بسم الله الرحمن الرحیم

مدیریت تحصیلات تکمیلی

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی ژنتیک

غربالگری جهش‌های اگزون‌های ۷ و ۱۳ ژن *TMC1* واقع بر لوکوس DFNB7/11 در پروباندهای ایرانی مبتلا به ناشنوائی غیرسندرمی مغلوب اتوزومی به روش *PCR-SSCP/HA*

اساتید راهنما:

دکتر احمد راشکی

دکتر مرتضی هاشم‌زاده چالشتری

اساتید مشاور:

دکتر عباس نیک روش

دکتر زهرا راشکی

تهیه و تدوین:

نگار مرادی‌پور

دی ۹۱

خداوندا تو را سپاس از اینکه دستان قدرتمندت را در دستانم حس می‌کنم
تو را شکر، که می دانم موفقیت‌های کوچک امروز، مرا به هدف‌های بزرگ زندگی‌ام می‌رساند
خداوندا! به خاطر آرامش درونم سپاست می‌گویم

تقدیم به:

پدرم که عالمانه به من آموخت تا چگونه در عرصه ی زندگی ایستادگی را تجربه نمایم. او که خورشیدی شد و از روشنایی‌اش جان گرفتم و اکنون حاصل دستان خسته‌اش رمز موفقیتم شد.

مادر صبور و فداکارم: دریای بی‌کران عشق و فداکاری که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر. او که رنگ شادی‌هایم شد، غصه-ها را با تمام وجود از من دور کرد و عمری خستگی‌ها را به جان خرید تا اکنون توانست طعم خوش پیروزی را به من بچشاند.

همسر عزیزم: که سایه مهربانیش سایه‌سار زندگیم می‌باشد، او که با صبرش در تمامی لحظات رفیق راه بود و مشکلات مسیر را برایم تسهیل نمود.

و خواهر همربانم که وجودش شادی بخش زندگیم است.

باتشکر فراوان از:
استاد راهنمای ارجمندم **جناب آقای دکتر راشکی** که کمک های ارزشمندشان همیشه راه‌گشای من بود
استاد گرانقدرم **جناب آقای دکتر هاشم‌زاده** که راهنمائی‌های کارسازشان هیچ‌گاه از من دریغ نشد و در کلیه مراحل انجام پایان‌نامه در کنارم بودند.
اعضای محترم گروه زیست شناسی دانشگاه زابل جناب آقای **دکتر کمال الدینی-دکتر میری-دکتر نیک روش** که از ابتدای کار تا مراحل نهائی دفاع مرا یاری کردند.
همچنین پرسنل عزیز مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و مخصوصا دوستان بسیار مهربانم **خانم هیبتی** و **خانم پرچمی** که در کلیه کارهای آزمایشگاهی مرا صمیمانه همراهی نموده و از هیچ کوششی غافل نشدند.

چکیده

زمینه و هدف:

شایع‌ترین نقص در هنگام تولد ناشنوایی است که تقریباً در ۱/۱۰۰۰ از نوزادن متولد شده رخ می‌دهد. بیشتر از ۵۰٪ موارد ناشنوایی به صورت ارثی است که از این میان ۷۰٪ غیر سندرومی می‌باشند. ناشنوایی یک اختلال بسیار هتروژن می‌باشد و می‌تواند به دلیل عوامل ژنتیکی، محیطی یا هردو رخ دهد. حدود ۴۶ ژن در ناشنوایی غیرسندرومی مغلوب اتوزومی درگیر می‌باشند.یکی از لوکوس‌های درگیر در ناشنوایی غیر سندرومی مغلوب اتوزومی لوکوس DFNB7/11 است. در ایران هیچ- گونه مطالعه‌ای بر روی جهش‌های این ژن انجام نشده است. در مطالعه‌ی حاضر، وجود جهش در ژن *TMC1* (لوکوس DFNB7/11) را در ۱۰۰ بیمار ناشنوای استان‌های چهار محال و بختیاری- فارس-کهگیلویه و بویراحمد- گلستان- کردستان- گیلان- خوزستان- سیستان و بلوچستان- سمنان و بوشهر مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی:

در این مطالعه‌ی توصیفی- آزمایشگاهی به شناسایی جهش در اگزون‌های۷ و ۱۳ ژن *TMC1* در ۱۰۰ بیمار پرداخته شد. DNA از نمونه‌های خونی تمام بیماران به روش استاندارد فنل- کلروفرم استخراج شد. اگزون‌های مورد بررسی توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) تکثیر شدند. سپس جهش‌های ژن *TMC1* با استفاده از روش PCR-SSCP برای ۲ اگزون، مورد بررسی قرار گرفتند. به علاوه، تمام نمونه‌ها بوسیله‌ی آنالیز هترودوپلکس (HA) و واکنش تعیین توالی برای حضور هر نوع تغییر ژنی کنترل شدند.

نتایج:

با توجه به بررسی‌های انجام شده هیچ‌گونه جهشی در اگزون‌های ۷ و ۱۳ ژن *TMC1* این بیماران یافت نشد. بر اساس مطالعه‌ی حاضر، ما نتیجه گرفتیم که جهش در این ۲ اگزون ژن *TMC1* احتمالا سهم بسیار ناچیزی در ناشنوایی در بیماران استان‌های مورد بررسی دارد و اهمیت بالینی قابل توجهی در این نواحی ندارد. با این وجود با توجه به وسیع بودن ژن و دارا بودن ۲۴ اگزون، مطالعه‌ی قسمت‌های دیگر ژن و همچنین طوایف و جمعیت‌های مختلف در سراسر کشور پیشنهاد می‌گردد. تحقیقات بیشتر نقش این ژن و رابطه‌اش با ناشنوایی را تعیین می‌کند و اطلاعات ضروری را برای پیشگیری و مدیریت اختلالات ناشنوایی این ژن فراهم می‌کند.

واژگان کلیدی: ناشنوائی غیرسندرمی اتوزومال مغلوب- ژن *TMC1* – تکنیک PCR-SSCP/HA

فهرست مطالب

فصل اول ۱

مقدمه

۱-۱ساختمان گوش ۴
۱-۱-۱ گوش خارجی ۵
۱-۱-۲ گوش میانی ۶
۱-۱-۳ گوش داخلی ۸
۱-۱-۳-۱ حلزون ۹
۱-۱-۳-۲ اندام کورتی ۹
۱-۱-۳-۳ غشاء پایه‌ای و تشدید در حلزون ۱۱
۱-۱-۳-۴ سلول‌های مویی ۱۲
۱-۱-۳-۵ مجاری نیم‌دایرهای ۱۳
۱-۱-۳-۶ اوتریکول وساکول ۱۴
۱-۲ شنوایی ۱۴
۱-۲-۱ امواج صوتی ۱۴
۱-۲-۲ انتقال صوت ۱۵
۱-۳ مسیر عصبی شنوایی ۱۷
۱-۴ بیماری‌های گوش ۱۸
۱-۴-۱ اختلالات مادرزادی گوش ۱۸
۱-۴-۲ عفونت‌ها و التهاب گوش ۱۸
۱-۴-۲-۱ گوش خارجی و مجرای شنوایی ۱۸
۱-۴-۲-۱-۱ اختلالات مربوط به سرومن (واکس گوش) ۱۸
۱-۴-۲-۱-۲ اجسام خارجی بزرگ در مجرا ۱۹
۱-۴-۲-۱-۳ اوتیت خارجی ۱۹
۱-۴-۲-۱-۴ فرونکولوز ۱۹
۱-۴-۲-۱-۵ پولیپ‌های گوش ۱۹
۱-۴-۲-۲ پرده‌ی صماخ ۲۰
۱-۴-۲-۳ گوش میانی و ماستوئید ۲۰
۱-۴-۳ ترومای وارده به گوش ۲۱
۱-۴-۳-۱ تروماهای گوش خارجی ۲۱
۱-۴-۳-۲ ترومای پرده‌ی صماخ ۲۱
۱-۴-۳-۳ ترومای گوش میانی ۲۱
۱-۴-۳-۴ شکستگی‌های استخوان گیجگاهی ۲۱
۱-۴-۴ وزوز گوش ۲۲

۱-۵ ناشنوایی و انواع آن ۲۳
۱-۵-۱ کاهش شنوایی انتقالی (Conductive Hearing Loss) ۲۴
۱-۵-۲ کاهش شنوایی حسی- عصبی (Sensor neural Hearing Loss) ۲۵
۱-۵-۳ کاهش شنوایی مختلط (Mixed Hearing Loss) ۲۵
۱-۵-۴ کاهش شنوایی ارثی ۲۶
۱-۵-۴-۱ کاهش شنوایی سندرومی ۲۶
۱-۵-۴-۲ کاهش شنوایی غیر سندرومیک ۲۹
۱-۵-۵ ناشنوایی وابسته به ژن‌های میتوکندریایی ۳۵
۱-۶ روش‌های تشخیص ناشنوایی ۳۶
۱-۶-۱ اودیومتر ۳۶
۱-۶-۲ تست‌های فیزیولوژیکی که به طور واضح و در هر سنی کاهش شنوایی را مشخص می‌کنند ۳۶
۱-۶-۳ شنوایی سنجی اختصاصی ۳۷
۱-۷ هدف از پژوهش ۳۹
فصل دوم ۴۰

مروری بر مطالعات

فصل سوم ۴۴

مواد و روش‌ها

۳-۱ نمونه برداری ۴۵
۳-۲ استخراج DNA ژنومی ۴۵
۳-۲-۱مواد مصرفی در استخراج و نحوه استخراج ۴۵
۳-۲-۱-۱طرز تهیه‌ی بافر لایز ۴۶
۳-۲-۱-۲ طرز تهیه‌ی SDS10% ۴۷
۳-۲-۱-۳طرز تهیه‌ی پروتئیناز k: ۴۷
۳-۲-۱-۴طرز تهیه‌ی فنل متعادل شده ۴۷
۳-۲-۱-۵ طرز تهیه‌ی اتانول ۷۰٪ ۴۸
۳-۲-۱-۶ طرز تهیه‌ی بافر TE (Tris EDTA) ۴۸
۳-۲-۲ بررسی کیفیت: ۵۰
۳-۲-۲-۱ تعیین غلظت DNA با روش اسپکتروفتومتری ۵۰
۳-۳ طراحی پرایمر ۵۱
۳-۴ ایجاد نمونه‌ی کنترل مثبت با استفاده از روش جهش‌زایی هدفدار ۵۲
۳-۴-۱ روش جهش‌زایی هدفدار با استفاده از PCR ۵۲
۳-۵ تکثیر قطعات ژنومی با استفاده از واکنش زنجیرهای پلیمراز ۵۴
۳-۶ الکتروفورز محصولات PCR ۵۷
۳-۶-۱ بافر الکتروفورز ۵۸
۳-۶-۲ بافر لودینگ ۵۹
۳-۶-۳ شناساگرهای اندازه‌ی DNA (DNA size marker) ۶۰
۳-۶-۴ مواد و ساخت ژل پلی اکریل آمید: ۶۱
۳-۶-۵ مشاهده‌ی باندهای DNA ۶۲
۳-۷ واکنش PCR-SSCP ۶۴

۳-۸ واکنش هترودوپلکس(Heteroduplex Analysis) ۶۸
۳-۹ تعیین توالی ۷۰
فصل چهارم ۷۲

نتایج و بحث

۴-۱ بررسی نمونه‌ها ۷۳
۴-۲ نتایج محصولات PCR ۷۴
۴-۳نتایج مربوط به واکنش SSCP و هترودوپلکس محصولات PCR ۷۵
۴-۴ استفاده از روش‌های کمکی برای افزایش دقت روش SSCP ۷۹
۴-۵ تأیید نتایج با روش تعیین توالی ۸۰
۴-۶ بحث ۸۱
۴-۷ مقایسه‌ی نتایج به دست آمده در این مطالعه و دیگر مطالعات انجام شده ۸۱
۴-۸ بررسی روشPCR-SSCP ۸۲
۴-۹ نتیجه گیری ۸۳
۴-۱۰ پیشنهادات ۸۴
فهرست منابع ۸۵
پیوست ۹۲

فهرست جداول

جدول ۱-۱) درصد آسیب شنوایی ۲۴
جدول ۱-۲) لوکوس‌های کاهش شنوایی اتوزومال غالب..... ۳۰
جدول ۱-۳) لوکوس‌های کاهش شنوایی اتوزومال مغلوب..... ۳۲
جدول ۱-۴) لوکوس‌های کاهش شنوایی وابسته به X ۳۴
جدول ۳-۱) مواد مورد استفاده در استخراج DNA با روش فنل-کلروفرم..... ۴۶
جدول ۳-۲) میزان مواد اضافه شده در مرحله‌ی دوم استخراج..... ۴۹
جدول ۳-۳) توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت روش PCR-SSCP..... ۵۴
جدول۳-۴) ترکیبات و مقادیر مورد استفاده در PCR..... ۵۶
جدول ۳-۵) برنامه‌ی دمایی برای اگزون ۷..... ۵۶
جدول ۳-۶) برنامه‌ی دمایی برای اگزون۱۳..... ۵۷
جدول ۳-۷) مواد مورد نیاز برای ساخت بافر TAE 1X..... ۵۹
جدول ۳-۸) مواد مورد نیاز برای ساخت بافر TBE 5X..... ۵۹
جدول ۳-۹) ترکیبات بافر لودینگ 6X..... ۶۰
جدول ۳-۱۰) ترکیبات ژل پلی اکریل امید..... ۶۱
جدول ۳-۱۱) مواد مورد نیاز جهت رنگ آمیزی با نیترات نقره..... ۶۳
جدول ۳-۱۲) ترکیبات SSCP Dye 1X..... ۶۶
جدول ۳-۱۳) شرایط تنظیم شده برایSSCP اگزون‌های ژن *TMC1* ۶۸
جدول ۴-۱) اطلاعات مربوط به ناشنوایان و خانواده‌های آنها..... ۷۳

فهرست اشکال

شکل۱-۱) نمایی کلی از گوش داخلی، میانی و خارجی..... .....۵
شکل ۱-۲) گوش خارجی..... .....۶
شکل ۱-۳) پرده‌ی صماخ و استخوانچه‌های شنوایی: چکشی، سندانی و رکابی.....۷
شکل ۱-۴) کانال‌های دهلیزی، حلزون و مجاری نیم‌دایره‌ای.....۸
شکل ۱-۵) مقطع یکی از پیچ‌های حلزون.....۱۱
شکل ۱-۶) یک سلول مویی خارجی با آرایش استریوسیلیوم متصل شده به رابط‌های رأسی.....۱۳
شکل۱-۷) عوامل ناشنوایی پیش از تکلم.....۲۶
شکل ۳-۱) مرحله‌ی ۵ از استخراج DNA.....۵۰
شکل ۳-۲) ایجاد جهش با استفاده از روش PCR.....۵۳
شکل ۳-۳) مراحل یک سیکل PCR.....۵۵
شکل ۳-۴) الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید..... .....۶۲
شکل ۳-۵) نمایی شماتیک از واکنش SSCP.....۶۶
شکل ۳-۶) دستگاه الکتروفورز مربوط SSCP به همراه ترموسایکلر به عنوان خنک کننده.....۶۸
شکل ۳-۷) نمایی شماتیک از واکنش هترودوپلکس..... .....۷۰
شکل ۴-۱) محصولات PCR مربوط به اگزون ۷ ژن *TMC1*.....۷۵
شکل۴-۲) محصولات PCR مربوط به اگزون ۱۳ ژن *TMC1*.....۷۵
شکل ۴-۳) ژل پلی اکریل آمید واکنش SSCP مربوط به اگزون ۱۳ و نمونه موتانت.....۷۷
شکل ۴-۴) ژل پلی اکریل آمید مربوط به واکنش SSCP و هترودوپلکس در اگزون ۷ مربوط به افراد ناشنوا... ....۷۸
شکل ۴-۵) ژل پلی اکریل آمید مربوط به واکنش SSCP و هترودوپلکس در اگزون ۷ مربوط به افراد ناشنوا... ....۷۹
شکل ۴-۶) نمائی از توالی‌یابی اگزون‌ها..... ....۸۰

فصل اول:

مقدمه و کلیات

مقدمه:

ناشنوایی یکی از شایع‌ترین اختلالات حسی در انسان است (Kikuchi *et al*., 2000) و میلیون‌ها نفر در سرتاسر دنیا به آن مبتلا هستند (Gorlin *et al*., 1995). این اختلال شایع با فراوانی ۱ در ۱۰۰۰ تولد زنده رخ می‌دهد که نیمی از این موارد اساس و آسیب شناسی ژنتیکی دارند (Kenneson *et al*., 2002). فراوانی ناشنوایی در کودکان به دنیا آمده در ایالات متحده ۱ در ۱۰۰۰، انگلستان و دانمارک ۰/۷ در ۱۰۰۰ و در چین ۱/۱ در ۱۰۰۰ می‌باشد (Mc. KUSICK *et al*., 1992). در حال حاضر بیش از ۱۲۰ میلیون نفر در سراسر جهان از کاهش شنوایی رنج می-برند. این مشکل سالانه ۷۵۰ میلیون دلار هزینه به بار می‌آورد. در آمریکا ۲۸ میلیون آمریکایی دچار درجاتی از کاهش شنوایی هستند که از این تعداد ۱۷ میلیون نفر افت شنوایی حسی-عصبی دارند. لذا یکی از اهداف اصلی سازمان بهداشت جهانی[1](WHO) تشویق کشورها برای پیشگیری از ناشنوایی و نقایص شنوایی در قالب طرح بین‌المللی می‌باشد. یکی از مسائل بین المللی در سال ۲۰۰۰ میلادی کاهش سن تشخیصی مشکلات جدی شنوایی قبل از ۱۲ ماهگی بوده است. بررسی‌ها نشان می‌دهند ۶۶/۶٪ بچه‌هایی که کاهش شنوایی حسی-عصبی دارند؛ در بدو تولد این مشکل را داشته‌اند، اما متأسفانه کمترین سن تشخیص این بیماری در آنها ۲ سال و ۹ ماهگی بوده است (Emery and Rimon’s 2003). تشخیص دیرهنگام ناشنوایی و یا ناشنوایی تشخیص داده نشده، می‌تواند اثر عمیقی بر روی قابلیت‌های ارتباطی و زبانی و همچنین تکوین ارتباط روانی اجتماعی یک کودک داشته باشد؛ تأخیر در تشخیص ممکن است سبب انزوا و کناره‌گیری کودک در آینده شود (Schrijver, 2004).

1- World Health Organization

سبب‌شناسی ناشنوایی چند عاملی است و شامل دلایل ژنتیکی، محیطی و گاه هر دو می‌باشد. گفتنی است که علی‌رغم بهبود سطح بهداشتی جوامع، سهم ژنتیک همچنان در حال افزایش است (Gorlin and Cohen 1995). تقریباً ۷۰٪ موارد ناشنوایی ارثی، غیرسندرمی NSHL[1] است که الگوی اصلی وراثت آن مغلوب اتوزومی است (Morton, 1991). ۳۰ ٪ بقیه موارد ناشنوایی سندرومی است که شامل صدها سندرومی می‌شود که ناشنوایی یکی از علائم آن می‌باشد (Morton, 2006) (Marizata *et al*., 1993).

کاهش شنوایی می‌تواند قبل از زبان باز کردن یا بعد از آن آغاز شود (Willems, 2000). کاهش شنوایی غیرسندرومیک پیش از تکلم، تقریباً ۸۰٪ مغلوب اتوزومی (به صورت DFNB نشان داده می‌شود)، ۲۰٪ غالب اتوزومی(DFNA) و ۱٪ وابسته به X(DFN) است (Smith *et al*., 2003).

ناشنوایی به اشکال مختلفی طبقه بندی می‌شود: مادرزادی یا دیررس، هدایتی یا حسی-عصبی،سندرمی یا غیرسندرومی (Devis, 1990). براساس چند معیار ناشنوایی را می‌توان تقسیم-بندی کرد: میزان اختلال (خفیف ، متوسط، شدید و عمیق)، سن شروع (پیش از زبان باز کردن و یا بعد از آن) و علل فیزیولوژیکی (Schrijver, 2004). در تقسیم‌بندی دیگر ناشنوایی بر اساس محل ضایعه تقسیم‌بندی می‌شود: ناشنوایی انتقالی بوسیله ناهنجاری‌های گوش خارجی یا استخوانچه‌های گوش میانی مشخص می‌شود. ناشنوایی حسی-عصبی به دلیل نقص عملکردی گوش داخلی ایجاد می‌شود و نوع دیگر آن نوع مختلط می‌باشد که ترکیبی از نوع انتقالی و حسی-عصبی می‌باشد (Schrijver, 2004).

فنوتیپ بیماری در موارد مغلوب به مراتب شدیدتر و معمولاً دارای بروز پیش از تکلم است (Devis, 1990). ناشنوایی از نظر ژنتیکی هتروژنیتی بالایی نشان می‌دهد وتعداد ۱۳۰ لوکوس و ۷۰ ژن در ارتباط با ناشنوایی تاکنون شناسایی شده است (Van Camp and Smith 2003). از

[1]- Non syndromic Hearing Loss

جمله ژن‌های مرتبط با ناشنوایی که تاکنون در کشور مطالعه‌ای جهت شناسایی نوع و فراوانی جهش‌های اگزون‌های مختلف آن و تعیین نقش آن در ایجاد ناشنوایی صورت نگرفته ژن *TMC1* واقع بر لوکوس DFNB7/11 می‌باشد.

ژن *TMC1* کدکننده ی شبه پروتئین کانال غشائی است که در گوش میانی یافت می‌شود. این ژن بر روی کروموزوم ۹ (9q21.13) قرار دارد، شامل ۲۴ اگزون می‌باشد و پروتئینی به وزن ۸۷ کیلودالتون تولید می‌کند (Kurima *et al.*, 2002) .

پروتئین *TMC1* عضوی از یک خانواده‌ی جدید از پروتئین هاست که دارای چندین ناحیه‌ی گذر غشائی می‌باشد. جهش‌های *TMC1* می‌تواند ناشنوائی مغلوب در لوکوس DFNB7/11 یا ناشنوائی غالب در لوکوس DFNB36 ایجاد نماید(kurima *et al*., 2002). رونوشت‌های *TMC1* در حلزون جنین انسان و سلول‌های مژکدار حلزون داخلی و خارجی گوش و در اپیتلیوم حسی-عصبی اندام‌های انتهای دهلیزی یافت شده است.*TMC1* ممکن است در بلوغ سلول‌های مژکدار نقش داشته باشد. همچنین این پروتئین احتمالا کانال‌های یونی را تنظیم می‌کند و در حمل و نقل درون سلولی دخالت دارد. اما عملکرد کامل این پروتئین تاکنون کشف نشده است. جهش‌های ژن *TMC1* یکی از فراوان‌ترین دلایل ARNSHL در جمعیت‌های خاور میانه است (Marcotti *et al*., 2006).

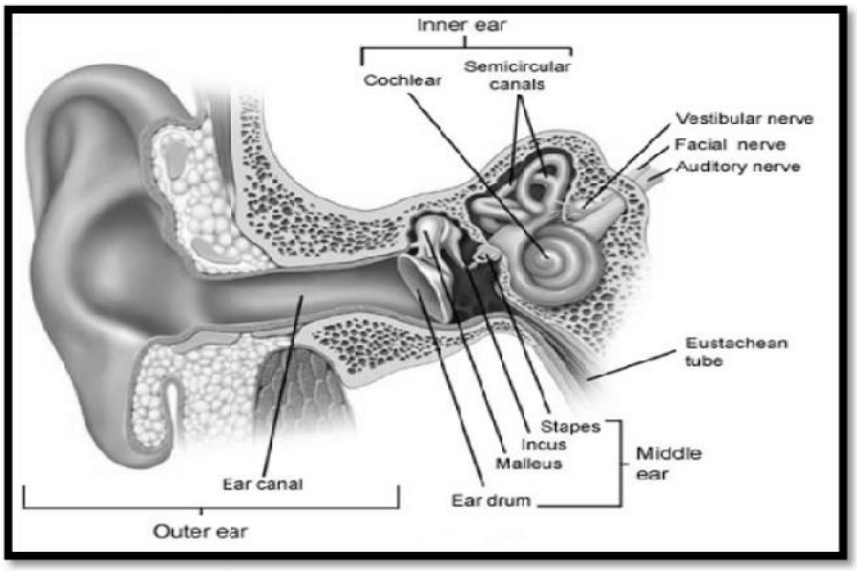
لوکوس DFNB7/11 در کشورهای ترکیه، هلند، بلژیک، اسرائیل، هند، پاکستان و سودان بررسی شده‌است.در هریک از این کشورها چند شجره‌ی ناشنوا به عنوان نمونه انتخاب شده و اگزون‌های خاصی از این ژن را در آنها مطالعه کرده‌اند. مثلا در پاکستان اگزون ۴، ۵ ،۶ ،۷، ۱۷و ۲۱، در ترکیه اگزون ۱۳، ۱۵، ۱۶، در سودان اگزون ۱۳ و در هلند اگزون ۱۹ مورد مطالعه قرار گرفته است (Hilgert *et al*., 2009).

نقص در *TMC1* سبب ناشنوایی اتوزومی مغلوب نوع ۷/۱۱ می‌شود (DFNB7/11)، که شکلی از ناشنوایی حسی-عصبی می‌باشد. ناشنوایی حسی-عصبی نتیجه آسیب به گیرنده‌های عصبی گوش داخلی، مسیرهای عصب به مغز، یا ناحیه مغزی که اطلاعات صدا را دریافت می‌کنند، می‌باشد. در بررسی‌های انجام شده در سرتاسر جهان تاکنون ۲۰ جهش از این ژن شناسایی شده است که تنها یک مورد در جمعیت سفید پوست بوده است (Hilgert *et al*., 2009). همچین دو مورد از این جهش‌ها در دو خانواده ایرانی مشاهده شده است. همه‌ی بیماران ناشنوایی شدید تا عمیق پیش زبانی با فنوتیپ مشابه را نشان می‌دهند (Bazazzadegan *et al*., 2007) .

با این وجود، اطلاعات محدودی در رابطه با نوع و فراوانی جهش‌های ژن کدکننده *TMC1* در جمعیت‌های مختلف ایران و جهان وجود دارد. در این تحقیق جهش‌های این ژن در ۱۰ استان کشور مورد مطالعه قرار گرفت تا از این طریق اطلاعات بیشتری از وضعیت این ژن و نقش آن در ایجاد ناشنوایی حاصل گردد و در امر مشاوره ژنتیک و پیشگیری از آن مورد استفاده قرار گیرد.

۱-۱ساختمان گوش

سیستم شنوایی انسان از سه بخش اصلی تشکیل شده است. گوش خارجی، میانی و داخلی (شکل ۱-۱) (Hashemzadeh Chaleshtori *et al*., 2007).



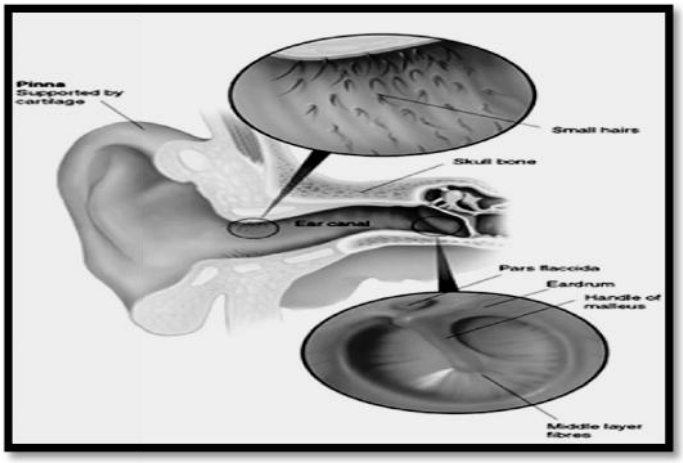
شکل۱-۱) نمایی کلی از گوش داخلی، میانی و خارجی (Dobrenen *et al*., 2002)

۱-۱-۱ گوش خارجی

قسمت اصلی گوش خارجی شامل لاله‌ی گوش و مجرای شنوایی خارجی می‌باشد. غضروف، بافت ارتجاعی و پوست، لاله‌ی گوش را تشکیل می‌دهد (Hashemzadeh Chaleshtori *et al*., 2007). طول کانال گوش ۲/۵ سانتیمتر است که یک سوم خارجی آن پوشیده از مو و دو سوم داخلی از دیواره‌ی استخوانی با یک پوشش ظریف پوست تشکیل شده است (Wright *et al*., 1988). گوش خارجی امواج صوتی را به سمت داخل حفره‌ی شنوایی خارجی متمرکز می‌کند. در برخی از حیوانات گوش می‌تواند مانند آنتن رادار برای جستجوی اصوات حرکت کند. مجرای گوش خارجی از سوراخ شنوایی خارجی به داخل سیر کرده و به پرده‌ی صماخ می‌رسد (Ganong, 2001). یک لایه‌ی پوستی خارجی، پرده‌ی صماخ، لایه‌ی میانی فیبرهای محوری و محیطی را می‌پوشاند. لایه داخلی (شکل ۱-۲) ادامه‌ی پوشش گوش میانی است (Wright *et al*., 1988). پرده‌ی صماخ[1]،

1- Tympanic membrane

ساختمانی است که ارتعاشات صوتی وارده را به استخوانچه‌های گوش میانی انتقال می‌دهد (Ganong, 2001).



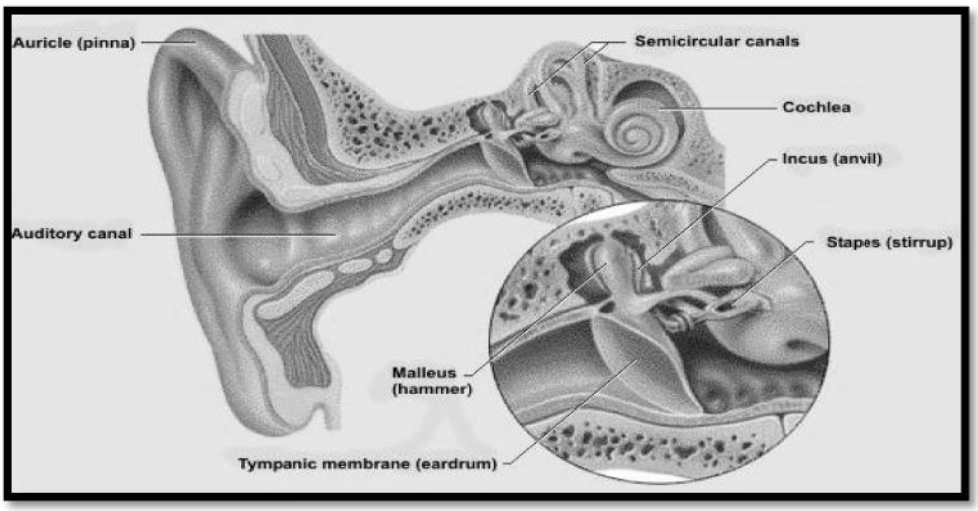
شکل ۱-۲) گوش خارجی (Wright *et al*., 1988)

۱-۱-۲ گوش میانی

یک حفره‌ی مملو از هوا در داخل استخوان گیجگاهی است که از طریق مجرای شنوایی (مجرای اوستاش[1]) به داخل حلق و بینی و از حلق و بینی به خارج باز می‌شود. این مجرا معمولاً بسته است، اما در جریان بلعیدن جویدن و خمیازه کشیدن باز می‌شود و فشار هوا در دو طرف پرده‌ی صماخ را یکسان نگه می‌دارد. سه استخوانچه شنوایی ، یعنی چکشی[2]، سندانی[3] و رکابی[4] در گوش میانی واقع شده‌اند. مانوبریوم[5] یعنی دسته استخوان چکشی به پشت پرده‌ی صماخ چسبیده است. سر این استخوان به دیواره گوش میانی چسبیده و زائده کوتاه آن به استخوان سندانی متصل می-

1- Auditory (Eustachian) tube
2- Malleus
3- Incus
4- Stapes
5- Manobrium

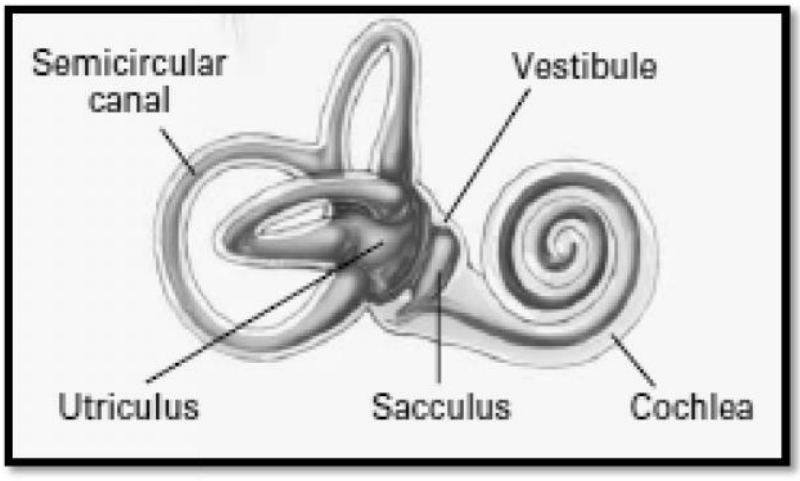
شود که آن نیز به نوبه خود به سر استخوان رکابی مفصل می‌شود. استخوان رکابی به علت شباهتش با رکاب زین به این نام خوانده می‌شود. صفحه‌ی پایی در این استخوان به وسیله یک رباط حلقوی به دیواره‌ی دریچه بیضی متصل می‌شود (شکل ۱-۳). دو عضله کشنده‌ی پرده‌ی صماخ و استخوان رکابی نیز در گوش میانی قرار گرفته‌اند. انقباض عضله اول دسته‌ی استخوان چکشی را به طرف داخل می‌کشد و ارتعاشات پرده صماخ را کاهش می‌دهد. انقباض عضله دوم صفحه پایی استخوان رکابی را از پنجره‌ی بیضی دور می‌کند (Ganong, 2001). استخوان‌های کوچک گوش میانی چنان بوسیله رباط‌ها آویزان شده‌اند که مجموعه استخوان چکشی و استخوان سندانی به صورت یک اهرم واحد عمل می‌کنند و نقطه اتکای آن تقریبا در لبه پرده صماخ قرار گرفته است. مفصل شدن استخوان سندانی با استخوان رکابی موجب می‌گردد که هر بار پرده صماخ و دسته استخوان چکشی به طرف داخل حرکت کند استخوان رکابی رو به جلو بر روی مایع حلزون فشار وارد کند و هر بار که دسته استخوان چکشی به طرف خارج حرکت کند مایع را به طرف عقب بکشد. این حرکات موجب حرکت رو به داخل و رو به خارج کف استخوان رکابی در دریچه‌ی بیضی می‌شود (Guyton *et al*., 2000).



شکل ۱-۳) پرده‌ی صماخ و استخوانچه‌های شنوایی: چکشی، سندانی و رکابی (Kellogg, 1998)

۱-۱-۳ گوش داخلی

گوش داخلی (لابیرنت[1]) دو سامانه‌ی حسی را کنترل می‌کند. سامانه‌ی شنوایی و سامانه‌ی تعادلی. گوش داخلی شامل لابیرنت استخوانی و لابیرنت غشایی است (Willems, 2000). لابیرنت استخوانی توسط مایعی به نام پری‌لنف پر شده است و شامل سه حفره‌ی اصلی، کانال‌های دهلیزی، حلزون، مجاری نیم‌دایره‌ای و اوتریکول [2] و ساکول[3] می‌باشد (شکل ۱-۴) (Junqueira *et al.*, 1989). حلزون سیگنال‌های شنوایی را عبور می‌دهد، در صورتی که حس تعادل به دستگاه دهلیزی مربوط است که از سه کانال نیم دایره‌ای (مسئول شتاب چرخشی) و اوتریکول و ساکول (مسئول شتاب خطی) تشکیل شده است. لابیرنت غشایی که شامل اندولنف است، از کانال‌های ارتباطی خیلی ظریف و محفظه‌های فرو رفته در لایبرنت استخوانی تشکیل شده است. مجاری نیم‌دایره‌ای، ساکول و اوتریکول بخش غشایی دستگاه دهلیزی را تشکیل می‌دهند، در حالی که بخش غشایی حلزون از مجاری حلزونی تشکیل شده است که شامل سلول‌های مودار اندام کورتی است (شکل ۱-۵) (Willems, 2000).



شکل ۱-۴) کانال‌های دهلیزی، حلزون و مجاری نیم دایره‌ای (Willems, 2000)

1- Labyrinth
2- Utriculus
3- Sacculus

۱-۱-۳-۱ حلزون

قسمت حلزونی لابیرنت لوله‌ای مارپیچ است که در انسان به طول ۳۵ میلیمتر بوده و ۲/۵ بار پیچ می‌خورد. غشاء پایه‌ای[1] و غشاء رایسنر[2] حلزون را در تمام طولش به سه محفظه با نردبان[3] تقسیم می‌کند. نردبان دهلیزی که در بالا قرار دارد و نردبان صماخی که در پایین قرار گرفته، محتوی پری‌لنف بوده و در رأس حلزون از طریق یک منفذ کوچک به نام هلیکوترما[4] با یکدیگر ارتباط دارند. قاعده‌ی حلزون نردبان دهلیزی به پنجره‌ی بیضی ختم می‌شود که به وسیله صفحه‌ی پایی استخوان رکابی بسته می‌شود. نردبان صماخی به پنجره‌ی گرد ختم می‌گردد که دریچه‌ای در دیواره‌ی گوش میانی بوده و به وسیله پرده‌ی صماخی ثانویه که قابل انعطاف است بسته می‌شود. نردبان میانی یا محفظه‌ی میانی حلزون در ادامه‌ی لابیرنت غشایی قرار داشته و با دو نردبان دیگر ارتباط ندارد. نردبان میانی محتوی اندولنف است (Ganong, 2001).

۱-۱-۳-۲ اندام کورتی

اندام کورتی روی غشاء پایه قرار گرفته است. این اندام دارای سلول‌های مویی است که همان گیرنده‌های شنوایی هستند. این اندام از رأس تا قاعده‌ی حلزون گسترش می‌یابد و دارای یک شکل مارپیچ است. سلول‌های مویی[5] به داخل تیغه‌ی مشبک که پرده مانند و سخت است و بوسیله‌ی میله‌های کورتی نگهداری می‌شود، نفوذ می‌کنند. سلول‌های مویی در چهار ردیف قرار گرفته‌اند، سه ردیف سلول‌های مویی خارجی[6] که در طرف خارجی تونلی که توسط میله‌های کورتی تشکیل می‌شود، قرار گرفته‌اند و یک ردیف سلول‌های مویی داخلی[7] که در طرف داخل این تونل قرار گرفته‌اند (Ganong, 2001) (شکل ۱-۵). سلول‌های مویی داخلی فقط به عنوان سلول‌های گیرنده

1- Basilar membrane
2- Reissner,s membrane
3- Scala
4- Helicoterma
5-Hair cell
6-Outer hair cell (OHC)
7-Inner hair cell (IHC)

عمل کرده به این معنی که سیگنال‌های الکتریکی را به عصب شنوایی منتقل می‌کنند. سلول‌های مویی خارجی علاوه بر عمل گیرندگی، حرکت غشاء پایه‌ای ایجاد شده توسط صدا را تقویت می-کنند. از این رو حساسیت صدا را افزایش می‌دهند (Cummings and Fredrickson 2000). در هر حلزون انسان ۲۰۰۰۰ سلول مویی خارجی و ۳۵۰۰ سلول مویی داخلی وجود دارد. یک غشاء نازک و مقاوم اما قابل ارتجاع به نام غشاء تکتوریال [1](بامی) روی ردیف‌های مختلف سلول‌های مویی را می‌پوشاند و نوک زوائد سلول‌های مویی خارجی، اما نه سلول‌های مویی داخلی، در داخل این غشاء قرار می‌گیرند (Ganong, 2001). هر سلول مویی برای بعضی فرکانس‌های صوت اختصاصی هستند. بنابراین تخریب سلول‌های مویی مختلف منجر به ناتوانی در تشخیص صداهای مختلف می‌شود (Cummings and fredrickson 2000). در حلزون، بین سلول‌های مژکدار و سلول‌های انگشتی شکل مجاور، اتصالات محکم [2] وجود دارند. این اتصالات از رسیدن اندولنف به قاعده‌ی سلول‌ها جلوگیری می‌کنند. اما باید دانست که غشاء پایه‌ای نسبت به پری‌لنف دارای نفوذپذیری نسبی می‌باشد و در نتیجه، تونل اندام کورتی و قاعده‌ی سلول‌های مژکدار در پری‌لنف غوطه‌ورند. به علت وجود اتصالات محکم مشابهی طرز قرار گرفتن سلول‌های مژکدار در سایر نقاط گوش داخلی نیز مشابه است؛ به این معنی که زوائد سلول‌های مژکدار در اندولنف غوطه‌ورند، در حالی که قاعده‌ی آنها در پری‌لنف غوطه‌ور است (Ganong, 2001).

1-Tectorial membrane
2-Tight Junctions