المخاطر الوراثية والبيئية لمرضى الصمم الوراثي ببعض مراكز التأهيل بمدينة مصراتة- ليبيا

[1]عفاف إبراهيم إسماعيل البلوز [2]أماني ذبنون المهدي [3]حنان مختار بلاعو [4]عائشة إبراهيم ناجي

1-4 قسم الوراثة والتقنيات الحيوية –كلية العلوم –جامعة مصراتة

afaf67638@gmail.com

Publishing date: 9/1/2025

الملخص:

يوصف الشخص بأنه مصاب بفقدان السمع إذا لم يكن قادراً على السمع بمثل جودة شخص متمتع بسمع طبيعي، يتراوح ضعف السمع بسبب طفرات *GJB2* من خفيف إلى عميق وعادة ما يكون خلقيًا. قد تتأثر شدة فقدان السمع بالعوامل البيئية والوراثية مما يؤدي الي ظهور طفرة جينية للجين *GJB2* الذي يشفر بروتين Connexin 2 هذه العوامل تؤثرفي تطور فقدان السمع مثل تقدم عمر الأم ، زواج الأقارب، التدخين وغيرها، في هذه الدراسه تم تجميع 50 استبيان من مراكز تأهيل مختلفة في مدينة مصراته وتم تحليل البيانات المتعلقه بحدوث الصمم الوراثي حيث اظهر التحليل ان تقدم عمر الام يمثل 60%، زواج الأقارب يشكل 52%، تكرارالاصابه في العائلة 12 % وأن51% من الأباء مدخنين .لدراسة المستوى الجزيء تم استخلاص DNA من ثلاث عينات دم بإستخدام "Magic PureTM Blood Genomic DNA Kitma" و قياس تركيزه ونقاوته باستخدام الهجرة الكهربائيه و المطياف الضوئي قبل اجراء تحليل PCR بأستخدام 2 برايمر(CTTTGTCTGCAACACCCTGC-F) (TCTTTTCCAGAGCAAACCGC-R, المناسب لتضاعف المنطقة المستهدفة لدراسه جين(*GJB2*) ، أرسلت العينات خارج البلاد لإجراء عملية تحليل التسلسلSequencing analysis، فأظهرت النتائج وجود الطفرةc.35dG في احدى الحالات اي بنسبة 33.3% وكانت من النوع Framshift mutation، وهذه الطفرة مسجلة عالمياً rs80338939 وتعتبر من الطفرات الأكثر شيوعاً في العالم وتصنف بأنها الممرضة والمسببه لصمم وموقعها الخلوي الوراثي 13q12.11.

الكلمات المفتاحية: الصمم الوراثي - مخاطرالإصابة - الطفرات- الجين GJB2 - بروتين الكونكسين 26- مراكز التأهيل- مصراتة- ليبيا.

1. المقدمة

يعتبر ضعف السمع أحد الاضطرابات الحسية الأكثر شيوعًا التي تصيب 1 من كل 1000 طفل[1] ، توصف الإعاقة السمعية Hearting Impairment بأنها تلك الحالة التي يعاني فيها الفرد من قصور سمعي بسبب عوامل وراثية أو خلقية أو بيئية مكتسبة، وتصيب هذه الإعاقة الأذن أو إحدى تراكيبها فتكون إعاقة ميكانيكية لهذا يفقد الإنسان القدرة على سماع الأصوات المحيطة به كلياً أو جزئياً ، وقد يكون مؤقتاً أو دائما[2,1] .

ويعرف الصمم Deafness بأنه اصابة حسية نتيجة تشوه يجعل الكلام المنطوق ثقيل السمع في ظل وجود المعينات السمعية المتنوعة[3]. يتطلب السمع تحويل الموجات الصوتية إلى نبضات عصبية كهربائية، هذا التحويل يتضمن العديد من العمليات بما في ذلك الحفاظ على المستوى المطلوب لأيونات البوتاسيوم في الأذن الداخلية [4]. يوفر الجين (*GJB2*) تعليمات لصنع بروتين gap junction beta 2 ويعرف بكونيكسين26، هو عضو في عائلة بروتين connexin، حيث يوجد Connexin 26 في جميع خلايا الجسم، بما في ذلك الأذن الداخلية وخاصة القوقعة، فهو مطلوب لنضج خلايا معينة فيها ,تشكل بروتينات Connexin قنوات تسمى gap junctions وهي تنقل العناصر الغذائية وأيونات وجزيئات الإشارة بين الخلايا المجاورة [5]. يقع هذا الجين في الذراع الطويلة للكروموسوم 13 (13q12.11) ويتكون من Two exon [6] , إن الطفرات في الجين GJB2 مسؤولة عما يصل إلى 50٪ من الصمم المتنحي [7 ,9, 8] .

تعتبر c.35delG هي الطفرة الأكثر شيوعًا، والتي تنشأ من حذف قاعدة واحدة في سلسلة من 6 بقايا guanine في الموضع 30-35 في تسلسل CX26 DNA. طفرة delG30 تنشأ عدة مرات بشكل مستقل في الكثير من البشر ويمكن أن يحملها ما يقرب من 1 من كل 30 شخصًا، والأفراد المتماثلين في طفرة c.35delG يظهرون تباينًا ظاهريًا وواسعًا، مع ضعف في السمع يتراوح من خفيف إلى عميق [8].

الطفرات التي تحدث في Cx26 قد تعطل دوران البوتاسيوم وتؤدي إلى الصمم وهو من أحد البروتينات الرئيسية المشاركة في توازن البوتاسيوم (K +) في قوقعة الأذن الداخلية، ويمكن أن يساعد اكتشاف الطفرات في التشخيص المبكر لضعف السمع.[9 ,12, 11,10] .

أظهرت الدرسات السابقة علاقة عمر الوالدين، زواج الأقارب و العرق بحدوث الضعف السمعي في المجتمعات المختلفه[16,15,14,13] ولهذا هدفت هذه الدراسه الي تحديد مخاطر الاصابه بالضعف السمعي ونسبة انتشاره داخل مراكز التأهيل بمدينة مصراته والكشف عن وجود الطفره c.35delG المسبه للاعاقه في بعض الحالات.

2- مواد وطرق العمل Material & Methods

1.2. توزيع الاستبيان وتجميعه:

تم توزيع الاستبيان علي المراكز الخاصة بالإعاقة السمعية داخل مدينة مصراتة وكانت الحصيلة (50) استبيان كمجموع نهائي وكانت اعمارهم تتراوح من 1-22 وتم تحليل البيانات إحصائياً باستخدام برنامج SPSS إصدار V24 من نوع t-test وتم استخدامه لدراسة العينات والحصول علي النتائج التفسيرية للبحث .

2.2. تحليل DNA :

تم تجميع 3 عينات دم عشوائية من ذوي الإعاقة وذلك بعد أخذ موافقة منهم وتم وضعها في انابيب مانعة للتخثر من نوع EDTA و تم تحليل العينات في وحدة البحوث بمختبر مصراتة المركزي بإستخدام Magic PureTM Blood (Genomic DNA Kit) " بإتباع الخطوات الموصى بها من قبل الشركة المصنعة. وباستخدام جهاز الترحيل الكهربائي وجل الأقاروز Agarose gel 1X و مقياس الطيف الضوئي (Nano Drop machine (thermo scientific لتقدير كميت و لتاكد من نقاوة المستخلص.

3.2. تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction:

تم تضخيم جين *GJB2* عن طريق PCR بأستخدام 2 برايمر[13] و [21] الموضح في الجدول 1 و50 ng من جينومك DNA النقي لتفاعل البلمره الموضح في الشكل 1 واستخدم ثلاث درجات حراريه 95و64 و 72 درجه مؤديه لعملية فك جزىء الحامض النووي, ارتباط البادي بالهدف, وعملية البلمره علي التوالي فىTermocycler . حللت نواتج التفاعل بالهجرة الكهربه علي اجاروز جل بتيار 50 V فولت لمدة ساعة واحدة . تم صبغ الجل بصبغة بروميد الأثيديم ا ثم تصويره باستخدام الة التوثيق الفوتوغرافي تحت UV.

جدول (1) بالبادئ المستخدم في تفاعل PCR:

الجين GJB2	***التسلسل***	***حجم القطعة الناتجة***
Forward primer	*CTTTGTCTGCAACACCCTGC-3̀5-*	*186bp*
Reveres primer	*TCTTTTCCAGAGCAAACCGC-3̀5-*	

تم التأكد من دقة خصوصية هذا البادي (Primer). باستخدام البرامج والمعلومات الحيوية المتوفرة على شبكة الانترنت Primer Blast (NCB).

3.3. تحليل التسلسل " Sequencing analysis"

لتحديد وجود الطفرات ونوعها تم إرسال العينات إلى معمل التحليل الجزيء- تونس لدراسة التتابع النيوكلوتيدي بطريقة Sanger sequence واستخدام برامج قواعد البيانات " Finch TV , CLC software and Genome browser" للتأكد من وجود الطفرة من عدمها على جين *GJB2* .

النتائج :

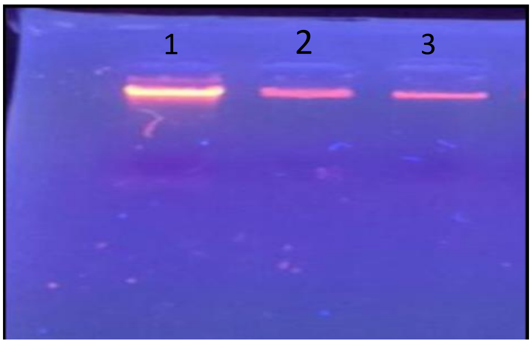
1.3. النتائج الإحصائية

جدول (2): يوضح عوامل الخطر وعلاقتها بحدوث الاعاقة السمعية

عوامل الخطر	**النسبة المئوية%**
جنس ذي الاعاقة	58% ذكور 48% إناث
عمر ذي الاعاقة	26%من 6-12 سنة 26% من 12-17سنة 4% من 17-23سنة
نوع الإعاقة	84% إعاقة سمعية ولادية 5% إعاقة سمعية مكتسبة 5% مصابون بمتلازمة بسبب الحرارة
عمر الام	8.9% اقل من 20سنة 26.7% في العشرين 60% فوق الثلاثين
التدخين	51% مدخنين 49% غير مدخنين
صلة القرابة	52% يوجد صلة قرابة 48% لايوجد صلة قرابة
تاريخ العائلة	12% سجلت إصابة مسبقة 88% لم تسجل إصابة مسبقة

2.3. نتائج استخلاص الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين "DNA"

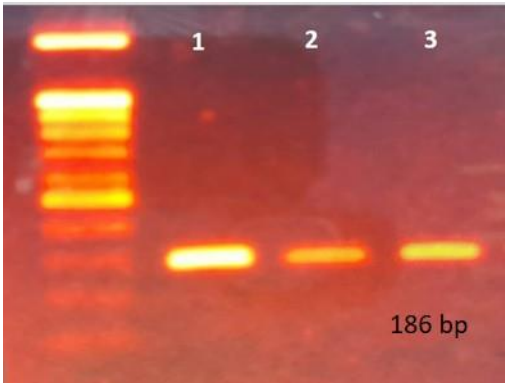
كانت النتيجة بعد الترحيل الكهربائي لمستخلص DNA من العينات المدروسة توأكد سلامة وجودة الDNA لدراسه على 1% جل الأقاروز تحت (UV) و استخدام صبغةbromide ethidium ، (شكل 2).



الشكل(2): يوضح حزم DNA علي 1% اجروز جل للعينات الثلاثة بتراكيز مختلفة.

3.3نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل "PCR":

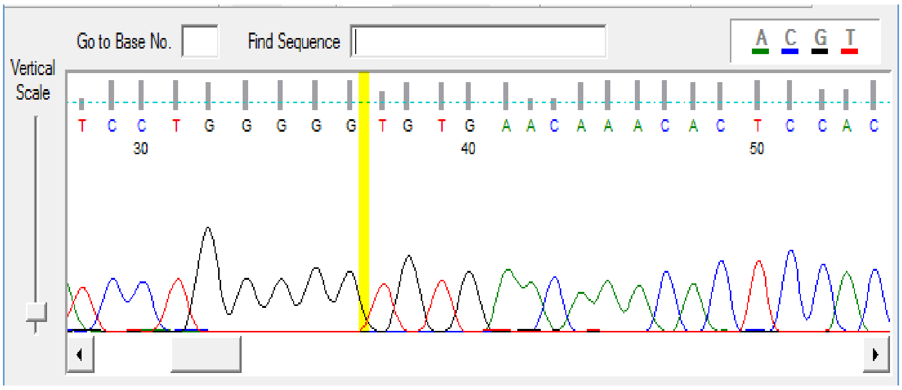
الشكل 3 يوضح نواتج تفاعل PCR للمنطقم المسنهدفه للدراسه للجين والذي كان ايجابي في العينات الثلاثة المدروسه بطول 186 bp .



الشكل (3): يوضح عينات ال PCR والترحيل الكهربائي للعينات المدروسة

4.3 نتائج تحليل التسلسل :

حللت نواتج PCRبإستخدامSanger sequencing للكشف عن الطفرات الموجود حيث قورنت ببرنامج CLC كما يوضح الشكل(4). فظهرت الطفرة(*c.35dG*) في احدى الحالات الثلاثة مقارنةً بالتسلسل الاصلي وقد كانت من النوع Framshift mutation ، حيث تم حذف النيكولوتيدة G.



الشكل (4): يوضح التقاط صورة ببرنامج Finch TV ، تظهرحذف النيوكلتيد G من التسلسل GGT>G-T

4 -المناقشة

أجريت الدراسة الحالية على 50 استبيان، للوقوف على أسباب ونسبة انتشار الأعاقة لدي المرضي المترددين علي مراكز التأهيل بمدينة مصراتة حيث وجد من خلاله أن عدد الذكور المصابين أكثر من عدد الإناث حيث بلغت نسبة الذكور 58% بينما الإناث 42 % و هذ يتفق مع دراسة إيطالية سنة 2007 [14] حيث أكدت اختلاف انتشارالصمم بإختلاف الجنس فذكور أعلى نسبة انتشار (0.78 لكل 1000حالة) اما الإناث كانت النسبة (0.69 لكل حالة 1000).

من خلال أجوبة الاستبيان نلاحظ أن 84%من الأشخاص مصابون بإعاقة سمعية ولادية مما يشير الي دور العوامل الوراثيه في حدوث الاعاقة [19]، ما اظهر التحليل الاحصائي ان 4% مصابون بإعاقة سمعيه مكتسبة ،5% مصابون بمتلازمة بسبب حرارة، وكان 12% من لأهالي يجهلون نوع الإعاقة السمعية المصاب بها ابنهم ولهذا الكشف المبكر عن ضعف السمع والتنبيه له ضروري قصوى.

في هذه الدراسه 60% من المصابون بضعف السمع لأمهات فوق سن الثلاثين و تبين أن 52% من الحالات كانت نتيجة لزواج الأقارب و أن 44% من الأمهات أنجبنا طفل آخر مصاب مما يدل علي دور زواج الاقارب في حدوث ضعف السمع وهذا يتفق مع البحوث السابقة[11, 19]اوكانت نسبة صلة القرابة بين والدي أب الطفل بنسبة48% ونسبة 50% قرابة بين والدي أمه مما يؤكد دور صلة القرابه في زيادة احتمال حدوث الإعاقة وهذا مأكده عليه [19] حيث ازياد احتمالية انجاب اكثر من طفل بفقدان سمع حسي عصبي Sensorineural Hearing Loss (SNHL) بمعدل اعلي بمقدار 3.5 مرة

من خلال نتائج الاستبيان تبين ايضا أن تقدم عمر الاب والام يزيد من احتمالية انجاب طفل يعاني من فقدان السمع وهذا مايتفق أيضا مع الدراسة [19].

دراسة الجين علي المستوي الجزيء مهم لمعرفة الأسباب الوراثيه الأبويه او المكتسبه من تأثيرالعوامل البيئية.*GJB2* الموجود في القوقعة يقوم بتشكيل Gap junction مع الكونكسين 30 والبروتينات الأخرى ويعمل كقناة لأيونات الكالسيوم بين الخلايا مما يحافظ علي intrachoclear

potentialداخل القوقعة، وبتالي الطفرات في جين GJB2 تؤدي الي ضعف دورة الايونات مما يؤدي الي فقدان الاتزان في الأذن الداخلية [20]. أظهرت نتائج التحليل الجزيء لعينة الصمم الوراثى في هذه الدراسه وجود الطفره c.35dG في الجين *GJB2* وهذا يتفق مع نتائج الدرسات السسابقه [24,23,22,20]. حدوث الطفرات هذا يؤدي الي تغير المعلومات الوراثية خصوصا في منطقة الترجمة، حيث يتم استبدال تسلسل الاحماض الامينية مما ينتج عنه خطأ في عملية الترجمة ويؤدي الي نوعين من الطفرات Truncating mutations وNon-truncating ، حيث تؤدي الاولي الي حذف ،ادراج ،تكرار أو تغير في كود الانهاء stop codon اما النوع التاني Non-truncating mutations (missense mutations) قد تؤدي الي تغير بسيط في البنية بينما لايؤثر بشكل كبير علي الوظيفة وهذا يفسر الدرجات المتفاوته في درجة السمع في الصمم الوراثي.

5- التوصيات

تعد دراسة المخاطر الوراثية والبيئة مهمة في ليبيا خاصة تأثرها في احداث الطفرات الجينية، لذا لازالت هناك فرصة لتقديم المزيد من البحوث وتوسيع الدراسة في عدد كبير من العينات للوقوف علي الأسباب ومحاولة تقليل الإعاقات وغيرها من الأمراض في البلاد.

6-المراجع

1.6 المراجع العربية

[1] عثمان، كوثر عبدالقادر، محمد، مدينة حامد، آدم ومروة الفاضل: إضطرابات الصمم وعلاقتها بالثقة بالنفس وتقدير الذات لتلاميذ مرحلة الأساس بمركز الأمل محلية الخرطوم. SUST، (28). 126. (2016)

[3]- حاجمي طاوس، حسناء لمياء، الحسين فطةْ: مدى اكتساب مهارات العد لدى الأطفال الحاملين للزرع القوقعي المدمجين في المدرسة العادية. مذكرة لنيل شهادة الماستر في أرطوفونيا ، تخصص اضطرابات الصمم وقياس السمع. جامعة مولود معمري – تيزي وزو – كلية العلوم الإنسانية والاجتماعية قسم العلوم الاجتماعية فرع أرطـــوفـــونيـــا. (2016)

2.6- المراجع الأجنبية

2]- Taniguchi M, Matsuo H, Shimizu S, Nakayama A, Suzuki K, Hamajima N, Shinomiya N, Nishio S, Kosugi S, Usami S, Ito J, Kitajiri S. Carrier frequency of the *GJB2* mutations that cause hereditary hearing loss in the Japanese population. J Hum Genet. 2015 Oct;60(10):613-7. doi: 10.1038/jhg.2015.82. Epub 2015 Jul 16. PMID: 26178431; PMCID: PMC4635169.

[4] - Kaheel H., Breß A., Hassan M. A., Shah A. A., Amin M., Bakhit Y. H. Y., Kniper M., Frequency of c.35delG Mutation in *GJB2* Gene (Connexin 26) in Syrian Patients with Nonsyndromic Hearing Impairment. Genet Res Int. 2017; 2017:5836525. doi: 10.1155/2017/5836525. PMID: 29362677; PMCID: PMC5736926. (2017).

[5]-Lee JR., White TW. Connexin-26 mutations in deafness and skin disease. Expert Rev Mol Med.; 11: e35. (2009). doi: 10.1017/S1462399409001276.

[6]- Honglan Z., Wanning C., Zhiqiang Y., On channel-related hereditary hearing loss: a narrative review. Journal of Bio-X Research, 4(4):p 145-150. (2021). | DOI: 10.1097/JBR.0000000000000108.

[7]- Zeina N., Fawza M., *GJB2* gene mutations in Syrians with sensorineural hearing loss. middle East Journal of Medical Genetics, 1(2):80-84. (2012).

[8] Zhang F., Xiao Y., Xu L., Zhang X., Zhang G., Li J., Lv H., Bai X., Wang H., Mutation Analysis of the Common Deafness Genes in Patients with Nonsyndromic Hearing Loss in Linyi by SNPscan Assay. Biomed Res Int.2016:1302914. doi: 10.1155/2016/1302914. Epub 2016 May 9. PMID: 27247933; PMCID: PMC4876198. (2016).

[9]- Eggermont J.,: Chapter 6 - Genetic and Environmental Factors in Age-Related Hearing Impairment. Science direct, 125-147. (2019).

[10]- National Center for Biotechnology Information (US). Genes and Disease [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 1998-. Deafness. [Updated 2011 Jan 31]

[11]- Erol E., *et al*: Etiology of deafness at the Yeditepe School for the deaf in Istanbul. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology, (67)47-467. (2003).

[12]- Ben Arab S., Masmoudi S., Beltaief N., Hachicha S., and Ayadi H.,: Consanguinity and Endogamy in Northern Tunisia and its Impact on Non-syndromic Deafness. Genetic Epidemiology, (27)74-79. (2004).

[13]Fageen N. A., Prospective study of hearing loos in schools for deat children in Assir region, Saudi Arabia. west African Journal of medicine, 22(4)-321-323pp. (2003).

[14]- Bubbico L., Rosano A. and Spagnolo A., Prevalence of prelingual deafness in Italy. ACTA otorhinolaryngologica italic, (27)17-21. (2007).

[15]- Girish V., assem A., Iris S., A multicenter study of the frequency and distribution of GJB2 and GJB6 mutations in a large North American cohort. Genetics in medicine, (9)426-413. (2007).

[16]-Mazin Al K., and Michal A., Consanguinity and deafness in Omani children. International Journal of Audiology, (47).30-33. (2008).
[17]- Sajjad M., Khattak A. A., Bunn J.E.G, and Mackenzie I.,: Causes of childhood deafness in Pukhtoonkhwa Province of Pakistan and the role of consanguinity. The Journal of Laryngology & Otology, 122(10).1057-1063. (2008).

[18]-Pu Dai et al: GJB2 mutation spectrum in 2063 Chinese patients with nonsyndromic hearing impairment. Journal of Translational Medicine, (7).1-26. (2009).

[19]- Almazroua A.M., Alsughayer L., Ababtain R., Al-shawi Y., Hagr A.A.,: The association between consanguineous marriage and offspring with congenital hearing loss. Ann Saudi Med, 40(6):456-461. DOI: 10.5144/0256-4947.2020.456. (2020).

[20]- Sakata A., Kashio A., Koyama. M., Urata S., Koyama H. and Yamasoba T.: Hearing and Hearing Loss Progression in Patients with GJB2 Gene Mutations: A Long-Term Follow-Up. International journal of molecular science, 24(23), 16763. (2023).
[21]- Nejat M., Bahareh R., Statistical study of 35delG mutation of GJB2 gene: A meta-analysis of carrier frequency, 48(6), 363–370. (2009).
[22]- Zeina N., Mahayri, Monem S., and Fawza: GJB2 gene mutations in Syrians with sensorineural hearing loss. Middle East Journal of Medical Genetics, (1)80-84. (2011).

[23]-Marzena M., Anna Z and Jurek O., GJB2 sequencing in deaf and profound sensorineural hearing loss children. polish joural of otolaryngology, 70 (3): 19-23. (2016).

[24]- Neagu A., Mocanu A. I., Bonciu A., Coadă G., and Mocanu H.,: Prevalence of *GJB2* gene mutations correlated to presence of clinical and environmental risk factors in the etiology of congenital sensorineural hearing loss of the Romanian population.. Experimental and Therapeutic Medicine, 21(6): 612. (2021).

Genetic and environmental risk factors for hereditary deafness in some rehabilitation patients in Misurata- Libya

Abstract: A person is described as having a hearing loss if they are not able to hear as well as someone with normal hearing. Hearing loss due to *GJB2* mutations ranges from mild to profound and is usually congenital. The severity of hearing loss may be affected by environment and genetic factors that lead to the appearance of a genetic mutation of the *GJB2* gene or effect the development of hearing loss by factors other than the Connexin 26 protein such as advanced mother´s age, consanguineous marriage, smoking etc. 50 questionnaires were collected from different rehabilitation centers in Misurata city and the data related to occurrnrence of heredity defines were analysed and the result showed that advanced maternal age represented 60%, consanguineous marriage represented 52%, repeated of occurance in the family is 12% and 51% of the fathers are smokers. For molecular study, DNA was extracted from 3 samples using Magic PureTM Blood Genomic DNA Kit, DNA purity and concentration were measured by the spectrophotometer and gelelectrophresis befor conducting the PCR analysis using 2 primers (CTTTGTCTGCAACACCCTGC-F ,TCTTTTCCAGAGCAAACCGC-R**)** appropeiate for amplifying the target region of the study for the gene .PCR products were sent outside the country for sequencing analysis. The results showed the presence of a Framshift mutation c. 35dG in one case. This mutation is registered globally rs80338939 and is considered one of the most common mutations in the world which classified as pathogenic causing deafness and this mutation location chromosome 13 q arm (13q12.11).

Key words: Hereditary deafness – risk factors- Mutations - GJB2 Gene- Connexin 26 protein. rehabilitation centres -Misurata- Libya.