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

چکیده

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 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 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 غیرسندرمی با وراثت اتوزومی مغلوب مورد بررسی قرار گرفت و برای اولین بار جهش Pro621Thr در این خانواده ایرانی مبتلا به ناشنوایی غیرسندرمی 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 شد. خواهر ۱۶ سالهٔ 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 Pro621Thr در ژن COL11A2 در بیماران تشخیص داده شد.

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 p۲۱.۳۶ برای این خانواده مشخص شد. با انجام تست های ملکولی برای مورد و نیز خواهر وی در مرکز تحقیقات ژنتیک دو جهش شایع GJB2، GJB6 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 نوع ۳ با توارث اتوزومال غالب و نیز ناشنوایی ارثی غالب غیر سندرمی گردد (۳و۱). جهش شناسایی شده جابجایی Pro621Thr می باشد که اولین مورد گزارش شده از جهش در این ژن به صورت اتوزومی مغلوب و غیر سندرمی است.

واژگان کلیدی: سندرم استیکلر /توارث اتوزومال غالب/ توارث اتوزومال مغلوب/ ناشنوایی ارثی سندرمی/ناشنوایی ارثی غیر سندرمی/ژن .COL11A2

***دکتر کیمیا کهریزی**
استادیار دانشگاه
علوم بهزیستی و توانبخشی

دکتر احمد دانشی
دانشیار دانشگاه علوم پزشکی ایران

یاسر ریاض الحسینی
کارشناس ارشد علوم سلولی و ملکولی

کارلا نیشیمیورا
کارشناس مرکز تحقیقات
ناشنوایی آمریکا

دکتر ریچارد اسمیت
استاد مرکز تحقیقات
ناشنوایی امریکا

دکتر حسین نجم آبادی
دانشیار دانشگاه
علوم بهزیستی و توابخشی
*Email:kkahrizi@uswr.ac.ir

مقدمه :

کلاژن نوع XI، کمتر از ۱۰٪ از کل کلاژن غضروفها را به خود اختصاص می دهد و شامل ۳ زیر واحد پلی پپتیدی می باشد: (XI)۱،(XI)۲،(XI)۳ که به ترتیب توسط ژنهای COL۱۱A۱ (روی کروموزوم ۱p۲۱)، COL۱۱A۲ (روی کروموزوم ۶p۲۱.۳) و COL۲A۱ (روی کروموزوم ۱۲q۱۳.۱-q۱۳.۱۲) بیان می شوند (موریس و باچینگر ۱۹۸۷).

آلفا۳(XI) فرم تغییر شکل یافته بعد از ترجمه ای آلفا۱(XI) می باشد و نیز آلفا۱ می تواند جایگزین آلفا۳ گردد آلفا۳(XI) = آلفا۱(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/آرژنین 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 آللی COL۱۱A۲ به شرح زیر می باشد:

- سندرم استیکلر نوع III[1] با جابجایی گوانین به آدنین در موقعیت ۱+ که در اثر حذف ۵۴ باز نیتروژنی ایجاد می شود (۱).
- استیکلر نوع ۳ که با حذف ۲۷ باز نیتروژنی در اگزون ۳۹ همراه است (۲).
- استیکلر نوع ۳ که با جهش ARG۸۹۳TER در اثر جابجایی سیتوزین با آدنین در اگزون ۵۷ همراه است (۳).
- دیسپلازی (OSMED)[2] با جهش Gly۱۷۵ARG که در اثر جابجایی گوانین با آدنین (G-A) همراه است (۴).
- OSMED (۲) جهش SER۳۴۵TER در اثر جابجایی -آدنین با سیتوزین (A-C) در اگزون ۳۳ همراه است (۴).
- سندرم Weissen Bacher-Zweymuller که Gly۹۵۵Glu ناشی از جابجایی گوانین با آدنین (G-A) است (۵).
- ناشنوایی حسی-عصبی غیر سندرمی اتوزومال غالب به صورت CYS ARG۵۴۹ ناشی از جابجایی G-T در اگزون ۳۱ است (۶).
- ناشنوایی حسی-عصبی غیر سندرمی اتوزومال غالب به صورت Gly۳۲۳GLU (۶).

سندرم استیکلر :

سندرم استیکلر (اختلال مفصلی-چشمی ارثی)[3] یک بیماری اتوزومال غالب می باشد که شایعترین علت ارثی جداشدن شبکیه و یکی از شایعترین دیسپلازی های اتوزومال غالب بافت همبند است. در حدود دو سوم از بیماران جهش COL۲A۱ (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 COL۲A۱، COL۱۱A۲، COL۱۱A۱ به وجود می آید. نوع کلاسیک بیماری یا نوع I سندرم استیکلر در اثر جهش در ژن COL۲A۱ 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 (۴) 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 استیکلر نوع II ناشی از جهش در COL۱۱A۱ و بیماران مبتلا علائم چشمی، گوشی و نیز تغییرات غیرطبیعی در صورت نظیر استیکلر نوع I را نشان می دهند (۲).

جهش در COL۱۱A۲ منجر به STL۳ 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).

جهش در COL۱۱A۲ منجر به STL۳ 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[4] 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 COL۱۱A۲ که ژن پروکلاژن آلفا ۲(XI) است، کلیه علائم سندرم استیکلر را به غیر از علائم چشمی ایجاد می کند.

تفاوت بالینی بین سندرم استیکلر نوع ۳ و استیکلر I/ استیکلر ۲ به دلیل فقدان ژن COL۱۱A۲ در زجاجیه که با COL V جایگزینی می شود، عدم وجود علائم چشمی در نوع ۳ است (۲).

ناشنوایی حسی - عصبی غیر سندرمی اتوزومی غالب[5]:

یکی از ژنهای درگیر در این نوع ناشنوایی COL۱۱A۲ روی کروموزوم ۶p۲۱.۳ که در جایگاه ژنی DFNA۱۳ 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 استیکلر می باشد، این نوع از ناشنوایی را بدون علائم بالینی دیگر (غیر سندرمی) ایجاد نماید.

افراد مبتلا ناشنوایی پیشرونده را در فقدان هرگونه علائم بالینی دیگر نشان می دهند (۷).

معرفی بیمار :

علائم بالینی: کودک پسر ۴ سالهٔ 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.

1-Sticker type III
2-Oto spondilo mega epiphyseal dysplesia
3- Hereditary Artho - ophtalmophathy
4- Vitro- retinal degeneration
5- Autosomal dominat non - syndromic sensory hearing loss, DENBB

سابقه فامیلی بیمار:

این کودک حاصل یک ازدواج فامیلی درجه سوم می باشد و همچنین بیماریک خواهر ۱۶ سالهٔ مبتلا که فقط ناشنوایی حسی عصبی غیر سندرمی در وی شناسایی شد، دارد.

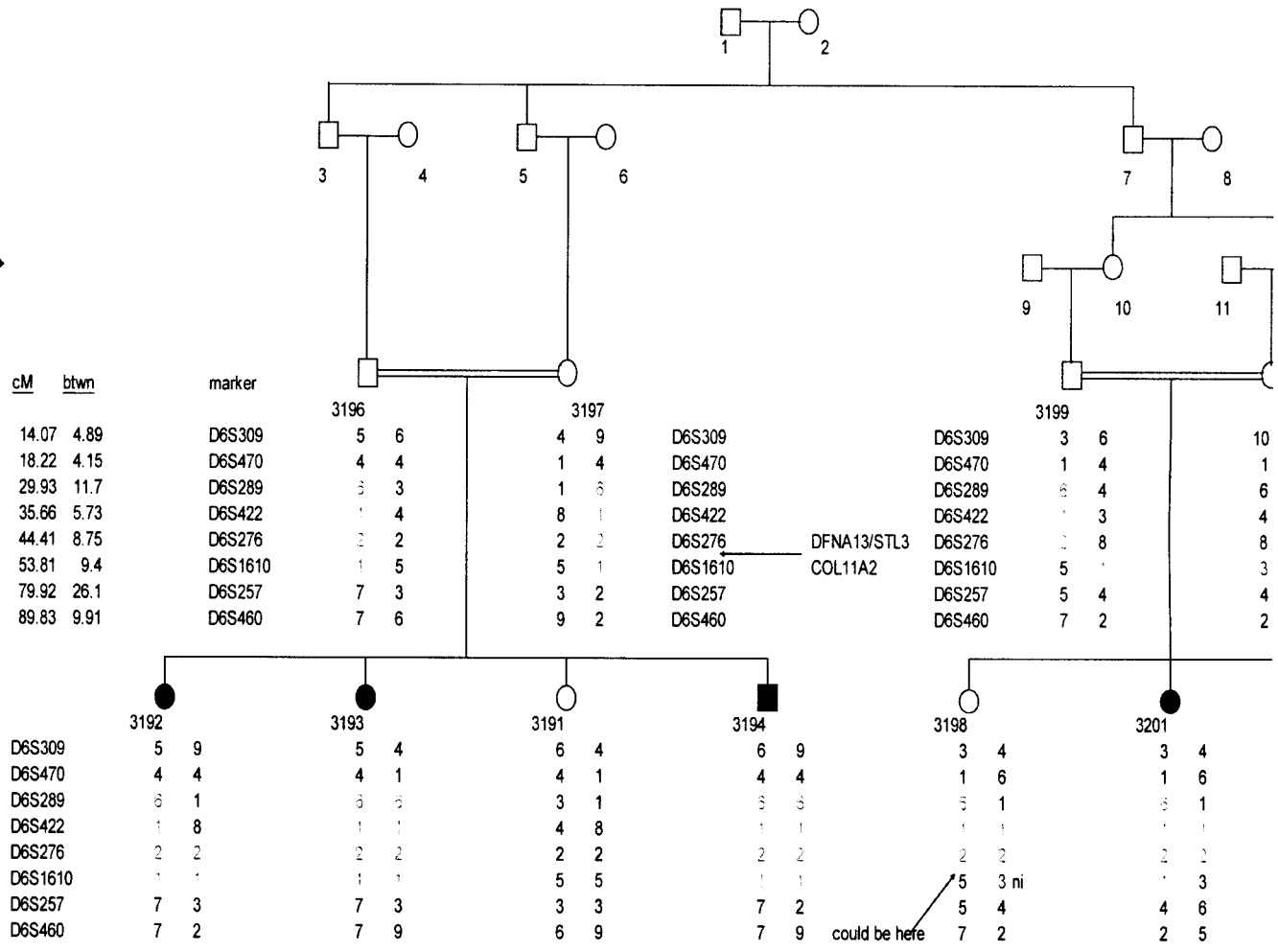
هر دو فرد ناشنوا تحت معاینه بالینی قرار گرفتند و هر دو از نظر هیپوپلازی صورت، اختلالات مفصلی، کوتاهی قد، کام شکری، طبیعی بودند در معاینه چشم پزشکی، هیچگونه اختلال شبکیه و زجاجیه مشاهده نشد. در بررسی رادیوگرافیک بعمل آمده از هر دو بیمار، نامنظمی در جسم مهره ها و تحلیل زودرس مفاصل وجود نداشت.

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 ۱۰-۵سی سی خون جهت استخراج DNA ژنومی گرفته شده و برای جلوگیری از لخته شدن در لوله های حاوی اتیلن دی آمید ترا استیک اسید[1] نگهداری شد. DNA ژنومی توسط روش نمک اشباع[2] 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 PCR/ARMS[3] و الکتروفروز 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[4] شدند. سپس برای موارد هتروزیگوت جهش شایع در ژن GJB2 بررسی می شد. در ادامه کل نمونه هایی که در بررسی دو ژن GJB2 و GJB6 منفی بودند با تکنیک آنالیز پیوستگی[5] برای شناسایی سایر ژنها و لوکوس ها مورد بررسی قرار گرفتند.



شکل ۱: تصویر شجره نامه خانواده مورد مطالعه

1- Ethylene-Diamine- Tetra-Acetic Acid (EDTA)
2- Salting out
3- Polymerase Chain Reaction /Allele Refraction Mutation System
4- Direct Sequencing
5- Linkage Analysis

بحث و نتیجه گیری:

بر اساس پروتکل موجود در بررسی ناشنوایی های ارثی غیر سندرمی دو ژن شایع GJB۲(لوکوس DFNB۱) که مسئول کد کردن پروتئین کانکسین ۲۶ (Cox۲۶) و ژن GJB۶ که مسئول کد کردن پروتئین کانکسین ۳۰ (Cox۳۰) (لوکوس DFNB۱) که جهش در هر دو از علل عمده ناشنوایی های 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[1] از طریق آنالیز پیوستگی برای یافتن جایگاه جدید احتمالی برای این خانواده انجام گرفت (این مرحله با همکاری دکتر اسمیت و همکاران در دانشگاه آیووا 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 DFNA۱۳ روی کروموزوم ۶p۲۱.۳ که مسئول ایجاد ناشنوایی غیر سندرمی با وراثت غالب می باشد، پیوستگی نشان می دهد.

این لوکوس (DFNA۱۳) جایگاه ژن COL۱۱A۲ می باشد که همانگونه که توضیح داده شد جهش های متعدد این ژن گروهی از ناشنوایی های سندرمی و یا غیر سندرمی غالب را ایجاد می نماید (۸).

جهش شناسایی شده PRO۶۲۱Thr در ژن COL۱۱A۲ می باشد که اولین مورد گزارش شده از ناشنوایی ارثی غیر سندرمی نهفته در این ژن است و با توجه به این که هر دو بیمار علائم سندرم استیکلر را نداشته اند و در عین حال با توجه به نحوه نهفته بودن توارث در این خانواده اولین موردی است که جهش در COL۱۱A۲ منجر به ناشنوایی ارثی غیرسندرمی با توارث نهفته می گردد.

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.

1-Whole genome Scan