

## اولین مورد گزارش شده از جهش در COL11A2 با ناشنوایی ارثی اتوزومال مغلوب غیر سندرمی در یک خانواده ایرانی

چکیده

-----Section Break (Continuous)-----

**مقدمه:** کاهش شنوایی ۱ نفر از ۲۰۰۰ کودک تازه متولد شده را در بر می گیرد. بیش از ۵۰ درصد این موارد را عوامل ژنتیکی در بر می گیرد. کاهش شنوایی غیر سندرمی<sup>(۱)</sup> بیش از ۷۰ درصد موارد ناشنوایی ارثی را شامل می شود که ۸۵ درصد آن به شکل اتوزومال مغلوب منتقل می شود و وجود بیش از یکصد جایگاه ژنی (Locus) برای آن تخمین زده می شود. هدف در این مطالعه تعیین جهش ژنی در یک خانواده ناشنوای غیر سندرمی که دارای دو فرزند مبتلا به ناشنوایی می باشند، بوده است. این بررسی قسمتی از طرح شناسایی ژنهای شایع ناشنوایی ارثی غیر سندرمی اتوزومال مغلوب است. در این تحقیق پیوستگی بین ژن COL11A2 در لوکوس DFNA13، که ایجاد کننده ناشنوایی با وراثت اتوزومی غالب می باشد، و بیماری در یک خانواده ایرانی مبتلا به ناشنوایی غیر سندرمی با وراثت اتوزومی مغلوب مورد بررسی قرار گرفت و برای اولین بار جهش Pro 621Thr در این خانواده ایرانی مبتلا به ناشنوایی غیر سندرمی با توارث نهفته شناسایی شد.

**معرفی بیمار:** پسر بچه ۴ ساله ای با ناشنوایی مادرزادی بدون وجود سایر علائم بالینی به مرکز تحقیقات ژنتیک جهت انجام تست های ملکولی ارجاع داده شده خواهر ۱۶ ساله وی نیز ناشنوایی داشت و پدر و مادر ایشان ازدواج فامیلی درجه سوم دارند. در ابتدا بیماران برای جهش های ژن GJB2 و GJB6 بررسی شدند و سپس به وسیله آنالیز پیوستگی برای یافتن محل ژن درگیر مورد مطالعه قرار گرفتند.

**یافته ها:** بر اساس معاینات بالینی بعمل آمده، هر دو مورد ناشنوایی ارثی غیر سندرمی دارند که بر اساس شرح حال و رسم شجره، نحوه توارث آن اتوزومی مغلوب می باشد. و جهش Pro 621Thr در ژن COL11A2 در بیماران تشخیص داده شد.

**بحث و نتیجه گیری:** خانواده فوق یکی از خانواده هایی است که برای شناسایی جهش های شایع ناشنوایی غیر سندرمی اتوزومی مغلوب مورد بررسی قرار گرفت. با آنالیز پیوستگی در خانواده مذکور جایگاه کروموزومی این خانواده مورد بررسی قرار گرفت که ناحیه 3-6p21 برای این خانواده مشخص شد. با انجام تست های ملکولی برای مورد و نیز خواهر وی در مرکز تحقیقات ژنتیک دو جهش شایع GJB6، GJB2 منفی بوده است. این جایگاه محل قرارگیری ژن COL11A2 می باشد که جهش های متعددی در این ژن گزارش شده است. جهش در این ژن همچنین می تواند منجر به ایجاد سندرم استیکلر<sup>(۲)</sup> نوع ۳ (Burnner et al. 1994 & Vikkula et al. 1995) با توارث اتوزومال غالب و نیز ناشنوایی ارثی غالب غیر سندرمی<sup>(۳)</sup> گردد. جهش شناسایی شده جابجایی Pro 621Thr می باشد که اولین مورد گزارش شده از جهش در این ژن به صورت اتوزومی مغلوب و غیر سندرمی است.

**کلید واژگان:** سندرم Stickler، توارث اتوزومال غالب، توارث اتوزومال مغلوب، ناشنوایی ارثی سندرمی، ناشنوایی ارثی غیر سندرمی، ژن COL11A2.

**دکتر کیمیا کهریزی**

استادیار دانشگاه علوم بهزیستی

**دکتر احمد دانشی**

دانشیار دانشگاه علوم پزشکی ایران

**یاسر ریاض الحسینی**

کارشناس ارشد علوم سلولی و ملکولی

**کارلا نیشیمورا**

کارشناس مرکز تحقیقات ناشنوایی

**دکتر ریچارد اسمیت**

استاد مرکز تحقیق ناشنوایی امریکا

1- Non-syndromic

2- Stickler Type III

3- Autosomal Dominant Non-Syndromic Sensory neural Hearing Loss; DFNB13

کلاژن نوع XI، کمتر از ۱۰٪ از کل کلاژن غضروفها را به خود اختصاص می دهد و شامل ۳ زیر واحد پلی پپتیدی  $\alpha$  می باشد:  $(XI)\alpha3$ ،  $(XI)\alpha2$ ،  $(XI)\alpha1$  که به ترتیب توسط ژنهای COL11A1 (روی کروموزوم 1p21)، COL11A2 (روی کروموزوم 6p21.3) و COL2A1 (روی کروموزوم 12q13.1-q13.12) بیان می شوند (Morris and Bachinger (1987)).

آلفا ۳ (XI) فرم تغییر شکل یافته بعد از ترجمه ای آلفا ۱ (XI) می باشد و نیز آلفا ۱ می تواند جایگزین آلفا ۳ گردد آلفا ۳ = آلفا ۱ (XI)

منظور از فرم تغییر شکل یافته پس ترجمه ای این است که اسید آمینه پرولین در موقعیت سوم واحد تکراری سه پپتیدی (G-X-Y) در تعدادی یا کل زنجیره ها هیدروکسیله می شود. یک پپتید با باند دی سولفیدی بنام پروتئین غنی از پرولین/آرژینین یا PARP از انتهای آمینی در طی فرآیند خارج سلولی آزاد شده و در ماتریکس غضروف جایی که به فراوانی قابل جداسازی است، تجمع می یابد.

### انواع آلی COL11A2 به شرح زیر می باشد:

- ❖ سندرم Stickler نوع III<sup>(۱)</sup> با جابجایی گوانین به آدنین در موقعیت +1 که در اثر حذف ۵۴ باز نیتروژنی ایجاد می شود(۱).
- ❖ Stickler Type III که با حذف ۲۷ باز نیتروژنی در آگزون ۳۹ همراه است (۲).
- ❖ Stickler type III که با جهش ARG893TER در اثر جابجایی سیتوزین با آدنین در آگزون ۵۷ همراه است (۳).
- ❖ دیسپلازی (OSMED)<sup>(۲)</sup> با جهش Gly175ARG که در اثر جابجایی گوانین - آدنین (G-A) همراه است (۴).
- ❖ OSMED<sup>(۲)</sup> جهش SER345TER در اثر جابجایی - آدنین (C-A) در آگزون ۳۳ همراه است (۴).
- ❖ سندرم Weissen Bacher-Zweymuller که Gly955Glu ناشی از جابجایی گوانین - آدنین (G-A) است (۵).
- ❖ ناشنوایی حسی - عصبی غیر سندرمی اتوزومال غالب به صورت ARG549 CYS ناشی از جابجایی G-T در آگزون ۳۱ است (۶).
- ❖ ناشنوایی حسی - عصبی غیر سندرمی اتوزومال غالب به صورت Gly323GLU (۶).

### سندرم Stickler :

سندرم Stickler (اختلال مفصلی - چشمی ارثی)<sup>(۳)</sup> یک بیماری اتوزومال غالب می باشد که شایعترین علت ارثی جدا شدن شبکیه و یکی از شایعترین دیسپلازی های اتوزومال غالب بافت همبند است. در حدود دو سوم از بیماران جهش COL2A1 (پروکلاژن نوع II) را نشان می دهند. این سندرم به ۳ نوع I، II و III بر اساس جهش ژنی در کلاژن های متعدد تقسیم می شود. که در اثر جهش در ژنهای COL2A1، COL11A1، COL11A2 به وجود می آید. نوع کلاسیک بیمای یا نوع I سندرم Stickler در اثر جهش در ژن COL2A1 که یک کلاژن فیبریلار می باشد و به صورت رشته های مربعی قرار می گیرد که مشابه COL I می باشد. بیماران در این نوع سندرم علائم بالینی شامل ناهنجاریهای مادرزادی چشم نظیر نزدیک بینی و دژنراسیون شبکیه - زجاجیه<sup>(۴)</sup> و نیز تحلیل زودرس مفاصل همراه با تکامل غیرطبیعی صفحه رشد استخوانی، هیپوپلازی میانی صورت، کام شکری، نامنظمی در ستون مهره ها که به کوتاهی قد می انجامد و ناشنوایی حسی - عصبی را نشان می دهند(۲).

سندرم Stickler نوع II ناشی از جهش در COL11 A1 و بیماران مبتلا علائم چشمی، گوش و نیز تغییرات غیرطبیعی در صورت نظیر نوع I Stickler را نشان می دهند(۲).

جهش در COL11A2 منجر به STL3 می شود که خصوصیات مشخصه صورت در نوع I را بهمراه ناشنوایی نشان می دهد، کام شکری و تغییرات مختصر در مفاصل نیز دیده می شود، اگرچه علائم چشمی نظیر جدا شدن شبکیه، تحلیل شبکیه - زجاجیه و نزدیک بینی شدید در نوع III وجود ندارد(۲).

- 
- 1) Stickler Type III
  - 2) Oto Spondylo Mega Epiphyseal Dysplasia
  - 3) Hereditary Arthro-Ophthalmopathy
  - 4) Vitro-Retinal Degeneration

جهش در COL11A2 منجر به STL3 می‌شود که خصوصیات مشخصه صورت در نوع I را به همراه ناشنوایی نشان می‌دهد، کام شکری و تغییرات مختصر در مفاصل نیز دیده می‌شود، اگرچه علائم چشمی نظیر جدا شدن شبکیه، تحلیل شبکیه-زجاجیه و نزدیک بینی شدید در نوع III وجود ندارد (۲).

(نوع XI کلاژن یک کلاژن فیبریلار مینور مرتبط به نوع V کلاژن است و همراه با فیبریل های فراوان نوع II کلاژن است) (۶). جهش در COL11A2 که ژن پروکلاژن آلفا ۲ (XI) است، کلیه علائم سندرم Stickler را به غیر از علائم چشمی ایجاد می‌کند. تفاوت بالینی بین سندرم Stickler نوع III و SticklerI/SticklerII به دلیل فقدان ژن COL11A2 در زجاجیه که با COL V جایگزینی می‌شود، عدم وجود علائم چشمی در نوع III است (۲).

### ناشنوایی حسی-عصبی غیر سندرمی اتوزومی غالب:

یکی از ژنهای درگیر در این نوع ناشنوایی COL11A2 روی کروموزوم 6P21.3 که در جایگاه ژنی DFNA13 قرار گرفته است. و جهش در این ژن قادر است علاوه بر سایر ناشنوایی هایی که لیست آن ذکر گردید و از جمله آنها سندرم Stickler می‌باشد، این نوع از ناشنوایی را بدون علائم بالینی دیگر (غیرسندرمی) ایجاد نماید. افراد مبتلا ناشنوایی پیشرونده را در فقدان هرگونه علائم بالینی دیگر نشان می‌دهند (۷).

### معرفی بیمار:

علائم بالینی: کودک پسر ۴ ساله ناشنوایی در مرکز تحقیقات ژنتیک تحت ارزیابی و معاینه بالینی قرار گرفت. در شرح حال و معاینه بالینی بعمل آمده از کودک، یافته فیزیکی مثبتی بدست نیامد.

### سابقه فامیلی بیمار:

این کودک حاصل یک ازدواج فامیلی درجه سوم می‌باشد و همچنین بیمار یک خواهر ۱۶ ساله مبتلا که فقط ناشنوایی حسی عصبی غیر سندرمی در وی شناسایی شد، دارد.

هر دو فرد ناشنوا تحت معاینه بالینی قرار گرفتند و هر دو از نظر هیپوپلازی صورت، اختلالات مفصلی، کوتاهی قد، کام شکری، طبیعی بودند در معاینه چشم پزشکی، هیچگونه اختلال شبکیه و زجاجیه مشاهده نشد. در بررسی رادیوگرافیک بعمل آمده از هر دو بیمار، نامنظمی در جسم مهره ها و تحلیل زودرس مفاصل وجود نداشت.

### بررسی ملکولی:

ابتدا از افراد مبتلای خانواده که برای مشاوره ژنتیک به مرکز تحقیقات ژنتیک مراجعه کردند، استفاده نموده و با تکمیل پرسشنامه و ترسیم شجره برای آنها پرونده تشکیل گردید. ادیوگرام های مربوطه نیز ضمیمه پرونده گردید. سپس با اخذ رضایت از بیماران ۵-۱۰ سی سی خون جهت استخراج DNA ژنومی گرفته شده و برای جلوگیری از لخته شدن در لوله های حاوی EDTA (Ethylene-Diamine-Tetra-Acetic Acid) نگهداری شد. DNA ژنومی توسط روش نمک اشباع (Salting out) استخراج گردید و سپس کیفیت و کمیت آن توسط روش اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت.

### روند کار بر روی بیماران از قرار زیر می باشد:

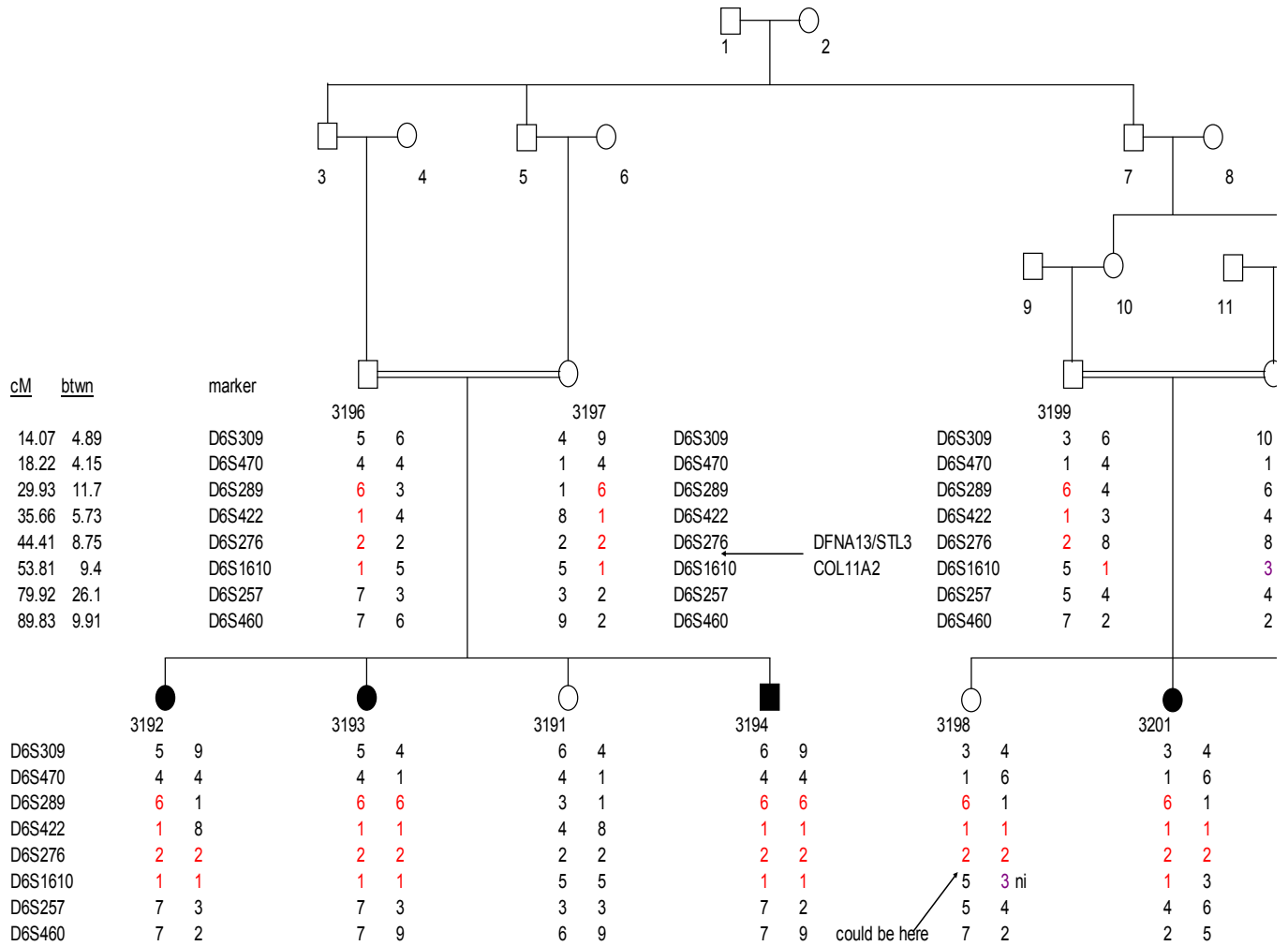
جهت تشخیص جهش 35delG از روش ARMS/PCR (Allele Refraction Mutation System/ Polymerase Chain Reaction) و الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید ۸٪ با ولتاژ ۲۰۰ ولت استفاده شد. نمونه های هموزیگوت 35delG مشخص و کنار گذاشته شدند. در بقیه موارد پس از انجام DHPLC نمونه هایی که پروفایل غیر نرمال داشتند. مستقیماً تعیین توالی (Direct Sequencing) شدند سپس برای موارد هتروزیگوت جهش شایع در ژن GJB2 بررسی می‌شد. در ادامه کل نمونه هایی که در بررسی دو ژن GJB2 و GJB6 منفی بودند با تکنیک Linkage Analysis برای شناسایی سایر ژنها و لوکوس ها مورد بررسی قرار گرفتند.

### بحث و نتیجه گیری:

بر اساس پروتکل موجود در بررسی ناشنوایی های ارثی غیر سندرمی دو ژن شایع GJB2 (لوکوس DFNB1) که مسئول کد کردن پروتئین کانکسین ۲۶ (Cox26) و ژن GJB6 که مسئول کد کردن پروتئین کانکسین ۳۰ (Cox30) (لوکوس DFNB1) که جهش در هر دو از

علل عمده ناشنوایی‌های ارثی غیر سندرمی است، مورد بررسی قرار گرفتند. از آنجایی که نتیجه هر دو بیمار از نظر جهش برای این دو ژن منفی بود، اسکن کل ژنوم (Whole genome Scan) از طریق آنالیز پیوستگی<sup>(۱)</sup> برای یافتن جایگاه جدید احتمالی برای این خانواده انجام گرفت (این مرحله با همکاری دکتر اسمیت و همکاران در دانشگاه Iowa صورت گرفته است). برای آنالیز پیوستگی نمونه DNA تمام افراد درجه یک خانواده به این مرکز ارسال گردید. نتیجه به دست آمده از آنالیز پیوستگی نشان داد که این خانواده به لوکوس DFNA13 روی کروموزوم 6P21.3 که مسئول ایجاد ناشنوایی غیر سندرمی با وراثت غالب می‌باشد، پیوستگی نشان می‌دهد. این لوکوس (DFNA13) جایگاه ژن COL11A2 می‌باشد که همانگونه که توضیح داده شد جهش‌های متعدد این ژن گروهی از ناشنوایی‌های سندرمی و یا غیر سندرمی غالب را ایجاد می‌نماید (۸).

جهش شناسایی شده PRO621Thr در ژن COL11A2 می‌باشد که اولین مورد گزارش شده از ناشنوایی ارثی غیر سندرمی نهفته در این ژن می‌باشد و با توجه به این که هر دو بیمار علائم سندرم Stickler را نداشته‌اند و در عین حال با توجه به پاترن نهفته بودن توارث در این خانواده اولین موردی است که جهش در COL11A2 منجر به ناشنوایی ارثی غیرسندرمی با توارث نهفته می‌گردد.



شکل ۱: تصویر شجره نامه خانواده مورد مطالعه

-----Section Break (Continuous)-----

-----Section Break (Continuous)-----

-----Section Break (Continuous)-----

-----Section Break (Continuous)-----

: منابع

- 1- Brunner, H.G.; Van eersun, S.E.C.; Warman, M.L.; B.R.; Ropers, H.-H.; Mariman, E.C.M.:  
**A Stickler syndrome gene is linked to chromosome 6 near the COL11A2 gene.** *Hum. Molec. Genet.* 3: 1561-1564,1994.  
PubMed ID: [7833911](#)
- 2- Snead, M.; Yeast, J.R.W.:  
**Clinical and Molecular genetics of Stickler syndrome.** *J.Med.Genet.* 36:353-359, 1999.  
PubMed ID: [10353778](#)
- 3- Vikkula, M.; Mariman, E.C.M.; Lui, V.H.; Zhidkova, N.I.; Tiller, G.E.; Goldring, M.B.; Van Beersum, S.E.C.; de Waal Malefijt, M.C.; Van den Hoogen, F. H. J.; Ropers, H.-H.;
- Maryne, R.; Cheah, K.S.E.; Olsen, B.R.; Warman, M.L.; Brunner, H.G.:  
**Autosomal dominant and recessive osteochondrodysplasias associated with the COL11A2 locus.** *Cell* 80: 431-437, 1995.  
PubMed ID: [7859284](#)
- 4- Law, M.L; Chan, S.D.H.; Berger, R.; Jones. C.; Kao, F.T.; Solomon, E.; Cheah, K.S.E.:  
**The gene for the alpha-2 chain of the human fibrillar collagen type XI (COL11A2) assigned to the short arm of chromosome 6.** *Ann. Hum. Genet.*54:23-29,1990.
- 5- Law, M.L; Chan, S.D.H; Berger. R.; Jones, C.A.; Kao,F.T.; Solomon, E.; Cheah, S.E.:  
**The gene for the alpha 2 chain of the human fibrillar collagen, type XI (COL11A2) is on the short arm of chromosome 6.** (Abstract) *Cytogenet. Cell Genet.* 51:1029-1030, 1989.
- 6- Lui, V.C.H.; Ng.L.J.; Sat, E.W.Y.; Cheah, K.S.E:  
**The human alpha-2(XI) collagen gene (COL11A2): completion of coding information, identification of the promoter sequence, and precise localization within the major histocompatibility complex reveal overlap with the KE5 gene.** *Genomics* 32:401-412, 1996.
- 7- Meada, S.; Koga, H.; Matsunaga, S.; Numasawa, T.; Ikari, K.; Furushima, K.; Harata, S.; Takeda, J.; Sakou, T.; Komiya, S.; Inoue, I:  
**Gender-specific haplotype association of collage alpha-2(XI) gene in ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine.** *J.Hum. Genet.* 46: 1-4,2001.
- 8- Mayne, R.; Brewton, R.G.; Mayne, P.M.; Baker, J. R.:  
**Isolation and characterization of the chains of type V/type XI collagen present in bovine vitreous.** *J. Biol. Chem.* 268:9381-9386, 1993.