

## فراوانی آنتی‌ژن پلاکت انسانی در اهداکنندگان خون قوم ترکمن با روش PCR-SSP در سال‌های ۱۳۹۸-۱۳۹۷

مائده نوذری میرارکلائی<sup>۱</sup>، مریم زادسر<sup>۲</sup>، شهرام سمیعی<sup>۳</sup>، مژگان شایگان<sup>۴</sup>

### چکیده

#### سابقه و هدف

آنتی‌ژن‌های پلاکت انسانی (HPA-1)، ساختارهای پلی‌مورفیمی هستند که بر سطح غشا پلاکت قرار گرفته‌اند و موجب بروز برخی از عوارض تزریق خون همانند مقاومت پلاکتی می‌شوند که یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد عارضه و مرگ و میر در بیمارانی است که نیاز به تزریق مکرر واحدهای پلاکتی دارند. آلوایمیونیزاسیون بر ضد HPA-1، مهم‌ترین عامل بروز این عارضه در قومیت‌های سفیدپوست است. با توجه به تفاوت فراوانی این آنتی‌ژن در اقوام گوناگون، در این مقاله به بررسی فراوانی آلل‌های HPA-1 در قومیت ترکمن پرداخته شد.

#### مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، از ۸۰ اهداکننده غیر خویشاوند با قومیت ترکمن از پایگاه انتقال خون آق‌قلا در طی سال ۱۳۹۷، به طور تصادفی نمونه‌گیری شد. ژنوتیپ آلل‌های HPA-1 با استفاده از روش مولکولی PCR-SSP تعیین گردید. تحلیل داده‌ها با آزمون‌های کای‌دو و Z انجام شد.

#### یافته‌ها

در این مطالعه میانگین سنی افراد  $38/2 \pm 7/7$  سال با محدوده سنی ۵۹-۱۸ سال و تمام افراد مذکر بودند. ژنوتیپ ۹۶ درصد افراد به صورت HPA-1a و ۴ درصد به صورت هتروزیگوت HPA-1a/b مشاهده شد. آلل HPA-1b/1b به صورت هموزیگوت در هیچ یک از افراد مطالعه مشاهده نشد (فراوانی: ۰٪).

#### نتیجه‌گیری

با توجه به فراوانی ۹۶٪ آلل HPA-1a در اهداکنندگان قوم ترکمن و به دلیل شباهت با فراوانی به دست آمده در اهداکنندگان ایرانی و عدم حضور آلل HPA-1b/1b به صورت هموزیگوت در هیچ یک از اهداکنندگان، به نظر می‌رسد احتمالاً این آنتی‌ژن نقشی در ایجاد مقاومت پلاکتی پس از تزریق در قومیت ترکمن نداشته باشد.

**کلمات کلیدی:** اهداکنندگان خون، ژنوتیپ، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۷/۶

تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۴

- ۱- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران
- ۲- مؤلف مسئول: متخصص بیماری‌های عفونی و گرمسیری - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵
- ۳- کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی - مربی مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران
- ۴- دکترای ایمونولوژی - دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

## مقدمه

آنتی ژن های پلاکت انسانی، ساختارهای پلی مورفیسمی هستند که بر روی سطح غشای پلاکت قرار دارند (۱، ۲). تاکنون ۳۶ آنتی ژن پلاکتی در ۶ گروه گلیکوپروتئینی متفاوت شامل GPIa/GPIb, GPIIb/IIIa, GPIV, CD109 واقع در سطح غشای پلاکت، شناسایی شده اند. ۱۲ آنتی ژن در ۶ گروه دو آلی و به عنوان آنتی ژن با وفور بیشتر که عبارتند از HPA-1/2/3/4/5, 15 و سایر آنتی ژن ها با وفور کمتر طبقه بندی شده اند. از جمله عوارض بالینی که توسط آنتی ژن های پلاکت انسانی با وفور بالا از جمله HPA-1 ایجاد می شود، مقاومت پلاکتی پس از تزریق (PTR: platelet transfusion refractoriness) است (۳). مقاومت پلاکتی به موقعیت بالینی گفته می شود که پلاکت های خون بیمار پس از حداقل دو بار تزریق مکرر پلاکت سازگار از نظر گروه خونی ABO، به میزان مطلوب افزایش نمی یابد. از دلایل ایجاد مقاومت پلاکتی می توان به عوامل ایمنی اشاره کرد که در این میان آنتی بادی علیه آنتی ژن های مخصوص پلاکت انسانی، ۳۷٪-۱٪ از موارد را به خود اختصاص می دهند (۴، ۵). تقریباً ۸۵٪-۲۰٪ از بیمارانی که تزریق مکرر از چندین فرآورده پلاکتی دارند، نسبت به یک یا بیشتر از آنتی ژن های پلاکتی ایمنیزه می شوند. یکی از عوامل جلوگیری از مقاومت پلاکتی پس از تزریق پلاکت، انتخاب اهداکنندگان سازگار (matched donor) است (۶). تحقیقات صورت گرفته در کشورهای مختلف، نشان از اختلاف چشمگیر در درصد فراوانی آنتی ژن های پلاکتی در نژادهای مختلف و احتمال آلوایمیونیزاسیون علیه این آنتی ژن ها در جمعیت ها می باشد (۱۰-۷). با ایجاد نظام ثبت داده ها (سیستم رجیستری) برای تعیین ژنوتیپ HPA در اهداکنندگان خون بر اساس قومیت، می تواند در مدیریت عارضه مقاومت پلاکتی مؤثر واقع شود. لذا بررسی فراوانی آنتی ژن های پلاکت انسانی با وفور بالا در کشور ایران با قومیت های مختلف، در مدیریت بیماران با مقاومت پلاکتی به دلیل ناسازگاری آنتی ژن های پلاکت انسانی و همچنین کاهش هزینه های درمان و زمان بستری بیماران می تواند کمک کننده باشد. در این مطالعه به بررسی فراوانی آنتی ژن پلاکت انسانی HPA-1 به روش PCR-SSP در میان ۸۰

اهداکننده خون غیر خویشاوند با قومیت ترکمن پرداختیم.

## مواد و روشها

مطالعه انجام شده به صورت توصیفی - مقطعی بود. در این مطالعه از ۸۰ نفر اهداکننده خون غیر خویشاوند با قومیت ترکمن مراجعه کننده به پایگاه انتقال خون شهرستان آق قلا واقع در استان گلستان به طور تصادفی نمونه گیری شد. طبق مطالعه شایگان و همکاران در سال ۱۳۸۳، با احتساب خطای ۱۰٪  $\alpha$  و ۹۵٪ CI و با احتمال فراوانی آنتی بادی ضد آنتی ژن های پلاکتی با نسبت فراوانی  $p=50\%$ ، تعداد حجم نمونه ۸۰ به دست آمد (۱۱). از تمامی افراد مورد مطالعه رضایت نامه کتبی دریافت گردید. این مطالعه مصوب کمیته اخلاق در پژوهش مؤسسه عالی آموزشی پژوهشی طب انتقال خون ایران به شماره IR.TMI.REC.1397.005 است. نمونه های خون کامل به مقدار ۴ میلی لیتر، در لوله های حاوی ضد انعقاد EDTA جمع آوری گردید. برای استخراج DNA از گلبول سفید موجود در بافی کوت و کیت کیاژن استفاده شد. برای تعیین ژنوتیپ HPA-1، از روش PCR-SSP و روش Touch down، طبق دستورالعمل O.Meyer Metcalf با کمی تغییرات استفاده گردید (۱۲، ۱۳) (جدول ۱ و ۲). هدف از روش Touch down، کاهش واکنش های غیر اختصاصی در روند تکثیر بود (جدول ۳). ۲ لوله واکنش جداگانه برای تعیین ژنوتیپ ۲ آل مورد نظر استفاده شد. جهت انجام واکنش از Master mix 2X (کره، ژنت بایو) با حجم ۱۰ میکرولیتر و ۰/۵ میکرومولار از آغازگرهای جلوبرنده و معکوس در حجم کلی واکنش ۲۰ میکرولیتر استفاده گردید (جدول ۴). پس از انجام مراحل تکثیر، محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۲٪ الکتروفورز شدند و با استفاده از رنگ سایبر گرین و دستگاه ترانس لومیناتور UV مشاهده و بررسی گردید. اندازه مورد انتظار برای هر آل مشخص شد (جدول ۳). تعیین ژنوتیپ آنتی ژن های پلاکت انسانی (HPAs) با استفاده از نتایج PCR صورت گرفت و وفور مشاهده شده، شمارش گردید (شکل ۱). فراوانی حاصله برای مطابقت با معادله هاردی وینبرگ به وسیله آزمون کای دو بررسی شد. سپس از نرم افزار معادله مذکور،

وفور ژنی که اساس آن مبتنی بر  $(a^2 + b^2 + 2ab = 1)$  است محاسبه گردید. در فرمول ذکر شده  $a$  و  $b$  نشان دهنده وفور اشکال آلی هر یک از آنتی ژن های مورد بحث می باشند. جهت مقایسه وفور آلی جمعیت مورد مطالعه با سایر جمعیت ها، از آزمون آماری مقایسه (آزمون  $Z$ ) استفاده شد و  $p < 0/05$  بیانگر تفاوت معنادار بود.

جدول ۱: برنامه Touch down دستگاه ترمال سایکلر HPA-1a

چرخه (n= ۴۰)	زمان	دما درجه سانتی گراد	مرحله	
۱ X	۱۰ دقیقه	۹۵	فعال سازی	
۵ X	۲۵ ثانیه	۹۶	دنا تورا سیون	مرحله اول تکثیر ۱
	۴۵ ثانیه	۶۸	آنیلینگ	
	۳۰ ثانیه	۷۲	اکستنشن	
۲۰ X	۲۵ ثانیه	۹۶	دنا تورا سیون	مرحله اول تکثیر ۲
	۴۵ ثانیه	۶۱	آنیلینگ	
	۳۰ ثانیه	۷۲	اکستنشن	
۱۵ X	۲۵ ثانیه	۹۶	دنا تورا سیون	مرحله اول تکثیر ۳
	۱ دقیقه	۵۱	آنیلینگ	
	۲ دقیقه	۷۲	اکستنشن	
۱ X	۳ دقیقه	۴	سرد کردن	

جدول ۲: برنامه Touch down دستگاه ترمال سایکلر HPA-1b

چرخه (n= ۳۵)	زمان	دما درجه سانتی گراد	مرحله	
۱ X	۳ دقیقه	۹۵	فعال سازی	
۱ X	۱ دقیقه	۹۶		
۱۰ X	۳۰ ثانیه	۹۵	دنا تورا سیون	مرحله اول تکثیر ۱
	۶۰ ثانیه	۶۵	آنیلینگ	
	۷۲ ثانیه	۷۲	اکستنشن	
۲۲ X	۳۰ ثانیه	۹۵	دنا تورا سیون	مرحله اول تکثیر ۲
	۵۰ ثانیه	۶۱	آنیلینگ	
	۳۰ ثانیه	۷۲	اکستنشن	
۱ X	۵ دقیقه	۷۲	اکستنشن	تکثیر نهایی
۱ X	۵ دقیقه	۴	سرد کردن	

جدول ۳: توالی، غلظت، طول آغازگرها و اندازه آلل‌های آنتی‌ژن‌های HPA-1

سیستم	آنتی‌ژن	اندازه آغازگر (bp)	غلظت نهایی (میکرو مول)	توالی آغازگر
HPA-1	1a	۱۹	۰/۵	5'-TCACAGCGAGGTGAGGCCA-3'
	مشترک 1a	۲۱	۰/۵	5'-GGAGGTAGAGAGTCGCCATAG-3'
	1b	۱۹	۰/۵	5'-ACT TAC AGG CCC TGC CTC C-3'
	مشترک 1b	۲۰	۰/۵	5'-AGC CGG AGT GCA ATC CTC TG-3'
HGH	جلوبرنده	۲۱	۰/۱	5'-GCCTTCCCAACCATTCCTTA-3'
	معکوس	۲۲	۰/۱	5'-TCACGGATTCTGTTGTGTTTC-3'

در افراد مورد مطالعه ژنوتیپ آلل HPA-1a/1a به صورت هموزیگوت ۹۲/۵٪ و فراوانی ژنوتیپ آلل HPA-1a/1b به صورت هتروزیگوت ۷/۵٪ مشاهده شده است. در هیچ یک از افراد مورد مطالعه، آلل HPA-1bb به صورت هموزیگوت مشاهده نشده است. فراوانی ژنی HPA-1a در این مطالعه ۹۶٪ و فراوانی ژنی HPA-1b به صورت ۴٪ برآورد شده است (طبق مطالعه هاردی - وینبرگ) (شکل ۱).

#### بحث

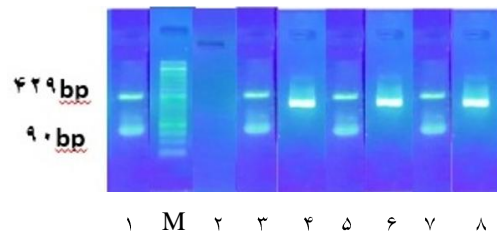
این مطالعه اولین گزارش از فراوانی آللی آنتی‌ژن پلاکت انسانی HPA-1 در اهداکنندگان خون با قومیت ترکمن در ایران است. در این پژوهش آلل‌های a و b آنتی‌ژن پلاکت انسانی HPA-1 به روش مولکولی PCR-SSP در ۸۰ اهداکننده خون غیر خویشاوند با قومیت ترکمن بررسی گردید. درصد فراوانی آلل HPA-1a در میان ۸۰ فرد مورد مطالعه به صورت ۹۶٪ مشاهده شد. در صد فراوانی آلل HPA-1b در افراد مورد مطالعه به صورت ۴٪ مشاهده شد. در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۶ در ایران توسط مدنی و همکارانش صورت گرفته است، نشان داده شده که فراوانی ژنی آنتی‌ژن پلاکت انسانی HPA-1a (۹۸٪) در اهداکنندگان ایرانی که بدون مشخص بودن قومیت بررسی شده، تفاوت چشمگیری با فراوانی به دست آمده از مطالعه حاضر در اهداکنندگان با قومیت ترکمن HPA-1a (۹۶٪) ندارد. هم چنین تفاوتی در فراوانی ژنوتیپ HPA-1ab (۴٪) در اهداکنندگان ایرانی با فراوانی ژنوتیپی HPA-1ab (۷/۵٪) در قومیت ترکمن نیز مشاهده نشده است (۱۴). در مطالعه

جدول ۴: اندازه مورد انتظار هر ژن

اندازه آلل خاص (bp)	ژن
۹۰	HPA-1a
۱۹۶	HPA-1b
۴۲۹	HGH

#### یافته‌ها

در این مطالعه میانگین سنی افراد  $38/2 \pm 7/7$  با محدوده سنی ۵۹-۱۸ سال و تمام افراد دارای جنسیت مذکر بودند.



شکل ۱: نمونه‌ای از الکتروفورز محصول PCR-SSP. از هورمون رشد (HGH) با باند ۴۲۹ bp به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. تصویر حاصل از ژنوتیپ ۴ نمونه بر روی ژل آگاروز نشان داده شد. نمونه اول: چاهک ۱ باند ۴۲۹ bp مربوط به HGH و ناحیه باند آلل HPA-1a ۹۰bp قرار می‌گیرد. چاهک ۲ کنترل منفی، چاهک ۳ نمونه دوم: آلل a مثبت و چاهک ۴ آلل b منفی ژنوتیپ HPA-1a/1a، نمونه سوم: چاهک ۵ آلل a مثبت و چاهک ۶ آلل b منفی ژنوتیپ HPA-1a/1a، نمونه چهارم: چاهک ۷ آلل a مثبت و چاهک ۸ آلل b منفی ژنوتیپ HPA-1a/1a است. چاهک M سایز مارکر با باند ۵۰ bp می‌باشد.

جدول ۵: مقایسه درصد فراوانی آنتی ژن پلاکت انسانی HPA-1 در مطالعه حاضر با سایر کشورها

مرجع	HPA-1b %	HPA-1a %	حجم نمونه	جمعیت
Carlsson <i>et al.</i> (۲۷)	۱۵	۸۵	۳۲۱	آلمان
Tankak <i>et al.</i> (۲۲)	۰/۲	۹۹/۸	۷۳	ژاپن
Seo <i>et al.</i> (۲۳)	۱/۲	۹۸/۸	۲۰۰	کره
Bennet <i>et al.</i> (۳۳)	۱۴/۲	۸۵/۸	۱۰۰	استرالیا
Jonse <i>et al.</i> (۲۸)	۱۶	۸۴	۱۳۴	انگلستان
Ronden <i>et al.</i> (۲۶)	۱۳/۳	۸۶/۷	۱۰۵	نروژ
Shi <i>et al.</i> (۲۱)	۲	۹۸	۱۰۰	فیلیپین
Kupatawintu (۱۹)	۱/۵	۹۸/۵	۵۰۰	تایلند
Halle <i>et al.</i> (۱۷)	۰	۱۰۰	۱۱۰	آفریقای مرکزی
Feng <i>et al.</i> (۵)	۰/۶	۹۹/۴	۱۰۰	چین
De La <i>et al.</i> (۳۰)	۱۲/۲	۸۷/۸	۱۹۲	آرژانتین
Bhatti <i>et al.</i> (۲۵)	۱۷/۵	۸۸/۵	۵۹۳	پاکستان
Brouk <i>et al.</i> (۱۸)	۱۶/۵	۸۳/۵	۴۸۵	الجزایر
Tan <i>et al.</i> (۲۰)	۲/۵	۹۷/۵	۲۰۰	مالزی
Paiet <i>et al.</i> (۲۴)	۰/۴	۹۹/۶	۹۹۸	تایوان
Salm <i>et al.</i> (۳۱)	۲۳/۳	۷۶/۷	۲۳۰	مصر
Al-Qnda <i>et al.</i> (۳۲)	۲۰	۸۰	۱۰۰	عربستان سعودی
Maria Clara <i>et al.</i> (۲۹)	۱۴	۸۶	۲۰۰	جنوب برزیل
مطالعه حاضر	۴	۹۶	۸۰	قوم ترکمن

درصد فراوانی آلل HPA-1a در جمعیت‌های آمریکای جنوبی مانند برزیل و آرژانتین به ترتیب با فراوانی (۸۷/۸)٪، (۸۶)٪ تفاوت چشمگیری با فراوانی گزارش شده در مطالعه حاضر داشته است (۰/۰۳ و ۰/۰۱) (p=۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۱). بیشترین تفاوت در درصد فراوانی HPA-1b حاصل در این مطالعه در مقایسه با جمعیت مصر با فراوانی ۲۳/۳٪ و پس از آن در جمعیت عربستان سعودی با فراوانی ۲۰٪ مشاهده شد. احتمال وجود این تفاوت‌ها در فراوانی به دلیل اختلافات نژادی در این جمعیت‌ها است (۰/۰۰۰۱ و ۰/۰۰۰۵) (p=۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۰۱). در جمعیت استرالیا نیز تفاوت چشمگیری در درصد فراوانی HPA-1a و HPA-1b با مطالعه انجام شده در قوم

دیگری که در سال ۱۳۹۷ توسط احمدزاده شاد و همکارانش در زوجین ایرانی با سابقه سقط مکرر انجام شد، درصد فراوانی آللی HPA-1a و HPA-1b در افراد مورد مطالعه به ترتیب به صورت ۱۰۰٪ گزارش شد در صورتی که تفاوت چشمگیری در فراوانی آلل‌های این آنتی ژن در اهداکنندگان با قومیت ترکمن مشاهده شده است (p=۰/۰۴) (۱۵). در بررسی فراوانی این سیستم آنتی ژنی که در سال ۲۰۱۹ توسط قاسمی و همکارانش در دو گروه بیماران مبتلا به هپاتیت C با درجات فیروز خفیف و شدید انجام شد، به ترتیب درصد فراوانی ژنوتیپ HPA-1aa و HPA-1ab در گروه اول به صورت (۱۴/۳)٪، (۸۵/۷)٪ و گروه دوم به صورت (۱۱/۱)٪، (۸۸/۹)٪ گزارش شد که تفاوت چشمگیری با نتایج حاصل در این مطالعه مشاهده نشده است (۱۶).

در جدول ۵ درصد فراوانی آللی آنتی ژن پلاکت انسانی HPA-1 در مطالعه حاضر با سایر جمعیت‌های کشورهای مختلف مقایسه شده است. بر اساس مطالعه‌های صورت گرفته در سایر کشورها با نژادهای مختلف، درصد فراوانی آللی HPA-1a در این مطالعه با فراوانی به دست آمده از جمعیت آفریقای مرکزی و جمعیت الجزایر در آفریقای جنوبی (با فراوانی ۸۳/۵٪، ۱۰۰٪) تفاوت چشمگیری مشاهده شده است (به ترتیب ۰/۰۳ و ۰/۰۴) (p=۰/۰۱، ۰/۰۳). تفاوت چشمگیری در درصد فراوانی HPA-1a در کشورهای آسیای مرکزی، شرق و جنوب شرق آسیا مانند چین (۱۰۰٪)، تایلند (۹۸/۵٪)، مالزی (۹۷/۵٪)، ژاپن (۹۹/۸٪)، فیلیپین (۹۸٪)، کره (۹۸/۸٪) و تایوان (۹۹/۸٪) با مطالعه حاضر مشاهده نشده است (۱۹-۲۴، ۵). با توجه به نتایج به دست آمده در جمعیت پاکستان، HPA-1a با فراوانی ۸۸٪ تفاوت معناداری با نتایج حاصل در جمعیت اهداکنندگان با قومیت ترکمن مشاهده شده است (۰/۰۴) (p=). هم چنین تفاوت معناداری در درصد فراوانی HPA-1a در مطالعه حاضر در مقایسه با فراوانی به دست آمده در جمعیت‌های اروپای شرقی نظیر نروژ، آلمان و انگلستان که به ترتیب به صورت (۸۴٪)، (۸۵٪) و (۸۶/۷٪) گزارش شده، مشاهده شده است (۰/۰۴، ۰/۰۰۸، ۰/۰۱) (p=۰/۰۱-۲۸). (۲۵)

ترکمن مشاهده گردید (p= ۰/۰۱) (۳۳).

### نتیجه گیری

با توجه به فراوانی (۹۶٪) HPA-1a در این مطالعه و به دلیل شباهت با فراوانی به دست آمده در اهداکنندگان ایرانی و عدم حضور هیچ اهداکننده با آلل HPA-1b/1b، به نظر می رسد احتمالاً این آنتی ژن نقشی در ایجاد مقاومت پلاکتی در قومیت ترکمن نداشته باشد و نیاز به بررسی فراوانی در حجم نمونه بیشتر و هم چنین بررسی فراوانی سایر آنتی ژن های پلاکت انسانی هست. لذا با بررسی سایر آنتی ژن ها با وفور بالا در قومیت ترکمن و سایر قومیت ها در ایران و ایجاد نظام ثبت داده ها از اهداکنندگان با ژنوتیپ مشخص، می تواند در بهبود کیفیت و مدیریت پلاکت های تزریقی به بیماران با مقاومت پلاکتی که دارای آنتی بادی علیه آنتی ژن های پلاکت انسانی هستند کمک کننده باشد.

### تشکر و قدردانی

نتایج این مطالعه از پایان نامه دانشجویی مصوب در

مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ایران با کد اخلاق IR.TMI.REC.1397.005 در مقطع کارشناسی ارشد حاصل شده است. این مقاله مستخرج از طرح «بررسی عوارض ایمونولوژیک ترانسفیوژن با استفاده از کیت های تولید داخل (فاز اول بررسی آزمایشگاهی Platelet Refractoriness)» بوده است که با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی با شماره قرارداد ۷۰۰/۱۷۰۰ انجام شده است. لذا پژوهشگران و نویسندگان مقاله از حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی در انجام این تحقیق، مراتب سپاس و تقدیر و تشکر خود را اعلام می دارند. هم چنین از رئیس محترم سازمان انتقال خون استان گلستان آقای دکتر سید میر محمدعلی حسینی و خانم دکتر الهام دیلمی و سایر همکاران پایگاه انتقال خون شهرستان آق قلا که در تهیه نمونه ها همکاری داشتند به ویژه اهداکنندگان محترم، نهایت تشکر به عمل می آید.

### References:

- Mangerona C, Garcia F, Moraes-Souza H. Frequency of human platelet antigens (HPA)-1,-2,-5 and-15 in Brazilian blood donors and establishment of a panel of HPA-typed donors. *Transfus Med* 2015; 25(3): 189-94.
- Smaoui M, HadjKacem B, Ben Amor I, Mnif H, Maalej L, Gargouri A, et al. Allelic polymorphisms of human platelets-specific alloantigens in South Tunisian population. *Hematology* 2013; 18(6): 365-9.
- Dutra VF, Bub CB, Costa TH, Santos LD, Bastos EP, Aravechia MG, et al. Allele and haplotype frequencies of human platelet and leukocyte antigens in platelet donors. *Einstein (Sao Paulo)* 2019; 17(1): eAO4477. [Article in English, Portuguese]
- Wang J, Xia W, Deng J, Xu X, Shao Y, Ding H, et al. Analysis of platelet-reactive alloantibodies and evaluation of cross-match-compatible platelets for the management of patients with transfusion refractoriness. *Transfus Med* 2017; 28(1): 40-6.
- Feng M, Liu D, Shen W, Wang J, Guo Z, Zhang X, et al. Establishment of an HPA-1-to-16-typed platelet donor registry in China. *Transfus Med* 2006; 16(5): 369-74.
- Zhang Y, Yu Y, Qiao W, Liu Y, Zhou J, Xu J, et al. Analysis of HPA1-16 and HLA-A, B gene polymorphisms among ethnic Han population from Shandong. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2016; 33(5): 690-3. [Article in Chinese]
- Hauck-Dlimi B, Hammon K, Eckstein R, Ott S, Zimmermann R, Dengler T, et al. Human platelet antigen genotypes in Turkish and Caucasian blood donors in Germany. *Tissue Antigens* 2012; 80(3): 214-8.
- Xu X, Liu Y, Ying Y, Tao S, Hong X, Zhu F, et al. Human platelet antigen allele frequencies and new mutations on platelet glycoprotein genes in the Chinese Han population. *Transfus Med* 2011; 21(5): 330-7.
- Halle L, Bach K H, Martageix C, Bianchi F, Lê T Kim T, Morel-Kopp M, et al. Eleven human platelet systems studied in the Vietnamese and Ma'ohis Polynesian populations. *Tissue Antigens* 2004; 63(1): 34-40.
- Kim H, Jin Y, Kickler TS, Blakemore K, Kwon O, Bray P. Gene frequencies of the five major human platelet antigens in African American, white, and Korean populations. *Transfusion* 1995; 35(10): 863-7.
- Ferrer G, Muniz-Diaz E, Aluja M, Arilla M, Martinez C, Nogues R, et al. Analysis of human platelet antigen systems in a Moroccan Berber population. *Transfus Med* 2002; 12(1): 49-54.
- Shaiegan M, Amiri F, Derakhti Gonbad MH, Aghaeipour M, Maghsudlu M, Tabatabaian A, et al. Flowcytometric evaluation of antibodies against histocompatibility antigens and platelet-specific antigens in patients with hematological disorders following the transfusion of platelets concentrates. *Sci J Iran Blood Transfus Organ* 2005; 1(2): 27-36. [Article in Farsi]
- Metcalfe P, Waters A. HPA-1 typing by PCR

- amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP): a rapid and simple technique. *Br J Haematol* 1993; 85(1): 227-9.
- 15- Madani T, Samiee S, Attaei Z, Kavari M, Babaei G, Mostakhdemin M, *et al*. Platelet antigens frequency in blood donors: comparison of molecular detection with ELISA method ( for HPA-1a ). *Sci J Iran Blood Transfus Organ* 2007; 4(3): 165-74. [Article in Farsi]
  - 16- Ahmadzadeh Shad G, Zadsar M, Shayegan M, Samiee S, Zare A. HPA-1 gene polymorphism in Iranian couples with history of recurrent abortion. *Sci J Iran Blood Transfus Organ* 2018; 15(4): 293-300. [Article in Farsi]
  - 17- Ghasemi A, Zadsar M, Shaiegan M, Samiei S, Namvar A, Rasouli M, *et al*. Human platelet antigens polymorphisms; Association to the development of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Med Virol* 2020; 92(1): 45-52.
  - 18- Brouk H, Halle L, Bertrand G, Neche F, Ouelaa H, Kaplan C. Human platelet antigen allele frequencies in different Algerian populations. *Tissue Antigens* 2010; 75(6): 673-8.
  - 19- Halle L, Bigot A, Mulen-Imandy G, M'Bayo K, Jaeger G, Anani L, *et al*. HPA polymorphism in sub-Saharan African populations: Beninese, Cameroonians, Congolese, and Pygmies. *Tissue Antigens* 2005; 65(3): 295-8.
  - 20- Kupatawintu P, Nathalang O, O-Charoen R, Patmasiriwat P. Gene frequencies of the HPA-1 to 6 and Gov human platelet antigens in Thai blood donors. *Immunohematology* 2005; 21(1): 5-9.
  - 21- Tan JY, Lian LH, Nadarajan VS. Genetic polymorphisms of human platelet antigens-1 to-6, and-15 in the Malaysian population. *Blood Transfus* 2012; 10(3): 368-76.
  - 22- Tanaka S, Ohnoki S, Shibata H, Okubo Y, Yamaguchi H, Shibata Y. Gene frequencies of human platelet antigens on glycoprotein IIIa in Japanese. *Transfusion* 1996; 36(9): 813-7.
  - 23- Shih MC, Liu TC, Lin IL, Lin SF, Chen CM, Chang JG. Gene frequencies of the HPA-1 to HPA-13, Oe and Gov platelet antigen alleles in Taiwanese, Indonesian, Filipino and Thai populations. *Int J Mol Med* 2003; 12(4): 609-14.
  - 24- Seo D, Park SS, Kim D, Furihata K, Ueno I, Han KS. Gene frequencies of eight human platelet-specific antigens in Koreans. *Transfus Med* 1998; 8(2): 129-32.
  - 25- Pai SC, Burnouf T, Chen JW, Lin LI. Human platelet antigen alleles in 998 Taiwanese blood donors determined by sequence-specific primer polymerase chain reaction. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 973789.
  - 26- Bhatti F, Uddin M, Ahmed A, Bugert P. Human platelet antigen polymorphisms (HPA-1,-2,-3,-4,-5 and-15) in major ethnic groups of Pakistan. *Transfus Med* 2010; 20(2): 78-87.
  - 27- Randen I, Sørensen K, Killie MK, Kjeldsen-Kragh J. Rapid and reliable genotyping of human platelet antigen (HPA)-1,-2,-3,-4, and-5 a/b and Gov a/b by melting curve analysis. *Transfusion* 2003; 43(4): 445-50.
  - 28- Carlsson LE, Greinacher A, Spitzer C, Walther R, Kessler C. Polymorphisms of the human platelet antigens HPA-1, HPA-2, HPA-3, and HPA-5 on the platelet receptors for fibrinogen (GPIIb/IIIa), von Willebrand factor (GPIb/IX), and collagen (GPIa/IIa) are not correlated with an increased risk for stroke. *Stroke* 1997; 28(7): 1392-5.
  - 29- Jones D, Bunce M, Fuggle S, Young NT, Marshall S. Human platelet alloantigens (HPAs): PCR-SSP genotyping of a UK population for 15 HPA alleles. *Eur J Immunogenet* 2003; 30(6): 415-9.
  - 30- Silvestre APA, Zacarias JMV, Guelsin GAS, Visentainer JEL, Sell AM. Genetic polymorphisms of human platelet antigens in Euro-African and Japanese descendants from Parana, Southern Brazil. *Platelets* 2017; 28(6): 607-10.
  - 31- De La Vega Elena C, Nogues N, Fernandez Montoya A, Chialina S, Blanzaco P, Theiller E, *et al*. Human platelet-specific antigens frequencies in the Argentinean population. *Transfus Med* 2008; 18(2): 83-90.
  - 32- Husebekk A, El Ekiaby M, Gorgy G, Killie M, Uhlin-Hansen C, Salma W, *et al*. Foetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia in Egypt; human platelet antigen genotype frequencies and antibody detection and follow-up in pregnancies. *Transfus Apher Sci* 2012; 47(3): 277-82.
  - 33- Al-Ouda S, Al-Banyan A, Abdel Gader A, Bayoumy N, Al-Gahtani F. Gene frequency of human platelet alloantigens-1 to-6 and-15 in Saudi blood donors. *Transfus Med* 2016; 26(3): 220-4.
  - 34- Bennett J, Palmer L, Musk A, Erber W. Gene frequencies of human platelet antigens 1-5 in indigenous Australians in Western Australia. *Transfus Med* 2002; 12(3): 199-203.

*Original Article*

## Iranian Turkmen blood donors determining the HPA-1 gene frequency in 1397

Nozarimirarkolaei M.<sup>1</sup>, Zadsar M.<sup>1</sup>, Samiee Sh.<sup>1</sup>, Shaiegan M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

### Abstract

#### *Background and Objectives*

Human platelet antigens (HPAs) are polymorphic structures located on the membrane of platelets (PLTs). These antigens have important role in clinical situations like refractoriness to platelet transfusion which is the most important cause of transfusion related mortality and morbidity in patients by recurrent platelet transfusion. Alloimmunization against the human platelet antigen 1 (HPA-1) is assumed as the major cause of platelet refractoriness in white population. Due to the variation of platelet antigens frequencies among ethnic groups; in this study, we investigated the frequency of HPA-1 alleles on Turkmen blood donors.

#### *Materials and Methods*

In this descriptive study, 80 non-relatives of Turkmen donors were randomly sampled from Aq Qala blood center during the year 2018.

#### *Results*

The mean age of the subjects was  $38.2 \pm 7.7$  years (range: 18-59 years) and all were male. Molecular genotyping of HPA-1 in this study revealed that HPA-1a allele was detected in 96% donors and the HPA-1a/1b heterozygote was found in 4% of individuals. No one was HPA-1bb homozygous (frequency 0%).

#### *Conclusions*

It was declared that 96% of Turkmen blood donors have shown HPA-1a similar to the frequency which was previously detected in Iranian blood donors and HPA-1b/b homozygous was not found in all donors. So it could be concluded that HPA-1a alloimmunization may not be involved in platelet refractoriness in Turkmen ethnicity.

**Key words:** Blood Donors, Genotype, Iran

Received: 28 Sep 2019

Accepted: 25 Dec 2019

Correspondence: Zadsar M., MD. Specialist in Infectious Diseases. Assistant Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine. P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82052234; Fax: (+9821) 88628741 E-mail: maryam.zad@gmail.com