

تنوع آللی واریانت R2185Q اگزون ۳۷ ژن vWF در افراد ایرانی

شیرین شهبازی^۱، هوشنگ بهاری تاشه کیود^۲

چکیده

سابقه و هدف

بیماری فون ویلبراند (vWD) یک اختلال خونریزی دهنده اتوزومی است که به واسطه نقص و نارسایی در فاکتور vWF ایجاد می شود. با توجه به مطالعه هایی که در سال ۲۰۰۷ در یک جمعیت کانادایی صورت گرفت، از تغییر R2185Q به عنوان جهش یاد کرده و آن را عاملی برای بیماری vWD نوع ۱ در نظر می گیرند. تحقیقات اخیر نشان داد که جهش R2185Q و تغییرات دیگری که آن ها را عامل بیماری vWD می دانستند؛ با درصد مشخصی در افراد سالم هم دیده می شود.

مواد و روش ها

در این مطالعه توصیفی، ۲۹۷ فرد سالم مورد بررسی قرار گرفتند. سابقه خونریزی یا علایم مرتبط با آن توسط پرسشنامه های استاندارد سازی شده، ارزیابی گردید. DNA ژنومی با روش Salting out استخراج گردید و با روش PCR-RFLP ژنوتایپ شد. نتایج با تعیین توالی نمونه ها تایید گردید.

یافته ها

مطالعه بر روی نمونه افراد سالم ایرانی از هر دو جنس و از همه قومیت ها صورت گرفت که در بین کل آن ها دو فرد سالم بدون سابقه بیماری خونریزی دهنده، هتروزیگوت واریانت R2185Q شناسایی شدند. این نتایج نشان داد فراوانی این آلل در مطالعه ما ۰/۳۳٪ است. این میزان از ۱٪ کمتر بوده و با توجه به تعریف پلی مورفیسم، نمی توان آن را پلی مورفیسم جمعیت ایرانی نامید.

نتیجه گیری

ژن vWF واجد جهش ها و پلی مورفیسم های متعددی است که ویژگی جمعیتی دارند. برای دسترسی به الگوی جهش های ایرانی، لازم است مطالعه های متنوعی بر روی جمعیت افراد سالم صورت پذیرد تا ویژگی های پراکندگی تغییرات ژنی را آشکار سازد.

کلمات کلیدی: اگزون ها، بیماری فون ویلبراند، فراوانی آلل

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۸

تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۲۱

۱- مؤلف مسئول: PhD ژنتیک - استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۴۱۱۵-۳۳۱
۲- کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی مولکولی - واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی - تهران - ایران

مقدمه

فاکتور فون ویلبراند (vWF) در سلول‌های اندوتلیال و مگاکاریوسیت‌ها ساخته می‌شود. ژن vWF بر روی کروموزوم 12p13.2 قرار گرفته است و متشکل از ۵۲ اگزون می‌باشد (۱). محصول اولیه ژن vWF، یک پروتئین ۲۸۱۳ آمینواسیدی است که نهایتاً به یک پپتید نشانه ۲۲ اسید آمینه‌ای، یک پروپتید بزرگ ۷۴۱ اسید آمینه‌ای و یک مولکول vWF بالغ ۲۰۵۰ اسید آمینه‌ای تقسیم می‌شود. طی یک مسیر دائمی و تنظیم شده، vWF از سلول ترشح می‌شود. مابقی آن به منظور ترشح سریع در اندامک‌های خاصی به نام اجسام ویبل - پالاده (Weible-palade bodies) که مختص سلول‌های اندوتلیال می‌باشند، ذخیره می‌شود (۳، ۲).

vWF دارای دو نقش عمده در هموستاز است. نخست در چسبندگی پلاکت‌ها به دیواره رگ‌ها و میانکنش پلاکت - پلاکت ضروری است. دوم یک ناقل اختصاصی فاکتور VIII در پلاسما است. vWF، فاکتور VIII را از تجزیه‌های پروتئولیتیک حفاظت می‌کند و در نتیجه نیمه عمر آن را در جریان خون افزایش می‌دهد و به طور کارآمد و مؤثر، موقعیت آن را در جایگاه‌های آسیب عروقی تثبیت می‌کند. هر مونومر vWF یک دومین اتصال دارد که در ۲۷۲ اسید آمینه اول زیر واحد بالغ قرار داشته و می‌تواند به یک مولکول FVIII متصل شود، گرچه تنها ۲٪-۱٪ مونومرهای در دسترس به وسیله FVIII اشغال می‌شوند (۴).

بیماری فون ویلبراند (vWD)، یک اختلال خونریزی دهنده اتوزومی است که به واسطه نقص و نارسایی در فاکتور vWF ایجاد می‌شود. vWD شیوعی برابر با حدود یک درصد در کل جمعیت دارد. تظاهرات و نشانه‌های خونریزی متفاوتند اگر چه خونریزی‌های جلدی مخاطی در همه موارد vWD به طور تبیین شایع است. مواردی که نقص نسبی کمی در vWF دارند، نوع ۱ vWD را ایجاد می‌کنند که با تظاهرات خونریزی‌دهنده متنوعی روبرو هستند. در حالی که نقصان‌های کیفی در ساختار vWF، نوع ۲ vWD را باعث می‌شود. نوع ۳ vWD کمیاب‌تر است و بیماران مبتلا، خونریزی‌های شدید تا متوسط دارند و این امر به دلیل عدم حضور vWF به واسطه الگوی مغلوب

وراثتی است (۵، ۶). تشخیص vWD، به خصوص نوع ۱ به سختی انجام می‌گیرد زیرا فنوتیپ‌های آزمایشگاهی بسیار هتروژنوس هستند و هم چنین فاکتورهای که خارج از ژن vWF هستند مثل گروه‌های خونی، سطح vWF را تحت تاثیر قرار می‌دهند. مجموعه‌ای از آزمایش‌ها برای تشخیص نوع vWD و تعیین درمان مناسب مورد استفاده قرار می‌گیرد. نوع ۱ این بیماری حدود ۷۰٪ همه انواع vWD را در بر می‌گیرد و به طور معمول در قالب خونریزی‌های مخاطی ملایم بروز می‌کند. گرچه در این نوع vWD، زمانی که سطح vWF کمتر از ۱۵٪ باشد، علایم شدیدتر است. خونریزی بینی و کبودی نشانه‌های شایع در بچه‌های مبتلاست و منوراژی علامت شایع در زنان مبتلا در سنین باروری است (۷). در vWD نوع ۱، همه پارامترهای vWF کاهش یافته‌اند. مولتی‌مرهای vWF از شکل‌های آن در پلاسما نرمال قابل تشخیص نیست. در اکثر افراد مبتلا به vWD نوع ۱، جهش‌های missense غالب هستند که ممکن است طی مکانیسم‌های مختلف، vWF را متأثر کنند (۸).

تعداد جهش‌ها در ارتباط با vWD بسیار زیاد بوده و تاثیر هر کدام از آن‌ها بر بیان ژن vWF و پروتئین vWF متفاوت می‌باشد؛ یکی از این تغییرات R2185Q است که در اگزون ۳۷ ژن مذکور قرار دارد و در اثر آن اسیدآمینه آرژنین تبدیل به گلوتامین می‌شود. با توجه به مطالعه‌هایی که در سال ۲۰۰۷ در یک جمعیت کانادایی صورت گرفت، از تغییر R2185Q به عنوان جهش یاد کرده و آن را عاملی برای بیماری vWD نوع ۱ در نظر می‌گیرند (۹). اخیراً مطالعه‌های بیشتری در این زمینه بر روی افراد سالم انجام گرفته است. این تحقیقات نشان داد که در بین افراد سالم تغییر یا جهش R2185Q و تغییرات دیگری که آن‌ها را پایه و اساسی برای بیماری vWD می‌دانستند؛ با درصد مشخصی دیده می‌شود که R2185Q به نسبت سایر تغییرات شایع‌تر است (۱۰).

در مطالعه‌های انجام گرفته، این تغییرات را در جمعیت‌های اروپایی، امریکایی، آسیای شرقی و آفریقایی بررسی کرده‌اند که بیشترین تفاوت در جمعیت آفریقایی دیده شده است. از خاورمیانه هیچ کشوری مورد مطالعه قرار نگرفته است (۱۱).

شیوع بالای بیماری vWD یادآور این نکته خواهد بود که بیماران زیادی از انواع مختلف این بیماری، بدون تشخیص وجود دارند. برای تشخیص مولکولی این بیماری داشتن الگوی جهش‌های ایرانی از اهمیت بالایی برخوردار است. با روشن شدن نتایج جدید درخصوص پراکندگی جغرافیایی این جهش‌ها در جمعیت‌های مختلف، اهمیت بومی‌سازی الگوهای جهشی درخصوص این بیماری مورد تاکید قرار گرفته است. از آن جا که دو مطالعه قبلی در اقوام مختلف نتایج غیر مشابهی نشان داده است بر آن شدیم تا این مطالعه را در جمعیت ایرانی نیز انجام دهیم (۱۰، ۱۱).

مواد و روش‌ها

مطالعه به صورت توصیفی برای شناسایی میزان شیوع آلل R2185Q در جمعیت ایرانی طراحی شد. از آن جا که مطالعه مشابهی در کشور و منطقه در دسترس نبود و محاسبه آماری حجم نمونه دقیق به نظر نمی‌آمد، مبنای مطالعه‌های منتشر شده قبلی که بین ۱۵۰ تا ۳۰۰ نمونه بود قرار گرفت. پس از اخذ رضایت‌نامه، ۲۹۷ نمونه خون از افراد سالم بدون سابقه خونریزی از قومیت‌های مختلف ایرانی مراجعه‌کننده به مراکز بهداشتی - درمانی شهر تهران در لوله‌های استریل حاوی EDTA جمع‌آوری شد. پرسشنامه‌هایی جهت داشتن اطلاعات فردی و هم چنین آگاهی از عدم خونریزی‌های مشکوک به بیماری‌های انعقادی تدوین و تکمیل شد. استخراج DNA توسط روش Salting-out و بر اساس دستورالعمل مربوطه صورت گرفت. غلظت و کیفیت DNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ و الکتروفورز آگارز مورد بررسی قرار گرفت. توالی ژن vWF روی کروموزوم ۱۲ به عنوان مرجع طراحی آغازگر قرار گرفت و با استفاده از نرم‌افزارهای Gene runner و Primer express طراحی آغازگرهای مستقیم و معکوس انجام شد. پس از انتخاب آغازگرها با توالی: مستقیم 5'-AGG TCC TCC TCT CAC TG-3' و معکوس 5'-CCA GGT CAT ACG AAA TAC AGG G-3' به منظور اطمینان از اختصاصی بودن آن‌ها در اتصال به ناحیه مکملی خود در ژن مربوطه، توالی آغازگرها با تمامی توالی

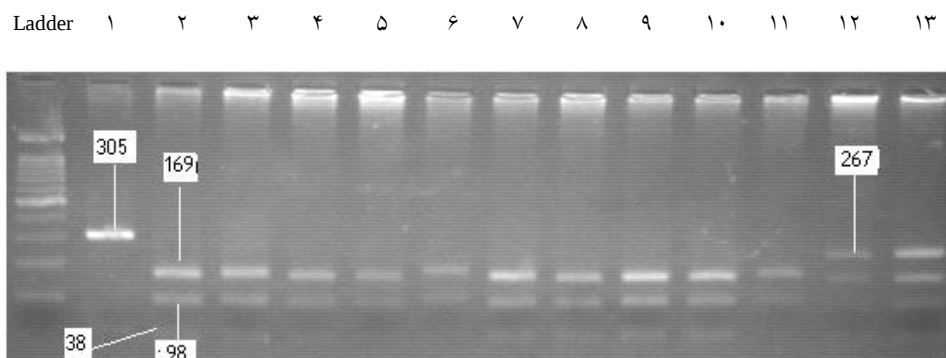
ژنوم انسانی در پایگاه اطلاعاتی NCBI، بلاست گردید و صحت انتخاب توالی آغازگرها تایید شد.

واکنش PCR با مقادیر زیر در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: 2X PCR master mix (GenetBio) حاوی $MgCl_2$ با غلظت نهایی ۱/۵ میلی‌مولار، dNTPs با غلظت نهایی ۰/۲ میلی‌مولار و ۱ واحد آنزیم Taq polymerase، آغازگرهای مستقیم و معکوس هر کدام با غلظت نهایی ۰/۴ میلی‌مولار و ۴۰ نانوگرم DNA الگو، صورت پذیرفت. برنامه PCR با واسرشته‌سازی اولیه ۵ دقیقه‌ای در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ سیکل با برنامه ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه، ۶۵ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد در دستگاه PCR محصول شرکت ABI تنظیم گردید. سپس محصولات حاصل از PCR روی ژل آگارز ۱/۵٪ الکتروفورز شد.

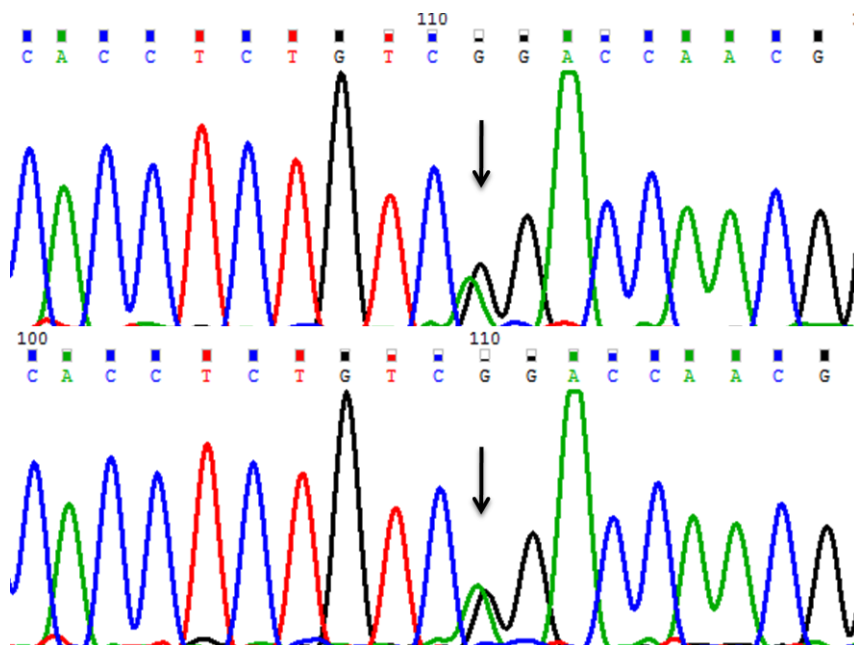
در این مرحله، محصول PCR طبق دستورالعمل شرکت سازنده تحت تیمار با آنزیم محدود کننده Eco471 (AvaII) (Thermo Scientific) قرار گرفت و به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و بعد از دو ساعت بر روی ژل ۲٪ بارگذاری شد. نتایج به دست آمده بر اساس اندازه Ladder تفسیر و در هر بار الکتروفورز یک نمونه UN DIGEST هم برای مقایسه در نظر گرفته شد. به منظور تایید تشخیص، تعدادی از نمونه‌ها به صورت تصادفی انتخاب و تعیین توالی گردیدند.

یافته‌ها

پس از استخراج DNA با استفاده از آغازگرهای مستقیم و معکوس اختصاصی، ناحیه ژنی مربوط به واریانت R2185Q ژن vWF توسط PCR تکثیر و سپس تحت هضم آنزیمی (RFLP) قرار گرفتند و نتایج بر روی ژل آگارز ۲٪ تفسیر گردید. در صورتی که فرد مورد نظر هموزیگوت آل G بود؛ ۳ باندها با اندازه‌های ۱۶۹، ۹۸ و ۳۸ bp دیده می‌شد ولی در صورتی که شخص هتروزیگوت آل AG در آن ناحیه باشد، علاوه بر سه باندها فوق‌الذکر، یک باندها دیگر با سایز ۲۶۷ bp نیز بر روی ژل دیده می‌شود. تفکیک سایز باندها در شکل ۱ آورده شده است.



شکل ۱: در تصویر بالا چاهک شماره ۱ نمونه *undigest*؛ چاهک‌های شماره ۲ تا ۱۱ نمونه‌های هموزیگوت آلل G و چاهک‌های شماره ۱۲ و ۱۳ نمونه‌های هتروزیگوت آلل AG می‌باشند.



شکل ۲: نتایج تعیین توالی در جهت مستقیم برای دو فرد هتروزیگوت

انعقادی مانند کبودی یا خونریزی‌های مکرر نداشتند. علاوه بر آن هیچ سابقه‌ای از بیماری‌های انعقادی در افراد خانواده آنها نیز وجود نداشت. یکی از آنها ساکن تهران و دیگری ساکن رشت بود. با وجود پرسشنامه قبلی که از هر دو فرد تهیه گردیده بود، مجدداً با آنها تماس گرفته شد و درخصوص علایم مورد انتظار که قبلاً گزارش شده بود سؤال گردید. مصاحبه مجدد هم نشان داد که هر دو فرد سابقه خونریزی و علایم انعقادی ندارند که جهت تکمیل تحقیق، درخواست انجام آزمایش‌های انعقادی برای آنان

جهت تایید نتایج PCR-RFLP، نمونه‌ها برای انجام تعیین توالی از هر دو جهت مستقیم و معکوس آماده‌سازی شد که نتایج تعیین توالی مستقیم در شکل ۲ نشان داده شده است.

در کل نمونه‌های مورد بررسی تنها دو فرد به صورت هتروزیگوت برای این جهش یافت شدند. نمونه‌های هر دو فرد مجدداً آنالیز گردید و نتایج مورد تایید قرار گرفت. این دو فرد یک خانم ۴۸ ساله و یک آقای ۲۰ ساله بودند که سابقه ابتلا به بیماری خاصی نداشته و تجربه‌ای از اختلال

آنان داده شد.

از آن جا که ژن vWF اتوزومال می باشد در نتیجه ۵۹۴ آلل بررسی شده که از میان آن ها تنها دو آلل واجد واریانت R2185Q مشاهده شد. این نتایج نشان داد فراوانی آلل R2185Q در مطالعه ما ۰/۳۳٪ است.

بحث

یکی از ویژگی هایی که برای تشخیص جهش های پر خطر از جهش های بیماری زا استفاده می شود، فراوانی آلل است. متغیرهای توالی یا واریانت های ژنی که در بیش از یک درصد از جمعیتی ظاهر شوند، پلی مورفیسم شناخته می شوند. دانش ما از پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی با پروژه هپمپ افزایش یافته است اما دانش ما از SNP هایی که منحصر به یک جمعیت یا یک گروه وراثتی است، همچنان ناقص است. مطالعه های انجام شده سطح بالاتری از تنوع نوکلئوتیدی در آفریقایی ها در مقایسه با غیر آفریقاییان نشان داده است. این تنوع در همه ژن ها از جمله ژن vWF دیده شده است (۱۲).

با وجود پیشرفت های مولکولی، تشخیص آلل های بیماری زا از پلی مورفیسم های بی خطر هم چنان دشوار است. اهمیت واریانت ها را می توان گاه ها و در صورت امکان با کمک مطالعه عملکردی یا مطالعه بر روی خانواده ها و یا به وسیله شناسایی متغیرها، شناسایی کرد.

مطالعه های گذشته حاکی از وجود تعداد زیادی پلی مورفیسم در ژن vWF می باشد. مطالعه های که اخیراً توسط بلیسیمو و همکارانش انجام شده نشان داده جهش هایی که بیشتر عامل مؤثر در پیدایش vWD در اروپاییان شناخته می شدند، تا ۲۰٪ فراوانی در بین سرخپوستان آمریکای شمالی دیده می شوند (۱۰). این گونه های متفاوت ممکن است در اروپاییان بیماری زا و در دیگر افراد با وراثت های دیگر غیر بیماری زا باشد. مطالعه بلیسیمو گزارشی از ۱۸۴ فرد کنترل سالم، شامل ۱۱۸ سفید پوست و ۶۶ سیاه پوست آمریکایی است که تغییرات متنوعی در آن ها مشاهده شده است. اغلب این تغییرات توالی به عنوان جهش های vWD نوع ۱ گزارش شده بودند (قابل دسترسی در پایگاه داده ISTH-SSC vWF).

فراوانی ۳ جهش R2185Q، H817Q، M740I در جمعیت سالم ۱۵٪ تا ۱۸٪ بود. نتیجه گیری شد که این جهش هایی که قبلاً بیماری زا اعلام شده بود، به طور معمول پلی مورفیسم هایی در سیاهپوستان آمریکایی هستند (۱۰).

با گسترش سریع نسل جدید تکنولوژی های تعیین توالی (NGS)، تفسیر پلی مورفیسم های ژنتیکی در حجم بالای نمونه با سابقه ژنتیکی متفاوت ممکن شده است. با استفاده از این تکنولوژی جدید، تفاوت های ژنتیکی در بین ۱۴ قومیت مختلف در سراسر جهان در فاز اول یک پروژه تحقیقاتی بررسی شد که افزایش قابل ملاحظه ای از لحاظ شیوع پلی مورفیسم ها در مقایسه با داده های منتشر شده قبلی داشت. این مطالعه که در سال ۲۰۱۳ انجام شده، به توصیف تنوع آللی در ژن vWF می پردازد. در این مطالعه نمونه ها و داده های مختلف پروژه G ۱۰۰۰ از ۱۰۹۲ فرد از ۱۴ وراثت متفاوت و از ۴ قاره به دست آمده است (۱۱). از میان این جهش هایی که در جمعیت طبیعی گزارش شده، R2185Q قبلاً در یک بیمار اروپایی شاخص یافت شده بود، که البته هیچ مطالعه عملکردی در این خصوص اجرا نشده بود. در بین ۱۹ جهش دیگر vWD، ۷ عدد از آن ها طبق محاسبات نرم افزاری، زیان آور پیش بینی شده بودند (۹). بعدها وقتی جهش های زیان آور با فراوانی آللی G ۱۰۰۰ تفسیر شدند، چهار عدد از آن ها در یکی از چهار قاره، MAF (minor Allele frequency) بیشتر از یک درصد داشتند (۱۱).

در مجموع نتایج بررسی ها نشان می دهد که ژن vWF از نظر وراثتی تغییر یافته است اما این پیچیدگی وراثتی و سهم آن در بیماری ها نیازمند مطالعه های بیشتر در گروه های بزرگتر است. پل های تشخیص مولکولی vWD ممکن است با در نظر گرفتن تنوع وراثتی انواع ویژه vWF در پیش بینی فنوتیپ خونریزی و نقص انعقاد، تکمیل تر گردد.

در مطالعه حاضر که بر اساس مطالعه ونگ و همکارانش در سال ۲۰۱۳، طراحی شده، در ابتدا پرسشنامه ای بر اساس همان پرسش هایی که در مطالعه ذکر شده استفاده شده بود مطرح گردید (۱۱). هر دو پرسشنامه بر مبنای «نشانگرهای بالینی و مولکولی اروپایی» برای

مطالعه ونگ و همکارانش قابل پیش‌بینی بود. مطالعه‌های بیشتر برای تایید نوع عملکرد جهش، تکمیل‌کننده این تحقیق خواهد بود.

نتیجه‌گیری

ژن *vWF* واجد جهش‌ها و پلی‌مورفیسم‌های متعددی است که ویژگی جمعیتی دارند. برای دسترسی به الگوی جهش‌های ایرانی، لازم است مطالعه‌های متنوعی بر روی جمعیت افراد سالم صورت پذیرد تا ویژگی‌های پراکندگی تغییرات ژنی را آشکار سازد.

تشکر و قدردانی

از تمام عزیزانی که در انجام این پروژه ما را یاری کردند قدردانی می‌شود.

مطالعه تشخیص و مدیریت *vWD* نوع ۱ (MCMDM-1) و نیز چند پرسش اضافی منحصر به *ZPMCB-1vWD* طراحی شدند. در مطالعه‌های قبلی شیوع جهش *R2185Q* در آفریقایی تبارها ۲۰/۷۳٪ گزارش شد و در آمریکایی‌ها ۲/۲۱٪ افراد واجد این جهش بودند. در آسیایی‌ها که عمدتاً از شرق آسیا بودند، هیچ موردی دیده نشد. این نتیجه برای اروپایی‌ها هم تکرار شد و در جمعیت سالم آن‌ها نیز هیچ آللی از واریانت *R2185Q* مشاهده نشد. فراوانی آلل *R2185Q* در مطالعه ما ۰/۳۳٪ به دست آمد. این میزان از ۱٪ کمتر است و با توجه به تعریف پلی‌مورفیسم نمی‌توان آن را پلی‌مورفیسم جمعیت ایرانی نامید در حالی که آلل بیماری‌زای جمعیت ایرانی نیز نمی‌تواند باشد چون حاملین آن علایم خاص بیماری را ندارند. این میزان از نظر جغرافیایی با شیوع *R2185Q* در

References :

- 1- Mancuso DJ, Tuley EA, Westfield LA, Worrall NK, Shelton-Inloes BB, Sorace JM, *et al.* Structure of the gene for human von Willebrand factor. *J Biol Chem* 1989; 264(33): 19514-27.
- 2- Sadler JE, Mancuso DJ, Randi AM, Tuley EA, Westfield LA. Molecular biology of von Willebrand factor. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 614: 114-24.
- 3- Mayadas TN, Wagner DD. von Willebrand factor biosynthesis and processing. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 614: 153-66.
- 4- de Wit TR, van Mourik JA. Biosynthesis, processing and secretion of von Willebrand factor: biological implications. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001; 14(2): 241-55.
- 5- Nichols WL, Rick ME, Ortel TL, Montgomery RR, Sadler JE, Yawn BP, *et al.* Clinical and laboratory diagnosis of von Willebrand disease: a synopsis of the 2008 NHLBI/NIH guidelines. *Am J Hematol* 2009; 84(6): 366-70.
- 6- Sadler JE, Matsushita T, Dong Z, Tuley EA, Westfield LA. Molecular mechanism and classification of von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 1995; 74(1): 161-6.
- 7- Sadler JE, Mannucci PM, Berntorp E, Bochkov N, Boulyjenkov V, Ginsburg D, *et al.* Impact, diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2000; 84(2): 160-74.
- 8- Sadler JE, Budde U, Eikenboom JC, Favaloro EJ, Hill FG, Holmberg L, *et al.* Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor. *J Thromb Haemost* 2006; 4(10): 2103-14.
- 9- James PD, Notley C, Hegadorn C, Leggo J, Tuttle A, Tinlin S, *et al.* The mutational spectrum of type 1 von Willebrand disease: Results from a Canadian cohort study. *Blood* 2007; 109(1): 145-54.
- 10- Bellissimo DB, Christopherson PA, Flood VH, Gill JC, Friedman KD, Haberichter SL, *et al.* *vWF* mutations and new sequence variations identified in healthy controls are more frequent in the African-American population. *Blood* 2012; 119(9): 2135-40.
- 11- Wang QY, Song J, Gibbs RA, Boerwinkle E, Dong JF, Yu FL. Characterizing polymorphisms and allelic diversity of von Willebrand factor gene in the 1000 Genomes. *J Thromb Haemost* 2013; 11(2): 261-9.
- 12- Campbell MC, Tishkoff SA. African genetic diversity: implications for human demographic history, modern human origins, and complex disease mapping. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2008; 9: 403-33.

Original Article

Evaluation of vWF gene R2185Q allelic variant located on exon 37 in Iranian population

Shahbazi Sh.¹, Bahari Tashe Kabood H.²

¹Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

²Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Von Willebrand Disease is an autosomal inherited coagulation disorder that is caused by quantitative or functional defects in vWF. In 2007, R2185Q was described as a vWD type 1 mutation in the Canadian population. Recent studies conducted on healthy people showed that the R2185Q variant can be present in normal individuals. The purpose of this study was to evaluate the frequency of vWF gene R2185Q variant.

Materials and Methods

In this descriptive study, 297 Iranian healthy individuals were evaluated. The subjects were interviewed for bleeding history and other relative symptoms. DNA was extracted by salting out methods from 5 ml of blood samples. Using PCR-RFLP, the samples were genotyped and the results were confirmed by sequencing.

Results

The study was performed on healthy individuals from both sex and different Iranian ethnic groups. Two individuals without any bleeding history were found to carry this allele in a heterozygote manner. The allele frequency was calculated 0.33% which was below 1% and thereby could not be considered as a polymorphism.

Conclusions

vWF gene contains various mutation and polymorphisms which are population specific. To understand the Iranian pattern, more studies should be done to reveal this characteristic.

Key words: Exons, von Willebrand Diseases, Allele Frequency

Received: 30 Aug 2014

Accepted: 12 Nov 2014

Correspondence: Shahbazi Sh., PhD of Genetics. Assistant Professor of Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University.

P.O.Box: 14115-331, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82884556; Fax: (+9821) 82884555

E-mail: sh.shahbazi@modares.ac.ir