختلف ایران به صورت جداگانه بررسی شوند. در مطالعه اولیه‌ای که توسط دکتر نجم‌آبادی بر روی ۸۳ خانواده با ناشنوایی اتوزومی مغلوب انجام گرفت، در ۹ خانواده (۱۱٪) ناشنوایی وابسته به ژن GJB2 بود. بیشترین ژنوتیپ مربوط به 35delG بود به طوری که ۴ خانواده از ۹ خانواده، ژنوتیپ کروموزومی هموزیگوت برای 35delG داشتند. در این بررسی شیوع DFNB1 در جمعیت ایرانی بسیار کمتر از جمعیت‌های غربی گزارش شد.^(۱)



شکل ۲- الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸٪. ستون‌های فرد (۱،۳،۵،۷،۹) آلل نرمال و ستون‌های زوج آلل موتانت را نشان می‌دهند (۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰). برای هر فرد دو واکنش (دو ستون) انجام می‌شود. باند بالایی که در تمام ردیف‌ها دیده می‌شود کنترل داخلی به طول ۳۶۰ جفت باز است، باند پایینی، قطعه مورد نظر ما می‌باشد. در این شکل:

۱- ۲- ردیف‌های مربوط به فرد سالم:

۱- در این ردیف از پرایمر نرمال استفاده شده که باند ۲۰۲ جفت بازی را تولید می‌کند.

۲- در این ردیف از پرایمر جهش یافته استفاده شده که باندی برای این فرد ایجاد نمی‌شود.

۳- ۴- ردیف‌های مربوط به فرد هتروزیگوت (حامل):

۳- در این ردیف از پرایمر نرمال استفاده شده که باند ۲۰۲ جفت بازی را تولید می‌کند.

۴- در این ردیف از پرایمر جهش یافته استفاده شده که باند ۲۰۲ جفت بازی را تولید می‌کند.

۵ و ۶- ردیف‌های مربوط به فرد هموزیگوت:

۵- در این ردیف از پرایمر نرمال استفاده شده در نتیجه برای فرد بیمار باندی ایجاد نمی‌شود.

۶- در این ردیف از پرایمر جهش یافته استفاده شده است در نتیجه برای فرد بیمار به طول ۲۰۲ جفت باز تولید می‌کند.

۷ و ۸- ردیف‌های مربوط به فرد سالم

۹ و ۱۰- ردیف‌های مربوط به فرد هتروزیگوت

از خانواده‌های محترم بیماران مورد مطالعه و همکاران
شایانی داشتند، به ویژه خانم صفورا ریگی و آقای اختری مدیر
دبستان باغچه بان تشکر می‌نمائیم.

منابع

References

1. Najm abadi H, Cucci RA, Sahebjam S, et al. GJB2 mutation in Iranian with autosomal recessive non-syndromic sensorineural hearing loss. *Hum Mut* 2002; 19:572-4.
2. Del Castillo I, Villamar M, Moreno-Playo MA, et al. A deletion incoding the connexin 30 gene in non-syndromic hearing impairment. *N Engl J Med* 2002; 346:243-9.
3. Nance WE. The genetics of deafness. *Ment Ret Develop Dis* 2003; 9:109-19.
4. Ram Shankar M, Girirajan S, Dagan O, et al. Contribution of connexin 26 (GJB2) mutations and founder effect to non-syndromic hearing loss in India. *J Med Genet* 2003; 40:68-9.
5. Kemperman MH, Robin JB, Verslis VK, et al. Hearing loss and connexin 26. *J R Soc Med* 2002; 95: 171-7.
6. Philippe P, Scot DA, Kraft ML, et al. Connexins, hearing and deafness, clinical aspects of mutations in the connexin 26 gene. *Brain Research Reviews* 2000; 32: 159-62.
7. Tekin M, Arons KS, Pandya A. Advances in hereditary deafness. *Lancet* 2001; 358:1082-90.
8. <http://www.crg.ed/deafness>
9. Goodenough DA, Goliger JA, Paul DL. Connexins, connexons, and intercellular communication. *Anu Rev Biochem* 1996; 65:475-502.
10. Kiang DT, Jin N, Tu ZJ, et al. Upstream genomic sequence of the human connexin 26 gene. *Gene* 1997; 199: 165-71.
11. Kelley PM, Harris DJ, Comer BC, et al. Novel mutations in the Connexin 26 gene (GJB2) that case autosomal recessive (DFNB1) hearing loss. *Am J Hum Genet* 1998; 62:792-9.
12. Kelsell DP, Dunlop J, Stevens HP, et al. Connexin 26 mutation in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. *Nature* 1997; 387:80-3.
13. D'Andrea P, Veronesi V, Bicego M, et al. Hearing loss: frequency and functional studies of the most common connexin 26 alleles. *BBRC* 2002; 296: 685-91.
14. Shahin H, Walsh T, Sobe T, et al. Genetics of congenital deafness in the Palestinian population multiple connexin 26 alleles with shared origins in the Middle East. *Hum Genet* 2002; 110: 284-9.
15. Rothrock CR, Murgia A, Sartorato EL, et al. Connexin 26 35 delG does not represent a mutational hot spot. *Hum Genet* 2003; 113: 18-23.
16. Lopponen T, Vaisanen ML, Loutonen M, et al. Connexin 26 mutations and non-syndromic hearing impairment in Northern Finlan. *Laryngoscope* 2003; 113: 1758-63.
17. Hwa HL, Ko TM, Hsu CJ, et al. Mutation spectrum of the connexin 26 (GJB2) genes in Taiwanese patients with prelingual deafness. *Genet Med* 2003; 5: 161-5.

18. 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.
19. Minarik G, Ferak V, Frankova E, et al. High frequency of GJB2 mutation W24X among Slovak Romany (Gypsy) patients non-syndromic hearing loss (NSHL). *Gen Physiol Biophys* 2003; 22:549-56.
20. Maheshwari M, Vijaya R, Ghosh M, et al. Screening of families with autosomal recessive non-syndromic hearing impairment (ARNSHI) for mutation in GJB2 gene: Indian Scenario. *Am J Med Genet* 2003; 120:180-4.
21. Kelsell DP, Di WL, Houseman MJ. Connexin mutations in skin disease and hearing loss. *Am J Hum Genet* 2001; 68:559-68.
22. Gaoparini P, Estivill X, Volpini V, et al. Linkage of DFNB1 to non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness in Mediterranean families. *Eur J Hum Genet* 1997; 5:83-8.
23. Van Laer L, Coucke P, Mueller RF, et al. A common founder for the 35delG connexin 26 (GJB2) gene mutations in non-syndromic hearing impairment. *J Med Genet* 2001; 38:115-8.
24. Kndo T, Ikeda K, Oshima T, et al. GJB2 (Connexin 26) mutations and child hood deafness in Thailand. *Oto Neurotol* 2001; 22:858-61.
25. Fuse y, Dioi K, Hasegawa T, et al. Three novel connexin 26 gene mutations in autosomal recessive non-syndromic deafness. *Neuroreport* 1999; 10:1853-7.
26. Park HJ, Hahn SH, Chun YM, et al. Connexin 26 mutations associated with nonsyndromic hearing loss. *Laryngoscope* 2000; 110:1535-7.
27. 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.

۲۸. بزازادگان نیلوفر، دکتر میرحسینی نوشین، دکتر ضیاالدینی حسن و همکاران. وفور نسبی جهش (35delG) در ژن GJB2 در جمعیت ناشنوایان غیرسندرمی جسمی مغلوب استان کرمان. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان. دوره ۱۱، شماره ۳، ص ۴۰-۱۳۶.

Prevalence of GJB2 mutations among patients with autosomal recessive non syndromic hearing loss in Sistan and Baloochestan province

Naghavi A., Ms*; Nishimura C., PhD**; Kahrizi K., MD***; Riazalhosseini Y., Ms***
Suraki Aliabadib H., MD****; Mahdieh N., Ms***; Smith Richard JH., PhD**; Najmabadi H., PhD***

Background: Hereditary hearing impairment is a heterogeneous disability showing different pattern of inheritance and involving a multitude of different genes. Mutations in the GJB2 gene, especially the 35delG mutation, have been established as a major cause of inherited and sporadic non-syndromic deafness in various ethnic groups. Because population-specific differences are not uncommon, in this study we sought to determine the prevalence and spectrum of GJB2 mutations in two isolated ethnic groups of Balooch and Sistani in southeastern Iran.

Methods and Materials: In this study in 2004 2005 we analyzed one hundred families belonging to the Balooch and Sistani populations suffering from autosomal recessive non-syndromic hearing impairment. Mutation screening of GJB2 was performed by an allele-specific PCR assay to detect the 35delG mutation. The negative or heterozygous cases for the 35delG mutation were screened by denaturing high performance liquid chromatography (DHPLC) and sequencing analysis.

Results: 35delG mutation which is the most common GJB2 mutation in the white population as well as other parts of Iran was not found in any of the patients. We identified GJB2 mutant alleles in 18 chromosomes (9%) including R127H, K122I, W24X, 167delT and M93I. Among them W24X had the highest frequency.

Conclusions: Based on these data, the hot-spot mutations in the GJB2 gene in the Balooch population with non-syndromic hearing loss may be different from other ethnic groups in Iran.

KEY WORDS: Deafness, GJB2, DHPLC

* Microbiology Dept, Faculty of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences and health services, Zahedan, Iran.

** Molecular Otolaryngology Research Laboratories, Department of Otolaryngology, University of Iowa, Iowa City, IA, USA.

***Genetics Research Center, University of Social Welfare and Rehabilitation Sciences, Tehran, Iran.

**** General Physician.