خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۸ شماره ۴ زمستان ۹۰ (۳۰۵-۲۹۸)

مقاله پژوهشی

بررسی مولکولی فاکتور A-۱۳ انعقادی در بیماران با کمبود ارثی فاکتور ۱۳

غلامحسین تمدن[۱]، احمد کاظمی[۲]، قاسم رستگاری[۳]، فریدون علاء[۴]، شبنم حجازی[۵]

چکیده

سابقه و هدف

فاکتور۱۳ انعقادی، آخرین آنزیم آبشار انعقادی است و ژن زیر واحد A روی کروموزم شش قرار گرفته است. کمبود ارثی فاکتور ۱۳، در حدود ۱/۲۰۰۰۰۰۰ نفر جمعیت رخ می‌دهد. این تحقیق با هدف شناسایی جهش‌ها در ژن زیر واحد A بیماران و روش غربالگری مناسب ناقلین انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه کاربردی، پس از تکمیل فرم رضایت‌نامه، نمونه خون از ۲۱ بیمار مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ و خانواده آن‌ها گرفته شد. ابتدا هر اگزون از ژن تکثیر داده و سپس با روش الکتروفورز ژل حساس بررسی شد. چنانچه هر اگزون بر روی ژل دارای هترودوبلکس بود، جهت سکانس انتخاب می‌شد. پس از تعیین موتاسیون، غربالگری ناقلین هر خانواده با روش RFLP صورت گرفت.

یافته‌ها

جهش‌های شناسایی شده شامل دوازده بیمار در اگزون ۴ به علت جایگزینی T به جایC، یک بیمار دخول سه تایی G در اگزون ۷، دو بیمار با جهش جایگزینی T به جای C در اگزون ۹، سه بیمار جایگزینی G به جای A در اگزون۱۰ و سه بیمار به علت جایگزینی G به جای A در اگزون ۱۵ بود.

نتیجه گیری

نتایج تحقیق نشان داد که ناحیه مرکزی آنزیم نسبت به تغییرات بار الکتریکی و دنباله اسیدهای آمینه بسیار حساس می‌باشد، به همین علت جهش‌های مؤثر بر این ناحیه موجب تغییر شدید فعالیت آنزیم شده است. از طرفی حوزه‌های مرتبط با کلسیم این پروتئین، در ایجاد ساختار چهار زنجیره‌ای نیز به تغییرات نوع اسید آمینه به علت جهش در ژن بسیار حساس می‌باشند که می‌تواند در غربالگری ناقلین بسیار مفید باشد.

کلمات کلیدی: فاکتور ۱۳، کمبود فاکتور ۱۳، فاکتورهای انعقادی خون، هموفیلی

تاریخ دریافت : ۸۹/۱۰/۲۷
تاریخ پذیرش : ۵ /۸ /۹۰

۱ـ کارشناس ارشد هماتولوژی ـ مربی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان ـ ایران
۲- مؤلف مسؤول: PhD هماتولوژی ـ دانشیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۶۱۸۳-۱۴۱۵۵
۳- PhD هماتولوژی ـ استادیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران ـ ایران
۴- فوق تخصص خون و انکولوژی ـ درمانگاه جامع کودکان هموفیل ایران ـ تهران ـ ایران
۵- کارشناس علوم آزمایشگاهی ـ درمانگاه جامع کودکان هموفیل ایران ـ تهران ـ ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

مقدمه

فاکتور ۱۳ انعقادی، پروآنزیمی است که در حالت فعال، خاصیت ترانس گلوتامینازی دارد(۱). این فاکتور آخرین واکنش آبشار انعقادی را کاتالیز کرده و لخته فیبرینی فاقد پیوند کووالانسی، به وسیله فعالیت این آنزیم پایدار می‌شود. با این عمل، فیبرین در مقابل هجوم پلاسمین مقاوم می‌گردد(۲).

این فاکتور از دو زیر واحد A و B که ساختار تترامری (A2B2) دارد تشکیل شده است. این دو زیر واحد، توسط ژن‌های جدا از یکدیگر کد می‌شوند. ژن زیر واحد A با ۱۵ اگزون بر روی کروموزم ۶ و ژن زیر واحد B با ۱۲ اگزون بر روی کروموزم شماره ۱ قرار دارد(۳).

کمبود فاکتور۱۳ انعقادی، اختلال خونریزی‌دهنده نادری است که اولین مرتبه در سال ۱۹۶۰ توسط دوکرت گزارش شده است(۱). بیماران مبتلا، دچار علایم میل به خونریزی می‌شوند(۴). این اختلال به میزان تقریبی ۱/۲۰۰۰۰۰۰ نفر جمعیت رخ می‌دهد(۴).

از آن جا که زیر واحد A نقش کاتالیتیکی و B نقش حامل را دارد، قابل انتظار است که بروز بیماری بیشتر به علت جهش در ژن زیر واحد A باشد و در بررسی‌های انجام شده از نظر ژنتیکی، جهش‌های مختلفی که گزارش شده‌اند غالباً به علت جایگزینی باز می‌باشند(۴).

مطالعه‌های کریستالوگرافی، وجود چهار حوزه را در ساختمان زنجیره A (شامل ساندویچ بتا، بارل ۱ و ۲ مرکز کاتالیتیکی) نشان داده است(۵). این حوزه‌ها به وسیله پیوندهای هیدروژنی و نمکی با حوزه‌های مشابه در زنجیره A مقابل باند می‌شوند(۶، ۵).

هم چنین مشخص شده اسیدهای آمینه سیستئین ۳۱۴ (در اگزون ۷)، هیستیدین ۳۷۳ و آسپاراژین ۳۹۶ (هر دو در اگزون ۹) به عنوان تریاد کاتالیتیک در تشکیل باند ایزوپپتیدی شرکت می‌کنند(۶). فاکتور ۱۳ انعقادی برای فعال شدن نیاز به تاثیر ترومبین دارد. ترومبین با برش پیوند بین آرژنین ۳۷ و گلیسین ۳۸ در حضور پلیمر فیبرین، آنزیم را فعال می‌نماید. به همین دلیل است که بخش کد شونده اگزون ۱ در پروتئین فعال وجود ندارد و موجب جدایی زنجیره A از B می‌گردد(۶). با عملکرد آنزیم، باند پپتیدی بین گلوتامین از زنجیره گامای یک فیبرین و لیزین زنجیره گامای فیبرین دیگر ایجاد می‌شود(۷). این واکنش وابسته به یون کلسیم بوده و یک مولکول آمونیاک نیز آزاد می‌شود(۸). اتصالات عرضی ایجاد شده موجب استحکام فیبرین می‌گردد(۸).

ژن فاکتور A–۱۳ بر روی بازوی کوتاه کروموزم ۶ (6P24-P25) قرار دارد و دارای ۱۵ اگزون و بیش از ۱۶۰ کیلوباز طول می‌باشد. پروتئین کد شده توسط این ژن، ۷۳۱ اسید آمینه دارد(۹). هر چند پلی‌مورفیسم‌های متعددی در این ژن شناخته شده اما مهم‌ترین آن‌ها Val 34 Leu است که با اختلالات ترمبوتیک همراه می‌باشد(۱۰).

بازه طبیعی فعالیت فاکتور ۱۳ انعقادی بین ۵۰ تا ۲۲۰ درصد می‌باشد که طولانی‌ترین نیمه عمر(۱۰–۸ روز) را در بین فاکتورهای انعقادی دارد. چنانچه میزان فاکتور به کمتر از ۱ درصد برسد، علایم بالینی شامل خونریزی از بند ناف، دیر بهبود یافتن زخم‌ها، خونریزی درون جمجمه‌ای و سقط در خانم‌ها وخونریزی در بافت‌ها به صورت هماتوم و خونریزی طولانی به دنبال اعمال جراحی می‌باشد(۱۲، ۱۱).

بیماران با کمبود این فاکتور، آزمایش‌های انعقادی(PT ، PTT ، TT) طبیعی داشته اما آزمایش ذوب لخته در اوره ۵ مولار و یا اسیداستیک ۱ درصد غیر طبیعی دارند(۱۳). هر چند دقیق‌ترین روش تعیین جهش، تعیین توالی اسید نوکلئیک می‌باشد اما روش CSGE (Conformation Sensitive Gel Electrophoresis) روشی حساس، دقیق و ارزان برای تعیین جهش به خصوص جایگزینی می‌باشد(۱۴).

این مطالعه با هدف شناسایی جهش‌های اگزون ۲ تا ۱۵ ژن فاکتور A–۱۳ در مبتلایان به کمبود این فاکتور که آزمون حلالیت لخته در اسید استیک غیر طبیعی داشتند، در درمانگاه هموفیلی ایران و بیمارستان علی‌اصغر زاهدان تشکیل پرونده داده بودند و هیچ بررسی ژنتیکی بر روی آن ها صورت نگرفته بود، انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه از نوع بنیادی کاربردی بوده و بر روی بیماران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

با علایم بالینی میل به خونریزی، خونریزی از بند ناف در هنگام تولد، آزمایش‌های انعقادی(PT ، PTT، TT وBT) طبیعی و آزمایش حل شدن لخته غیر طبیعی که در بایگانی درمانگاه هموفیلی ایران و بیمارستان علی‌اصغر زاهدان ثبت شده بودند، انجام شد. ابتدا رضایت‌نامه انجمن هموفیلی ایران تکمیل و شجره‌نامه مربوط به هر خانواده در پرونده بیماران رسم شد(خانواده‌ها نسبت فامیلی با یکدیگر نداشتند).

سپس به روش نمونه‌گیری در دسترس، نمونه خون از ۲۱ بیمار و ۲۴ نفر از خانواده بیماران که در مجموع ۴۵ نفر بودند، در ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شد. به روش هضم لکوسیت‌ها با کمک آب مقطر سرد، پروتئیناز K ، دترجنت‌های یونی و اتانل، DNA استخراج شد(۱۵). جهت ارزیابی کمیت و کیفیت DNA از روش اسپکتروفوتومتری استفاده شد. توالی ژن فاکتور ۱۳ از بانک ژن استخراج و آغازگرهای هر اگزون از بایگانی فاکتور ۱۳ انتخاب و به صورت تجاری خریداری شد(۱۶). هر اگزون طبق برنامه PCR (حرارت ºC ۹۵ به مدت ۵ دقیقه، ºC ۹۵ به مدت ۱ دقیقه، ºC ۶۰ به مدت ۱ دقیقه، ºC ۷۲ به مدت ۱ دقیقه و ºC ۷۲ به مدت ۵ دقیقه در ۳۰ سیکل) تکثیر داده شد.

پس از تکثیر محصولات PCR بر روی ژل اکریلامید ۸ درصد و با ولتاژ و زمان مناسب بر حسب اندازه قطعه، الکتروفورز انجام شد و بعد از رنگ‌آمیزی توسط اتیدیوم بروماید، مورد ارزیابی قرار گرفت.

پس از PCR ، هر اگزون بر اساس روش CSGE غربالگری گردید. محصولات PCR در دمای ºC ۹۸ به مدت ۵ دقیقه جهت دناتوره کردن و ºC ۶۵ به مدت ۳۰ دقیقه برای آنیلینگ مجدد قرار داده شد. پس ازآن با الکتروفورز بر روی ژل CSGE (اتیلن گلیکول ۱۰ درصد ، فرمامید۱۵ درصد، اکریلامید BAP ۱۰ درصد و ۰/۵ درصد TTE20x)، اگزون‌هایی که دارای هتروودوبلکس بودند با احتمال وجود موتاسیون انتخاب و محصول PCR همان اگزون با استفاده از دستگاه آلف اکپرس(آمرشیم فارماسیا ـ بیوتک) تعیین توالی شده و جهش بیماران شناسایی شد. پس از مشخص شدن جهش، هموزیگوتی توالی‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار ژن رانر(ver: ۳/۰۵) با توالی طبیعی مطابقت داده و موتاسیون ایجاد شده شناسایی شد. هم چنین آنزیم اختصاصی برای جهش یافت شده به منظور تایید و سهولت استفاده به روش RLFP تعیین شد. از روش RLFP به منظور غربالگری و شناسایی ناقلین استفاده شد. سایر نتایج با جهش‌های موجود در بایگانی جهش‌های ثبت شده فاکتور ۱۳ و NCBI مقایسه و در پایگاه NCBI به ثبت رسید.

یافته‌ها

در این تحقیق ۲۱ بیمار که دارای علایم بالینی میل به خونریزی، آزمایش‌های انعقادی طبیعی و آزمون حل شدن لخته غیر طبیعی در اسید استیک بودند و ۲۴ نفر خانواده قابل دسترس که در درمانگاه جامع هموفیلی ایران و بیمارستان علی‌اصغر زاهدان ثبت نام شده بودند، به روش نمونه‌گیری در دسترس، بدون در نظر گرفتن سن و جنس انتخاب شدند.

بعد از انجام PCR هر اگزون و بررسی به روش CSGE و تعیین توالی، به تفکیک مشخص شد ۱۲ بیمار دارای جهش مشترک در اگزون ۴ به شکل تغییر توالی TGG کدکننده تریپتوفان به CGG کدکننده آرژنین، بودند (Try187Arg)(شکل‌های ۳-۱). از این تعداد ۱۱ بیمار اهل زاهدان بودند. پس از مقایسه توالی طبیعی با نوع جهش یافته، مشخص شد که آنزیم Styl-1 قادر است که قطعه تکثیر یافته ۳۵۵ بازی را در افراد سالم در نقطه ۳۰۰ برش داده و آن را به دو قسمت تبدیل کند اما بیماران هیچ جایگاه برشی برای این آنزیم نداشتند(شکل ۴).

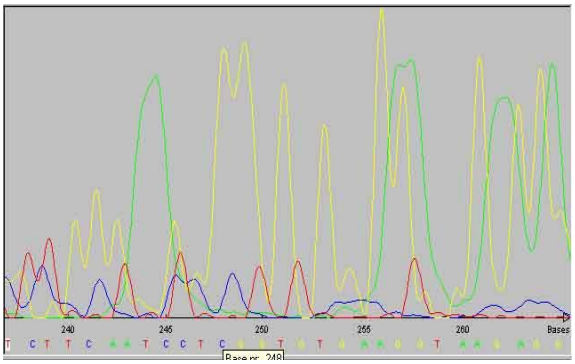
به دنبال تعیین آنزیم، نمونه‌های خانواده بیماران به روش ریال RFLP جهت تعیین ناقل بودن مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یک بیمار با جهش اگزون ۷ از نوع دخول سه باز G که موجب اضافه شدن اسید آمینه گلایسین در موقعیت ۲۸۶ شده بود، مشخص گردید(شکل‌های ۵ و ۶).

در مقایسه با DNA سالم که فاقد نقطه برش بود، بخش تکثیر یافته دارای ۲۹۴ باز بود که در DNA موتانت به وسیله آنزیم Acid-1 برش خورده و به دو قطعه ۱۲۲ و ۱۷۲ نوکلئوتیدی تبدیل شده بود. به دنبال غربالگری جهش

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

شکل ۱: ژل CSGE اگزون ۴ ژن فاکتور A-۱۳ ، حضور هترودوبلکس در چاهک‌های شماره ۵ تا ۸

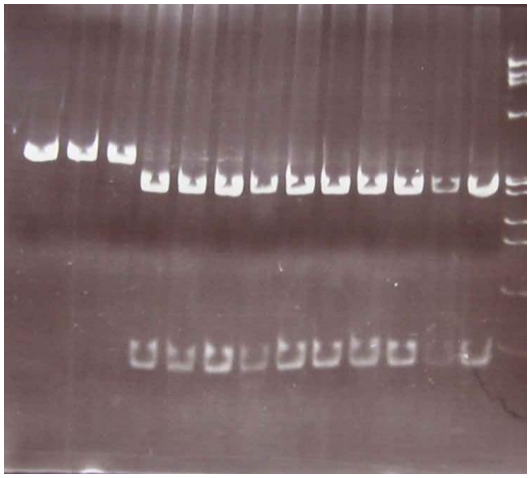


شکل ۲: سکانس اگزون ۴ ژن فاکتور A- ۱۳، جایگزینی C به جای T در مقایسه با سکانس فرد سالم

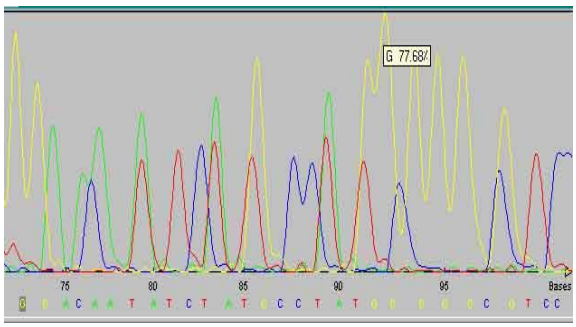
C G C T A C C C A C A G G A G A A C A A G
G G A A C C T A C A T C C C A G T G C C
T A T A G T C T C A G A G T T A C A A A G T
G G A A A G T G G G G G G C C A A G A T T
G T C A T G A G A G A G G A C A G G T C T
G T G C G G C T G T C C A T C C A G T C T T
C C C C C A A A T G T A T T G T G G G G A
A A T T C C G C A T G T A T G T T G C T G T
C T G G A C T C C C T A T G G C G T A C T T
C G A A C C A G T C G A A A C C C A G A A
A C A G A C A C G T A C A T T C T C T T C A
A T C C T T G G T G T G A A G

شکل ۳ :سکانس طبیعی رشته forward اگزون ۴ ژن فاکتور A-۱۳. باز مشخص شده T در انتهای اگزون ۴ ، محل موتاسیون است.

۱ ۲ ۳ ۴ ۵ ۶ ۷ ۸ ۹ ۱۰ ۱۱ ۱۲ ۱۳



شکل۴: چاهک‌های ۴-۲ مربوط به DNA بیماران که تحت اثر آنزیم Styl-1 قرارگرفته و هیچ گونه برشی در آن‌ها ایجاد نشده است. چاهک‌های ۴ به بعد مربوط به DNA نرمال بوده که تحت اثر آنزیم برش خورده و دو باند ایجاد گردیده است. چاهک اول مارکر می‌باشد.



شکل ۵ : سکانس اگزون ۷ ژن فاکتور A-۱۳بیمار، insertion ۳ باز G در مقایسه با سکانس فرد سالم

GTGAATGCCAAAGATGACGAAGGTGTCCT
CGTTGGATCCTGGGACAATATCTATGCCT
ATGGCGTCCCCCCATCGGCCTGGACTGGA
AGCGTTGACATTCTATTGGAATACCGGAG
CTCTGAGAATCCAGTCCGGTATGGCCAAT
GCTGGGTTTTTGCTGGTGTCTTTAACACA
T

شکل۶ : سکانس طبیعی اگزون ۷ ژن فاکتور A ۱۳

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

جدول ۱: جهش‌های یافت شده در زنجیره A فاکتور ۱۳، ۲۱ خانواده با کمبود فاکتور ۱۳

تعداد بیماران	اگزون	ناحیه	باز تغییر یافته	اسید آمینه تغییر یافته
۱۲	۴	مرکزی	TGG → CGG	Try 187 Arg
۱	۷	مرکزی	GGG insertion	Gly 286
۲	۹	مرکزی	ATG → AAG	Met 380 Lys
۳	۱۰	مرکزی	CGG → CAG	Arg 408 Gln
۳	۱۵	بارل ۲	GCC → GTC	Arg 703 Gln

جدول ۲: جهش‌های یافت شده در زنجیره A فاکتور ۱۳، ۲۴ نفر اعضای خانواده بیماران با کمبود فاکتور ۱۳

تعداد افراد خانواده بیماران شرکت‌کننده	اگزون	ناحیه	باز تغییر یافته	اسید آمینه تغییر یافته	تعداد افراد ناقل
۱۵	۴	مرکزی	TGG → CGG	Try 187 Arg	۱۲
۳	۹	مرکزی	ATG → AAG	Met 380 Lys	۲
۴	۱۰	مرکزی	CGG → CAG	Arg 408 Gln	۲
۱	۱۵	بارل ۲	GCC → GTC	Arg 703 Gln	۱

با روش CSGE برای تعداد ۲ بیمار در اگزون ۹ و تعیین توالی، مشخص شد که توالی ATG به AAG تغییر یافته که باعث تغییر Met ۳۸۰ Lys شده است(جدول ۱).

این اگزون ۲۴۱ باز طول داشته و آنزیم Mob II ، DNA موتانت را به دو قطعه ۱۳۵و ۱۰۶ بازی تبدیل و بر روی DNA سالم فاقد تاثیر می‌باشد. در اگزون ۱۰ مشخص گردید که ۳ بیمار دارای سکانس CAG در مقایسه با سکانس طبیعی CGG بودند که منجر به Arg 408 Gln شده است. با استفاده از نرم‌افزار ژن رانر، هیچ آنزیمی برای به کارگیری RFLP این اگزون یافت نشد. ۳ بیمار در اگزون ۱۵ دارای سکانس GCT بودند که در مقایسه با سکانس طبیعی GCC با توجه به جدول ۱، موجب جایگزینی گلوتامین به جای آرژنین در موقعیت ۷۰۳ می‌شود. آنزیم ALWN 1 ، اگزون ۱۵ را در وضعیت موتانت برش داده و این اگزون ۲۵۰ بازی را به دو قطعه ۱۰۵ و ۱۴۵ بازی تبدیل می‌نماید.

مطابق روش RFLP به منظور تعیین ناقلین، تمامی خانواده بیماران شرکت‌کننده در این طرح با این روش از جهت ناقل بودن مورد ارزیابی قرار گرفتند(جدول ۲).

بحث

در این مطالعه، ۲۱ بیمار دارای موتاسیون هموزیگوت و از ۲۴ نفر خانواده بیماران، ۱۵ نفر دارای جهش‌های هتروزیگوت و یا به عبارتی ناقل بودند. از ۱۲ بیماری که جهش اگزون ۴ به صورت تغییر توالی TGG به CGG را که موجب تغییر رمز تریپتوفان به جای آرژنین می‌شود داشتند، ۱۱ نفر از خانواده‌های ساکن استان سیستان و بلوچستان بودند. با توجه به بررسی عشقی و همکاران در سال ۲۰۰۴ بر روی ۱۶ خانواده از بیماران کمبود فاکتور ۱۳ این استان که عیناً همین جهش را گزارش نمودند، می‌توان انتظار داشت که این تغییر ژنتیکی به صورت یک جهش مشترک باشد، هر چند نیاز به مطالعه بیشتری در بین بیماران این منطقه می‌باشد(۱۷).

از طرفی با توجه به ازدواج‌های قومی و فامیلی، انتظار می‌رود که جمعیت افراد مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ در این استان بیشتر از موارد گزارش شده در جمعیت عمومی باشد و با توجه به علایم بالینی گزارش شده توسط عشقی و همکاران در سال ۲۰۰۴ ، غربالگری بالینی مراجعین به مراکز درمانی منطقه زاهدان قابل توجه است(۱۸). از آن

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

جایی که آنزیم styl-1 قادر است قطعه تکثیر یافته ۳۵۵ بازی اگزون ۴ را در افراد سالم در نقطه ۳۰۰ برش دهد و آن را به دو بخش تقسیم کند و حال آن که بر روی DNA افراد موتانت فاقد اثر می‌باشد، لذا در این منطقه می‌توان به شیوه ساده RLFP به همراه مشاوره ژنتیکی قبل از ازدواج، ناقلین را غربالگری نمود.

بیماران جهت پیشگیری از خونریزی و بالا نگه داشتن سطح فاکتور ۱۳ نیاز به تزریق فاکتور ۱۳ تغلیظ شده دارند لذا با توجه به تعداد افراد ثبت نام شده در بخش هموفیلی بیمارستان علی‌اصغر زاهدان، لزوم تهیه فاکتور ۱۳ تغلیظ شده ضروری به نظر می‌رسد(۱۹). جهش شناسایی شده در اگزون ۴ در بخش بتا ساندویچ و ابتدای ناحیه کاتالیتیکی می‌باشد که در اتصالات هیدروژنی و تشکیل پل‌های نمکی زنجیره A نقش دارد و هرگونه تغییر بار الکتریکی در این ناحیه موجب از هم گسستن دو زنجیره A می‌شود(۱۷).

اگزون ۷ و ۹ در کد کردن بخش ناحیه کاتالیتیکی شرکت دارند، مشخص شده که اسیدهای آمینه سیستئین ۳۱۴ و هیستیدین ۳۷۳ در اگزون ۷ و آسپاراژین ۳۹۶ در اگزون ۹ قرار دارند که به عنوان ترياد کاتالیتیکی در تشکیل باند ایزوپپتیدی رشته‌های فیبرین شرکت می‌کنند(۶). هر گونه تغییر بار الکتریکی و یا دنباله زنجیره‌ای اسیدهای آمینه به دنبال جابه‌جایی اسیدهای آمینه در این نواحی، به شدت فعالیت آنزیم را متاثر می‌سازد.

در این مطالعه، جهش‌های شناسایی شده با استفاده از مدل‌سازی پروتئین به کمک نرم‌افزار Ras Mol (version: ۲/۶) در وضعیت طبیعی و موتانت مورد مطالعه قرار گرفتند. مشاهده شد که قرارگیری یک گلایسین اضافی در اگزون ۷ به نظر می‌رسد که موقعیت سیستئین ۳۱۴ را در بخش کاتالیتیکی آنزیم جابه‌جا کرده و اثر فعالیت آن را به شدت کاهش دهد(۲۰).

جهش‌های یافت شده در اگزون‌های ۹ و ۱۰ که موجب جایگزینی اسید آمینه لیزین به جای متیونین در موقعیت ۳۸۰ و گلوتامین به جای آرژنین در موقعیت ۴۰۸ اگزون ۱۰ شده بود، احتمال داده می‌شود که باعث تاثیر بر روی ترياد کاتالیتیکی شده و از طرفی با تغییر بالانس الکتروستاتیکی، موجب کاهش تمایل آنزیم به سوبسترا می‌شود و دنباله لیزین و گلوتامین از طریق ایجاد ممانعت فضایی مانع از به فرم فعال در آمدن آنزیم می‌گردد(۲۱). جهش شناخته شده در اگزون ۱۵ بخش کد کننده در ناحیه بارل بوده که در تمایل و اتصال آنزیم به کلسیم و پیچ خوردگی آنزیم نقش دارد و حضور این ناحیه همراه با کلسیم برای قرارگیری وضعیت پایدار فعال برای فاکتور ۱۳ ضروری است(۲۲). احتمال داده می‌شود جایگزینی اسید آمینه آرژنین در موقعیت ۷۰۳ به وسیله گلوتامین، باعث کاهش تمایل آنزیم در اتصال به کلسیم و یا تغییر در پیچ خوردگی طبیعی آن و موجب ناپایداری و تجزیه زودرس آن گردیده باشد(۲۳).

نتیجه‌گیری

بررسی مولکولی ساختمان فاکتور A-۱۳ انعقادی و اگزون‌های کد کننده در وضعیت طبیعی و بیماری، نقش هر حوزه پروتئینی را در ساختار و عملکرد مشخص می‌نماید. به شکلی که تغییر یک باز به صورت هموزیگوت، منجر به بروز علایم بالینی می‌گردد. از طرفی با توجه به ازدواج‌های فامیلی و قومی در کشور، افزایش بروز جهش‌های ژنتیکی به ویژه اختلالات خونریزی‌دهنده را در پی خواهد داشت. لذا مشاوره ژنتیک قبل از ازدواج و بررسی مولکولی در خانواده‌هایی که علایم بالینی این گونه مشکلات را دارند در پیشگیری، شناسایی موارد هموزیگوت و هتروزیگوت و کنترل عوارض بیماری‌ها ضروری می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران و کارکنان گروه هماتولوژی دانشکده پیراپزشکی، تمامی بیماران و خانواده‌هایی که در این تحقیق مشارکت نموده و هم چنین عزیزان شاغل در درمانگاه جامع کودکان هموفیل ایران به ویژه مدیریت و همکاران آزمایشگاه ژنتیک که بی‌حمایت و راهنمایی آن‌ها این بررسی ممکن نبود، نهایت سپاسگزاری و تشکر را دارند.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

References :

1- Anwar R, Miloszewski KJ. Factor XIII deficiency. Br J Haematol 1999; 107(3): 468-84.
2- Ichinose A, Asahina T, Kobayashi T. Congenital blood coagulation factor XIII deficiency and perinatal management. Curr Drug Targets 2005; 6(5): 541-9.
3- Muszbek L, Yee VC, Heressy Z. Blood coagulation factor XIII: structure and function. Thromb Ress 1999; 94: 271-305.
4- Anwar R, Minford A, Gallivans L, Trinh CH, Markham AF. Delayed umbilical bleeding--a presenting feature for factor XIII deficiency: clinical features, genetics, and management. Pediatrics 2002; 109(2): E32.
5- Lorand L, Ong HH, Lipinski B, Rule NG, Downey J, Jacobsen A. Lysine as amine donor in fibrin cross-linking. Biochem Biophys Res Commun 1966; 25: 629-37.
6- Ariëns RA, Lai TS, Weisel JW, Greenberg CS, Grant PJ. Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphism. Blood 2002; 100(3): 743-54.
7- weiss MS, Metzner HJ, Hilgenfeld R. Two non-proline cis peptide bonds may be important for factor XIII Function. FEBS Lett 1998; 423(3): 291-6.
8- chung SI, Lewis MS, Folk JE. Relationships of the catalytic properties of human plasma and platelet transglutaminases (actived blood coagulation factor XIII) to their subunit structures. J Biol Chem 1974; 249(3): 940-50.
9- Board PG, Webb GC, McKee J, Ichinose A. Localization of the coagulation factor XIII A subunit gene (F13A) to chromosome bands 6P24----P25. Cytogenet cell Genet 1988; 48(1): 25-7.
10- Ichinose A, Davie EW. Characterization of the gene for the a subunit of human factor XIII (plasma tranlutaminase), a blood coagulation factor. Proc Natl Acad Sci U S A 1988; 85(16): 5829-33.
11- Nugent DJ. Prophylaxis in rare coagulation disorders--factor XIII deficiency. Thromb Res 2006; 118 Suppl 1: S23-8.
12- Lak M, Peyvandi F, Alisharifian A, Karimi K, Mannucci PM. Pattern of symptoms in 93 Irannian patients with severe factor XIII deficiency.J Thromb Hemost 2003; 1(8): 1852-3.
13- Kitchen S, McCraw A. Laboratory manual- Diagnostic of hemophilia and other bleeding disorders. 1st ed. New York: Churchill Livingstone; 2005: 68-73.
14- Körkkö J, Annunen S, Pihlajamaa T, Prockop DJ, Ala-Kokko L. Conformation sensitive gel electrophoresis for simple and accurate detection of mutations: comparison with denaturing gradient gel electrophoresis and nucleotide sequencing. Proc Natl Acad Sci U S A 1998; 95(4): 1681-5.
15- Williams IJ, Goodeve AC. PCR mutation detection protocols. Methods in molecular biology 2002; 187: 137-50.
16- Vysokovsky A, Saxena R, Landau M, Zirelin A, Eskaraev R, Rosenberg N. Seven novel mutations in the factor XIII A-subunit gene causing hereditary factor XIII deficiency in 10 unrelated families. J Thromb Haemost 2004; 2(10): 1790-7.
17- Chi H, Walid SH ElSayed, E shghi P, Miri-Moghadam E,Zadeh –vakili A, Markham F, Anwar R. Molecular analysis of sixteen unrelated factor XIIIA deficient families from south-east of Iran. Br J Haematol 2008 140(5); 581-4.
18- Trinh CH, Sh Elsayed W, Eshghi P, Miri-Moghaddam E, Zadeh-Vakili A, Markham AF, *et al*. Molecular analysis of sixteen unrelated factor XIIIA deficient families from south-east of Iran. Br J Haematol 2008; 140(5): 581-4.
19- Eshghi P, Mahjour SB, Naderi M, Dehbozorgian J, Karimi M. Long-term prophylaxis in patients with factot XIII deficiency complicated by intracranial haemorrhage in Iran. Haemophilia 2010; 16(2): 383-5.
20- Mikkola H, Yee VC, Syrjälä M, Seitz R, Egbring R, Petrini P, *et al*. Four novel mutations in deficiency of coagulation factor XIII: consequences to expression and structure of the A-subunit. Blood 1996; 87(1): 141-51.
21- Mikkola H, Syrjälä M, Rasi V, Vahtera E, Hämäläinen E, Peltonen L, *et al*. Deficiency in the A-subunit of coagulation factor XIII: two novel point mutations demonstrate different effects on transcript levels. Blood 1994 ; 84(2): 517-25.
22- Fox BA, Yee VC, Pedersen LC, Le Trong I, Bishop PD, Stenkamp RE, *et al*. Identification of the calcium binding site and a novel ytterbium site in blood coagulation factor XIII by x-ray crystallography. J Biol Chem 1999; 274(8): 4917-23.
23- Takahashi N, Tsukamoto H, Umeyama H, Castaman G, Rodeghiero F, Ichinose A. Molecular mechanisms of type II factor XIII deficiency: novel Gly562-Arg mutation and C-terminal truncation of the A subunit cause factor XIII deficiency as characterized in a mammalian expression system. Blood 1998; 91(8): 2830-8.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]

Original Article

Molecular study of coagulation factor XIII-A among patients with inherited factor XIII-A deficiency

Tamaddon GH.[1], Kazemi A.[2], Rastgari GH.[2], Ala F.[3], Hejazi SH.[3]

[1]Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran
[2]Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3]Center of Pediatric Hemophilia, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Factor XIII is the last enzyme in the clotting cascade. The gene of A chain is located on chromosome 6. Deficiency of factor XIII in autosomal recessive conditions occurs at a frequency of 1 in 2 million general population. The aim of this study was to detect the mutations of subunit A in both patients and carriers.

Materials and Methods

In this study we have investigated the molecular basis of inherited FXIII deficiency among patients from 21 unrelated Iranian families. Mutation were detected by amplifying each exon. Those exons exhibiting the presence of hetero duplex formation sensitive gel electrophoresis, were selected for direct sequencing. After sequencing, detected mutation was carried out by restriction fragment length polymorphism (RFLP).

Results

All patients having entered the study had mutations. Twelve patients had homologues substitution of TGG→CGG in exon 4, 1 insertion mutation occurring in exon 7 triple G, 2 patients demonstrated mutation exon 9 ATG→ AAG, 3 patients had substitution of CGG→ CAG in exon 10, and 3 patients showed a homologue subsituation mutation in exon 15 GCC→ GTC.

Conclusions

Our findings suggest that the activity of enzyme is highly dependent on the core domain. Changes in charge, amino acid tail and conformation lead to decreased enzyme activity. Also tetrameric structure is calcium related. It seems that changes of amino acid sequence convert enzyme stability.

Key words: Factor XIII , Factor XIII Deficiency, Blood Coagulation Factors, Hemophilia
Sci J Iran Blood Transfus Organ 2012; 8(4):298-305

Received: 17 Jan 2011
Accepted: 27 Oct 2011

Correspondence: Kazemi A., PhD of Hematology. Associate Professor of Hematology Department, Tehran University of Medical Sciences.
P.O.Box: 14155-6183, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88622576; Fax : (+9821) 88054355
E-mail: *a-kazemi@tums.ac.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-07-01]