فصلنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال سیزدهم، شماره ۳، صفحه ۱۷۰- ۱۶۳ (پاییز ۱۳۸۹)

بررسی جهش‌های ژن DFNB59 با استفاده از روش PCR-SSCP/HA در ناشنوایی ژنتیکی غیرسندرمی در استان بوشهر

فاطمه آزادگان‌دهکردی[۱]، عفت فرخی[۲]، جواد صفاری[۲]، مصطفی منتظرظهوری[۳]، غلامرضا مبینی[۴]، مریم طاهرزاده[۲]، مرضیه ابوالحسنی[۱]، مرضیه رئیسی[۵]، گل‌اندام بنی‌طالبی[۵]، سمیه رئیسی[۶]، مهدی بنی‌طالبی[۷]، اعظم عسگری[۸]، فاطمه تاجی[۸]، سیدابوالفتح شیرمردی[۹]، مهشید سلیمانی[۱۰]، محبوبه کثیری[۱۱]، مرتضی هاشم‌زاده‌چالشتری[۱*]

[۱*] گروه ژنتیک، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم‌پزشکی شهرکرد
[۲] گروه بیوشیمی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم‌پزشکی شهرکرد
[۳] گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران
[۴] گروه ویروس‌شناسی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم‌پزشکی شهرکرد
[۵] مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم‌پزشکی شهرکرد
[۶] گروه سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم‌پزشکی شهرکرد
[۷] گروه هماتولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
[۸] گروه فیزیولوژی جانوری، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
[۹] سازمان بهزیستی استان چهارمحال و بختیاری
[۱۰] گروه جامعه‌شناسی، سازمان بهزیستی استان چهارمحال و بختیاری
[۱۱] گروه پرستاری، سازمان بهزیستی استان چهارمحال و بختیاری

چکیده

زمینه: ناشنوایی متداول‌ترین نقص حسی عصبی است که هتروژن بوده و عوامل محیطی نیز در بروز آن دخیل می‌باشد. بیشتر ناشنوایی‌ها منشأ ژنتیکی داشته و در حدود ۶۰ درصد از موارد ناشنوایی را شامل می‌شود. ژن جدید DFNB59 که پژواکین را کد می‌کند، اخیراً نشان داده شده که عاملی در ایجاد ناشنوایی است. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی جهش های ژن DFNB59 در مناطق کدکننده این ژن در استان بوشهر انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی جهش‌های احتمالی در اگزون‌های (۷- ۲) ژن DFNB59 در ۸۰ نفر ناشنوا بررسی-شد. DNA با روش استاندارد فنل کلروفرم استخراج شد و با روش PCR-SSCP/ HA جهش‌های این ژن را غربالگری کرده و برای تأیید آنها را تعیین توالی نمودیم.

یافته‌ها: درکل، ۹ پلی‌مورفیسم از نوع C>G۷۹۳ در ۸۰ بیمار ناشنوای ژنتیکی غیرسندرمی یافت شد. با این‌وجود هیچ جهشی در ژن مذکور شناسایی نشد.

نتیجه‌گیری: مطالعات ما نشان داد که همراهی جهش‌های ژن DFNB59 با ناشنوایی در نمونه‌های مورد مطالعه وجود ندارد.

واژگان کلیدی: ناشنوایی، پژواکین، ژن DFNB59، چندشکلی، چندشکلی ساختار فضایی تک‌رشته‌ای، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، آنالیز هترودوپلکس
دریافت مقاله: ۸۸/۹/۲۹- پذیرش مقاله: ۸۸/۱۰/۱۹

* شهرکرد، رحمتیه، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی
Email:mchalesh@yahoo.com

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-12]

مقدمه

ناشنوایی متداول‌ترین نقص حسی در انسان است که بسیار هتروژن بوده وعوامل ژنتیکی، محیطی و یا هر دو در بروز آن دخیل می‌باشد (۱). این نقص یک در ۱۰۰۰ نوزاد را پیش از تکلم[1] درگیر می‌کند. ناشنوایی دارای طیف وسیعی از تظاهرات بالینی شامل: مادرزادی یا دیررس، هدایتی یا حسی-عصبی، سندرمی یا غیرسندرمی است (۳). بیش از ۶۰ درصد موارد ناشنوایی ارثی است. در ناشنوایی ارثی حدود ۸۰ درصد موارد از نوع غیرسندرمی با الگوی اصلی وراثت اتوزومی مغلوب می‌باشد (۵-۳).

تخمین‌ها حاکی از آن است که ۱ درصد ژن‌های انسان به‌نحوی در فرایند ناشنوایی ارثی دخیل باشند. تاکنون بیش از ۱۰۰ لوکوس را در ناشنوایی غیرسندرمی با وراثت مغلوب شناسایی نموده‌اند (۶). ژن جدید DFNB59 پروتئین پژواکین را کد می‌کند. این ژن بر روی کروموزوم 2 q31.2 قرار گرفته است. DFNB59 (MIM: 610219) شامل هفت اگزون است که اگزون اول آن غیر کدکننده است. ژن پژواکین یک پلی‌پپتید ۳۵۲ اسید آمینه‌ای را کد می‌کند. این ژن بیان سراسری داشته و پروتئین آن در گوش درونی، در اندام کورتی و نورون‌های گانگلیون مارپیچی مسیر شنوایی‌آوران بیان می‌شود.

اخیراً دو جهش مربوط به این ژن در ۴ خانواده ایرانی با ناشنوایی اتوزومی مغلوب (DFNB) توسط دلمقانی (Delmaghani) و همکاران گزارش گردید که نقش جهش‌های این ژن را در ناشنوایی عصبی مشخص نموده‌اند (۷). هاشم زاده و همکاران نیز دو جهش را برای ژن DFNB59 در ۳۰ خانواده خویشاوند ایرانی که دچار اتوزومی نهفته غیرسندرمی بودند گزارش کردند (۸). آنها دریافتند که همه‌ی این افراد قبلاً برای جهش در ژن GJB2 غربال‌گری شده بودند (۱۴-۹). در حال حاضر تغییرات دیگر توالی ژن DFNB59 در دیگر جمعیت‌ها هنوز شناخته نشده است و در جریان مطالعه‌ای که هاشم‌زاده و همکاران انجام دادند ۵ تغییر توالی در ژن DFNB59 را گزارش کرده که شامل دو تغییر چارچوب[2] از نوع c.729delT و c.988delG و ۳ جهش بد معنی[3] شامل c.793C>T، 793C>G و c.874G>A می‌باشند (۱۷-۱۵).

در مطالعه‌ای که توسط اسکووانذر (Schwander) و همکاران روی موش‌های آزمایشگاهی انجام شد بیان داشت که اگرچه مطالعات قبلی اثر جهش‌های ژن پژواکین را در اعصاب شنوایی تأیید می‌کند، اما یافته‌های آنها بر درگیری سلول‌های مویی بیرونی دلالت داشته و تنوع در فرایندهای بیماری‌زایی ژن پژواکین را بیان می‌دارد (۱۸). در مطالعه دیگری که یک خانواده مراکشی با ناشنوایی اتوزوم مغلوب برای وجود جهش‌های ژن پژواکین مورد بررسی قرار گرفت، علاوه بر گزارش جهش c.113-114inst، بیان شد که این جهش از نوع عصبی نبوده بلکه نقص سلول‌های مویی در گوش را ایجاد می‌کند (۱۹).

با توجه به مطالعات اندک انجام شده در رابطه با تعیین نقش جهش‌های این ژن در ایجاد ناشنوایی در کشورهای مختلف و از جمله ایران، بررسی‌های بیشتر جهت تعیین نقش این ژن در ایجاد انواع ناشنوایی‌ها ضروری بنظر می‌رسد. لذا این مطالعه با هدف بررسی جهش در اگزون‌های ۷-۲ ژن پژواکین در ۸۰ ناشنوای بوشهری انجام گرفته است.

[1] Prelingual

[2] Frameshift
[3] Misssense

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-12]

مواد و روش‌کار

جدول ۱) آغازگرهای طراحی شده و دمای لازم جهت چسبیدن پرایمرها برای تکنیک PCR

اگزون	آغازگرها	چسبیدن پرایمرها	اندازه قطعه (bp)
F2	5' ATG GAT TTA TCT GGG GGT TGC 3'	51 ºC	296
R2	5' ACA GAT GAA TGA GTT GGC ACT CC 3'		
F3	5' ACT GAG TTT CTT CTT ATA AAG G 3'	55 ºC	236
R3	5' TTA GGA TTA TTA TAC TGA CCG 3'		
F3M*	5' ACT GAG TTT CTT CTT AG*A AAG G 3'		
F4	5' TAC TAT TAG GTG AAC TAT GAA TG 3'	56 ºC	282
R4	5' AGT TAG TAA GAG AAC CCA AC 3'		
F4M*	5' TAC TAT TAG GTG AAC TAC* GAA TG 3'		
F5	5' AGC TAT CCT TAC ATG TTA TGA TCC 3'	58 ºC	192
R5	5' TCA TGC AGA CCC TTA ACT CAC 3'		
F5M*	5 ' AGC TAT CCT TAC ATG TTA G*GA TCC 3'		
F6	5' ACT AGA ATT CAT CAC CCC ATC 3'	53 ºC	231
R6	5' ACC TCA TGT GTT AAG CCA GG 3		
F7A	5' TAT TTC ATG ACT AGT GGA TTC AC 3'	53 ºC	215
R7A	5' AAG TAA GTT AAC TCG GAT ATG G 3'		

*FM: آغازگرهای با جهش‌های خود ساختهٔ Forward که در یک نوکلئوتید متفاوت‌اند.

در این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی تعداد ۸۰ نفر افراد ناشنوای ژنتیکی غیرسندرمی با الگوی اتوزومی مغلوب که تنها عارضه‌ی آنها ناشنوایی بوده از ناشنوایان تحت‌نظر سازمان بهزیستی استان بوشهر با دریافت پرسشنامه که شامل: مشخصات بیمار، نوع ازدواج والدین و اطلاعات شجره با درج رضایت والدین آنها و اثر امضای موافقت آنها، با روش نمونه‌گیری آسان جمع‌آوری شدند. بیماران شامل ۳۹ زن و۴۱ مرد با میانگین سنی ۸/۶۲±۱۹/۶ سال و دامنه سنی۴۷-۴ سال بوده که از این تعداد حدود ۶۳ درصد آنها خویشاوند بودند. لازم به ذکر است که طیف سنی نقشی در پیشرفت بیماری یا در کل ارتباطی با بیماری ندارد.

از هر فرد به میزان ۵ میلی‌لیتر خون جهت انجام آزمایشات ژنتیکی در لوله‌های حاوی EDTA نیم مولار گرفته و به مرکز تحقیقات سلولی ومولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد منتقل گردید. سپس DNA خون بیماران به روش معمول فنل‌وکلروفرم استخراج گردیده و غلظت DNA استخراج شده با روش اسپکتروفتومتری (unico 2100, USA) اندازه‌گیری شد (۲۰). سپس با استفاده از توالی ژن DFNB59 به رمز دسترسی (HGNC:29502) و نرم‌افزار Primer3 توالی‌های آغازگر جلوبرنده (F)[4] و آغازگر معکوس (R)[5] برای اگزون‌های ۲ تا ۷

[4] Forward primer
[5] Reverse primer

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-12]

این ژن طراحی و خریداری شد. از طرفی با توجه به عدم دسترسی به نمونه‌های کنترل مثبت برای اگزون‌های ۳، ۴ و ۵ با استفاده از روش جهش‌زایی هدفدار[6] آغازگرهای دارای جهش خود ساخته تهیه و محصول واکنش زنجیره پلیمراز (PCR) مربوطه به‌عنوان کنترل مثبت در کنار نمونه‌ی بیماران در ژل پلی‌اکریل آمید استفاده شد (جدول۱). درضمن برای اگزون‌های ۲، ۶ و ۷ نمونه‌های کنترل مثبت را در اختیار داشتیم.

هر میکروتیوپ PCR حاوی ۱ میکرولیتر از هر یک از دو آغازگر F و R با غلظت ۵۰ پیکومول، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم Taq پلی‌مراز (۵ واحد در میکرولیتر)، ۰/۵ میکرولیتر مخلوط دزوکسی نوکلئوتیدهای تری‌فسفات با غلظت ۱۰ میلی‌مول، ۲ میکرولیتر بافر PCR (۱۰X)، ۲ میکرولیتر کلریدمنیزیم با غلظت ۵۰ میلی‌مول و ۳ میکرولیتر DNA (۱۰۰ نانوگرم) بود که با آب مقطر به حجم نهایی ۲/۵ میکرولیتر رسید. تکثیر DNA طی ۳۰ الی ۳۵ سیکل، با استفاده از دستگاه ترموسایکلر(ASTEC, PC818 - Japan) انجام شد. در هرسیکل حرارتی ازحرارت ۹۶°C جهت واسرشته شدن رشته‌های DNA، ۵۲°C–۵۸°C جهت اتصال پرایمرها به DNA هدف و ۷۲°C جهت ساخت رشته‌های مکمل استفاده شد (جدول۱).

استفاده از روش چندشکلی ساختار تک‌رشته‌ای (SSCP)[7] بر این اساس استوار است که DNA تک‌رشته‌ای با توجه به ترکیب بازی می‌تواند حالت‌ها و آرایش‌های فضایی متعددی بگیرد، بنابراین اگر در DNA نرمال جهشی رخ داده باشد منجر به تغییر آرایش فضایی تک‌رشته‌ای آن شده که بر اساس تفاوت حرکت آن روی ژل پلی‌اکریل‌آمید جدا می‌گردد (۲۱). سپس با استفاده از روش PCR-SSCP/HA که شامل SSCP محصولات PCR و آنالیزهترودوپلکس (HA)[8] به‌طور همزمان است، جهش‌های احتمالی به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول ۲) شرایط ویژه الکتروفورز SSCP محصولات PCR

اگزون	°Cدما	ولتاژ	زمان ساعت	غلظت ژل	سایر ترکیبات
۲	۵	۲۸۰	۵/۵	٪۸	—
۳	۱۰	۲۰۰	۶	٪۶	گلیسرول ۲/۵ میلی‌لیتر
۴	۱۰	۳۰۰	۵	٪۱۰	—
۵	۲۰	۲۰۰	۵/۵	٪۶	—
۶	۲۰	۲۰۰	۵/۵	٪۶	گلیسرول ۲/۵ میلی‌لیتر
Av	۱۰	۲۸۰	۶	٪۱۰	—
Bv	۱۰	۲۸۰	۵	٪۸	—

برای این منظور، بعد از تکثیر قطعات مورد نظر توسط روش PCR، نمونه‌های مورد نظر بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸ درصد (Merk, Germany)، با جریان ۵۰ میلی‌آمپر به مدت ۱ ساعت الکتروفورز شدند و سپس با نیترات نقره رنگ‌آمیزی و باندها رؤیت شدند. ابتدا جهت SSCP محصولات PCR از هر نمونه محصول PCR، ۸ میکرولیتر برداشته و با ۶ میکرولیتر SSCP Dye مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۶°C حرارت داده شد تا دو رشته DNA به طور کامل از هم جدا شوند. سپس نمونه‌ها بلافاصله روی یخ قرارگرفتند تا از تشکیل مجدد DNA دورشته‌ای ممانعت شود. از طرفی ۲/۲ میکرولیتر محصول PCR از هر نمونه با ۳/۲

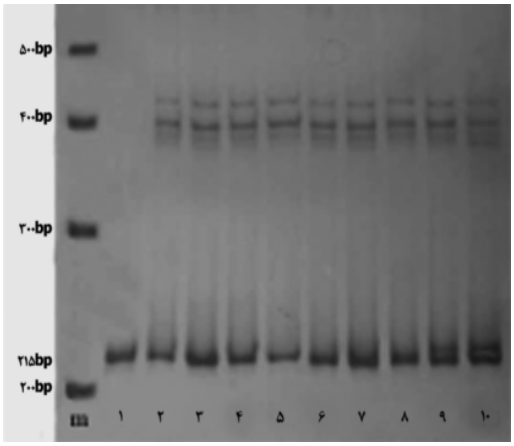
[6] Site-directed mutagenesis
[7] Single-Strand Conformation Polymorphism
[8] Hetero duplex Analysis

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-12]

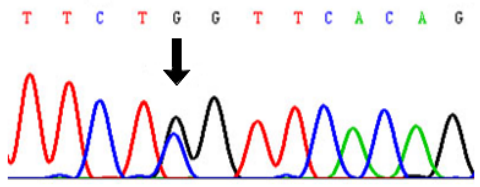
میکرولیتر EDTA (۰/۵مولار)، مخلوط و در دستگاه ترموسایکلر به حرارت ۹۶°C رسانده شد، سپس ۵ دقیقه در این حرارت نگهداری و طی ۶۰ سیکل ۳۰ ثانیه‌ایی حرارت به ۳۷°C رسانده شد. محصولات PCR آماده شده برای SSCP هر نمونه را با محصولات PCR آماده شده برای هترودوپلکس همان نمونه مخلوط و در ژل پلی‌اکریل‌آمید بارگیری شدند (جدول۲). بعد از پایان الکتروفورز، ژل پلی‌اکریل‌آمید با نیترات نقره رنگ‌آمیزی و باندهای DNA بر روی آن رؤیت و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در نهایت کلیه نمونه‌های مشکوک به داشتن جهش DFNB59 که دارای الگوی متفاوت بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید بودند، توسط روش تعیین توالی DNA مورد تأیید قرار گرفتند.

یافته‌ها

بعد از تکثیر قطعات DNA مورد نظر با استفاده از PCR و انجام روش PCR-SSCP/HA بر روی این ۸۰ نمونه بیمار، ۹ مورد مشکوک را در اگزون 7A مشاهده کردیم که این موارد مشکوک مربوط به هترودوپلکس نمونه‌هایی بود که بر روی ژل الکتروفورز به جای یک باند، به صورت دو باند مشاهده شدند (تصویر۱)، اما باندهای مربوط به هترودوپلکس بقیه اگزون‌ها هیچگونه تغییری را نشان ندادند. سپس ۹ مورد مشکوک با روش تعیین توالی مورد تأیید نهایی قرار گرفت (تصویر ۲). تغییرات ژنی شناخته شده نیز همگی از نوع چندشکلی[9] c.793C>G بودند. براساس مطالعه حاضر این نتیجه حاصل می‌شود که ژن پژواکین در ناشنوایی اتوزومی مغلوب غیرسندرمی نقش بسیار کمی دارد.



تصویر۱) نتایج حاصل از الکتروفورز PCR-SSCP /HA اگزون 7A
نمونهٔ ۱: محصول PCR، نمونه‌های ۸-۲ در این اگزون الگوی طبیعی دارند. نمونه‌های ۹ و۱۰ دارای پلی‌مورفیسم c.793C>G (باندهای HA به‌صورت دو باند قابل مشاهده هستند)



تصویر ۲) نتایج تعیین توالی اگزون ۷A ژن پژواکین چند شکلی c.793C>G

بحث

ناشنوایی دارای طیف وسیعی از تظاهرات بالینی است و سبب‌شناسی آن شامل دلایل محیطی، ژنتیکی یا هر دو می‌باشد. تخمین‌ها حاکی از آن است که تا ۱ درصد ژن-های انسان به طریقی در فرآیند شنوایی دخیل می‌باشند. شناسایی بیش از ۱۲۰ ژن مرتبط با ناشنوایی دیدگاه جدیدی را نسبت به فیزیولوژی شنوایی برای ما فراهم آورده است (۲) و یکی از آنها ژن DFNB59 می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی ارتباط جهش‌های ۶ اگزون

[9] Polymorphism

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-12]

ژن DFNB59 با ناشنوایی، در استان بوشهر انجام گرفت و نتایج حاکی از ۹ مورد چندشکلی c.793C>G در کل نمونه‌های مورد مطالعه بود و هیچگونه تغییر ژنی بیماری‌زا مشاهده نشد.

در کشور ما مطالعات انجام شده در مورد ژن DFNB59 و نقش جهش‌های مربوط به آن در ارتباط با ناشنوایی بسیار محدود است. این ژن اخیراً توسط دلمقانی (Delmaghani) و همکاران در تعداد ۴ خانواده ایرانی کشف شد. که ایشان دو جهش T541 و R183W را نیز گزارش کردند (۷).

هاشم‌زاده و همکاران نیز ۳۰ خانواده بزرگ که ناشنوایی اتوزومی مغلوب غیرسندرمی را بررسی و میزان ۶/۷ درصد جهش را در این خانواده‌ها گزارش کردند. در ضمن جهش‌های 726delT و 988delG را هم برای اولین بار گزارش نمودند. ایشان همچنین ۳ چندشکلی را در ژن DFNB59 که شامل 874G>A، 793C>T و 793C>G می‌باشد را با روش PCR–SSCP/ HA گزارش نمودند (۲۲).

بزاززادگان و همکاران نیز با بررسی روی ۵۰ خانواده ایرانی با ناشنوایی اتوزومی مغلوب، جهش 122delA را به میزان ۴ درصد در ژن DFNB59 گزارش کردند (۲۳).

کولین (Collin) و همکاران دو مورد جهش R167X و R183W را در ۲ بیمار از ۶۸ خانوادهٔ ناشنوای اتوزومی مغلوب و ۲ جهش هتروزیگوت L244R و 509-512del CACT را در۲ بیمار از ۸۳ ناشنوای مورد مطالعه‌ی هلندی گزارش نمودند. این محقق نهایتاً نتیجه‌گیری نمود که جهش‌های ژن DFNB59 علت عمده‌ی ناشنوایی غیرسندرمی در جمعیت‌های ترک و هلندی مورد مطالعه نبوده است (۲۴). در مطالعه‌ای دیگر که توسط ابرمن (Ebermann) و همکاران انجام شد یک جهش c.113-114 insT از یک خانواده‌ی ناشنوای اتوزومی مغلوب غیرسندرمی پیشرونده گزارش گردید (۱۹).

با این اوصاف فقط تعداد کمی جهش در ژن DFNB59 در ناشنوایان گزارش شده که این نتایج حاکی از این است که جهش‌های این ژن در ایجاد ناشنوایی نقش چشمگیری ندارند. بااین‌وجود نوع روش آزمایش و تکنیک شناسایی جهش نیز دارای اهمیت زیادی است. روش SSCP برای بررسی جهش در اگزون‌های این ژن تنظیم شد و با توجه به هزینه مناسب و حساسیت بالای آن که حدود ۸۵ درصد است، روشی مناسب برای بررسی جهش‌های احتمالی در این ژن می‌باشد (۲۵). هر چند CR-SSCP به‌عنوان یک روش معمول جهت غربال‌گری جهش‌ها مورد استفاده قرار گرفته است، این روش نسبتاً حساس و دقیق می‌باشد و نتایج حاصل تحت تأثیر عوامل محیط و شرایط آزمایشگاه، متغییر است (۲۱). اما در این مطالعه استفاده از نمونه‌های کنترل مثبت با جهش خود ساخته در هر ژل و مقایسه آن با نمونه بیماران بر روی همان ژل و همچنین استفاده همزمان از روش PCR-SSCP و HA دقت بسیار بالایی را در تشخیص جهش‌های ژن DFNB59 فراهم نمود و از طرفی استفاده از روش تعیین توالی برای نمونه‌های مشکوک و تأیید آنها جای هیچ‌گونه ابهامی را خالی نگذاشت. همان‌گونه که تغییرات ژنی که با این روش در ۱۰۰ نمونهٔ ناشنوا از استان چهارمحال و بختیاری در قسمت دیگری از این مطالعه شناسایی شده بود متعاقباً و به‌طور کامل با روش تعیین توالی تأیید شد (۲۶). بر اساس این مطالعه و مطالعات انجام شده دیگر جهش در ژن

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-12]

DFNB59 و نقش آن در ایجاد نا شنوایی در جمعیت نادر بوده و می‌طلبد تا مطالعات بیشتری بر روی سایر اقوام و تعداد نمونه‌های بیشتری انجام گیرد تا نقش این ژن در ناشنوایی بیشتر مشخص شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از سازمان بهزیستی استان بوشهر و کلیه ناشنوایان و والدین آنها که صمیمانه ما را در اجرای این مطالعه یاری رساندند و همچنین از سازمان بهزیستی استان چهارمحال و بختیاری و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد جهت تأمین بودجه (با شماره گرانت ۵۳۵) و از کلیه کارکنان محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی شهرکرد کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References:

1.Petit C, Levilliers J, Hardelin JP, et al. Molecular genetics of hearing loss. Annu Rev Genet 2001; 35: 589-646.
2.Ouyang XM, Yan D, Yuan HJ, et al. The genetic bases for non-syndromic hearing loss among Chinese. J Hum Genet 2009; 54: 131-40.
3.Marazita ML, Ploughman LM, Rawlings B, et al. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the U.S. school-age population. Am J Med Genet 1993; 46: 486-91.
4.Morton NE, Shields DC and Collins A. Genetic epidemiology of complex phenotypes. Ann Hum Genet 1991; 55: 301-14.
5.hereditary hearing loss homepage. Nonsyndromic genes: autosomal recessive. (Accessed in july 20, 2010 at http://hereditaryhearingloss.org/main.aspx?c=.HHH&n=86163).
6.Van Camp G, Willems PJ, Smith RJH. Nonsyndromic hearing impairment: unparalleled heterogeneity. Am J Hum Genet 1997; 60: 758 – 64.
7.Delmaghani S, del Castillo FJ, Michel V, et al. Mutations in the gene encoding pejvakin, a newly identified protein of the afferent auditory pathway, cause DFNB59 auditory neuropathy. Nat Genet 2006; 38: 770-8.
8. Hashemzadeh Chaleshtori M, Simpson MA, Farrokhi E, et al. Novel mutations in the pejvakin gene are associated with autosomal recessive non-syndromic hearing loss in Iranian families. Clin Genet 2007; 72:261-3.
9.Hashemzadeh Chaleshtori M, Farhud DD, Taylor T, et al. Deafness-associated connexin 26 g (GJB2) mutation in Iranian population. Iranian J Publ Health 2002; 31: 75–9.
10.Hashemzadeh Chaleshtori M, Dowlati M, Farhud DD, et al. Two novel mutations and predominant 35delG mutation in the connexin 26 gene (GJB2) in Iranian population. Iranian J Public Health 2004; 33: 14–19.
11.Hashemzadeh Chaleshtori M, Hoghooghi Rad L, Dowlati M, et al. Frequencies of mutations in the connexin 26 gene (GJB2) in two populations of Iran (Tehran and Tabriz). Iranian J Publ Health 2005; 34: 1–7.
12.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.
13.Hoseinipour 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.
14.Sasanfar R, Toloui 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.
15.Griffith AJ, Chowdhry AA, Kurima K, et al. Autosomalrecessiv nonsyndromic neurosensory deafness at DFNB1 not associated with the compound-heterozygous GJB2 (connexin 26) genotype M34T/167delT. Am J Hum Genet 2000; 67: 745–9.
16.Rabionet R, Zelante L, Lopez-Bigas N, et al. Molecular basis of childhood deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene. Hum Genet 2000; 106: 40-4.
17.Denoyelle F, Weil D, Maw MA, et al. Prelingual deafness: high prevalence of a

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-12]

30delG mutation in the connexin 26 gene. Hum Mol Genet 1997; 6: 2173-7.
18.Schwander M, Sczaniecka A, Grillet N, et al. A forward genetics screen in mice identifies recessive deafness traits and reveals that pejvakin is essential for outer hair cell function. J Neurosci 2007; 27: 2163-75.
19.Ebermann I, Walger M, Scholl HP, et al. Truncating mutation of the DFNB59 gene causes cochlear hearing impairment and central vestibular dysfunction. Hum Mutat 2007; 28: 571-7.
20.Kleihues P, Schauble B, zur Hausen A, et al. Tumors associated with p53 germline mutations: a synopsis of 91 families. Am J Pathol 1997; 150: 1-13.
21.Glavac D, Dean M. Optimization of the single-strand conformation polymorphism (SSCP) technique for detection of point mutations. Hum Mutat 1993; 2: 404-14.
22.Hashemzadeh Chaleshtori M, Farhud DD, Patton MA, et al. Familial and sporadic GJB2-related deafness in Iran: review of gene mutations. Iranian J Publ Health 2007; 36: 1–14.
23.Bazaz zadegan N , Meyer N , Kahrizi K , et al. Linkage analysis ofDFNB59 locus in 50 Iranian families autosomal recessive non syndromic hearing loss. Abstract Article, 10th Iran genetic congress, Center of Razi congress. 2008 May 21-23, Tehran, Iran. 38-9.
24.Collin RW, Kalay E, Oostrik J, et al. Involvement of DFNB59 mutations in autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment. Hum Mutat 2007; 28: 718-23.
25.Orita M, Iwahana H, Kanazawa, et al. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86: 2766-70.
26.Taherzadeh Ghahfarrokhi M , Farrokhi E, Shirmardi SA , et al. DFNB59 gene mutations screening in non syndromic deaf subjects in Chaharmahal va Bakhtiari province. Journal of Shahrekord University Of Medical Sciences. 2010; 11, 76-83.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-12]