مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی‌ام/شماره ۲۱۱/هفته اول دی ماه ۱۳۹۱
مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۱/۸/۲۴

بررسی جهش R434X ژن Dual oxidase 2 (DUOX2) در بیماران مبتلا به کم کاری مادرزادی تیرویید دایمی و گذرا

امید خوشنود[۱]، محمد حسن تاج الدینی[۲]، دکتر مهین هاشمی‌پور[۳]، دکتر منصور صالحی[۴]، دکتر آوات فیضی[۵]، دکتر شقایق حق‌جوی جوانمرد[۶]، دکتر رویا کلیشادی[۳]، دکتر سیلوا هوسپیان[۷]، دکتر مسعود امینی[۸]

چکیده

مقدمه: با توجه به اهمیت بالای کم کاری مادرزادی تیرویید در جامعه‌ی ما و نقش اساسی ژنتیک در ایجاد این اختلالات و وجود ژن‌های متعدد مؤثر در بروز کم کاری مادرزادی گذرای تیرویید با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز، بر آن شدیم یکی از جهش‌های مهم ژن پر اهمیت DUOX2 (Dual oxidase 2) را مورد بررسی قرار دهیم. وجود جهش R434X در این ژن به دلیل اثرات فنوتیپی بارزی که در بیماران مبتلا به کم کاری مادرزادی تیرویید دارد بسیار با اهمیت می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی فراوانی این جهش در افراد مبتلا به به کم کاری مادرزادی تیرویید در شهر اصفهان بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مورد- شاهدی، کودکان مبتلا به کم کاری مادرزادی تیرویید با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز طی طرح غربالگری انتخاب شدند و نمونه‌ی خون وریدی آن‌ها به منظور بررسی جهش R434X ژن DUOX2 با استفاده از تکنیک Realtime HRM PCR با پرایمرهای اختصاصی مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: در این مطالعه به ترتیب ۲۵ و ۳۳ کودک مبتلا به کم کاری مادرزادی گذرا و دایمی تیرویید با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز و ۳۰ کودک به عنوان گروه شاهد مورد مطالعه قرار گرفتند. در بررسی مولکولی بیماران از لحاظ دارا بودن جهش R434X موردی از جهش گزارش نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های حاصل از این پژوهش به نظر می‌رسد مطالعات دیگری با استفاده از روش‌های بررسی ژنی در حجم بالاتر و به منظور شناسایی جهش‌های بومی این ژن و نیز بررسی جهش‌های سایر ژن‌های دخیل در اتیولوژی کم کاری مادرزادی گذرا و دیس‌هورمونوژنز تیرویید شامل ژن‌های کانال غشایی سدیم ید، تیروگلوبولین و پندرین ضروری باشد، تا بتوان بدین طریق به اساس ژنتیکی این بیماری شایع در منطقه پی برد.

واژگان کلیدی: کم کاری مادرزادی تیرویید، ژن Dual oxidase 2 (DUOX2)، دایمی، گذرا

مقدمه

کم کاری مادرزادی تیرویید یکی از اختلالات متابولیک و آندوکرین شایع و از علل قابل پیشگیری عقب ماندگی ذهنی می‌باشد که به طور کلی شیوعی برابر ۱ در ۳۰۰۰ تا ۱ در ۴۰۰۰ تولد دارد (۱). عقب ماندگی ذهنی حاصل از این بیماری به دلیل نقش محوری هورمون تیرویید در رشد و نمو مغز می‌باشد و فقط زمانی قابل پیشگیری است که تشخیص بیماری

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

[۱] دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات دارویی، دانشکده‌ی داروسازی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۳] استاد، مرکز تحقیقات رشد و نمو کودکان و گروه کودکان، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۴] دانشیار، گروه ژنتیک و بیولوژی ملکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۵] استادیار، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۶] دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۷] پزشک عمومی و پژوهشگر، مرکز تحقیقات رشد و نمو کودکان، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۸] استاد، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: محمد حسن تاج‌الدینی
Email: tajaddini@pharm.mui.ac.ir

در همان روزهای اول زندگی داده شود و نوزاد تحت درمان جایگزین با هورمون تیرویید قرار گیرد (۱).

کم کاری مادرزادی تیرویید به طور کلی به دو دسته دایمی و گذرا تقسیم می‌شود. کم کاری مادرزادی تیرویید دایمی منتج از عوامل اولیه، ثانویه و جانبی است (۲). عوامل اولیه شامل نقص در تولید هورمون‌های تیرویید (دیس‌هورمونوژنز) یا نقص در تکامل غده‌ی تیرویید (دیسژنزی) می‌باشد (۴-۳). دیسژنزی به سه دسته‌ی اصلی اکتوپی، آتریوزیز و هیپوپلازی تقسیم می‌شود (۶-۴). ۸۵ درصد از موارد کم کاری مادرزادی تیرویید دایمی به علت دیسژنزی و ۱۰ تا ۱۵ این موارد به علت دیس‌هورمونوژنز رخ می‌دهد (۶-۴). بیشتر موارد دیسژنزی تک گیر و بیشتر موارد دیس‌هورمونوژنز به صورت اتوزومی مغلوب به ارث می‌رسند (۶-۴). عوامل ثانویه نتیجه‌ای از نقص در غده‌ی هیپوفیز، نقص در تولید هورمون محرک تیرویید (Thyroid stimulating hormone یا TSH) و یا نقص در تولید هورمون آزادکننده‌ی تیروتروپین (Thyrotropin-releasing hormone یا TRH) و در نهایت عوامل جانبی شامل اختلال در عبور هورمون‌های تیرویید، متابولیسم یا مقاومت به عملکرد هورمون‌های تیرویدی هستند (۶-۴).

بر اساس مطالعات ژنتیکی انجام شده، تاکنون جهش‌های غیر فعال‌کننده‌ی متعددی در ژن‌های کدکننده‌ی فاکتورهای رونویسی مختلف شامل TTF1 (Thyroid transcription factor)، TTF2، NKX2.1، NKX2.5 و PAX8 و نیز TSH و گیرنده‌ی آن که گاه در ارگانوژنز و یا مهاجرت سلول‌های تیرویید نقش کلیدی دارند، در کم کاری مادرزادی تیرویید با اتیلوژی دیسژنزی تیرویید گزارش شده‌اند. از طرفی دیگر، جهش در ژن‌های مرتبط با مسیر سنتز هورمون‌های تیرویید نظیر انتقال‌دهنده‌ی ید (NIS یا Sodium iodide symporter)، تیروگلوبولین (TG یا Thyroglobulin)، تیرویید پراکسیداز (TPO یا Thyroid peroxidase)، تیرویید اکسیداز ۲ (Dual oxidase 2 یا DUOX2) و Pendrin (Pendred syndrome یا PDS) موجب بروز طیف متفاوتی از کم کاری مادرزادی تیرویید دایمی با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز همراه یا بدون گواتر می‌گردد (۱۴-۷).

ژن Dual Oxiadase 2 (GenBank Accession no. NT_010194) که تحت عنوان ژن DUOX2 نیز شناخته شده است در موقعیت کروزومی 15q15.3، ناحیه‌ای به طول ۲۱/۵ کیلودالتون را پوشش می‌دهد (۱۵) که شامل ۳۳ اگزون است و پروتئینی به طول ۱۵۵۱ اسید آمینه را کد می‌کند. این ژن به عنوان سیستم تولیدکننده‌ی H_2O_2 در طی روند تولید هورمون تیرویید شناخته شده است (۱۷-۱۶). بر اساس مطالعات انجام شده در این زمینه نقص در سیستم تولیدکننده‌ی H_2O_2 باعث بروز کم کاری مادرزادی تیرویید می‌شود (۱۹-۱۸، ۱۶). بدین ترتیب نقص در ژن DUOX2 باعث عدم تولید H_2O_2 می‌شود. بنابراین این پروتئین و فعالیت ژن مربوط برای سنتز هورمون تیرویید ضروری می‌باشد، چرا که تیرویید پراکسیداز (TPO) برای فعالیت خود به عنوان کاتالیزور در سنتز هورمون به H_2O_2 نیاز دارد.

مطالعات انجام شده در این زمینه گویای آن است که نقص یا جهش‌های هتروژن ژن DUOX2 باعث نقص نسبی در ارگانیفیکاسیون ید می‌شود و منجر به بروز نوع خفیف کم کاری مادرزادی گذرای تیرویید می‌گردد. در حالی که جهش‌های هوموژن ژن DUOX2 باعث نقص

www.mui.ac.ir

کامل در ارگانیفیکاسیون ید می‌گردد و منجر به بروز نوع شدید و دایمی کم کاری مادرزادی تیرویید می‌شود (۲۰). با این وجود یافته‌های برخی مطالعات که به تازگی انجام شده است وجود جهش‌های هوموژن ژن DUOX2 را در کم کاری مادرزادی گذرای تیرویید نیز گزارش نموده‌اند (۲۱). بر اساس این مطالعات این جهش‌ها در موارد خانوادگی نیز گزارش شده‌اند (۲۰).

جهش R434X یکی از جهش‌هایی است که همراه با نقص در آلی‌سازی ید می‌باشد. این جهش Nonsense است که باعث تولید یک پروتئین ناقص قبل از اولین دمین ترانس‌ممبران (Transmembrane domain) می‌شود و به لحاظ فنوتیپی مشابه نقص تیروپروکسیداز می‌باشد (۲۰).

با در نظر گرفتن شیوع بالای کم کاری مادرزادی تیرویید در جامعه، متفاوت بودن اتیولوژی بیماری در مقایسه با سایر جوامع و نیز درصد بالای ازدواج‌های فامیلی در جامعه‌ی ما (۲۳-۲۲) و نیز با توجه به نقش ژن DUOX2 در بروز کم کاری مادرزادی گذرای تیرویید و کم کاری مادرزادی دایمی تیرویید با اتیولوژی دیس‌هومونوژنز و در ادامه‌ی مطالعه‌ی پیشین مجری این طرح (۲۴)، هدف از این مطالعه، بررسی جهش R434X ژن DUOX2 در بیماران مبتلا به کم کاری مادرزادی تیرویید دایمی با اتیولوژی دیس‌هومونوژنز و گذرا، در شهر اصفهان بود تا شاید با تعیین اساس مولکولی این بیماری دستیابی به پاتوفیزیولوژی بیماری هموارتر گردد.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی مورد- شاهدی، بر اساس نتایج مربوط به غربالگری نوزادان از سال ۱۳۸۱ تاکنون، بیماران مبتلا به کم کاری مادرزادی تیرویید که تحت درمان و پیگیری در مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم اصفهان بودند و پس از طی دوران سه ساله‌ی ابتدایی درمان تحت بررسی قرار گرفتند و تشخیص کم کاری مادرزادی گذرا یا دایمی تیرویید با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز برای آن‌ها گذاشته شد (۲۳)، مورد مطالعه قرار گرفتند. یک گروه از کودکان با نتایج غربالگری طبیعی نیز به عنوان گروه شاهد فراخوان شدند.

در طرح غربالگری کم کاری مادرزادی تیرویید پس از سه سال درمان و پیگیری، توصیه می شود درمان کودک مبتلا به مدت ۶-۴ هفته قطع گردد و سپس آزمایشات TSH، T4 (Thyroxine) و سونوگرافی و یا اسکن تیرویید درخواست شود. بر اساس نتایج حاصل از آزمایشات بیوشیمیایی و بررسی‌های رادیولوژیک موارد هیپوتیرویدی دایمی و گذرا مشخص می‌گردند. در صورت آزمایش غیر طبیعی و سونوگرافی یا اسکن طبیعی تشخیص دیس‌هورمونوژنز و در صورت آزمایش طبیعی و سونوگرافی یا اسکن طبیعی تشخیص کم کاری مادرزادی تیرویید گذرا داده می‌شود.

این مطالعه توسط کمیته‌ی اخلاق و معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأیید و تصویب گردید. پس از انتخاب افراد مورد مطالعه و فراخوان آن‌ها به مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، والدین کودکان مورد مطالعه در مورد مراحل مطالعه و اهداف آن و اهمیت طرح توجیه شدند، رضایت کتبی جهت مشارکت در طرح از آن‌ها کسب شد.

در طی این طرح کودکان مورد مطالعه توسط پزشک عمومی همکار طرح معاینه شدند و پس از گرفتن شرح حال دقیق و تکمیل پرسشنامه‌ای شامل

www.mui.ac.ir

اطلاعات دموگرافیک و نیز اطلاعات مربوط به یافته‌های غربالگری شامل مقادیر TSH و T4 اولیه (غربالگری) و مقادیر TSH و T4 پس از قطع درمان در سه سالگی تکمیل شد. سپس از کودکان مورد بررسی نمونه‌ی خون وریدی کوبیتال (۴ سی‌سی نمونه‌ی خون در لوله‌ی EDTA و ۴ سی‌سی نمونه‌ی خون در لوله‌ی هپارین) جمع‌آوری شد و به آزمایشگاه ژنتیک ارسال گردید.

در آزمایشگاه ژنتیک برای بررسی مولکولی، DNA نمونه‌های دریافت شده با استفاده از کیت QIAmp blood mini kit (Qiagen germany) DNA استخراج شد. سپس بانک DNA بیماران تهیه گردید و با استفاده از تکنیک Real time PCR-HRM (Real-time Polymerase chain reaction-High-resolution melt) با پرایمرهای اختصاصی توالی‌ها تعیین شد و جهش R434X بررسی شد.

اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون‌های آماری χ^2 و Lambda، Phi، Cramer و ضریب همبستگی Pearson مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه به ترتیب ۲۵ و ۳۳ کودک مبتلا به کم کاری مادرزادی گذرا و دایمی تیرویید با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز و ۳۰ کودک به عنوان گروه شاهد با استفاده از روش Real time PCR-HRM مورد مطالعه قرار گرفتند. اطلاعات دموگرافیک افراد مورد مطالعه در سه گروه در جدول ۱ ارائه گردیده است.

در بررسی مولکولی بیماران از لحاظ دارا بودن جهش R434X هیچ موردی از جهش یافت نشد.

جدول ۱. اطلاعات دموگرافیک و شاخص‌های تیرویید در کودکان مبتلا به کم کاری مادرزادی گذرا و دایمی تیرویید با اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز و گروه شاهد

	کم کاری مادرزادی گذرا	کم کاری مادرزادی دایمی	کودکان سالم
سن (ماه)*	۶۸/۲ ± ۲۵/۵	۶۴/۶ ± ۲۳/۷	۶۹/۳ ± ۲۷/۲
جنس (پسر/دختر)**	۱۸/۷	۱۵/۱۸	۱۹/۱۱
سابقه‌ی ازدواج فامیلی***	۶۹	۶۲	۳۹
TSH (میلی‌واحد در لیتر)*			
اولیه	۲۵/۵ ± ۱۹/۷	۴۷/۳ ± ۴۶/۱	۴/۵ ± ۲/۷
پس از قطع درمان	۳/۹ ± ۲/۰	۳۶/۵ ± ۳۰/۷	
T4 (میکروگرم در دسی‌لیتر)*			
اولیه	۵/۷ ± ۳/۵	۶/۲ ± ۳/۵	۱۱/۶ ± ۳/۹
پس از قطع درمان	۸/۱ ± ۱/۹	۷/۱ ± ۲/۹	

*: انحراف معیار ± میانگین
**: تعداد/تعداد
***: درصد

TSH: Thyroid stimulating hormone
T4: Thyroxine

www.mui.ac.ir

بحث

در این مطالعه، همگام با سایر مطالعات انجام شده در طی غربالگری کم کاری مادرزاد تیروییید در اصفهان و به منظور بررسی علل ژنتیکی این بیماری شایع در اصفهان جهش R434X ژن DUOX2 در بیماران مبتلا به کم کاری مادرزادی تیروییید دایمی با اتیولوژی دیس‌هومونوژنز و گذرا بررسی شد. بر اساس نتایج حاصل در هیچ کدام از بیماران جهش ژن مذکور مشاهده نگردید.

ژن DUOX2 به عنوان سیستم تولیدکننده‌ی H_2O_2 طی روند تولید هورمون تیروییید شناخته شده است (۱۷-۱۶). بر اساس مطالعات انجام شده در این زمینه، نقص در سیستم تولیدکننده‌ی H_2O_2 باعث عدم تولید آن و نقص در آلی‌سازی ید و در نهایت اختلال در سنتز هورمون تیرو یید و بروز کم کاری مادرزادی تیروییید می‌گردد.

مطالعات انجام شده در کودکان مبتلا به کم کاری مادرزادی تیروییید و نیز بر روی حیوانات، نقش اساسی ژن DUOX2 را در سنتز هورمون تیروییید نشان داده‌اند (۲۵). حاصل این مطالعات که در طی غربالگری کم کاری مادرزادی تیروییید در نقاط مختلف جهان انجام شده است، شناسایی ۲۳ جهش در ژن مذکور می‌باشد. این جهش‌ها شامل ۱۱ موتاسیون شبه پراکسیدازی خارج سلولی (Extracellular peroxidase-like domain)، ۱۱ جهش در حلقه‌ی اول بلند (First long intracellular loop) و یک جهش در حلقه‌ی دوم داخل سلولی می‌باشد (۲۶). مطالعات موجود در اصفهان از ابتدای طرح غربالگری کم کاری مادرزادی تیروییید گویای شیوع بالای کم کاری مادرزادی تیروییید دایمی با اتیولوژی دیس‌هومونوژنز و کم کاری مادرزادی گذرای تیروییید بوده است (۲۲). با توجه به این که در افراد دارای نقص در سیستم تولیدکننده‌ی H_2O_2 به دنبال جهش‌های ژن DUOX2 و به دلیل نقش محوری H_2O_2، هورمون‌های تیروییید حتی در صورت عدم کمبود ید سنتز نمی‌شوند. درصد بالایی از بیماران مبتلا به کم کاری مادرزادی تیروییید در اصفهان مبتلا به دیس‌هورمونوژنز غده هستند. در این مطالعه سعی شد یکی دیگر از جهش‌های ژن مذکور در بیماران ساکن اصفهان بررسی شود. در مطالعه‌ی پیشین ما در گروه مورد مطالعه‌ی ما نقش سه جهش Q36H، D506N و R376W بررسی گردید و هیچ جهشی گزارش نشد (۲۴). در این مطالعه نیز در ادامه‌ی مطالعه‌ی مذکور جهش R434X ژن DUOX2 مورد مطالعه قرار گرفت. این جهش یکی از جهش‌های شناخته‌شده‌ی هموزیگوت خارج سلولی می‌باشد.

در بررسی متون، اولین جهش ژن مذکور توسط Moreno و همکاران در آمستردام گزارش شده است (۲۰) و پس از آن جهش مذکور در بیماران مبتلا به کم کاری مادرزادی تیروییید بررسی نشده است و یا هیچ موردی گزارش نشده است. در مطالعه‌ی Moreno و همکاران بر روی ۴ بیمار مبتلا به کم کاری مادرزادی تیروییید، یک نفر مبتلا به کم کاری مادرزادی دایمی و فاقد توانایی آلی‌سازی ید به طور کامل بود. مطالعه‌ی ژنتیکی صورت گرفته روی این بیمار وجود جهش هوموزیگوت R434X را ثابت نمود (۲۰). جهش R434X یک جهش Nonsense است که باعث تولید یک پروتئین ناقص قبل از اولین دمین ترانس‌ممبران می‌شود و همراه با نقص در آلی‌سازی ید می‌باشد.

در این مطالعه هیچ موردی از جهش‌های فوق در دو گروه از کودکان مبتلا به کم کاری مادرزادی گذرا

www.mui.ac.ir

و دایمی تیروییدبا اتیولوژی دیس‌هورمونوژنز گزارش نگردید. علت این یافته‌ها را می‌توان به چند دلیل توضیح داد. به نظر می‌رسد یک دلیل، تفاوت‌های نژادی افراد مورد مطالعه باشد که در مطالعات پیشین نیز به آن اشاره شده است (۲۷). از عوامل دیگر می‌توان به کوچک بودن جامعه‌ی مورد مطالعه اشاره کرد. به علاوه احتمال دارد که جهش در سایر نقاط ژن و دیگر ژن‌های دخیل در کم کاری مادرزادی گذرا و دیس‌هورمونوژنز تیروییدبا در بروز بیماری در جمعیت مورد مطالعه‌ی ما نقش داشته باشند که نیازمند بررسی‌های بیشتری است.

در این تحقیق جهش ژنی در نواحی اگزونی ژن DUOX2 بررسی گردید. در حالی که بر اساس برخی مطالعات احتمال دارد که جهش در ناحیه‌ی اینترونی و تنظیمی ژن مذکور وجود داشته باشد (۲۸) که نیازمند بررسی است.

با توجه به یافته‌های حاصل از این پژوهش به نظر می‌رسد، بهتر است مطالعات دیگری با استفاده از روش‌های بررسی ژنی در حجم نمونه‌ی بالاتر و به منظور شناسایی جهش‌های بومی این ژن انجام شود.

علاوه بر این، بررسی جهش‌های سایر ژن‌های دخیل در اتیولوژی کم کاری مادرزادی گذرا و دیس‌هورمونوژنز تیروییدبا شامل ژن‌های کانال غشایی سدیم ید، تیروگلوبولین و پندرین ضروری می‌باشد تا بتوان بدین طریق به اساس ژنتیکی این بیماری شایع در منطقه پی برد.

References

1. Klett M. Epidemiology of congenital hypothyroidism. Exp Clin Endocrinol Diabetes 1997; 105(Suppl 4): 19-23.
2. Rastogi MV, LaFranchi SH. Congenital hypothyroidism. Orphanet J Rare Dis 2010; 5: 17.
3. Foley TJ. Congrnital hypothroidism. In: Braverman L, Utiger R, editors. Werner and Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text. 7th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 1996. p. 988-94.
4. Toublanc JE. Comparison of epidemiological data on congenital hypothyroidism in Europe with those of other parts in the world. Horm Res 1992; 38(5-6): 230-5.
5. Park SM, Chatterjee VK. Genetics of congenital hypothyroidism. J Med Genet 2005; 42(5): 379-89.
6. Clifton-Bligh RJ, Wentworth JM, Heinz P, Crisp MS, John R, Lazarus JH, et al. Mutation of the gene encoding human TTF-2 associated with thyroid agenesis, cleft palate and choanal atresia. Nat Genet 1998; 19(4): 399-401.
7. Congdon T, Nguyen LQ, Nogueira CR, Habiby RL, Medeiros-Neto G, Kopp P. A novel mutation (Q40P) in PAX8 associated with congenital hypothyroidism and thyroid hypoplasia: evidence for phenotypic variability in mother and child. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86(8): 3962-7.
8. Vilain C, Rydlewski C, Duprez L, Heinrichs C, Abramowicz M, Malvaux P, et al. Autosomal dominant transmission of congenital thyroid hypoplasia due to loss-of-function mutation of PAX8. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86(1): 234-8.
9. Meeus L, Gilbert B, Rydlewski C, Parma J, Roussie AL, Abramowicz M, et al. Characterization of a novel loss of function mutation of PAX8 in a familial case of congenital hypothyroidism with in-place, normal-sized thyroid. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89(9): 4285-91.
10. Pohlenz J, Dumitrescu A, Aumann U, Koch G, Melchior R, Prawitt D, et al. Congenital secondary hypothyroidism caused by exon skipping due to a homozygous donor splice site mutation in the TSHbeta-subunit gene. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87(1): 336-9.
11. Borck G, Topaloglu AK, Korsch E, Martine U, Wildhardt G, Onenli-Mungan N, et al. Four new cases of congenital secondary hypothyroidism due to a splice site mutation in the thyrotropin-beta gene: phenotypic variability and founder effect. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89(8): 4136-41.
12. Abramowicz MJ, Duprez L, Parma J, Vassart G, Heinrichs C. Familial congenital hypothyroidism due to inactivating mutation of the thyrotropin receptor causing profound hypoplasia of the thyroid gland. J Clin Invest 1997; 99(12): 3018-24.

www.mui.ac.ir

13. Tonacchera M, Agretti P, Pinchera A, Rosellini V, Perri A, Collecchi P, et al. Congenital hypothyroidism with impaired thyroid response to thyrotropin (TSH) and absent circulating thyroglobulin: evidence for a new inactivating mutation of the TSH receptor gene. J Clin Endocrinol Metab 2000; 85(3): 1001-8.
14. Fujiwara H. Congenital hypothyroidism caused by a mutation in the Na+/I-symporter. Nat Genet 1997; 17(1): 122.
15. de Deken, X, Wang D, Many MC, Costagliola S, Libert F, Vassart G, et al. Cloning of two human thyroid cDNAs encoding new members of the NADPH oxidase family. J Biol Chem 2000; 275(30): 23227-33.
16. Niepomniszcze H, Targovnik HM, Gluzman BE, Curutchet P. Abnormal H2O2 supply in the thyroid of a patient with goiter and iodine organification defect. J Clin Endocrinol Metab 1987; 65(2): 344-8.
17. Dupuy C, Ohayon R, Valent A, Noel-Hudson MS, Deme D, Virion A. Purification of a novel flavoprotein involved in the thyroid NADPH oxidase. Cloning of the porcine and human cdnas. J Biol Chem 1999; 274(52): 37265-9.
18. Kusakabe T. Deficient cytochrome b5 reductase activity in nontoxic goiter with iodide organification defect. Metabolism 1975; 24(10): 1103-13.
19. Figueiredo MD, Cardoso LC, Ferreira AC, Campos DV, da Cruz DM, Corbo R, et al. Goiter and hypothyroidism in two siblings due to impaired Ca(+2)/NAD(P)H-dependent H(2)O(2)-generating activity. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86(10): 4843-8.
20. Moreno JC, Bikker H, Kempers MJ, van Trotsenburg AS, Baas F, de Vijlder JJ, et al. Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism. N Engl J Med 2002; 347(2): 95-102.
21. Maruo Y, Takahashi H, Soeda I, Nishikura N, Matsui K, Ota Y, et al. Transient congenital hypothyroidism caused by biallelic mutations of the dual oxidase 2 gene in Japanese patients detected by a neonatal screening program. J Clin Endocrinol Metab 2008; 93(11): 4261-7.
22. Hashemipour M, Hovsepian S, Kelishadi R, Iranpour R, Hadian R, Haghighi S, et al. Permanent and transient congenital hypothyroidism in Isfahan-Iran. J Med Screen 2009; 16(1): 11-6.
23. Hashemipour M, Amini M, Talaie M, Kelishadi R, Hovespian S, Iranpour R, et al. Parental consanguinity among parents of neonates with congenital hypothyroidism in Isfahan. East Mediterr Health J 2007; 13(3): 567-74.
24. Rostampour N, Tajaddini M, Hashemipour M, Salehi M, Feizi A, Haghjooy Javanmard Sh. The mutation of dual oxidase 2 (DUOX2) gene among patients with permanent and transient congenital hypothyroidism. J Isfahan Med Sch 2011; 29(139): 588-95.
25. Johnson KR, Marden CC, Ward-Bailey P, Gagnon LH, Bronson RT, Donahue LR. Congenital hypothyroidism, dwarfism, and hearing impairment caused by a missense mutation in the mouse dual oxidase 2 gene, Duox2. Mol Endocrinol 2007; 21(7): 1593-602.
26. Grasberger H, Refetoff S. Genetic causes of congenital hypothyroidism due to dyshormonogenesis. Curr Opin Pediatr 2011; 23(4): 421-8.
27. Tonacchera M, de Marco G, Agretti P, Montanelli L, Di CC, Freitas Ferreira AC, et al. Identification and functional studies of two new dual-oxidase 2 (DUOX2) mutations in a child with congenital hypothyroidism and a eutopic normal-size thyroid gland. J Clin Endocrinol Metab 2009; 94(11): 4309-14.
28. Niu DM, Hwang B, Chu YK, Liao CJ, Wang PL, Lin CY. High prevalence of a novel mutation (2268 insT) of the thyroid peroxidase gene in Taiwanese patients with total iodide organi-fication defect, and evidence for a founder effect. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87(9): 4208-12.

www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol. 30, No. 211, 1st week, January 2013 Received: 15.9.2012 Accepted: 14.11.2012

R434X Mutation in Dual Oxidase 2 Gene among Patients with Permanent and Transient Congenital Hypothyroidism

Omid Khoshnoud[1], Mohammad Hassan Tajaddini[2], Mahin Hashemipour MD[3], Mansour Salehi PhD[4], Awat Feizi PhD[5], Shaghayegh Haghjooy Javanmard MD, PhD[6], Roya Kelishadi MD[3], Silva Hovsepian MD[7], Masoud Amini MD[8]

Abstract

Background: The prevalence of congenital hypothyroidism (CH) is high in Isfahan (Iran). Considering the high rate of parental consanguinity and the role of dual oxidase 2 (DUOX2) gene in transient and permanent CH due to thyroid dyshormonogenesis, the aim of this research was to investigate the R434X mutation in DUOX2 gene in patients with transient and permanent CH due to dyshormonogenesis.

Methods: In this descriptive prospective study, patients diagnosed with transient and permanent CH due to dyshormonogenesis (n = 25 and 33, respectively) during CH screening program were selected. Moreover, 30 children were included as the control group. Venous blood samples were obtained to determine the frequency of R434X mutation in DUOX2 gene using real time polymerase chain reaction based on high-resolution melting analysis by specific primers and sequencing method.

Findings: We did not find any case of the mentioned R434X mutation in DUOX2 gene.

Conclusion: Further studies using other methods and on other gene mutations such as pendrin, sodium iodide symporter (NIS) and thyroglobulin are required for more accurate results.

Keywords: Congenital hypothyroidism, Dual oxidase 2 gene, Permanent, Transient

* This paper is derived from a medical doctorate thesis in Isfahan University of Medical Sciences.

[1] Student of Medicine, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[2] MSc Student, Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy AND Isfahan Pharmaceutical Sciences Research Center AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[3] Professor, Child Growth and Development Research Center AND Department of Pediatrics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[4] Associate Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[5] Assistant Professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[6] Associate Professor, Department of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[7] Researcher, Child Growth and Development Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[8] Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine AND Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Mohammad Hassan Tajaddini, Email: tajaddini@pharm.mui.ac.ir