

## غربالگری سه جهش معمول mtDNA در افراد با ناشنوایی غیر سندرمی اتوزومی مغلوب (ARNSHL) در استان سیستان و بلوچستان

فاطمه آزادگان دهکردی<sup>۱</sup>، مصطفی منتظر ظهوری<sup>۲</sup>، عفت فرخی<sup>۳</sup>، سید ابوالفتح شیرمردی<sup>۴</sup>، مجتبی ساعدی مرغملکی<sup>۵</sup>، زهره عطایی<sup>۶</sup>، سمیه رئیس،<sup>۷</sup> مرضیه ابوالحسنی<sup>۱</sup>، حمید خضرائی<sup>۸</sup>، محمد تقی اکبری<sup>۹</sup>، مرتضی هاشم‌زاده چالستری<sup>۱۰</sup>

۱. کارشناس ژنتیک، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهرکرد
۲. دانشجوی PhD ژنتیک پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران
۳. کارشناس ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهرکرد
۴. پزشک عمومی، سازمان بهزیستی استان چهارمحال و بختیاری
۵. کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهرکرد
۶. کارشناس ارشد ژنتیک انسانی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران
۷. کارشناس ارشد سلولی و مولکولی، دانشگاه اصفهان
۸. استادیار ENT، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهرکرد
۹. استادیار ژنتیک انسانی، دانشگاه تربیت مدرس تهران
۱۰. استاد ژنتیک انسانی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهرکرد

تاریخ دریافت مقاله: ۸۹/۲/۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۳/۱۱

### چکیده

**زمینه و هدف:** ناشنوایی غیر سندرمی می‌تواند بر اثر جهش در ژن‌های میتوکندریایی و هسته‌ای ایجاد شود. جهش‌های میتوکندریایی در کمتر از ۱ درصد کودکان با ناشنوایی پیش از زبان باز کردن بروز می‌کنند اما شیوع آن‌ها در سنین بالا بیشتر است. بیشتر نقایص مولکولی مسئول اختلالات میتوکندریایی همراهی کننده با ناشنوایی، بر اثر جهش‌هایی در ژن 12SrRNA و ژن‌های tRNA ایجاد می‌شوند. هدف این مطالعه شناسایی فرکانس سه جهش معمول از جهش‌های میتوکندریایی شامل A1555G، A3243G و A7445G در گروهی از افراد ناشنوای غیر سندرمی اتوزومی مغلوب (ARNSHL) در استان سیستان و بلوچستان است.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه‌ی توصیفی-آزمایشگاهی ۱۱۰ نفر از افراد ARNSHL از نظر سه جهش معمول میتوکندریایی با استفاده از روش PCR-RFLP در استان سیستان و بلوچستان بررسی شدند و سپس جهش‌های ممکن توسط روش تعیین توالی مستقیم مورد تأیید قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** هیچ کدام از جهش‌های A7445G و A1555G در این مطالعه مشاهده نشد. هر چند ما یک نمونه جهش A3243G (۰/۹٪) را یافتیم. علاوه بر این یک جایگاه برش MTTL1 نزدیک به جهش A3243G بلوکه شده یک واریانت آلی G3316A (۰/۹٪) در بیماران مورد مطالعه را آشکار نمود.

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان می‌دهد که جهش‌های میتوکندریایی مسئول کمتر از ۱ درصد ناشنوایی غیر سندرمی اتوزومی مغلوب (ARNSHL) قبل از زبان باز کردن در جمعیت استان سیستان و بلوچستان می‌باشند. مطالعه‌ی حاضر مشاوره ژنتیک افراد ناشنوا در استان سیستان و بلوچستان را بهبود خواهد داد. [م ت ع پ ز، ۱۳(۵): ۲۲-۱۷]

**کلیدواژه‌ها:** ناشنوای غیر سندرمی اتوزومی مغلوب، جهش‌های میتوکندریایی، A1555G، A3243G و A7445G

### مقدمه

ناشنوایی متداول‌ترین نقص حسی در انسان است که بسیار هتروژن بوده و عوامل ژنتیکی، محیطی یا هر دو در بروز آن دخیل می‌باشد.<sup>۱</sup> ناشنوایی ۱/۱۰۰۰ نوزادان را قبل از زبان باز کردن (Pre-lingual) درگیر می‌کند. علل ژنتیکی در ۲/۳ موارد ناشنوایی قبل از زبان باز کردن یافت می‌شود و ۱/۳ موارد باقیمانده به فاکتورهای محیطی و ژن‌های ناشناخته نسبت داده شده است.<sup>۲</sup> ناشنوایی دارای طیف وسیعی از تظاهرات بالینی شامل: مادرزادی یا دیررس، هدایتی یا حسی-عصبی، سندرمی یا غیر سندرمی است.<sup>۳</sup> بیش از ۶۰ درصد موارد ناشنوایی ارثی است. در ناشنوایی ارثی حدود ۸۰ درصد موارد از نوع غیر سندرمی با الگوی اصلی وراثت اتوزومی مغلوب می‌باشد.<sup>۴-۵</sup>

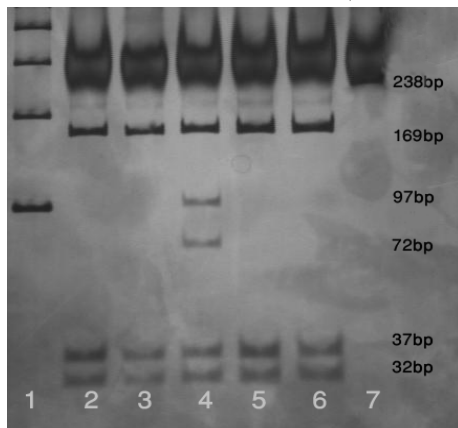
ناشنوایی با توارث مادری تقریباً ۱ درصد موارد را شامل می‌شود. تعدادی از جهش‌های DNA میتوکندریایی موجب ناشنوایی سندرمی و غیر سندرمی می‌شوند. از جمله ژن‌هایی که جهش‌های میتوکندریایی در آن‌ها رخ

می‌دهد شامل: ژن 12SrRNA (MTRNR1)، ژن MTTS1 کدکننده‌ی tRNA<sup>Leu</sup>(UCN) و ژن MTTL1 کدکننده‌ی tRNA<sup>Leu</sup>(UUR) می‌باشند.<sup>۶</sup> جهش A1555G که در ژن MTRNR1 رخ می‌دهد اولین جهش میتوکندریایی همراه با ناشنوایی غیر سندرمی شناخته شده می‌باشد.<sup>۷</sup> جهش‌های دیگری هم در ژن MTTS1 کدکننده tRNA<sup>Ser</sup>(UCN) همراه با ناشنوایی حسی-عصبی مشخص شده که شامل 7472insC، T7511C، A7445G، T7511C، A7445G اولین بار در یک خانواده اسکاتلندی و سپس در یک خانواده نیوزیلندی، ژاپنی، فرانسوی، اوکراینی، پرتغالی و مجارستانی گزارش شده است.<sup>۸-۱۱</sup> در ژن MTTL1 کدکننده‌ی tRNA<sup>Leu</sup>(UUR) نیز سه جهش A3243G، T3271C و T4216C شناسایی شده که جهش A3243G در ۰/۳ درصد جمعیت ناشنوایان ژاپنی پیدا شده است. هم‌چنین این جهش در ۴/۷۶ درصد افراد دیابت ملیتوس نیز مشاهده شده است.<sup>۱۲</sup> حال

۷۲°C جهت ساخت رشته‌های مکمل استفاده شد (جدول ۱). دستورالعمل تهیهی مخلوط واکنش RFLP: ابتدا جهت RFLP محصولات PCR از هر نمونه محصول PCR، ۱۰ μl برداشته و با ۰/۵ ul آنزیم برشگرمیو و ۲ μl بافر R و ۷/۵ μl آب مقطر مخلوط و به مدت یک شبانه روز در دمای ۳۷°C در انکوباتور قرار می‌دهیم تا آنزیم جایگاه مورد نظر را برش دهد (جدول ۱). سپس نمونه‌ها را بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۱۲ درصد بارگیری کرده و در پایان با نترات نقره رنگ‌آمیزی و نتایج را تفسیر می‌کنیم. در نهایت کلیه نمونه‌های مشکوک که به دلیل داشتن جهش دارای الگوی متفاوت برش و بالطبع اندازه متفاوت، بر روی ژل پلی‌اکریل آمید بودند، توسط روش تعیین توالی DNA مورد تأیید قرار گرفتند.

### یافته‌ها

ما تعداد ۱۱۰ بیمار با کاهش شنوایی غیر سندرمی اتوزومی مغلوب را برای جهش A1555G در ژن 12S rRNA غربالگری کردیم. پس از تکثیر با PCR متعاقباً هضم با آنزیم HaeIII هیچ‌گونه جهش را در بیماران مورد مطالعه مشاهده نکردیم. هم‌چنین بیماران فوق‌الذکر با روش مشابه برای جهش A7445G در ژن MTTS1 با استفاده از آنزیم XbaI مورد مطالعه قرار گرفتند و هیچ‌گونه جهشی مشاهده نشد. در هر حال ما فقط یک مورد جهش A3243G (ژن MTTL1) را در بیماران مزبور با استفاده از آنزیم HaeIII مشاهده نمودیم (تصویر ۱).



تصویر ۱: محصولات PCR-RFLP (روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸٪ جهت بررسی جهش A3243G، باند ۱- مارکر، باند ۷- کنترل منفی (بدون DNA)، باند ۲ و ۳ و ۵ و ۶ نمونه‌های بیمار فاقد جهش A3243G، باند ۴- نمونه‌ی بیمار دارای جهش A3243G)

جدول ۱: مشخصات توالی آغازگرها و دمای لازم جهت اتصال آغازگرها، آنزیم برشگر مورد استفاده و اندازه‌ی قطعات حاصل از برش آنزیم برای تکنیک PCR-RFLP

جهش میتوکنندری	آغازگرها	دمای اتصال	اندازه محصول PCR	آنزیم های برشگر	اندازه قطعات برش خورده محصول PCR طبیعی	اندازه قطعات برش خورده محصول PCR جهش یافته
A1555G	F- 5' CAC AAA ATA GAC TAC GAA AGT GGC 3' R- 5' ACT TAC CAT GTT ACG ACT GTG 3'	58 °C	566 bp	HaeI II	111bp	20bp و 91bp
A3243G	F-5' CCT CCC TGT ACG AAA GGA C 3' R- 5' GCG ATT AGA ATG GGT ACA ATG 3'	60 °C	238 bp	HaeI II	169bp	72bp و 97bp
A7445G	F- 5' GAG AAG CCT TCG CTT CGA AG 3' R- 5' GAG GGC GTG ATC ATG AAA GGT 3'	60 °C	348 bp	XbaI	229bp و 119bp	348bp

با توجه به نقش مهم میتوکنندری در ایجاد ناشنوایی و عدم انجام چنین مطالعه‌ای در ایران، مطالعه‌ی حاضر با هدف غربالگری سه جهش میتوکنندریایی A1555G ژن MTRNR1 و A3243G ژن MTTL1 و A7445G ژن MTTS1 در بیماران ناشنوای استان سیستان و بلوچستان انجام گرفته است.

### روش کار

در این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی تعداد ۱۱۰ نمونه‌ی خون از افراد با کاهش شنوایی غیر سندرومی با الگوی اتوزومی مغلوب، از ناشنوایان تحت نظر سازمان بهزیستی استان سیستان و بلوچستان با روش نمونه‌گیری آسان جمع‌آوری شدند. اطلاعات دموگرافی و بالینی بیماران در قالب یک پرسشنامه جمع‌آوری و از کلیه‌ی بیماران رضایت‌نامه‌ی کتبی اخذ شد.

از هر فرد به میزان ۵ میلی‌لیتر خون جهت انجام آزمایشات ژنتیکی در لوله‌های حاوی EDTA ۰/۵ مولار گرفته و به مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد منتقل گردید. سپس DNA خون بیماران به روش معمول فنل و کلروفرم استخراج گردیده و غلظت DNA استخراج شده با روش اسپکتروفوتومتری (Unico 2100 USA) اندازه‌گیری شد.<sup>۱۳</sup> سپس با استفاده از توالی سه ژن مورد مطالعه در ژنوم میتوکنندری به رمز دسترسی NC 012920 و نرم افزار Primer3 توالی‌های آغازگر F و R برای سه ژن طراحی و خریداری شد (جدول ۱). برای یافتن جهش‌های احتمالی، ابتدا قطعات mtDNA در برگیرنده جایگاه جهش را با استفاده از PCR تکثیر کردیم. سپس توسط آنزیم‌های محدودکننده که محصولات PCR را در نواحی برش خاصی می‌برند، بریده شدند (جدول ۱). آن‌گاه قطعات برش خورده را توسط ژل پلی‌اکریل آمید غیر دناتوره‌کننده ۱۲ درصد الکتروفورز و بعد از رنگ‌آمیزی با نترات نقره نتایج تفسیر شد. دستورالعمل تهیهی مخلوط واکنش PCR: هر میکروتیوپ PCR شامل ۱ μl از هر یک از دو آغازگر F و R (۵۰ pm)، ۰/۵ μl آنزیم Taq پلی‌مراز (۵ unit/μl)، ۰/۵ μl مخلوط دزوکسی نوکلئوتیدهای تری فسفات با غلظت ۱۰ mM، ۱ μl بافر PCR (۱۰X)، ۲ μl MgCl<sub>2</sub> (۵۰۰ mM)، ۱ μl DNA (۱۰۰ ng) که با آب مقطر به حجم نهایی ۲۵ μl رسید. برنامه‌ی PCR: تکثیر DNA طی ۲۵ الی ۳۰ سیکل و با استفاده از دستگاه ترموسایکلر -512 TECHNE TC- (Japan) انجام شد. در هر سیکل حرارتی از حرارت ۹۶°C جهت واسرشته شدن رشته‌های DNA، ۵۴°C-۴۹ جهت اتصال پرایمرها به DNA هدف و

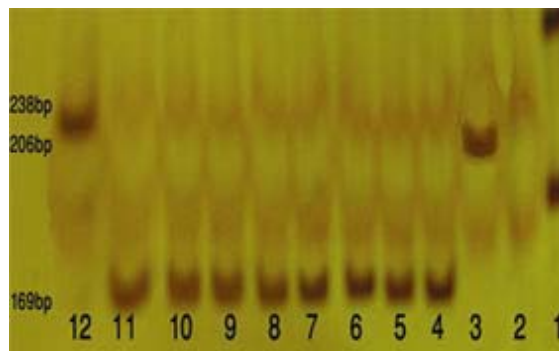
میتوکندریایی بیشتر است. به ویژه ژن‌های میتوکندریایی کد کننده 12S rRNA (MTRNR1) و ژن‌های tRNA که همراه با ناشنوایی پیدا شدند. در چند سال گذشته تعداد زیادی جهش‌های میتوکندریایی جدید مسبب ناشنوایی غیر سندرومی گزارش شدند.<sup>۲۷-۳۰</sup>

Woong و همکارانش برای اولین بار در سال ۲۰۰۸ جهش‌های میتوکندریایی را در جمعیتی از بیماران کره‌ای با ناشنوایی غیر سندرومی بررسی کردند. ۲۲۷ بیمار غیر خویشاوند بررسی شدند و دو نفر با جهش A1555G شناسایی شدند. به علاوه دو نوع جهش جدید C895T و ژن 12S rRNA ممکن است یک محل داغ برای جهش‌های میتوکندریایی منجر به ناشنوایی در جمعیت کره‌ای باشد.<sup>۳۱</sup> بررسی‌های Dachun و همکارانش بر روی ژن‌های میتوکندریایی 12S rRNA (UCN) tRNA Ser منجر به شناسایی جهش‌های A1555G و T1095C در ژن 12S rRNA شد که تقریباً به فرم هموپلاسمی است. این یافته‌ها بیان می‌کند که نقص بیوشیمیایی در افراد حاصل از جهش A1555G ممکن است با افزایش سن بیشتر شود و این جهش انواع آسیب‌های شنوایی را در پی دارد.<sup>۳۲</sup> جهش A1555G که در ژن MTRNR1 کد کننده 12S rRNA با جهش 35delG ژن GJB2، احتمالاً شایع‌ترین جهش‌های ایجاد کننده ناشنوایی و هم چنین شایع‌ترین جهش میتوکندریایی نسبت به سایر جهش‌ها می‌باشد: در ۱-۵٪ درصد ناشنوایان نژاد قفقازی،<sup>۱۵،۳۰</sup> گرچه با یک فرکانس بالاتری در جمعیت‌های اسپانیایی و آسیایی گزارش شده‌اند. در مطالعه‌ای دیگر بیماران با جهش A1555G ژن 12S rRNA میتوکندری یک خطر افزایش یافته از تکامل کری بعد از تیمار با آمینو گلیکوزید داشتند لیکن ناقلین جهش هم چنین ناشنوایی بدون در معرض دارو قرار گرفتن را نشان دادند.<sup>۳۳</sup> در مطالعه‌ای دیگر جهش A1555G در ۲ درصد از بیماران با ناشنوایی پیش زبانی گزارش شد.<sup>۳۴</sup> لیکن در مطالعه‌ی حاضر یافت نشد.

در سال‌های اخیر، جهش‌های میتوکندری زیادی در ارتباط با ناشنوایی پیش از زبان باز کردن و پس از زبان باز کردن پیدا شده است و در بعضی از جمعیت‌ها شامل چین و اسپانیا حتی تا ۲۰ درصد ناشنوایی‌ها پس از زبان باز کردن حاصل جهش‌های میتوکندریایی بوده است.<sup>۳۳</sup>

در این مطالعه ما به واریانت متفاوتی برخورد کردیم که به صورت G3316A مورد تأیید قرار گرفت. طبق مطالعات انجام شده تغییر نوکلئوتیدی G3316A تغییر آمینو اسید آلانین به ترئونین در بیماران دیابت ملیتوس گزارش شده است. هم چنین به نظر می‌رسد این واریانت در بیماری‌های LHON و هایپر تروفیک کاردیومیوپاتی (HCM) نیز دخیل باشد، اما هنوز ارتباط آن با ناشنوایی مورد تأیید قرار نگرفته و نیاز به مطالعات بیشتری دارد.<sup>۲۸،۲۹</sup> بنابراین جهش‌های میتوکندری می‌تواند سبب ناشنوایی شود که باید در جمعیت‌های ناشنوایان مورد مطالعه قرار گیرد براساس این مطالعه و مطالعات انجام شده دیگر، جهش در دو ژن mtDNA و نقش آن در ایجاد ناشنوایی در جمعیت‌ها قابل ملاحظه بوده و می‌تواند تا مطالعات بیشتری بر روی سایر اقوام و تعداد نمونه‌های بیشتری انجام گیرد تا نقش این ژن در ناشنوایی بیشتر مشخص شود.

یک مورد واریانت G3316A نیز در یک مورد بیمار تشخیص داده شده است که حاصل از بین رفتن یکی از محل‌های پرش بر روی محصول 238bp PCR و ایجاد یک باند 206bp بر روی ژل پلی‌اکریل آمید بود (تصویر ۲).



تصویر ۲: مضمولات PCR-RFLP بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸٪ مهت بررسی جهش A3243G. باند ۱- مارکر، باند ۲- کنترل منفی (بدون DNA)، باند ۳- نمونه ی بیمار دارای واریانت G3316A. (باند ۳۳ bp از ژل خارج شده و مشاهده نمی‌شود)، باند ۴-۱۱ نمونه‌های بیمار فاقد جهش A3243G، باند ۱۲- کنترل DNA بدون آنزیم)

## بحث

این مطالعه با هدف بررسی ارتباط بین ناشنوایی و جهش در ژن‌های میتوکندریایی روی ۱۱۰ ناشنوای استان سیستان و بلوچستان انجام گرفت. از سه جهش میتوکندریایی مورد بررسی، دو جهش A1555G و A7445G در هیچ کدام از نمونه‌های بیماران مشاهده نگردید. و فقط یک مورد جهش A3243G و یک مورد واریانت آللی G3316A در بیماران یافت شد. تاکنون بر اساس تحقیقات صورت گرفته ارتباط جهش‌های سه ژن میتوکندریایی با ناشنوایی مورد بررسی و تأیید قرار گرفته که این جهش‌ها شامل: A1555G، T7472insC، T7511C، A7445G، A3243G، T3271C و T4216C می‌باشند.<sup>۸-۱۵</sup>

تاکنون در ایران مطالعه‌ای در زمینه بررسی ارتباط بین جهش‌های میتوکندریایی و ناشنوایی صورت نگرفته اما بر اساس مطالعات انجام گرفته در بیماران ژاپنی جهش A3243G در ژن tRNA<sup>Leu</sup> (UUR) مشاهده شد، جهش A3243G در ژن tRNA<sup>Leu</sup> (UUR) (MTTL1) در ۴/۷۶ درصد افراد دیابت ملیتوس نیز مشاهده گردید.<sup>۱۲</sup> در مطالعه‌ی حاضر در یک مورد از ۱۱۰ مورد یافت شد. جهش A7445G در ژن MTTS1 کد کننده (tRNA Ser (UCN) اولین بار در یک خانواده اسکاتلندی پیدا شد و سپس در یک خانواده نیوزلندی، ژاپنی، فرانسوی، اوکراینی، پرتغالی و مجارستانی پیدا شد.<sup>۱۶،۱۰،۹،۲۵</sup> تبدیل نوکلئوتید A به C در این کدون باعث عدم رونویسی ژن در کدون پایان و اضافه شدن سه اسید آمینه (Ser-Gln-Lys) به انتهای C-terminal زنجیره H از mtDNA شده است، این تغییر در بخش 3' از پیش ساز L-strandRNA در نزدیکی محل اندونوکلاز آن صورت می‌گیرد و در نهایت باعث ایجاد ناشنوایی می‌شود.<sup>۲۶</sup> لیکن در مطالعه‌ی حاضر یافت نشد. در جمعیت‌های شرقی شامل چین و آسیای شرقی فراوانی جهش‌های

## سپاسگزاری

علوم پزشکی شهر کرد جهت تأمین بودجه (با شماره گرانت ۵۳۵) و از کلیه کارکنان محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی شهر کرد کمال تشکر و قدردانی را داریم.

بدین وسیله از سازمان بهزیستی استان سیستان و بلوچستان و کلیه ناشنوایان 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

## References

- Petit C, Levilliers J, Hardelin JP. Molecular genetics of hearing loss. *Annu Rev Genet* 2001; 35: 589-646.
- Hilgert N, Smith RJ, Van Camp G. Forty-six genes causing nonsyndromic hearing impairment: Which ones should be analyzed in DNA diagnostic? *Mutat Res* 2009; 681(2-3):189-96.
- Marazita ML, Ploughman LM, Rawlings B, et al. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the US school-age population. *Am J Med Genet* 1993; 46(5): 486-91.
- Morton NE. Genetic epidemiology of hearing impairment. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 630: 16-31.
- Gorlin RJ, Toriello HV, Cohen MM. Hereditary hearing loss and its syndromes. Oxford: Oxford University Press; 1995.
- Hutchin T, Cortopassi G. Mitochondrial defects and hearing loss. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57(13-14): 1927-37.
- Bravo O, Ballana E, Estivill X, et al. Cochlear alterations in deaf and unaffected subject carrying the deafness associated A1555G mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene. *Biochem Biophys Commun* 2006; 344(2): 511-516.
- Usami SI, Abe S, Akita J, et al. Prevalence of mitochondrial gene mutations among hearing impaired patients. *J Med Genet* 2000; 37(1): 38-40.
- Fischel-Ghodsian N, Prezant TR, Fournier P, et al. Mitochondrial mutation associated with nonsyndromic deafness. *Am J Otolaryngol* 1995; 16(6): 403-408.
- Seviour KB, Hatamochi A, Stewart IA, et al. Mitochondrial A7445G mutation in two pedigrees with palmoplantar keratoderma and deafness. *Am J Med Genet* 1998; 75(2): 179-185.
- Storm K, Willocx S, Flothmann K and Van Camp G. Determination of the carrier frequency of the common GJB2 (connexin 26) 35delG mutation in the Belgian population using an easy and reliable screening method. *Hum Mutat* 1999; 14(3): 263-6.
- Kelley PM, Harris DJ, Comer BC, et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss. *Am J Hum Genet* 1998; 62(4): 792-9.
- Kleihues P, Schavble B, Zur-Hausen A, et al. Tumors associated with P53 germ line mutations a synopsis of 91 families. *Am J Pathol* 1997; 150(1): 1-13.
- Samanich J, Lowes C, Burk R, et al. Morrow mutations in GJB2, GJB6, and mitochondrial DNA are rare in African American and Caribbean Hispanic individuals with hearing impairment. *Am J Med Genet* 2007; 143A(8): 830-8.
- Sue CM, Tanji K, Hadjigeorgiou G, et al. Maternally inherited hearing loss in a large kindred with a novel T7511C mutation in the mitochondrial DNA tRNA (Ser (UCN)) gene. *Neurology* 1999; 52(9): 1905-1908.
- Kupka S, Toth T, Wrobel M, et al. Mutation A1555G in the 12S rRNA gene and its epidemiological importance in German, Hungarian and Polish patients. *Hum Mutat* 2002; 19(3): 308-309.
- Martin L, Toutain A, Guillen C, et al. Inherited palmoplantar keratoderma and sensorineural deafness associated with A7445G point mutation in the mitochondrial genome. *Br J Dermatol* 2000; 143(4): 876-883.
- Hutchin TP, Lench NJ, Arbuzova S, et al. Maternally inherited hearing impairment in a family with the mitochondrial DNA A7445G mutation. *Eur J Hum Genet* 2001; 9(1): 56-58.
- Caria H, Matos T, Oliveira-Soares R, et al. A7445G mtDNA mutation present in a Portuguese family exhibiting hereditary deafness and palmoplantar keratoderma. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005; 19(4): 455-458.
- Kokotas H, Petersen MB, Willems PJ. Mitochondrial deafness. *Clin Genet* 2007; 71(5): 379-391.
- Gasparini P, Rabionet R, Barbujani G, et al. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. Genetic analysis consortium of GJB2 35delG. *Eur J Hum Genet* 2000; 8(1):19-23.
- Denoyelle F, Weil D, Maw MA, et al. Prelingual deafness: high prevalence of a 30delG mutation in the connexin 26 gene. *Hum Mol Genet* 1997; 6(12): 2173-7.
- Lucotte G, Bathelier C, Champenois T. PCR test for diagnosis of the common GJB2 (connexin 26) 35delG mutation on dried blood spots and determination of the carrier frequency in France. *Mol Cell Probes* 2001; 15(1): 57-9.
- Antoniadi T, Rabionet R, Kroupis C, et al. High prevalence in the Greek population of the 35delG mutation in the connexin 26 gene causing prelingual deafness. *Clin Genet* 1999; 55(5): 381-2.
- Estivill X, Fortina P, Surrey S, et al. Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. *Lancet* 1998; 351(9100): 394-8.
- Morell RJ, Kim HJ, Hood LJ, et al. Mutations in the connexin 26 gene (GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness. *N Engl J Med* 1998; 339(21): 1500-5.
- Chen J, Yuan H, Lu J, et al. Mutations at position 7445 in the precursor of mitochondrial tRNA (Ser (UCN)) gene in three maternal Chinese pedigrees with sensorineural hearing loss. *Mitochondrion* 2008; 8(4): 285-92.
- Dai D, Lu Y, Chen Z, et al. Co-segregation of the T1095C with the A1555G mutation of the mitochondrial 12S rRNA gene in a patient with non-syndromic hearing loss. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 377(4): 1152-5.
- Odawara M, Maki H, Yamada N. Pathogenicity of homoplasmic mitochondrial DNA mutation and nuclear gene involvement. *J Med Genet* 1999; 36(12): 934-935.
- Pacifico C, Tessa A, Giannotti A, et al. Prevalance of non-Mendelian mitochondrial inheritance in pediatric sensorineural hearing impairment. *Proceeding in 3<sup>rd</sup> International Hereditary Deafness Epidemiology and Clinical Research*. Bibiove, Italy, 4-7March, 1999.

31. Bae JW, Lee KY, Choi SY, et al. Molecular analysis of mitochondrial gene mutations in Korean patients with nonsyndromic hearing loss. *Int J Mol Med* 2008; 22(2): 175-80.
32. El-Schahawi M, Lopez de Munain A, Sarrazin AM, et al. Two large Spanish pedigrees with nonsyndromic sensorineural deafness and the mtDNA mutation at nt 1555 in the 12 s rRNA gene: Evidence of heteroplasmy. *Neurology* 1997; 48(2): 453-456.
33. Prezant TR, Agapian JV, Bohlman MC, et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Natl Genet* 1993; 4(3): 289-94.
34. Jacobs HT. Disorders of mitochondrial protein synthesis. *Hum Mol Genet* 2003;12(2): R293-R301.

Archive of SID

## ***Screening of three common mtDNA mutations among subjects with autosomal recessive non-syndromic hearing loss in Sistan va Baluchestan province, Iran***

Fartemeh Azadegan-Dehkordi,<sup>1</sup> Mostafa Montazer-Zohouri,<sup>2</sup> Effat Farrokhi,<sup>3</sup> S. Abolfateh Shirmardi,<sup>4</sup> Mojtaba Saedi-Marghmaleki,<sup>5</sup> Zohreh Ataei,<sup>6</sup> Somayeh Reisi,<sup>7</sup> Marzieh Abolhasani,<sup>1</sup> Hamid Khazraei,<sup>8</sup> Mohammad T. Akbari,<sup>9</sup> Morteza Hashmzadeh-Chaleshtori<sup>10</sup>

Received: 27/Apr/2010

Accepted: 1/Jan/2010

**Background:** Non-syndromic hearing loss may be induced by mutations in both nuclear and mitochondrial genes. Mutations in mtDNA are present in less than 1% of the children with pre-lingual deafness but are more prevalent later. Most of the molecular defects responsible for mitochondrial disorder, associated with hearing loss may be induced by mutations in the 12SrRNA and tRNA genes. This aim of this study was to investigate the frequency of three common mtDNA mutations including A1555G, A3243G and A7445G in a cohort of autosomal recessive non-syndromic hearing loss (ARNSHL) subjects in Sistan va Baluchestan province.

**Material and Methods:** In this descriptive- experimental based study, a total of 110. ARNSHL subjects from Sistan va Baluchestan province were investigated for three common mtDNA mutations using PCR-RFLP procedure. The possible mutations were confirmed by direct sequencing.

**Results:** None of the A1555G and A7445G mutations were detected in this study. However, we found one sample to carry A3243G mutation (0.9%). Moreover abolishing a MTTL1 restriction site close to A3243G mutation revealed a G3316A allelic variant in 0.9% of patients studied.

**Conclusion:** This study showed that mtDNA mutations are responsible for less than 1% of pre-lingual ARNSHL associated subjects. The present study will improve the genetic counseling of hearing impaired patients in Sistan va Baluchestan province, Iran. [ZJRMS, 13(5):17-22]

**Keywords:** ARNSHL, mtDNA mutations, A1555G, A3243G, A7445G

1. BSc of Genetics, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences and Health Services, Shahrekord, Iran.
2. PhD Student of Medical Genetics, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
3. MSc of Biochemistry, Cellular and Molecular Reserch Center, Shahrekord University of Medical Sciences and Health Services, Shahrekord, Iran.
4. General Physician, Welfare Organization of Chaharmahal va Bakhtiari province, Shahrekord, Iran.
5. BSc of Laboratory Sciences, Cellular and Molecular Reserch Center, Shahrekord University of Medical Sciences and Health Services, Shahrekord, Iran.
6. MSc of Human Genetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
7. MSc of Cellular and Molecular Biology, Isfahan University, Isfahan, Iran.
8. Assistant Professor of ENT, Shahrekord University of Medical Sciences and Health Services, Shahrekord, Iran.
9. Assistant Professor of Medical Genetics, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
10. Professor of Human Genetics, Cellular and Molecular Reserch Center, Shahrekord University of Medical Sciences and Health Services, Shahrekord, Iran.

*Please cite this article as:* Azadegan-Dehkordi F, Montazer-Zohouri M, Farrokhi E, Shirmardi S.A, Saedi-Marghmaleki M, Ataei Z, Reisi S, Abolhasani M, Khazraei H, Akbari MT, Hashmzadeh-Chaleshtori M. Screening of three common mtDNA mutations among subjects with autosomal recessive non-syndromic hearing loss in Sistan va Baluchestan province, Iran. Zahedan J Res Med Sci (ZJRMS) 2011; 13(5): 17-22.