

## بررسی پیوستگی ژنتیکی لوکوس DFNB24 در جمعیتی از خانواده های استان خوزستان مبتلا به ناشنوایی غیر سندرومی مغلوب اتوزومی

لادن صادقیان<sup>۱</sup>، محمد امین طباطبایی فر<sup>۲</sup>، نرگس زارع پور<sup>۳</sup>، مرتضی هاشم زاده چالشتی<sup>۴\*</sup>  
<sup>۱</sup>دانشجو، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ <sup>۲</sup>دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران؛ <sup>۳</sup>دانشجو، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ <sup>۴</sup>مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۴/۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۱

### چکیده:

**زمینه و هدف:** ناشنوایی رایج ترین اختلال حسی عصبی با بروز یک در هر هزار نوزاد می باشد. حدود ۷۰٪ از موارد ژنتیکی ناشنوایی را موارد غیر سندرومی تشکیل می دهند. بیش از ۱۰۰ لوکوس در ناشنوایی غیر سندرومی مغلوب اتوزومی (ARNSHL) درگیر می باشند. هدف از این مطالعه بررسی آنالیز پیوستگی به لوکوس DFNB24 (ژن رادیکسین) در خانواده های مبتلا به ARNSHL می باشد.

**روش بررسی:** در این مطالعه توصیفی - آزمایشگاهی ۴۰۰ نمونه از ۲۵ خانواده مبتلا به ناشنوایی غیر سندرومی مغلوب اتوزومی با ازدواج خویشاوندی و دارای حداقل سه فرد ناشنوا، از استان خوزستان انتخاب شدند. در نهایت ۲۳ خانواده از نظر جهش در ژن *GJB2* (لوکوس DFNB1) منفی گزارش و به مطالعه وارد شدند. شش نشانگر STR (Short Tandem Repeat) انتخاب شد و پس از انجام واکنش PCR، تعیین ژنوتیپ با استفاده از بررسی نمونه ها بر روی ژل پلی اکریل آمید، انجام شد. نرم افزارهایی همچون Easy Linkage، SimWalk و HaploPainter برای تجزیه و تحلیل ژنتیکی مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها:** در راستای بررسی پیوستگی لوکوس DFNB24 در جمعیت ناشنوایان استان خوزستان، نتایج مطالعه ما نشان داد که هیچ مورد پیوستگی بین لوکوس DFNB24 و ناشنوایی در هیچ یک از خانواده ها وجود ندارد.

**نتیجه گیری:** نتایج مطالعه حاضر نشان از آن دارد که احتمالاً جهش های این ژن نقشی ناچیز در بروز ناشنوایی در جمعیت ناشنوای استان خوزستان دارد.

**واژه های کلیدی:** پیوستگی ژنتیکی، ناشنوایی غیر سندرومی مغلوب اتوزومی، لوکوس DFNB24.

### مقدمه:

ناشنوایی از جمله بیماری هایی است که می تواند به دلایل ژنتیکی، محیطی یا ترکیبی از هر دو ایجاد شود. ناشنوایی ژنتیکی به دو دسته سندرومی و غیر سندرومی تقسیم می شود. همانند بسیاری از بیماری ها، ناشنوایی سندرومی از نظر پاتولوژی بسیار متغیر است و می تواند با فنوتیپ های مختلف همراه باشد، در حالی که در موارد غیر سندرومی ناشنوایی، به طور عمده نقص حسی عصبی را شاهد هستیم (۱).

ناشنوایی غیر سندرومی از نظر ژنتیکی به چند دسته تقسیم می شود. حدود ۸۰٪ ناشنوایی غیر سندرومی را الگوی اتوزومی مغلوب تشکیل می دهد. حدود ۲۰٪ سهم الگوی اتوزومی غالب و نزدیک به ۱٪ سهم سایر الگوها نظیر وابسته به X و Y و میتوکندریایی است (۳،۲). این بیماری بسیار هتروژن است و تاکنون ۱۰۵ لوکوس (۶۵ ژن) دخیل در ناشنوایی غیر سندرومی مغلوب اتوزومی و همچنین ۶۷ لوکوس (با ۲۷ ژن شناخته شده) عامل ناشنوایی غیر سندرومی غالب

\*نویسنده مسئول: شهرکرد- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی- تلفن: ۰۹۳۵۳۸۵۲۵۵۸

E-mail: ladan\_sadeghian@yahoo.com

است و نقش دقیقی آن در استرسیلیای سلول های مویی مشخص نیست (۱۳).

تاکنون در ژن *RDX* جهش های *frame shift*، *missense* و *nonsense* در منطقه خاورمیانه از جمله کشورهای ایران و پاکستان گزارش شده است. همین امر فراوانی پایین این ژن را در بروز ناشنوایی غیر سندرومی مغلوب اتوزومی در این ناحیه نشان می دهد (۱۴).

در این مطالعه برای بررسی پیوستگی به لوکوس مورد نظر، از روش آنالیز پیوستگی ژنتیکی استفاده کردیم. اساس این مطالعه نقشه اتوزیگوسیتی است که روشی انتخابی برای مطالعه ژنتیک بیماری های اتوزومی مغلوب محسوب می شود (۱۵).

تنوع جمعیتی بالا در کشور ما و همچنین طبیعت فوق العاده هتروژن ناشنوایی، باعث شده است که با وجود مطالعاتی که در این زمینه صورت گرفته است هنوز دلیل درصد زیادی از مبتلایان به ناشنوایی نامشخص باقی بماند. این امر لزوم مطالعات بیشتر را در این زمینه ایجاد می کند تا نقش دیگر ژن ها در ایجاد ناشنوایی بررسی شود. تهیه پروفایلی از ژن های شایعی که باعث ناشنوایی در کشورمان می شود، می تواند راه را برای تشخیص، مشاوره ژنتیک و پیشگیری این بیماری باز نماید.

### روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی، ۲۵ خانواده بزرگ دارای ۳ فرد ناشنوا در خانواده از استان خوزستان انتخاب شدند. روش نمونه گیری تصادفی ساده بود. معیارهای مورد نظر برای انتخاب خانواده ها تأیید ناشنوایی با آزمایش های اودیولوژیک و وجود ناشنوایی غیر سندرومی با توارث مغلوب اتوزومی است که توسط پزشک متخصص گوش، حلق و بینی و انجام مشاوره ژنتیک تأیید شده است.

از افراد رضایت نامه کتبی گرفته شد و اطلاعات بالینی و دموگرافیک آن ها از طریق پرسشنامه جمع آوری و بررسی گردید. از هر فرد ۵ میلی لیتر خون محیطی در لوله های حاوی EDTA ۰/۵ مولار اخذ

اتوزومی گزارش شده است. برای ناشنوایی غیر سندرومی وابسته به X نیز ۴ ژن شناسایی شده است.

ناشنوایی حسی عصبی شایع ترین اختلال موجود در هنگام تولد با بروز یک در هر ۱۰۰۰ نوزاد می باشد (۴). مطالعات حاکی از آن است که این نسبت در ایران کمتر است (۵). این امر به دلیل نرخ بالای ازدواج خویشاوندی در ایران است که باعث می شود بیماری های اتوزومی مغلوب از جمله ناشنوایی در جمعیت ها بیشتر شوند (۶).

بیشتر مطالعات انجام گرفته بر روی عوامل ایجاد کننده ناشنوایی غیر سندرومی مغلوب اتوزومی (*ARNSHL*)، به بررسی ژن *GJB2* می پردازد. میزان اثر این ژن در ایران ۱۶٪ تا ۱۸/۳٪ تخمین زده شده است (۷، ۸). جهش های ژن *GJB2* در شمال غربی ایران شایع تر است (۴۰٪)، در حالی که در نواحی جنوبی ایران این میزان ۲٪ تخمین زده شده است (۹).

جهش در سایر ژن های عامل ناشنوایی تاکنون در تعداد محدودی از خانواده ها شناسایی شده اند. بنابراین به مطالعات گسترده ای برای تعیین سهم دقیق سایر ژن ها نیاز است. این مطالعات جهت انجام مشاوره ژنتیک و مدیریت بیماری برای به کارگیری اقدامات درمانی احتمالی حائز اهمیت است. در این مطالعه به بررسی لوکوس DFNB24 پرداختیم. پیش از آن در پژوهش گسترده ای بر روی این خانواده ها، پانلی از لوکوس های شایع بررسی شده بود.

ژن *RDX* به عنوان عامل ناشنوایی در لوکوس DFNB24 شناسایی شده است. ناحیه کروموزومی این ژن با استفاده از روش FISH در 11q23 شناسایی شده است (۱۰). ژن *RDX* با ۱۲۱۸۳۲ نوکلئوتید، mRNA به طول ۱۷ اگزون را کد می کند. پروتئین کد شده از این ژن با ۶۰۴ آمینواسید، پروتئین اسکلت سلولی است که همراه با پروتئین های ازیرین و میوزین، از پروتئین های خانواده ERM (*Ezrin/radixin/moesin family's proteins*) هستند (۱۱). این پروتئین ها احتمالاً در تنظیم طولی یا سازماندهی استرئوسیلیا دخیل هستند (۱۲). عملکرد پروتئین رادیکسین اتصال فیلامنت های اکتین به غشای پلاسمایی

آنالیز پیوستگی انجام شد. نشانگرهای STR مناسب از پایگاه های اطلاعاتی NCBI Genome Browser و Map Viewer انتخاب شدند. تمام نشانگرها دارای واحدهای تکراری دو نوکلئوتیدی بودند. معیار انتخاب نشانگرها فاصله از ژن، درجه چند شکلی آن ها، طول محصول PCR و هتروزیگوت بودن برای یک نشانگر واحد بود. در صورت بی معنی بودن نشانگرها (uninformative markers) سایر نشانگرهای نزدیک به منطقه ژن جایگزین گردید (جدول شماره ۱).

گردید و به آزمایشگاه منتقل شد. استخراج DNA به روش فنل- کلروفرم انجام گردید و کمیت و کیفیت نمونه ها با استفاده از دستگاه نانو دراپ اندازه گیری شد (۱۶).

پس از بررسی خانواده ها از نظر جهش در آگرون ۲ ژن *GJB2* با روش توالی یابی سنگر، ۲۳ خانواده فاقد جهش برای ادامه بررسی ها انتخاب شدند.

برای بررسی ارتباط ناشنوایی با ژن *RDX* (مسبب ناشنوایی واقع در لوکوس DFNB24) تعیین ژنوتایپ و

**جدول شماره ۱: نشانگرهای مورد استفاده برای لوکوس DFNB24 و ویژگی های آن ها**

نام نشانگر	پرایمر F (Forward)	پرایمر R (Reverse)	اندازه محصول (bp)
D11S1793	AGTCATGCATCCTCCCTGTA	ATCCTGAACACATTCCTCAA	۱۲۴-۱۴۰
D11S1391	TGCATGCATACATACATACATA	CATCCATCCCTCTGTCTCTG	۱۵۸-۱۷۸
D11S2017	TTTTTAAGCGCACCAAAGAG	TTTGAATAGGAAATTAGATGGTAGG	۱۰۹-۱۳۳
D11S4206	ATGTGAATTGCTCTCTGTGTCACTC	TGGAAACCTAATACCTAGCCTTTTG	۱۵۱-۱۶۱
D11S1893	TCCCTGGAACCTGGAT	TGATGTGGGCTTTTTCAA	۲۰۶-۲۵۸

آمده است. هر میکروتیوب PCR شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (10X)، ۰/۵ میکرولیتر  $MgCl_2$  (۵۰ میلی مولار)، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۱۰ میلی مولار)، ۰/۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها (10pM)، ۱ میکرولیتر DNA (۵۰-۴۰ نانوگرم) و ۰/۱ میکرولیتر Taq پلیمرز است که با آب مقطر به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسید. برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر برای انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز در جدول شماره ۲ مشخص شده است.

پرایمرهای لازم برای تکثیر نشانگرها از طریق پایگاه داده Primer3 و NCBI primer Blast و نرم افزار Oligo7 طراحی و از روش Touchdown PCR استفاده شد. این روش به این صورت است که در چند سیکل شروع PCR دمای اتصال پرایمرها از چند درجه بالاتر شروع می شود تا پرایمرها اختصاصی تر به محل مورد نظر در ژن متصل شوند و سپس PCR در دمای اتصال واقعی پرایمرها ادامه می باید. توالی پرایمرهای طراحی شده در جدول شماره ۱

**جدول شماره ۲: برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر برای انجام PCR**

مراحل PCR	دما (درجه سانتی گراد)	زمان	تعداد چرخه
۱	۹۵	۳ دقیقه	۱
۲	۹۵	۳۰ ثانیه	۷
	۶۳-۵۷	۳۰ ثانیه	
	۷۲	۲۵ ثانیه	
۳	۹۵	۳۰ ثانیه	۲۳
	۵۶	۳۰ ثانیه	
	۷۲	۲۵ ثانیه	
۴	۷۲	۱۰ دقیقه	۱

۱/۰۴۳ صورت گرفت. این مرحله به منظور تأیید یا رد پیوستگی استفاده می شود.

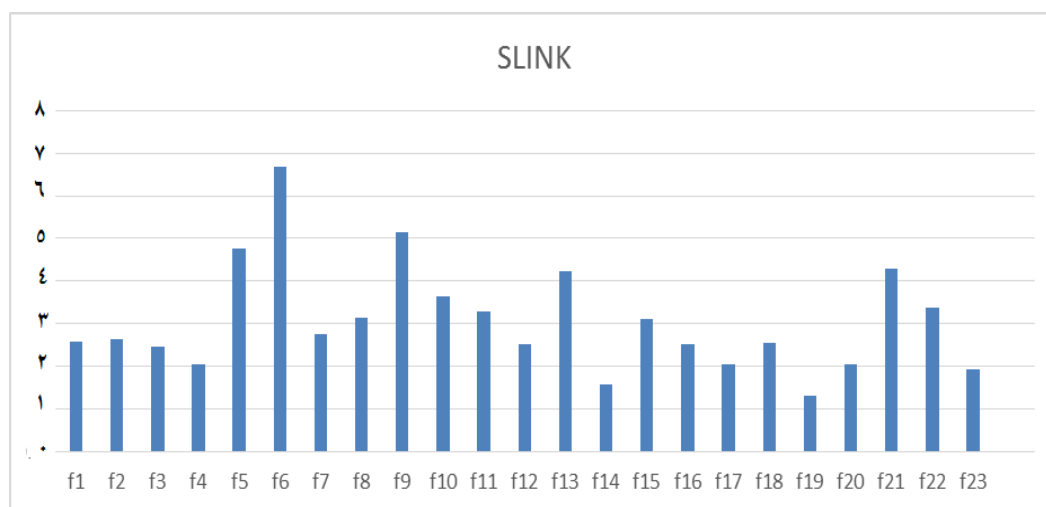
### یافته ها:

افراد ناشنوی مورد بررسی در این پژوهش از ناشنوایی حسی عصبی شدید تا عمیق رنج می بردند. با توجه به داده های بالینی و بررسی شجره خانواده، سندرومی بودن ناشنوایی رد گردید و الگوی توارث اتوزومی مغلوب مورد تأیید بود. ارزش SLINK این خانواده ها بین ۷-۱/۵ برآورد شد (نمودار شماره ۱). محاسبه SLINK بدین منظور انجام شد تا بتوانیم خانواده های با احتمال پیوستگی بیشتر را به مطالعه وارد کنیم.

پس از انجام PCR، قطعات تکثیر شده از نمونه های مربوط به هر خانواده بر روی ژل پلی آکریل آمید ۱۲-۸٪ با جریان ۳۰ میلی آمپر به مدت ۲-۴ ساعت الکتروفورز شد و سپس با نیترات نقره رنگ آمیزی گردید. در مرحله بعد ژنوتایپینگ بر روی ژل ها برای هر خانواده انجام شد (۱۷).

برای ارزیابی قدرت هر خانواده جهت بررسی آنالیز پیوستگی SLINK محاسبه می شود. برای محاسبه SLINK از برنامه fast slink نسخه ۲/۵۱ و برای محاسبه نمره LOD پارامتر دو نقطه ای و چند نقطه ای به ترتیب از Super Link نسخه ۱/۶ و SimWalk نسخه ۲/۹۱ استفاده شد (۱۸).

رسم هاپلوتایپ در مورد خانواده های مشکوک به پیوستگی با کمک نرم افزار HaploPainter نسخه ۱



نمودار شماره ۱: نمودار مقادیر مختلف SLINK مربوط به ۲۳ خانواده مورد بررسی

محور افقی خانواده ها و محور عمودی مقدار SLINK را نشان می دهد.

برای تأیید پیوستگی همخوانی نداشت (تصویر شماره ۱). همچنین هاپلوتایپ رسم شده برای هر خانواده احتمال پیوستگی به لوکوس DFNB24 را رد می کرد. یک نمونه از هاپلوتایپ رسم شده در تصویر شماره ۲ آورده شده است. بدین ترتیب پیوستگی برای تمام ۲۳ خانواده مورد بررسی رد شد.

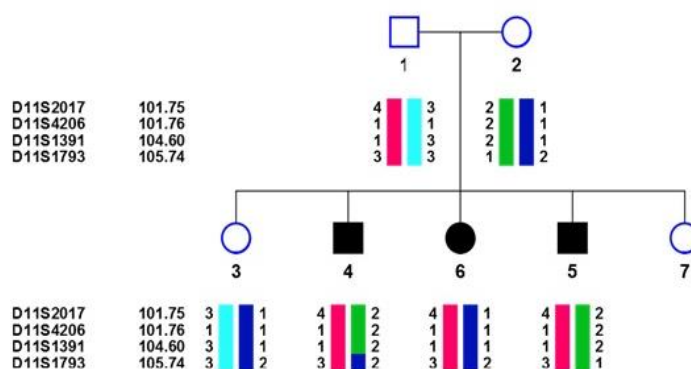
الگوی نشانگرها برای همه خانواده ها، با تکرار دو بار یا بیشتر الکتروفورز بر روی ژل پلی آکریل آمید (برای خانواده های دارای ارزش SLINK بالاتر) بررسی و تعیین ژنوتایپ شد. پس از آن برای هر خانواده هاپلوتایپ آلل ها رسم و امتیاز LOD محاسبه شد. برای تمام خانواده ها، در ژنوتایپ افراد خانواده الگوی توارث آلل ها با الگوی مورد نظر



تصویر شماره ۱: نشانگر D11S1893

در این نشانگر آللی افراد در تعیین ژنوتایپ و احتمال پیوستگی همخوانی ندارد. پدر و مادر شنوا هستند.

### Family DEZ-1



### تصویر شماره ۲: هاپلوتایپ مربوط به عدم پیوستگی در یکی از خانواده های مورد بررسی

در این شجره نامه بیماران هاپلوتایپ یکسانی ندارند و پیوستگی به لوکوس *DFNB24* رد می شود. نقشه ژنتیکی نشانگرها بر اساس مارشفلد می باشد.

### بحث:

شایع و ژن های واقع در آن معطوف می باشد، از جمله لوکوس *DFNB1* با سهم ۱۶ تا ۱۸ درصدی در بروز *ARNSHL*، ژن *SLC26A4* واقع در لوکوس *DFNB4* (دلیل حدود ۱۰٪ ناشنوایی) و ژن *TECTA* واقع در لوکوس *DFNB21* (دلیل حدود ۴٪) از ژن های شایع در کشورمان می باشند (۸، ۱۷).

در فرآیند شنوایی انسان ژن های زیادی دخیل می باشند. تخمین زده می شود تا ۱٪ از ژن های انسانی در این فرآیند دخیل باشند (۱۹). از این رو جهش در ژن های زیادی در این مسیر موجب ناشنوایی حسی عصبی می شود. بیشتر مطالعات صورت گرفته در ایران و جهان بر روی لوکوس های

از آنجا که هنوز درصد قابل توجهی از علل ناشنوایی در کشورمان ناشناخته است، لازم است تا مطالعات بر روی لوکوس های با شیوع کمتر نیز متمرکز شود.

در این پژوهش، در راستای تکمیل مطالعات بر روی ARNSHL، به بررسی سهم لوکوس DFNB24 (یکی از لوکوس های عامل ناشنوایی) در ۲۵ خانواده با حداقل سه فرد ناشنوا از استان خوزستان پرداختیم.

در لوکوس DFNB24 نزدیک به ۱۰۰ ژن شناسایی شده است که ۵ ژن در گوش درونی بیان می شوند. ژن *RDX* یکی از ژن های موجود در این ناحیه است که نقص در پروتئین آن منجر به ناشنوایی در موش می شد (۲۰). اولین مطالعات در سال ۱۹۹۳ منجر به کلون و سکانس cDNA رادیکسین انسانی شد (۱۰).

با بررسی ۶۰۰ خانواده در کشور پاکستان، Khan و همکاران سه خانواده پاکستانی را پیوسته به این لوکوس گزارش کردند و سه جهش پاتوژنیک در این ژن شناسایی شد که احتمال می رفت با تخریب یا حذف دومین اتصال به اکتین پروتئین، در عملکرد پروتئین اختلال و ایجاد ناشنوایی کند (۲۱). مطالعه بر روی یک خانواده پاکستانی دیگر، به شناسایی یک حذف چهار نوکلئوتیدی (c.1076\_1079delTTAA) انجامید که باعث ایجاد یک رونوشت ناقص از رادیکسین می شد (۲۲).

در یک خانواده ایرانی یک جهش جایگاه پیرایش توسط Shearer و همکاران گزارش شد. جهش در جایگاه پیرایش اگزون- اینترون ۷ (>A+1G698.c) منجر به امتداد mRNA در اینترون ۷ و به دنبال آن خوانش یک کدون ایست می گردد. در نتیجه mRNA ناقص ترجمه نمی شود (۲۳).

بررسی ۱۴۴ خانواده از جمعیت های مختلف ایرانی در سال ۲۰۱۰ به شناسایی ۴ خانواده لینک به این لوکوس انجامید (۲۴).

با این حال در مطالعه حاضر، با توجه به این که به بررسی ۲۳ خانواده بزرگ با نرخ بالای ازدواج خویشاوندی در آن ها پرداختیم، هیچ مورد پیوستگی به این لوکوس مشاهده نشد؛ این امر می تواند تأییدی بر سایر مطالعات صورت گرفته در کشورمان باشد که همگی بر نقش ناچیز این لوکوس در بروز ناشنوایی در کشورمان اشاره دارند (۱۴، ۲۴). احتمال می رود علت ایجاد ناشنوایی در این بیماران دخالت لوکوس هایی باشد که شیوع بالاتری دارند.

برای تعیین سهم این لوکوس در بروز ناشنوایی، لازم است مطالعات را به مناطق دیگر و خانواده های بیشتر بسط داد تا بتوان نقش آن را به طور دقیق تر بررسی نمود.

### نتیجه گیری:

با توجه به نتایج این پژوهش می توان اظهار داشت که این لوکوس نقش اندکی در ناشنوایی جمعیت مورد مطالعه داشته است. با این حال برای تعیین سهم دقیق تر لوکوس های دخیل در ناشنوایی در بروز ناشنوایی در کشورمان، لازم است مطالعات بیشتری بر روی نقش لوکوس DFNB24 و سایر لوکوس ها در ناشنوایی، صورت پذیرد تا بتوان راه را برای تشخیص، مشاوره ژنتیک و پیشگیری باز کرد.

### تشکر و قدردانی:

از خانواده های بیماران به دلیل مشارکت در این پژوهش سپاسگزاریم. همچنین از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد جهت تأمین بودجه این مطالعه با شماره گرانت ۲۲۵۶ و پرسنل مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به دلیل کمک های بی دریغشان کمال تقدیر و تشکر را داریم.

## منابع:

1. Kitamura K, Takahashi K, Tamagawa Y, Noguchi Y, Kuroishikawa Y, Ishikawa K, et al. Deafness genes. *J Med Dent Sci*. 2000; 47(1): 1-11.
2. Acmg. Genetics evaluation guidelines for the etiologic diagnosis of congenital hearing loss: Genetic evaluation of congenital hearing loss expert panel. ACMG statement. *Genet Med*. 2002; 4(3): 162-71.
3. Smith RJ, Bale JF, Jr., White KR. Sensorineural hearing loss in children. *Lancet*. 2005; 365(9462): 879-90.
4. Genc GA, Konukseven O, Muluk NB, Kirkim G, Basar FS, Tuncer U, 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.
5. Mahdih N, Rabbani B, Wiley S, Akbari MT, Zeinali S. Genetic causes of nonsyndromic hearing loss in Iran in comparison with other populations. *J Hum Gen*. 2010; 55(10): 639-48.
6. Saadat M. Consanguineous marriages in Iranian folktales. *Community Genet*. 2007; 10(1): 38-40.
7. Najmabadi H, Nishimura C, Kahrizi K, Riazalhosseini Y, Malekpour M, Daneshi A, et al. *GJB2* mutations: Passage through Iran. *Am J Med Genet A*. 2005; 133A(2): 132-7.
8. Chaleshtori MH, Farhud D, Patton M. 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.
9. Naghavi A, Nishimura C, Kahrizi K, Riaz AY, Suraki AH, Mahdih N, et al. Prevalence of *GJB2* mutations among patients with autosomal recessive non syndromic hearing loss in Sistan and Baloochestan Province. 2005.
10. Wilgenbus KK, Milatovich A, Francke U, Furthmayr H. Molecular cloning, cDNA sequence, and chromosomal assignment of the human radixin gene and two dispersed pseudogenes. *Genomics*. 1993; 16(1): 199-206.
11. Gene [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2016- [cited 2016 05]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>.
12. Sekerkova G, Zheng L, Loomis PA, Mugnaini E, Bartles JR. Espins and the actin cytoskeleton of hair cell stereocilia and sensory cell microvilli. *Cell Mol Life Sci*. 2006; 63(19-20): 2329-41.
13. Niggli V, Rossy J. Ezrin/radixin/moesin: versatile controllers of signaling molecules and of the cortical cytoskeleton. *Int J Biochem Cell Biol*. 2008; 40(3): 344-9.
14. Najmabadi H, Kahrizi K. Genetics of non-syndromic hearing loss in the Middle East. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2014; 78(12): 2026-36.
15. Lander ES, Botstein D. Homozygosity mapping: A way to map human recessive traits with the DNA of inbred children. *Science*. 1987; 236(4808): 1567-70.
16. Grimberg J, Nawoschik S, Belluscio L, McKee R, Turck A, Eisenberg A. A simple and efficient non-organic procedure for the isolation of genomic DNA from blood. *Nucleic Acids Res*. 1989; 17(20): 8390.
17. Tabatabaiefar M, Alasti F, Zohour MM, Shariati L, Farrokhi E, Farhud D, et al. Genetic linkage analysis of 15 DFNB Loci in a group of Iranian families with autosomal recessive hearing loss. *Iran J Public Health*. 2011; 40(2): 34-48.
18. Lindner TH, Hoffmann K. EasyLINKAGE: A PERL script for easy and automated two-/multi-point linkage analyses. *Bioinformatics*. 2005; 21(3): 405-7.
19. Van Camp G, Smith RJ. Hereditary hearing loss homepage. Available from: <http://hereditaryhearingloss.org/>; 2006.

20. Kitajiri S, Fukumoto K, Hata M, Sasaki H, Katsuno T, Nakagawa T, et al. Radixin deficiency causes deafness associated with progressive degeneration of cochlear stereocilia. *J Cell Biol.* 2004; 166(4): 559-70.
21. Khan SY, Ahmed ZM, Shabbir MI, Kitajiri S, Kalsoom S, Tasneem S, et al. Mutations of the RDX gene cause nonsyndromic hearing loss at the DFNB24 locus. *Hum Mutat.* 2007; 28(5): 417-23.
22. Lee K, Khan S, Ansar M, Santos-Cortez RL, Ahmad W, Leal SM. A novel ESRRB deletion is a rare cause of autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment among pakistani families. *Genet Res Inter.* 2011; 25(3): 44-7.
23. Shearer AE, Hildebrand MS, Bromhead CJ, Kahrizi K, Webster JA, Azadeh B, et al. A novel splice site mutation in the RDX gene causes DFNB24 hearing loss in an Iranian family. *Am J Med Genet A.* 2009; 149A(3): 555-8.
24. Babanejad M, Fattahi Z, Bazazzadegan N, Nishimura C, Meyer N, Nikzat N, et al. A comprehensive study to determine heterogeneity of autosomal recessive nonsyndromic hearing loss in Iran. *Am J Med Genet A.* 2012; 158A(10): 2485-92.



## Genetic linkage analysis of DFNB24 locus in a group of families with autosomal recessive non-syndromic hearing loss in Khouzestan province of Iran

Sadeghian L<sup>1</sup>, Tabatabaiefar MA<sup>2</sup>, Zarepour N<sup>3</sup>, Hashemzadeh-Chaleshtori M<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Student, Student Research Committee, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; <sup>2</sup>Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran; <sup>3</sup>Student, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; <sup>4</sup>Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 26/Jun/2016 Accepted: 30/Jan/2017

**Background and aims:** Hearing loss (HL) is the most common sensorineural disorder affecting 1 in 1000 newborns. About 70% of genetic HL is classified as nonsyndromic deafness. Over 100 non-syndromic loci have been identified in autosomal recessive nonsyndromic hearing loss (ARNSHL). The aim of this study is identifying genetic cause of deafness by investigating genetic linkage analysis for DFNB24 locus (*RDX* gene) in ARNSHL families.

**Methods:** In this descriptive-experimental study, 400 samples from 25 Iranian consanguinity families with 3 or more patients, segregating as an ARNSHL, were selected from Khuzestan. Totally, 23 families were negative for *GJB2* mutations (DFNB1) and were included. Six STR (Short Tandem Repeat) markers were selected, PCR amplification was done, and genotyping was performed by electrophoresis PCR product on polyacrylamide gel (PAGE). Several software tools such as Easy Linkage, SimWalk and HaploPainter were used for linkage analysis.

**Results:** Following the study of genetic linkage of DFNB24 in hearing loss population of Kuzestan province, our findings showed no families to be linked to the DFNB24 locus and deafness.

**Conclusion:** Results of the present study showed that *RDX* mutations may have little role in the etiology of deafness in this province.

**Keywords:** Genetic linkage, Autosomal recessive non-syndromic hearing loss, DFNB24 locus.

**Cite this article as:** Sadeghian L, Tabatabaiefar MA, Zarepour N, Hashemzadeh-Chaleshtori M. Genetic linkage analysis of DFNB24 locus in a group of families with autosomal recessive non-syndromic hearing loss in Khouzestan province of Iran. J Shahrekord Univ Med Sci. 2017; 19(2): 124-132.

**\*Corresponding author:**

Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran. Tel: 00989353852558, E-mail: ladan\_sadeghian@yahoo.com