پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۶، ویژه نامه ۱، زمستان ۱۳۹۱، صفحات ۹۳ تا ۹۸

مقاله اصلی
(Original Article)

تکثیر چندگانه مبتنی بر لیگاسیون پروب MLPA برای شناسایی جهش‌های حذف ژنی در ناشنوایان هتروزیگوت ژن GJB2

نجات مهدیه[1*]، عاطفه شیرکوند[2]، بهاره ربانی[3]، بهمن اکبری[4]، محمدتقی اکبری[5]، سیروس زینلی[2*]، ناهید صفری[6]

[1] گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام
[2] مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی کوثر، آزمایشگاه دکتر زینلی
[3] گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین
[4] گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
[5] گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
[6] مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: *ناشنوایی شایع‌ترین نقص حسی در انسان است که در نیمی از موارد به علل ژنتیکی مربوط است. با توجه به اهمیت جهش‌های ژن GJB2 در مورد ناشنوایی، در این تحقیق از تکنیک چندگانه مبتنی بر لیگاسیون پروب MLPA برای شناسایی حذف‌های ژنی انجام گرفت.*

روش بررسی: *تحقیق به روش توصیفی روی ۸ خانواده هتروزیگوت GJB2 انجام گرفت. با اخذ ۵ تا ۱۰ سی سی خون، DNA به روش رسوب دهی، نمک اشباع استخراج و با کیت مخصوص واکنش MLPA استفاده شد و اگر واکنش موفقیت آمیز بود اندازه قطعات Q اندازه گیری شد.*

یافته‌ها: *از تعداد ۸ خانوار واجد شرایط که مورد بررسی قرار گرفتند، هیچ‌یک در ژن GJB2 حذفی نداشتند. همچنین ژن‌های GJB3 و WFS1 نیز فاقد حذف‌های ژنی بودند.*

نتیجه‌گیری: *به نظر می‌رسد که احتمالاً جهش در ژن دیگری به صورت توارث دوژنی سبب ناشنوایی در این خانواده‌ها شده است. با توجه به اهمیت شناسایی جهش‌های حذف ژنی، انجام این نوع مطالعات توصیه می‌گردد.*

واژگان کلیدی: *ناشنوایی، GJB2، MLPA.*

مقدمه

ناشنوایی، شایع‌ترین نقص حسی عصبی در انسان با فراوانی حدود ۱/۸۶ در ۱۰۰۰ نوزاد می‌باشد (۱). حدود ۸۰٪ ناشنوایی‌های غیرسندرومی از نوع اتوزومی مغلوب می‌باشند (۲). فراوانی این نوع ناشنوایی به ویژه در کشورهایی بالا است که ازدواج خویشاوندی در آنها بیشتر است. میزان ازدواج فامیلی در ایران بالا و برابر ۳۸/۶٪ گزارش شده است (۳). در جمعیت قفقازی ۵۰٪ موارد ناشنوایی به علت جهش های ژن GJB2 و در کشورهای اسپانیا و ایتالیا این رقم ۷۹٪ گزارش شده است (۴،۵) در حالیکه جهش های این ژن تنها در ۱۴ تا ۲۰٪ از ناشنوایان کشور یافت شده است (۶-۸). دو ژن GJB2 و GJB6 حدود ۳۵ کیلوباز از یکدیگر فاصله دارند.

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، دانشکده پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، نجات مهدیه

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

پروتئینی که توسط ژن GJB6 کد می‌شود، کانکسین ۳۰ نامیده می‌شود. اهمیت این ژن زمانی آشکار شد که مشاهده شد برخی خانواده‌ها که یک آلل جهش یافته GJB2 دارند، آلل دوم جهش یافته، در ژن GJB6 است (۹). جهش‌های نقطه‌ای بسیار کمی در ژن GJB6 به عنوان عامل ناشنوایی غیرسندرومی ناشنوایی اتوزوم مغلوب گزارش شده است. گزارش‌هایی نیز در مورد وراثت دو ژنی GJB2 و GJB6 وجود دارد (۱۰،۱۱). اما بعدها مشخص شد که جهش‌های GJB6 در حالت سیس، و نه ترانس، بیان ژن GJB2 را از بین می‌برند. بنابراین نمی‌تواند رابطه دو ژنی وجود داشته باشد.

بر اساس مطالعات مختلف، چهار جهش حذف بزرگ در ژن کدکننده پروتئین کانکسین ۳۰، (del(GJB6-D13S1830، del(GJB6-D13S1854)، del(chr13:19,837,344– 19,968,698) و ۹۲۰ کیلوبازی، مسبب ناشنوایی در برخی جوامع هستند (۱۲-۱۰). این حذف‌ها ممکن است بیش از ۱۰٪ آلل‌های DFNB1 را شامل شوند (۱۳). روش‌های مختلفی برای شناسایی این حذف‌ها به کارگرفته شده است. ما در این پژوهش، از روش تکنیک تکثیر چندگانه مبتنی بر لیگاسیون پروب یا MLPA برای شناسایی حذف‌های ژنی در ناشنوایان استفاده کردیم. این روش، درواقع نوعی واکنش چندگانه PCR می‌باشد که برای تشخیص تعداد غیرطبیعی نسخه‌های ژنی بطور همزمان و تا تعداد ۴۸ ناحیه در سطح DNA و یا RNA استفاده می‌گردد.

مواد و روشها

تحقیق به روش توصیفی انجام گرفت. از خانواده‌های مراجعه کننده به آزمایشگاه ژنتیک پزشکی کوثر که تنها یکی از جهش‌های آنها در ژن GJB2 شناسایی شده بود، برای آزمایشات ژنتیک دعوت شد. پس از مشاوره ژنتیک، آزمایشات بالینی و رسم شجره نامه توسط نرم‌افزار Genopro2007 (version2.0.1.6)، خانواده‌های مورد نظر گزینش شدند. در نهایت، ۸ خانواده که تنها یک آلل جهش‌یافته در ژن GJB2 پیدا داشتند، برای انجام آزمایش MLPA انتخاب شدند. اطلاعات مربوط به آزمایش و مزایا و خطرات آن به خانواده‌ها گوشزد شد. درمورد اختیاری بودن شرکت در این پروژه پژوهشی نیز بحث گردید. خانواده‌هایی که می‌خواستند در این پژوهش شرکت‌کنند، رضایت‌نامه را پس از خواندن و کسب آگاهی لازم امضاءکردند. سپس از همه افراد خانواده‌ها ۵ تا ۱۰ میلی‌لیتر خون گرفته و به لوله‌های EDTAدار منتقل شد. DNA به روش رسوبدهی نمک اشباع استخراج و تعیین غلظت شد (Thermo NanoDrop 2000 spectrophotometer [Thermo Fisher Scientific, USA]).

در این پژوهش، از کیت SALSA MLPA Kit P163-B1 (MRC-Holland) GJB-WFS1 برای انجام واکنش MLPA استفاده شد. این کیت در کل محتوی ۴۱ پروب بوده و طول محصولات تکثیر بین ۱۲۴ و ۴۲۸ جفت باز است. ۷ قطعه کنترل که محصول تکثیر آن کوچکتر از ۱۲۰ نوکلئوتید است افزون بر این، ۴ قطعه DNA کمی (قطعات DQ یا DNA (Quantity fragment (Q-fragment) (۶۴-۷۰-۷۶-۸۲ نوکلئوتیدی) و سه قطعه کنترل واسرشتگی DNA (قطعات D) در نواحی ۸۸-۹۲-۹۶ نوکلئوتیدی در مخلوط پروب کیت وجود دارد. قطعات Q وابسته به لیگاسیون نبوده و در مقادیر اندک وجود دارند؛ اگر واکنش MLPA موفقیت آمیز باشد اندازه قطعات Q کاهش می‌یابد. با افزایش مقدار DNA الگو، منحنی قطعات Q کوتاه می‌شود. از سوی دیگر، قطعات D درست مانند پروب های دیگر وابسته به DNA و لیگاسیون هستند. این قطعات، تنها هنگامی ظاهر می‌شوند که لیگاسیون انجام بگیرد و مقدار DNA و واسرشتگی کافی باشد.

بر پایه پروب‌های این کیت، ۲۲ ناحیه از کروموزوم ۱۳ (جایگاه ژن‌های GJB2، GJB6، ZNF198، PSPC1، LATS2 و SGCG)، ۴ جایگاه مربوط به ژن GJB3 و ۸ مکان از ژن WFS1 در فرد بیمار بررسی می‌گردد. مراحل آزمایش بر اساس دستورالعمل کیت انجام گرفت. سپس، نمونه‌ها به کمک الکتروفورز موئینه دستگاه ABI3130XL بررسی شدند.

یافته‌ها

تحقیق روی تعداد ۸ خانواده واجد شرایط انجام گرفت و ژنوتیپ‌های مربوط به خانواده‌های مورد مطالعه در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- ژنوتیپ های خانواده های بررسی شده در این پژوهش

شماره	ژنوتیپ
1	35delG/wt
2	V37I/wt
3	W24X/wt
4	M163V/wt
5	35delG/wt
6	G12D/wt
7	35delG/wt
8	R127H/wt

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]



شکل ۱- محل حذف‌های ژنی بر روی کروموزوم ۱۳

برای تعیین تعداد نسخه هر فرد، یافته‌ها با کنترل‌های نرمال، هموزیگوت و هتروزیگوت مقایسه شدند. تعداد نسخه‌ها بر اساس نسبت پیک‌ها (مساحت زیر منحنی نمونه/مساحت کل نمونه‌ها) می‌گردد. عدد صفر نشانه هیچ نسخه یا حذف هموزیگوتی، ۰/۷> نشاندهنده یک نسخه یا حذف هتروزیگوتی، بین ۱/۳>N>۰/۷ نشانه وجود دو نسخه و مقادیر بیشتر از ۱/۳ نشان‌دهنده افزایش نسخه ژنی می‌باشد.

لازم به یادآوری است که جهش‌های ژن GJB6 تاکنون در ایران گزارش نشده است؛ بنابراین، ما نمونه کنترل‌های حذفی در داخل کشور پیدا نکردیم. برای این منظور، مکاتباتی با دکتر del Castillo از دانشگاه مادرید (که برای نخستین بار جهشهای حذفی را گزارش کرده بود) و دکتر Feldmann (مرکز رفرانس بیماری های ژنتیکی در پاریس فرانسه) انجام شد. این اساتید نمونه‌های کنترل حذف‌های del(GJB6-D13S1830) و del(GJB6-D13S1854) را برای ما ارسال کردند. محل این حذف ها بر روی کروموزوم ۱۳ در شکل ۱ نشان داده شده است.

با آنالیز چشمی می توان حذف‌ها و دوبرابرشدگی‌ها را پیدا کرد. شکل ۲ خروجی نرم افزار GeneMarkerV1.85 است که منحنی های مربوط به نمونه های کنترل و مورد آزمایش (هتروزیگوت‌ها) را نشان می دهد. نمونه ۱ که هتروزیگوت جهش 35delG بود منحنی این جهش در محل شماره ۱ دیده می‌شود. شماره های ۲ تا ۵ جایگاه‌های تکثیر پروب‌های GJB6 را نشان می‌دهند این‌ها منحنی‌هایی در نمونه کنترلِ حذف کوچکتر هستند. در هیچ یک از بیماران هتروزیگوت، حذف‌های گزارش شده در ژن GJB6 وجود نداشت.

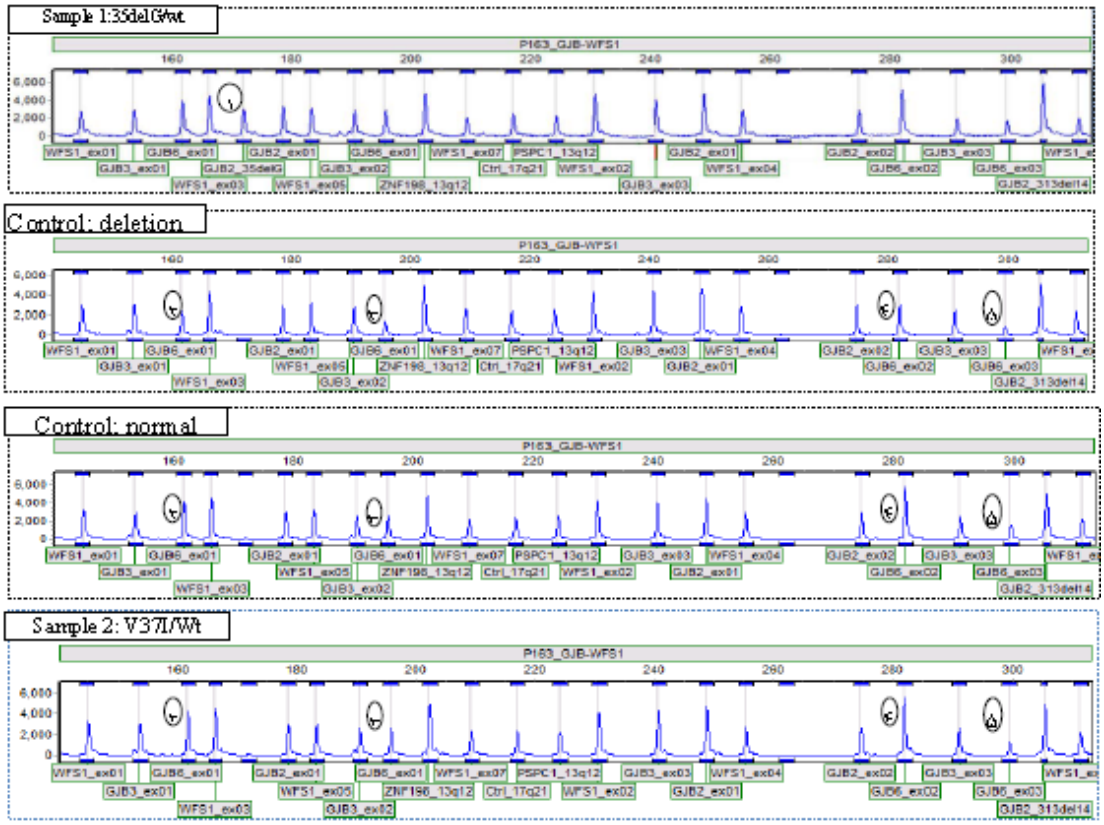
بحث

در هیچ یک از بیماران هتروزیگوت در این پژوهش، حذف‌های گزارش شده در ژن GJB6 وجود نداشت. لذا احتمال اینکه در کشور ما ژن GJB2 با ژن دیگری غیر از GJB6 به صورت هتروزیگوت مرکب بیماری ایجاد کند، وجود دارد. همچنین، در دو مطالعه‌ای که در جمعیت‌های ترک و کرد در کشور صورت گرفته، جهش Del(GJB6-D13S1830) در هیچ یک از افراد هتروزیگوت برای جهش GJB2 مشاهده نشده است (۱۸-۱۵) که با یافته‌های ما سازگاری دارد. جهش Del(GJB6-D13S1830) که شامل حذف kb ۳۴۲ از ژن GJB6 است، به صورت هموزیگوت و مستقل یا به صورت هتروزیگوت با جهش های ژن GJB2 درکشورهای اسپانیا، فرانسه، انگلیس، اسرائیل و برزیل با فراوانی زیاد و در جمعیت آمریکا، بلژیک و استرالیا با فراوانی کمتری مشاهده شده است. این جهش در کشورهایی مثل چین (۱۹) و ترکیه (۲۰) مشاهده نشده است. جهش Del(GJB6-D13S1830) به عنوان دومین عامل ناشنوایی ارثی غیرسندرومی اتوزومی مغلوب بعد از جهش 35delG در ژن GJB2 در جمعیت اسپانیا مطرح شده است. این جهش در ۶۷٪ مواردی که جهش در ژن GJB2 را به صورت هتروزیگوت دارند، مشاهده شده است (۹). به نظر می‌رسد توارث دوژنی GJB2 و GJB6 در ایجاد ناشنوایی به این دلیل است که این دو ژن با یکدیگر در ساختمان گوش داخلی بیان می شوند و از نظر توالی آمینواسیدی ۷۷٪ با یکدیگر شباهت دارند (۲۱، ۴).

در جمعیت قفقازی ۵۰٪ موارد ناشنوایی به علت جهش های ژن GJB2و در کشورهای اسپانیا و ایتالیا این رقم ۷۹٪ گزارش شده است (۴،۵) در حالی که جهش‌های این ژن تنها در ۱۴ تا ۲۰٪ از ناشنوایان کشور یافت شده است (۸-۶). تاکنون، حدود ۵۵ ژن و بیش از یک‌صد لکوس مختلف به عنوان عامل ناشنوایی غیرسندرومی شناسایی شده است؛ فراوانی جهش در این ژن ها در قومیت‌های مختلف، متفاوت است.

از روش MLPA برای شناسایی حذف‌ها و مضاعف شدگی‌های ژنی استفاده شده است؛ اگرچه در بیشتر بیماری‌های ژنتیکی، حذف ها و یا دو برابر شدن یک ناحیه و بطور کل تغییرات وسیع در سطح ژنومی تنها ۱۰٪ انواع جهش ها را تشکیل می دهند اما در برخی این مقدار به ۳۰٪ یا بالاتر هم می‌رسد. لذا

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]



شکل ۲- الگوی الکتروفورز موئینه تعدادی از نمونه هایی که در این پژوهش بررسی شدند. نمونه ۱ کـه هتروزیگـوت جهـش 35delG بـود منحنی این جهش در محل شماره ۱ دیده می‌شود. شماره‌های ۲ تا ۵ جایگاه‌های تکثیر پروب های GJB6 را نشان می‌دهند این منحنی‌هـا در نمونه کنترل حذف کوچکتر هستند.

همراه کردن این روش در تشـخیص بـالینی مـی‌توانـد قـدرت تشخیصی را تا حـد زیـادی افـزایش دهـد (۱۴). در واکـنش MLPA برخلاف PCR قطعه ژنی هدف تکثیر نمی گردد بلکـه پروب های مکمل طراحی شده پس از هیبرید شدن بـه قطعـه هدف و چسبیدن آنزیمی به هم تکثیر مـی گردنـد. بـه کمـک یک جفت پرایمر نشاندار مشترک بـرای تکثیـر همـه قطعـات استفاده می‌گردد. قطعات ناشـی از تکثیـر پـروب هـای جفـت متصل شده به هم بین ۱۳۰ تا ۴۸۰ نوکلئوتید طول دارند کـه توسط تکنیک الکتروفورز در لولـه هـای موئینـه بررسـی مـی شوند. نتیجه، منحنی‌هائی خواهد بود که نسبت ارتفاع و سطح زیرین منحنی ها در قیاس با منحنی های کنترل بیانگر تعـداد نسخه های غیر طبیعی الگوهـای تکثیـر شـده اسـت. واکـنش MLPA قابـل تقسـیم بـه پـنج مرحلـه اسـت کـه شـامل: ۱- واسرشته کردن DNA و واکنش هیبریداسیون بـین رشـته‌هـای DNA و مخلوط پروب‌ها ۲- واکنش چسبیدن به وسـیله آنـزیم لیگاز ۳- انجام واکنش PCR با پرایمرهای نشاندار ۴-جداسـازی قطعات با روش الکتروفورز و ۵-آنالیز یافته‌ها می‌باشد.

نخست، DNA در شرایط گرمـائی DNA واسرشـته مـی‌شـود. پس از یک شوک حرارتی اولیه جهت باز شدن رشته ها از هم، مخلوط DNA و پروب ها به مدت یک شب در شـرایط دمـائی مناسب برای هیبرید پروب‌هـا بـا تـوالی مکمـل خـود در روی رشته DNA قرار می گیرند. در انتهای '5 هر یـک از پـروب‌هـا توالی مکمل پرایمرهای مشترک لازم برای انجـام PCR اضـافه گردیده است. این پروب ها در مرحله هیبرید در کنـار هـم بـه توالی هدف در روی الگـو جفـت شـده و در صـورتی کـه الگـو طبیعی و جفت شدن کامل باشد توسط آنـزیم لیگـاز بـه هـم چسبانده می شوند. تنها آن گروه از رشته های پـروب کـه در کنار هم جفت شده و بهم متصل شده باشند در طـی واکـنش PCR، آمادگی تکثیر شدن دارند. قطعات تکثیرشده با استفاده از تکنیک الکترفورز بر روی ژل و یا روش اتوماتیک بـر اسـاس تکنولوژی لوله های موئین قابل بررسی است. نتیجه حاصل در روش اتوماتیک مجموعه ای از منحنی هاست که هـر منحنـی بیانگر وجود یا عدم وجود و نیز تعداد نسخه هر قطعـه خواهـد بود که در قیاس با نمونه طبیعی کنترل آنالیز می گـردد. اگـر

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

پروب‌ها به توالی هدف نچسبند واکنش چسباندن آنزیمی صورت نپذیرفته و در واکنش PCR، پروب مربوط به ناحیه مذکور تکثیر نخواهد شد.

در حدود بیست پروب در کیت MLPA ناحیه ژن GJB6 و پیرامون آن را پوشش می‌دهد. یافته های MLPA هیچ جهش حذفی را نشان نداد. افزون بر این، نواحی مختلفی از اگزون های ژن های GJB3 و WFS1 نیز بوسیله این کیت بررسی شد. نبودِ هرگونه حذف و دو برابرشدگی در این ژن ها بازهم دامنه پاسخ به این پرسش را محدودتر می سازد که چه تعداد ژن در ناشنوایی ایران درگیر هستند.

ازآنجایی که جهش‌های ژن GJB6 در هیچ‌کدام از این خانواده‌ها یافت نگردید و با توجه به اینکه تمام این خانواده‌ها الگوی وراثتی ARNSHL داشتند احتمال وراثت دو ژنی افزایش می‌یابد. به این دلیل که هریک از این جهش‌ها نوع توارثی اتوزومی مغلوب دارند پس به تنهایی سبب ناشنوایی حسی- عصبی غیر سندرومی در فرد نمی شوند. البته، تا شناسایی جهش دوم در این افراد نمی توان آنها را در دسته DFNB1 قرار داد.

قدردانی و تشکر

با تشکر از خانواده‌های محترمی که در این پژوهش شرکت کردند. همچنین از زحمات همکاران محترم در آزمایشگاه دکتر زینلی تشکر و قدردانی می‌نماییم.

REFERENCES

1. Morton CC, Nance WE. Newborn hearing screening--a silent revolution. N Engl J Med 2006; 354:2151-64.
2. Tekin M, Arnos KS, Pandya A. Advances in hereditary deafness. Lancet 2001;358:1082-90.
3. Saadat M, Ansari-Lari M, Farhud DD. Consanguineous marriage in Iran. Ann Hum Biol 2004;31: 263-۶۹.
4. Denoyelle F, Weil D, Maw MA, Wilcox SA, Lench NJ, Allen-Powell DR, et al. Prelingual deafness: high prevalence of a 30delG mutation in the connexin 26 gene. Hum Mol Genet 1997;6:2173-77.
5. Marlin S, Feldmann D, Blons H, Loundon N. GJB2 and GJB6 mutations. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2005;131: 481-86.
6. Hashemzadeh Chaleshtori M, Farhud DD, Patton MA. Familial and sporadic GJB2-related deafness in Iran: review of gene mutations. Iranian J Publ Health 2007;36:1-14.
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:132-37.
8. Mahdieh N, Rabbani B, Wiley S, Akabari MT, Zeinali S. Genetic causes of nonsyndromic hearing loss in Iran in comparison with other populations. J Hum Genet 2010;55:639-48.
9. del Castillo I, Villamar M, Moreno-Pelayo MA, del Castillo FJ, Alvarez A, Tellería D, et al. N Engl J Med 2002;346:243-49.
10. del Castillo FJ, Rodríguez-Ballesteros M, Alvarez A, Hutchin T, Leonardi E, de Oliveira CA, et al. A novel deletion involving the connexin-30 gene, del(GJB6-d13s1854), found in trans with mutations in the GJB2 gene (connexin-26) in subjects with DFNB1 non-syndromic hearing impairment. J Med Genet 2005;42:588-94.
11. Pallares-Ruiz N, Blanchet P, Mondain M, Claustres M, Roux AF. A large deletion including most of GJB6 in recessive non syndromic deafness: a digenic effect? Eur J Hum Genet 2002;10:72-76.
12. Wilch E, Azaiez H, Fisher RA, Elfenbein J, Murgia A, Birkenhäger R, et al. A novel DFNB1 deletion allele supports the existence of a distant cis-regulatory region that controls GJB2 and GJB6 expression. Clin Genet 2010; 78: 267-74.
13. Stevenson VA, Ito M, Milunsky JM. Connexin-30 deletion analysis in connexin-26 heterozygotes. Genet Test 2003;7:151-54.
14. den Dunnen JT, White SJ. MLPA and MAPH: sensitive detection of deletions and duplications. Curr Protoc Hum Genet 2006;7:7-14.
15. Mahdieh N, Nishimura C, Ali-Madadi K, Riazalhosseini Y, Yazdan H, Arzhangi S, et al. The frequency of GJB2 mutations and the Delta (GJB6-D13S1830) deletion as a cause of autosomal recessive non-syndromic deafness in the Kurdish population. Clin Genet 2004;65:506-508.
16. Bonyadi M, Esmaeili M, Abhari M, Lotfi A. Mutation Analysis of Familial GJB2-Related Deafness in Iranian Azeri Turkish Patients. Genet Test Mol Biomarkers 2009;13:689-92.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

17. Tabatabaiefar MA, Montazer Zohour M, Shariati L, Saffari Chaleshtori J, Ashrafi K, Gholami A, 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. Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran 2010;21:105-12.

18. Riazalhosseini Y, Nishimura C, Kahrizi K, Shafeghati Y, Daneshi A, Jogataie MT, et al. Del(GJB6-D13S1830) is not a common cause of non-syndromic hearing loss in the Iranian population. Arch Iranian Med 2005;8:104-108.

19. Liu Y, Ke X, Qi Y, Li W, Zhu P. Connexin26 gene (GJB2): prevalence of mutations in the Chinese population. J Hum Genet 2002;47:688-90.

20. Uyguner O, Emiroglu M, Uzumcu A, Hafiz G, Ghanbari A, Baserer N, et al. Frequencies of gap- and tight-junction mutations in Turkish families with autosomal-recessive non-syndromic hearing loss. Clin Genet 2003;64:65-69.

21. Cryns K, Van Camp G. Deafness genes and their diagnostic applications. Audiol Neurootol 2004;9:2-22.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]