مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره شانزدهم، شمارهٔ ۱، دی ۱۳۹۲، صفحه ۷۶-۷۰

جهش c.637+1G>T در ژن CABP2 در خانواده های ایرانی مبتلا به ناشنوایی غیرسندرومی مغلوب اتوزومی

احمدرضا صالحی چالشتری(MSc)[۱]، فاطمه فتاحی(MSc)[۱]، محمدامین طباطبائی فر (PhD)[۲]، اعظم حسینی پور(MD)[۳]، حمیدرضا صالحی چالشتری(MSc)[۴]، فاطمه رضائیان(BSc)[۱]، مرتضی هاشم زاده چالشتری(PhD)[۱*]

۱- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۲- گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور
۳- سازمان آموزش و پرورش استثنایی کشور، تهران
۴- گروه بهداشت، دانشکده بهداشت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

دریافت: ۹۲/۱/۶، اصلاح: ۹۲/۲/۱۱، پذیرش: ۹۲/۴/۱۹

خلاصه

سابقه و هدف: ناشنوایی مادرزادی متداولترین نقص حسی در انسان است. شایعترین جهشهای ژنی دخیل در این بیماری، جهش های ژن GJB2 و بعد از آن جهشهای ژن SLC26A4 می باشند. به دنبال گزارشی که برای اولین بار در جهان مبنی بر دخالت ژن CABP2 در ایجاد ناشنوایی گزارش گردیده است، مطالعه حاضر با هدف بررسی این جهش در بیماران ایرانی مبتلا به ناشنوایی انجام شده است.

مواد و روشها: این مطالعه مقطعی بر روی ۲۵۳ نمونه مبتلا به سطوح متوسط تا شدید ناشنوایی از بین نمونه های موجود، با توجه به شجرنامه و داده های شنوایی سنجی دارای الگوی خانوادگی ناشنوایی مغلوب اتوزومی بودند، انجام شد. با استفاده از روش PCR-RFLP جهش c.637+1G>T در ژن CABP2 بررسی گردید.

یافته ها: بررسی کیفی و کمی DNA تخلیص شده از خون بیماران نشان داد که نمونه های DNA ژنومی از کیفیت مطلوبی برخوردار بودند به گونه ای که متوسط غلظت اندازه گیری شده معادل با ۴۸۸ نانوگرم در هر میکرولیتر و متوسط نسبت جذب در ۲۶۰ نانومتر به جذب در ۲۸۰ نانومتر معادل با ۱/۸۷ بود. نتایج حاصل از PCR-RFLP نشان دهنده عدم وجود جهش c.637+1G>T در نمونه های ناشنوای متوسط تا عمیق خانوادگی در استانهای مورد بررسی بود.

نتیجه گیری: براساس نتایج این مطالعه جهش c.637+1G>T در ژن CABP2 در جمعیت ناشنوایان مورد بررسی ایرانی نقشی در ایجاد ناشنوایی ندارد.

واژه های کلیدی: ناشنوایی غیر سندرومی، PCR-RFLP، CABP2، خانواده های ایرانی

مقدمه

ناشنوایی مادرزادی متداولترین نقص حسی در انسان است و شیوع آن از ۱/۱۰۰۰ تا ۶/۱۰۰۰ در بین نوزادان تازه متولد شده متغیر می‌باشد (۱) البته این نرخ در برخی مطالعات به صراحت ۳/۱۰۰۰ ذکر گردیده است (۲). هم عوامل ژنتیکی و هم عوامل محیطی در شکل گیری اختلال در سیستم شنوایی و بروز ناشنوایی دخیل هستند (۵-۳). ناشنوایی به چند روش تقسیم بندی می‌شود که در یکی از این روشها به انواع عمیق، شدید تا خفیف یا به انواع سندرومی و غیر سندرومی دسته بندی می‌شود (۶). این در حالی است که بیش از ۵۰ درصد موارد ناشنوایی مادرزادی وراثتی هستند (۷). در ناشنوایی نوع سندرومی که حدود ۳۰٪ کل ناشنوایی های وراثتی را تشکیل میدهد اختلال شنوایی با علائم دیگری هم همراه است. ناشنوایی غیر سندرومی بیش از ۷۰ درصد موارد ناشنوایی را تشکیل می دهد که گروه عمده ای از این موارد (بین ۷۵ تا ۸۰ درصد) دارای توارث مغلوب اتوزومی است که به نام ناشنوایی غیر سندرومی مغلوب اتوزومی (Autosomal Recessive Non Syndromic Hearing Loss) (ARNSHL) معروف می باشند و عموماً از نوع پیش از تکلم می باشند (۹-۷) و خصوصاً ARNSHL هتروژنی ژنتیکی بسیار زیادی را نشان می‌دهد (۱۰). تا کنون بیش از ۱۳۰ لوکوس و ۵۳ ژن مختلف برای NSHL شناخته شده است (http://hereditaryhearingloss.org) (۱۲و۱۱) و در ناشنوایی ARNSHL به تنهایی حدود ۷۰ لوکوس مسئول شناسایی شده است (http://hereditaryhearingloss.org). با وجود پژوهشهای مختلف در رابطه با این بیماری، هنوز به دلیل هتروژنی بسیار زیاد و تاثیر هر دو فاکتور محیط

▣ این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۸۸۱-۷۴-۰۷-۱۳۹۰ دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد می باشد.

* مسئول مقاله:
آدرس: شهرکرد، رحمتیه، بلوار دانشگاه، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی ومولکولی، تلفن: ۰۳۸۱-۳۳۴۶۶۹۲ e-mail: mchalesh@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.10.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.70]

و ژنتیک، درصد بسیار زیادی از بیماران از لحاظ مولکولی غیر قابل تشخیص می‌باشند و تعداد بسیار زیادی از لوکوسها، ژنها و جهش های مسئول این بیماری در جوامع مختلف و از جمله ایران شناسایی نشده است (۱۳و۴). شایعترین فاکتور مسبب NSHL، جهش های ژن GJB2 واقع در لوکوس DFNB1 هستند و بعد از ژن مذکور، ژن SLC26A4 واقع در لوکوس DFNB4 دومین دلیل شایع این بیماری است و بعد از اینها به ترتیب جهشهای موجود در DFNB21 و DFNB2 عمده ترین دلایل بروز اختلالات شنوایی مادرزادی می‌باشند (۱۴و۴).

برای اولین بار در سال ۲۰۰۹ با استفاده از روش آنالیز پیوستگی گسترده ژنومی، لوکوس DFBN93 در محل 11q12.3-11q13.2 و در یک خانواده ایرانی ناشنوا شناسایی شد. در این منطقه ۳ ژن KCNQ4, CFL1, RELA شناسایی و تعیین توالی گردیده بود ولی هیچ تغییر پاتوژن در آنها یافت نشده بود (۱۵). در این مطالعه ژن CABP2 به عنوان یک کاندیدا تعیین توالی شده و جهش c.637+1G>T در سه خانواده ناشنوای ایرانی پیدا شده است (۱۶). ژن CABP2 یک زیر خانواده (Subfamily) از پروتئین های اتصالی به کلسیم است که شباهت زیادی به Calmodulin-Dependent Kinase II و Protein Phosphatase Calcineurin دارد و روی کروموزوم ۱۱ قرار گرفته است (11q13.1) (۱۷). CABP2 دارای ۷ اگزون می‌باشد و پروتئین تولید شده توسط این ژن شامل ۲۲۰ اسید آمینه و یک حد واسط مهم کلسیمی انتقال دهنده علائم درون سلولی است (۱۹و۱۸). بنابراین هرگونه اختلال و جهش در این ژن، پیام رسانی درون سلولی در سلولهای گوش داخلی را با مشکل مواجه ساخته و می‌تواند منجر به بروز ناشنوایی گردد (۲۰).

با توجه به نقش مهم این ژن در پیام رسانی داخل سلولی و اولین گزارش بیماریزایی جهش این ژن در خانواده های ناشنوای ایرانی، نیاز به مطالعات بیشتر در رابطه با تعیین میزان دقیق نقش جهش شناخته شده از این ژن در جمعیتهای مختلف کشور محسوس می‌باشد. بر همین اساس در این مطالعه جهش c.637+1G>T در ژن CABP2 در خانواده های ناشنوای ایرانی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

جمع آوری نمونه خون از بیماران و استخراج DNA: نمونه های مورد استفاده در مطالعه حاضر بخشی از حدود ۸۹۰ نمونه خون جمع آوری شده افراد ناشنوا از ۱۰ استان کشور، توسط Hashemzadeh و همکاران می‌باشند(۲۱). از بین نمونه های موجود، تعداد ۲۵۳ نمونه که همگی الگوی خانوادگی ناشنوایی مغلوب اتوزومی را نشان میدادند (این الگو بر اساس شجرنامه خانوادگی تشخیص داده می‌شود) انتخاب شدند.

همه بیماران منتخب مبتلا به ARNSHL بوده و طبق نمودارهای شنوایی سنجی مبتلا به سطوح متوسط تا عمیق ناشنوایی بودند. قابل ذکر است که قبلا از خانواده های ناشنوا (افراد ناشنوا یا والدین ناشنوایانی که هنوز به سن قانونی نرسیده اند) رضایتنامه جهت گرفتن نمونه خون و شرکت در طرح اخذ شده و کلیه اطلاعات بیماران محرمانه و محفوظ می‌باشد. استخراج DNA از نمونه خون بیماران با روش استاندارد فنل-کلروفرم (Phenol-Chloroform) صورت گرفت [www.protocol-online.org/]. پس از اتمام تخلیص، غلظت و کیفیت DNA استخراج شده از طریق روش Spectrophotometry و با استفاده از دستگاه نانودراپ (Thermo NanoDrop 2000™ Spectrophotometer, USA) اندازه گیری شد.

طراحی آغازگر (Primer) و آنزیم محدود کننده مناسب: توالی ژن CABP2 از طریق پایگاه داده های دانشگاه کالیفرنیا (UCSC Genome Bioinformatics (http://genome.ucsc.edu/) استخراج و محل جهش مورد نظر (c.637+1G>T) در ژن CABP2 رهگیری شد. سپس با استفاده از درگاه الکترونیکی پرایمر ۳ (http//www.primer3.com) برای محدوده هدف از ژن CABP2 آغازگر مناسب طراحی شد.

CAPF: 5'-GATGCCCTGGGTCTGTAATG-3'

CAPR: 5'- ATGGGAATGCAGCATAGAGG-3'

در مرحله بعد، توالی هدف را با استفاده از درگاه الکترونیکی NebCutter 2 (http://tools.neb.com/NEBcutter2/) تحلیل و آنزیم محدودگر مناسب انتخاب گردید. در این مطالعه آنزیم KpnI با توجه به جایگاه برشی آن و قطعات حاصل از برش برای انجام روش PCR-RFLP و غربالگری جهش مورد نظر انتخاب گردید.

طراحی پایه ای این مطالعه بر این مبنا صورت گرفته که محصول PCR با استفاده از پرایمرهای فوق الذکر از روی DNA افراد سالم زمانی که تحت تاثیر آنزیم محدود کننده KpnI قرار گیرد به دوباند ۴۰۲ جفت بازی و ۲۹۶ جفت بازی برش میخورد. بنابراین در صورتی که DNA افراد بیمار حامل جهش مورد بررسی، تحت تاثیر آنزیم محدود کننده KpnI قرار بگیرند به علت تغییر یکی از بازهای موجود در جایگاه برشی آنزیم محدود کننده KpnI بواسطه جهش مورد بررسی، توالی این جایگاه تغییر کرده و دیگر جایگاه برشی برای آنزیم KpnI محسوب نمیشود، لذا محصول PCR به شکل برش نخورده باقی میماند.

انجام واکنش PCR و برش با آنزیم محدودکننده (PCR-RFLP): واکنش PCR طبق شرایط ذیل صورت پذیرفت: یک چرخه ۹۵°C برای مدت ۳ دقیقه، ۳۲ چرخه شامل واسرشته شدن (Denaturation) در ۹۴°C برای مدت ۴۰ ثانیه، اتصال پرایمر (Annealing) در ۵۸°C برای مدت ۳۵ ثانیه، و توسعه (Extension) در ۷۲°C برای مدت ۲۵ ثانیه; و یک مرحله توسعه آخر(Final Extension Step) در ۷۲ °C برای مدت ۳ دقیقه که در دستگاه ترموسیکلر (ASTEC PC818, Japan) انجام شد. محصولات حاصل از تکثیر و نمونه کنترل منفی روی ژل پلی اکریلامید ۷ درصد با نسبت آکریلامید به بیس آکریلامید ۱:۲۹ و با ولتاژ ۲۷۰ ولت و جریان ۸۰ میلی‌آمپر الکتروفورز شدند (PAGE) و سپس با نیترات نقره ۱٪ و محلول سود ۱/۵٪ رنگ آمیزی و محصولات بر روی Light Box مشاهده گردیدند. بدین ترتیب از صحت واکنش تکثیر و طول قطعات حاصله اطمینان حاصل گردید. برای غربالگری جهش مورد نظر، محصولات همراه با آنزیم محدودگر KpnI (Fermentas, Germany) طبق دستورالعمل شرکت سازنده به شکل شبانه گرماگذاری (Overnight Incubation) شدند. در نهایت محصولات حاصل از گرماگذاری برای غربالگری بیماران جهش یافته و تعیین ژنوتیپ (Genotyping) روی ژل پلی اکریلامید به شکل مشروح در بالا، الکتروفورز گردیدند.

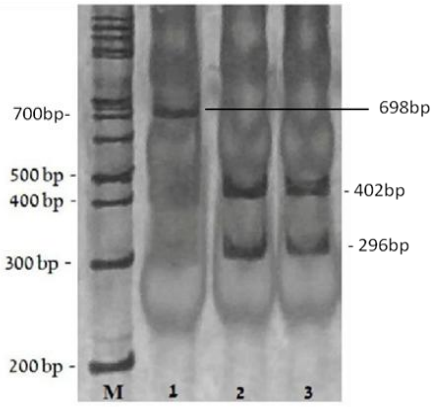
[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.10.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.70]

یافته ها

پس از انتخاب نمونه ها مشخص شد که ۵۱٪ نمونه ها مرد و ۴۹٪ زن هستند و محدوده سنی بیماران نیز از ۳۲-۴ سال بود.

تخلیص DNA و واکنش PCR: بررسی کیفی و کمی DNA تخلیص شده از خون بیماران نشان داد که نمونه های DNA ژنومی از کیفیت مطلوبی برخوردار بودند به گونه ای که متوسط غلظت اندازه گیری شده معادل با ۴۸۸ نانوگرم در هر میکرولیتر و متوسط نسبت جذب در ۲۶۰ نانومتر به جذب در ۲۸۰ نانومتر معادل با ۱/۸۷ بود. نسبت جذب آرمانی برای DNA باید بین ۱/۸ تا ۲ باشد و این نشان دهنده خالص بودن DNA استخراج شده می‌باشد که در واقع کیفیت آن مطلوب تلقی می‌شود (۲۲). محصولات حاصل از واکنش PCR نیز روی ژل پلی اکریلامید برده شدند که درستی انجام واکنش PCR و محصولات مربوطه تایید گردد.

غربالگری جهش c.637+1G>T بوسیله RFLP: محصولات حاصل از PCR با استفاده از آنزیم KpnI گرماگذاری شدند که پس از الکتروفورز روی ژل پلی اکریلامید، فردی که حامل جهش مذکور باشد یافت نشد. تمامی نمونه های گرماگذاری شده با KpnI به دو باند (296bp+402bp) برش خورده بودند که این الگو همانند افراد سالم بود. بنابراین بیماران مورد بررسی جهش مذکور را نداشتند چرا که در صورتی که جهش مورد بررسی را داشته باشند نمونه DNA مربوط به چنین بیمارانی بوسیله آنزیم KpnI برش نخورده و در مقایسه با نمونه مربوط به فرد سالم بر روی ژل کاملا قابل تشخیص است. بنابراین افراد ناشنوای مورد بررسی همانند افراد سالم دارای دو باند (296bp+402bp) روی ژل پلی اکریلامید بودند و حامل جهش c.637+1G>T نبودند (تصویر ۱).



تصویر ۱. محصولات PCR و برش آنها با آنزیم محدود کننده Kpn I .
چاهک M. DNA Ladder
چاهک ۱. نمونه کنترل مثبت (نمونه تیمار نشده با آنزیم)
چاهک ۲ و۳. نمونه های حاصل از گرماگذاری با KpnI مربوط به افراد مورد مطالعه که همگی هموزیگوت طبیعی برای جهش هدف هستند و الگویی شبیه افراد سالم را از لحاظ جهش مورد بررسی نشان میدهند.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه، هیچ نمونه جهش یافته برای جهش c.637+1G>T در جمعیت بیماران مورد بررسی مشاهده نگردید. این امر نشان دهنده نقش کمرنگ جهش c.637+1G>T در ژن CABP2 درایجاد ناشنوایی در جمعیت ناشنوایان ایرانی است. در ناشنوایی حسی- عصبی تا بحال جهش‌های ژنی متنوعی به عنوان عوامل سببی معرفی شده اند. در این میان ژن GJB2 واقع در لوکوس DFNB1 بیشترین سهم را به خود اختصاص داده است که در ایران بر خلاف برخی دیگر از نقاط دنیا (در برخی نقاط دنیا شیوع جهش های این ژن تقریبا ۵۰ درصد است) حدود ۱۸٪ موارد ناشنوایی غیر سندرومی مغلوب اتوزومی ناشی از جهش های این ژن است. به دلیل شیوع بالای جهش‌های این ژن در موارد بروز ناشنوایی، آزمایش مولکولی جهش های این ژن یک روش تشخیص معمول برای شناسایی ناشنوایی ارثی است (۲۴و۲۳). پس از ژن مذکور، ژن SLC26A4 واقع در لوکوس DFNB4 به عنوان دومین ژن از نظر فراوانی در ایجاد ناشنوایی ارثی ذکر گردیده است (۲۵). با وجود سهم بسزای جهش های این دو ژن در ایجاد ناشنوایی اما باز هم در مواردی ناشنوایی به دلایلی غیر از جهش در این دو ژن ایجاد می‌شود و این موضوع ناشی از هتروژنی بسیار زیاد این بیماری می‌باشد و التزام به شناخت بیشتر از دیگر جهش های ژنتیکی ایجاد کننده ناشنوایی ایجاد می‌کند.

اخیرا جهش c.637+1G>T در ژن CABP2 (لوکوس DFNB93) به عنوان یک عامل مهم دیگر در بروز ناشنوایی غیر سندرومی مغلوب اتوزومی با شدت متوسط تا شدید یافت شده است (۱۶). این ژن جدید تولید کننده پروتئین CABP2 است و این پروتئین در پیام رسانی درون سلولی نقش بسیار مهمی را داراست. در واقع و به شکل پایه ای تمامی ارتباطات نورون های موجود در پستانداران وابسته به پیام رسانی درون سلولی کلسیم است (۲۶). از آنجایی که جهش مذکور در نقطه حساس برای پیرایش اینترون قرار گرفته است، این جهش منجر به حذف اگزون ۶ از پروتئین CABP2 می‌شود و این تغییر موجب تغییر در چارچوب خواندن mRNA و کوتاه شدن زودرس پروتئین تولید شده، می‌شود که در نتیجه پیام رسانی داخل سلولی را با مشکل مواجه می‌سازد و در نهایت می-تواند منجر به ناشنوایی شود. طی مطالعه دیگری، به بیان نقش پروتئین های اتصالی به کلسیم در بازخورد (Feedback) کانالهای کلسیمی در سلولهای گوش داخلی موش پرداخته شده که در آن مطالعه اهمیت این پروتئین ها در حفظ پتانسیل پایه و اهمیت آن در مکانیسم شنوایی ذکر گردیده است (۲۸و۲۷). همچنین اثبات شده که بیان ژن CABP2 در مغز و در معرض عوامل آسیب رسان به شنوایی تغییر می‌کند که نشان از اهمیت این ژن در مکانیسم شنوایی دارد (۲۹).

در مطالعه حاضر هیچ بیماری که دارای جهش c.637+1G>T در ژن CABP2 باشد شناسایی نگردید. البته با توجه به اینکه جهش مورد مطالعه در گزارشی که توسط Schrauwen و همکاران صورت گرفته بود به عنوان یک جهش بنیانگذار (Founder Mutation) ذکر گردیده است می‌توان این گونه تفسیر نمود که احتمالا نمونه های مورد بررسی در مطالعه حاضر هاپلوتیپ اجدادی متفاوتی نسبت به نمونه های مورد مطالعه توسط Schrauwen و همکاران داشته اند و این جهش بنیانگذار در اجداد جمعیت مورد بررسی ما وجود نداشته است (۱۶) و بنابراین به نمونه های مورد مطالعه ما نیز به ارث نرسیده است و طبیعتا در مطالعات مولکولی نیز جهشی یافت نگردیده است.

با توجه به اینکه اهمیت ژن GJB2 در نمونه های هدف مطالعه حاضر در مطالعات قبلی به عنوان عامل ناشنوایی رد شده است (۳۰). در مطالعات آتی باید

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.10.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.70]

بر روی ARNSHL مطالعات پیوستگی برای لوکوس مربوطه (DFNB93) با استفاده از مارکرهای میکروساتلیتی انجام گیرد که در صورت تأیید پیوستگی، بررسی های مولکولی دقیقتر و گسترده تر روی ژن مربوطه (CABP2) دنبال شود. در ادامه بایستی دیگر بخش های ژن CABP2 مورد بررسی قرار گیرد تا احتمال دخالت این ژن به طور قطعی تر ارزیابی گردد. همچنین گزینه دوم برای بررسی، ژن TECTA (لوکوس DFNB21) است که قبلاً با ناشنوایی ARNSHL متوسط تا شدید مرتبط شده است (۳۲و۳۱).

تا آنجا که مشهود است، این مطالعه دومین مطالعه ای است که تاکنون در دنیا بر روی ژن CABP2 در ارتباط با ناشنوایی ARNSHL انجام شده است و اولین مطالعه ای است که به طور گسترده احتمال دخالت جهش بنیانگذار c.637+1G>T را بررسی می نماید و با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه به نظر میرسد جهش c.637+1G>T در ژن CABP2 نقشی در ایجاد ناشنوایی در بیماران مبتلا به ناشنوایی در ایران ندارد. از طرفی نیز در این مطالعه جمعیت ناشنوایان چندین استان کشور مورد بررسی قرار گرفت و عدم حضور جهش c.637+1G>T در ژن CABP2 در این نمونه ها می‌تواند گواهی بر محدود بودن هاپلوتیپ حاوی جهش c.637+1G>T در ژن CABP2 به منطقه خاصی از کشور باشد. می‌توان برای روشنتر شدن علت ناشنوایی نمونه های مورد بررسی، از طریق آنالیز پیوستگی به مطالعه لوکوس مربوط به ژن CABP2 پرداخت تا در صورت اثبات پیوستگی به مطالعات عمیقتری در ارتباط با جهش های احتمالی در دیگر بخشهای این ژن پرداخته شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همه بیماران و خانواده آنها که با مشارکت در این مطالعه نقش مهمی را در پیشرفت علم و خدمت به جامعه ایفا کردند، تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.10.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.70]

Analysis of CABP2 c.637+1G>T Mutation in Iranian Families with Autosomal Recessive Non-Syndromic Hearing Loss

A.R. Salehi Chaleshtori (MSc)[1], F. Fattahi (MSc)[1], M.A. Tabatabaiefar (PhD)[2], A. Hoseinipour (MD)[3], H.R. Salehi Chaleshtori (MSc)[4], F. Rezaian (BSc)[1], M. Hashemzadeh Chaleshtori (PhD) [1 *]

1. Cellular & Molecular Research Center, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
2. Department of Medical Genetics, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
3. Iran's Special Education Organization, Tehran, Iran
4. Department of Health, School of Health, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

J Babol Univ Med Sci; 16(1); Jan 2014; pp: 70-76

Received: Mar 26th 2013, Revised: May 1st 2013, Accepted: Jul 10th 2013.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Congenital hearing loss is the most common sensorineural defect in human. The most common genetic mutations in this disease are GJB2 mutations which are followed by SLC26A4 mutations. Following a report for the first time in the world insist on CABP2 gene interference in hearing loss production, the present study was launched to analyze this mutation in Iranian patients with hereditary hearing loss.

METHODS: This is a cross sectional study. Among samples with autosomal recessive familial hearing loss pattern, regarding pedigree and audiometric data 253 patients with moderate to profound hearing loss were selected and studied. The mutation c. 637+1G>T was investigated using PCR-RFLP method.

FINDINGS: PCR-RFLP findings revealed that c.637+1G>T mutation was absent in the deaf subjects with hereditary moderate to profound hearing loss in analyzed provinces.

CONCLUSION: The mutation c.637+1G>T in CABP2 gene does not play any role in the investigated Iranian subjects with hereditary hearing loss.

KEY WORDS: *Non-syndromic hearing loss, PCR-RFLP, CABP2, Iranian families*.

Please cite this article as follows:

Salehi Chaleshtori AR, Fattahi F, Tabatabaiefar MA, Hoseinipour A, Salehi Chaleshtori HR, Hashemzadeh Chaleshtori M. Analysis of CABP2 c.637+1G>T mutation in Iranian families with autosomal recessive non-syndromic hearing loss. J Babol Univ Med Sci 2014;16(1):70-76.

*Corresponding Author; M. Hashemzadeh Chaleshtori (PhD)

Address: Cellular & Molecular Research Center, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Rahmatieh, Shahrekord, Iran

Tel: +98 381 3346692

E-mail: mchalesh@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.10.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.70]

References

1.Genç GA, Konukseven Ö, Muluk NB, et al. Features of unilateral hearing loss detected by newborn hearing screening programme in different regions of Turkey. Auris Nasus Larynx 2013;40(3):251-9.

2.Riahi Z, Hammami H, Ouragini H, et al. Update of the spectrum of GJB2 gene mutations in Tunisian families with autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. Gene 2013;525(1):1-4.

3.Catlin FI. Prevention of hearing impairment from infection and ototoxic drugs. Arch Otolaryngol 1985;111(6):377-84.

4.Tabatabaiefar MA, Alasti F, Zohour MM, et al. Genetic linkage analysis of 15 DFNB Loci in a group of Iranian families with autosomal recessive hearing loss. Iranian J Public Health 2011;40(2):34-48.

5.Bonneux S, Fransen E, Van Eyken E, et al. Inherited mitochondrial variants are not a major cause of age-related hearing impairment in the European population. Mitochondrion 2011;11(5):729-34.

6.Swanepoel D, Hugo R, Roode R. Auditory steady-state responses for children with severe to profound hearing loss. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2004;130(5):531-5.

7.Mellinghoff IK, Wang MY, Vivanco I, et al. Molecular determinants of the response of glioblastomas to EGFR kinase inhibitors. New Engl J Med 2005;353(19):2012-24.

8.McGuirt WT, Smith RJH. Connexin 26 as a cause of hereditary hearing loss. Am J Audiol 1999;8(2):93-100.

9.Ito T, Noguchi Y, Yashima T, Ohno K, Kitamura K. Hereditary hearing loss and deafness genes in Japan. J Med Dent Sci 2010;57(1):1-10.

10.de Kok YJM, Bom SJH, Brunt TM, et al. A Pro51Ser mutation in the COCH gene is associated with late onset autosomal dominant progressive sensorineural hearing loss with vestibular defects. Hum Molr Genet 1999;8(2):361-6.

11.Brownstein Z, Avraham KB. Deafness genes in Israel: implications for diagnostics in the clinic. Pediatr Res 2009;66(2):128-34.

12.Accetturo M, Creanza TM, Santoro C, et al. Finding new genes for non-syndromic hearing loss through an in silico prioritization study. PloS One 2010;5(9):e12742.

13.Hilgert N, Smith RJ, Van Camp G. Forty-six genes causing nonsyndromic hearing impairment: which ones should be analyzed in DNA diagnostics? Mutat Res 2009;681(2-3):189-96.

14.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.

15.Tabatabaiefar MA, Alasti F, Shariati L, et al. DFNB93, a novel locus for autosomal recessive moderate-to-severe hearing impairment. Clin Genet;79(6):594-8.

16.Schrauwen I, Helfmann S, Inagaki A, et al. A mutation in CABP2, expressed in cochlear hair cells, causes autosomal-recessive hearing impairment. Am J Hum Genet 2012;91(4):636-45.

17.Christel C, Lee A. Ca2+-dependent modulation of voltage-gated Ca2 +channels. Biochim Biophys Acta 2012;1820(8):1243-52.

18.Jenkins MA, Christel CJ, Jiao Y, et al. Ca2+-dependent facilitation of Cav1. 3 Ca2+ channels by densin and Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase II. J Neurosci 2010;30(15):5125-35.

19.Haynes LP, McCue HV, Burgoyne RD. Evolution and functional diversity of the Calcium Binding Proteins (CaBPs). Fron Mol Neurosci 2012;5:9.

20.Moser T, Predoehl F, Starr A. Review of hair cell synapse defects in sensorineural hearing impairment. Otol Neurotol 2013;34(6):995-1004.

21.Hashemzadeh Chaleshtori M, Farhud DD, Patton MA. Congratulation to Margaret Chan Familial and Sporadic GJB2-related deafness in Iran: review of gene mutations. Iran J Public Health 2007;36(1):1-14.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.10.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.70]

22.Brown T. Gene cloning and DNA analysis: an introduction. 6th ed. Malysia: University of Manchester. John Wiley & Sons 2010; p: 32.

23.Gabriel H, Kupsch P, Sudendey J, Winterhager E, Jahnke K, Lautermann J. Mutations in the connexin26/GJB2 gene are the most common event in non-syndromic hearing loss among the German population. Hum Mutat 2001;17(6):521-2.

24. Bliznets EA, Galkina VA, Matiushchenko GN, Kisina AG, Markova TG, Poliakov AV. Changes in the connexin 26 (GJB2) gene in Russian patients with hearing disorders: results of long-term molecular diagnostics of hereditary nonsyndromic deafness. Genetika 2012;48(1):112-24.

25.Dai P, Li Q, Huang D, et al. SLC26A4 c. 919-2A> G varies among Chinese ethnic groups as a cause of hearing loss. Genet Med 2008;10(8):586-92.

26.McCue HV, Haynes LP, Burgoyne RD. The diversity of calcium sensor proteins in the regulation of neuronal function. Cold Spring Harb Perspect Biol 2010;2(8):a004085.

27.Cui G, Meyer AC, Calin-Jageman I, et al. Ca2+-binding proteins tune Ca2+-feedback to Cav1.3 channels in mouse auditory hair cells. J Physiol 2007;585(3):791-803.

28.Kowalik L, Hudspeth AJ. A search for factors specifying tonotopy implicates DNER in hair-cell development in the chick's cochlea. Dev Biol 2011;354(2):221-31.

29.Valiyaveettil M, Alamneh Y, Miller SA, et al. Preliminary studies on differential expression of auditory functional genes in the brain after repeated blast exposures. J Rehabil Res Dev 2012;49(7):1153-62.

30.Tabatabaiefar M, Montazer Zohour M, Shariati L, et al. Mutation analysis of GJB2 and GJB6 genes and the genetic linkage analysis of five common DFNB loci in the Iranian families with autosomal recessive non-syndromic hearing loss. J Sci IR Iran 2010;21(2):105-12.

31.Alasti F, Sanati MH, Behrouzifard AH, et al. A novel TECTA mutation confirms the recognizable phenotype among autosomal recessive hearing impairment families. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2008;72(2):249-55.

32.Naz S, Alasti F, Mowjoodi A, et al. Distinctive audiometric profile associated with DFNB21 alleles of TECTA. J Med Genet 2003;40(5):360-3.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.10.6]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.70]