خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۷ شماره ۴ زمستان ۹۹ (۳۰۷-۲۹۴)

مقاله پژوهشی

بررسی آنتی‌ژن‌ها و آنتی‌بادی‌های پلاکتی در بیماران با تزریق خون مکرر

الناز ابراهیم‌زاده[۱]، مستانه علائی[۲]، شهرام سمیعی[۳]، مژگان شایگان[۴]

چکیده

سابقه و هدف

ایجاد آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های HLA و آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی HPA به دنبال تزریق خون و فرآورده‌ها محتمل است. این امر منجر به بروز عوارضی نظیر پورپورای پس از تزریق، مقاومت پلاکتی ایمیون، ترومبوسیتوپنی و خونریزی در گیرندگان می‌گردد. در این مطالعه، آنتی‌ژن‌ها وآنتی‌بادی‌های پلاکتی به طور هم‌زمان در بیماران با تزریق خون مکرر بررسی شدند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، آنتی‌ژن‌ها و آنتی‌بادی‌های پلاکتی به روش PCR-SSP و فلوسیتومتری PIFT در ۳۰ بیمار تالاسمی ماژور و ۳۰ بیمار هماتوانکولوژی با تزریق خون مکرر که شمارش پلاکتی یک ساعت پس از تزریق µL/ ۴۵۰۰۰۰-۱۵۰۰۰۰ داشتند، بررسی شدند. برای مقایسه نتایج جمعیت‌های مورد مطالعه، از SPSS ۱۹ و آزمون آماری کای‌دو استفاده شد.

یافته‌ها

در بررسی فراوانی ژنوتیپی در بیماران هماتوانکولوژی و تالاسمی، ژنوتیپ HPA-1a/1a دارای بیشترین فراوانی و ژنوتیپ‌های HPA-1a/1b و HPA-3b/3b دارای کمترین فراوانی بودند. هموزیگوت 1b/1b و 2b/2b و 5b/5b مشاهده نشدند. آلل HPA-4b در بیماران مورد بررسی یافت نشد. نتیجه فلوسیتومتری PIFT در ۱۰ بیمار هماتوانکولوژی (۳۰٪) و یک بیمار تالاسمی(۳/۳٪) مثبت شد. فراوانی موارد مثبت آنتی‌بادی‌ها در گروه بیماران هماتوانکولوژیک واضحاً بیشتر از گروه تالاسمی بود(p= ۰/۰۰۶).

نتیجه گیری

با توجه به فراوانی ۱۰۰ درصدی آلل HPA-4a و فقدان آلل HPA-4b و عدم مشاهده ژنوتیپ هموزیگوت b/b آلل‌های HPA-1/-2/-5 در بیماران این مطالعه، احتمال وقوع آلوایمیونیزاسیون پلاکتی ناشی از آنتی‌بادی‌های ضد این آنتی‌ژن‌ها در این بیماران کمتر است.

کلمات کلیدی: **پلاکت‌ها، آنتی‌ژن‌ها، آنتی‌بادی‌ها، PCR**

تاریخ دریافت: ۹۹/۷/۱۶
تاریخ پذیرش: ۹۹/۹/۲۵

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

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]

مقدمه

بیمارانی که به طور مکرر خون و فرآورده‌های خونی نظیر پلاکت دریافت می‌کنند(multitransfused)، بر ضد آلوآنتی‌ژن‌های دریافتی نظیر آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکت (HPA ؛ Human platelet Antigens) و آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی (HLA ؛Human Leukocyte Antigens)، آلوآنتی‌بادی تولید می‌کنند(۱). آلوایمیونیزاسیون علیه آنتی‌ژن‌های پلاکتی می‌تواند پس از تزریق خون، پیوند اعضا و در افراد سالم به دنبال بارداری ایجاد شود. این آنتی‌بادی‌ها بر خلاف آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های گلبول‌های قرمز به صورت طبیعی ساخته نمی‌شوند(۲). عمده عوارضی که به دلیل ناسازگاری آنتی‌ژن‌های پلاکتی و آلوایمیونیزاسیون و متعاقب آن تولید آلوآنتی‌بادی‌ها روی می‌دهند شامل ترومبوسیتوپنی آلوایمیون نوزادان، پورپورای پس از تزریق و مقاومت پلاکتی هستند(۳). خود آنتی‌ژن‌های پلاکتی هم‌چنین جزو مولکول‌های سازگاری نسجی فرعی(mHC; Minor Histocompatibility Complex) می‌باشند(۴).

علاوه بر دریافت‌کنندگان فرآورده پلاکتی، در برخی از بیماران با تزریق خون مکرر مانند بیماران بتا تالاسمی ماژور که به طور منظم گلبول قرمز متراکم(PRBC) دریافت می‌کنند، خطر آلوایمیونیزاسیون نه تنها بر علیه آنتی‌ژن‌های RBC بلکه هم‌چنین بر ضد آنتی‌ژن‌های HPA و HLA-1 نیز وجود دارد که می‌تواند به سبب حضور تعداد اندک پلاکت و لکوسیت موجود در پلاسمای کیسه‌های PRBC رخ دهد. آگاهی از این مسأله می‌تواند سبب بهبود آماده‌سازی کیسه‌های PRBC ، مثل به کارگیری فرآورده‌های کم لکوسیت، با به حداقل رساندن آلوایمیونیزاسیون پلاکتی و کاهش عوارض ناشی از آن شود (۶، ۵).

در بیماران هماتوانکولوژی نیز به دنبال تزریق مکرر فرآورده پلاکتی و از آن جایی که آنتی‌ژن‌های ABO گروه خونی به مقدار کمی(کمتر از RBC) روی پلاکت نیز بروز می‌کنند، تزریق فرآورده‌های پلاکتی ناسازگار از لحاظ ABO به غیر از تولید anti-A و anti-B ، می‌تواند تولید سایر آلوآنتی‌بادی‌ها نظیر آنتی‌بادی ضد HLA و HPA را نیز در بدن بیمار سبب شده و خطر آلوایمیونیزاسیون پلاکتی را افزایش دهد(۷).

وفور ایمیونیزاسیون علیه آنتی‌ژن‌های HLA در بیماران با تزریق خون مکرر در مطالعه‌های متعدد به میزان‌های مختلفی گزارش شده است، به طوری که در مطالعه‌های گوناگون، تا ۶۹٪ در بیماران لوسمیک، ۸۰٪ در بیماران آنمی‌آپلاستیک، ۳۰٪ تا ۶۰٪ در بیماران مبتلا به سایر بدخیمی‌های خونی و ۳۰٪ در بیماران بتاتالاسمی ماژور، این آنتی‌بادی‌ها را ردیابی کرده‌اند. هم‌چنین آنتی‌بادی‌های ضد HPA در ۹۰٪ از موارد پورپورای پس از انتقال خون، ۵۶٪ از مبتلایان به ترومبوسیتوپنی اتوایمیون اولیه و ۳۳٪ از مبتلایان به ترومبوسیتوپنی ایمیون ثانویه دیده می‌شوند(۹، ۸).

با این اوصاف تعیین نوع آنتی‌ژن‌های پلاکتی جهت تشخیص، مدیریت و درمان عوارض بالینی فوق‌الذکر ضروری به نظر می‌رسد. در میان روش‌های مولکولی که تاکنون برای بررسی آنتی‌ژن‌های پلاکتی استفاده شدند، PCR-SSP (Polymerase Chain Reaction-sequence-specific primers) بیشترین و ساده‌ترین کاربرد را دارد(۶).

آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های پلاکتیHLA و HPA هم‌چنین احتمال وقوع مقاومت پلاکتی در بیماران با تزریق خون مکرر را افزایش می‌دهند و باعث عدم تاثیر تزریق پلاکت و عدم افزایش شمارش پلاکتی متعاقب تزریق در این بیماران می‌گردند. بنابراین در بیماران با تزریق خون مکرر، تزریق فرآورده پلاکتی HLA/HPA سازگار توصیه می‌شود(۱۱، ۱۰). از سوی دیگر آلوآنتی‌بادی‌های پلاکتی نه تنها بر علیه آلل a (آلل با وفور بیشتر) آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکت(HPAs) بلکه بر علیه آلل b (آلل با وفور پایین‌تر) نیز ممکن است تولید شوند. از این رو تعیین ژنوتیپ آنتی‌ژن‌های پلاکتی در بیماران هماتوانکولوژیک هم در تشخیص علت ترومبوسیتوپنی آلوایمیون و هم در فراهم ساختن فرآورده پلاکتی سازگار با این آنتی‌ژن‌ها ارزش دارد. هم‌چنین بررسی‌ها نشان می‌دهند که در بیماران با ژنوتیپ هتروزیگوت a/b (که هر دو آلل وجود دارد) از نظر آنتی‌ژن‌های پلاکتی، احتمال ناسازگار بودن فرآورده تزریق شده در بیمار خیلی کم و یا نزدیک به صفر است

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]

ولی در بیمارانی که ژنوتیپ هموزیگوت aa و یا bb را برای هر آلل دارند، احتمال وقوع آلوایمیونیزاسیون پس از هر تزریق وجود دارد. از این رو مطالعه و بررسی آنتی‌ژن‌های پلاکتی در بیماران با عارضه ترومبوسیتوپنی ضروری است(۱۲). هم چنین در بین آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی به نظر می‌رسد آلوایمیونیزاسیون علیه HPA-5b بیشترین فراوانی را در بیماران با تزریق خون مکرر دارد(۱۳). در این مطالعه به بررسی هم زمان آنتی‌ژن‌های پلاکتی (به روش مولکولی PCR-SSP) و آنتی‌بادی‌های پلاکتی(به روش فلوسایتومتری PIFT یا Platelet Immuno flourescent Test) در بیماران با تزریق خون مکرر(بیماران تالاسمی ماژور و بیماران دارای اختلالات هماتوانکولوژیک) پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه توصیفی در فاصله زمانی آبان ۱۳۹۷ تا آبان ۱۳۹۸ بر روی ۶۰ بیمار مولتی ترانسفیوز شامل ۳۰ بیمار تالاسمی ماژور و ۳۰ بیمار دارای اختلالات هماتوانکولوژیک صورت گرفت. معیار ورود به این مطالعه مولتی ترانسفیوز بودن بیماران(دریافت حداقل دو نوبت فرآورده پلاکتی و/یا پک سل توسط بیماران) و عدم وجود مقاومت پلاکتی(دارا بودن شمارش پلاکتی در محدوده ۱۵۰۰۰۰-۴۵۰۰۰۰/µL یک ساعت پس از تزریق پلاکت بر اساس گزارش CBC آزمایشگاه و تایید همکاران بالینی طرح) بود. بیماران هماتوانکولوژیک از بیمارستان شریعتی تهران(بخش هماتولوژی مرکز تحقیقات هماتولوژی/ انکولوژی و پیوند مغز استخوان) و بیماران تالاسمی ماژور از مرکز تالاسمی ظفر پس از اخذ رضایت‌نامه کتبی و با کد اخلاق IR.TMI.REC.1397.024 از مؤسسه عالی آموزشی پژوهشی طب انتقال خون وارد مطالعه شدند. هر دو گروه بیماران به تایید همکاران بالینی طرح فاقد عوامل مستعدکننده ایجاد مقاومت پلاکتی غیر ایمیون شامل تب، مصرف داروهایی نظیر هپارین و آمفوتریسین B، خونریزی، عفونت و بزرگی طحال بودند.

مقدار ۳ میلی‌لیتر خون کامل در لوله‌های درب بنفش حاوی ضد انعقاد EDTAK3 (برای بررسی مولکولی آنتی‌ژن‌های پلاکتی) و مقدار ۳ میلی‌لیتر از سرم در لوله‌های لخته ژل‌دار درب زرد(برای بررسی سرمی آنتی‌بادی‌های پلاکتی) از هر بیمار گرفته شد. نمونه‌ها در دمای محیط و سریعاً به آزمایشگاه منتقل شدند و در فاصله ۳ ساعت از نمونه‌گیری، بافی‌کوت حاول گلبول‌های سفید آن جدا شده و استخراج DNA با استفاده از ستون فیلتردار سیلیکایی در کیت کیاژن بر اساس لیز سلول‌ها و آزاد شدن ژنوم از پروتئین‌ها صورت گرفت. DNA به سیلیکا ژل غشاء ستون کیت کیاژن متصل شده وخالص‌سازی شد و سپس جذب نوری اسید نوکلئیک در دو طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتری اندازه‌گیری شد(۱۴). بخش سرمی نمونه نیز در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان بررسی آنتی‌بادی‌ها در چند میکروتیوب تقسیم و نگهداری شد.

بررسی آنتی‌ژن‌های پلاکتی:

برای تعیین ژنوتیپ آلل‌های a و b آنتی‌ژن‌های HPA-1/-2/-3/-4/-5/-15 از روش PCR-SSP استفاده گردید. برای هر آلل لوله جداگانه و در نهایت برای هر نمونه DNA واکنش در ۱۲ لوله جداگانه انجام شد. توالی آغازگرها (محصول بیونیر کره) که از طریق شرکت تکاپو زیست تهیه شدند در جدول آمده است(جدول ۱).

حجم کلی محتوای واکنش ۲۰ میکرولیتر(شامل ۴ میکرولیتر نمونه DNA ، ۱۰/۳ میکرولیتر از مخلوط واکنش و ۵/۷ میکرولیتر از مخلوط آغازگرها) در هر لوله بود. مخلوط آغازگرها خود شامل یک میکرولیتر از هر یک از آغازگر مخصوص آلل(allele specific primer)، آغازگر مشترک دو آلل(common primer)، یک جفت آغازگر HGH (Human Growth Hormone) (به عنوان کنترل داخلی و کنترل مثبت واکنش PCR) و ۳/۷ میکرولیترdH_2O بود که مقدار مصرفی هر کدام بسته به غلظت نهایی مورد نظر برای آن آغازگر داشت. مقدار آنزیم DNA تک پلی‌مراز (Units ۱۰۰۰ ، رُوش) برای هر واکنش ۰/۳ میکرولیتر بود که به مخلوط واکنش اضافه شد. مخلوط واکنش شامل: ۱۰ میکرولیتر از 2x Master Mix برای هر لوله واکنش بود. غلظت نهایی $MgCl_2$ در همه واکنش‌ها ۱/۵ میکرومولار در نظر گرفته شد. واکنش PCR در ترموسایکلر بیوراد

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]

جدول ۱: توالی آغازگرها، اندازه، غلظت نهایی و اندازه مورد انتظار برای محصولات تکثیری در هر آنتی‌ژن

سیستم	آنتی‌ژن	توالی	اندازه(bp)
HPA-1	۱a	5' TCA CAG CGA GGT GAG GCC A 3'	۹۰
	Common	5' GGA GGT AGA GAG TCG CCA TAG 3'	
	۱b	5' ACT TAC AGG CCC TGC CTC C 3'	۱۹۶
	Common	5' AGC CGG AGT GCA ATC CTC TG 3'	
HPA-2	۲a	5' GCCCCCAGGGCTCCTGAC 3'	۲۵۸
	۲b	5' GCCCCCAGGGCTCCTGAT 3'	
	Common	5' TCAGCATTGTCCTGCAGCCA 3'	
HPA-3	۳a	5' GGG GGA GGG GCT GGG GA 3'	۲۹۳
	۳b	5' GGG GGA GGG GCT GGG GC 3'	
	Common	5' GGC CCT GGG ACT GTG AAT G3'	
HPA-4	۴a	5' CTG GCC ACC CAG ATG CG 3'	۲۵۲
	۴b	5' CTG GCC ACC CAG ATG CA 3'	
	Common	5' GGT AGA AAG GAG CTA TAG TTT GGC 3'	
HPA-5	۵a	5' AGA GTC TAC CTG TTT ACT ATC AAA G 3'	۲۴۶
	۵b	5' AGA GTC TAC CTG TTT ACT ATC AAA A 3'	
	Common	5' CTC TCA TGG AAA ATG GCA GTA CA 3'	
HPA-15	۱۵a	5' TTC AAA TTC TTG GTA AAT CCT CG 3'	۲۲۵
	۱۵b	5' TTC AAA TTC TTG GTA AAT CCT CT 3'	
	Common	5' ATG AAC CTT ATG ATG ACC TAT TC 3'	

(TC135) انجام گرفت. چرخه انجام PCR برای تکثیر به شرح زیر بود:

پس از یک دقیقه انکوباسیون در دمای ۹۶ درجه سانتی‌گراد برای فعال شدن، چرخه آمپلیفیکاسیون در ۳ مرحله در نظر گرفته شد. مرحله اول ۵ چرخه شامل: ۹۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ ثانیه، ۶۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله دوم ۲۰ چرخه شامل: ۹۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ ثانیه، ۶۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله سوم ۱۵چرخه شامل: ۹۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۵۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه. واکنش در پایان با مرحله الانگیشن(Eloangation) شامل ۱ چرخه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، تکمیل شد. پس از انجام مراحل تکثیر، برای الکتروفورز در روی ژل آگاروز ۲٪، محصولات PCR به نسبت ۱ به ۴ با ماده رنگی سایبرگرین مخلوط شده و باندهای حاصله با ترانس ایلومیناتور UV در طول موج ۳۲۰ نانومتر مشاهده و با استفاده از Gel DOC عکسبرداری صورت گرفت و در نهایت عکس‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

تفسیر نتایج روش PCR:

غلظت آغازگرهای HGH که به عنوان کنترل داخلی در هر واکنش لحاظ شدند، طوری محاسبه گردید که کمتر از آغازگرهای اصلی باشند و در هنگام تکثیر رقابتی ایجاد نکنند و در نتیجه وجود باند کنترل داخلی مؤید صحت روند آزمایش و مواد مورد استفاده بود. باندهای مربوط به آلل‌ها با استفاده از سایز مارکر و مقایسه آن با باند موجود در هر ردیف تشخیص داده شدند(جدول ۱). نتایج حاصله یادداشت شده و سپس وفور موارد مشاهده شده با موارد قابل انتظار با قانون هاردی وینبرگ و با استفاده از آزمون آماری کای‌دو مقایسه گردید. در صورت عدم اختلاف یعنی موارد مشاهده شده با موارد قابل انتظار طبق قانون هاردی وینبرگ مطابقت دارد و با وارد کردن فراوانی آللی

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]

موارد هموزیگوت و هتروزیگوت در محاسبه‌گر خودکار هاردی وینبرگ(بر اساس معادله $a^2 + b^2 + 2ab = 1$)، وفور آلل‌های a و b برای آنتی‌ژن‌های پلاکتی محاسبه شدند.

برای مقایسه فراوانی نسبی ژن‌ها در جمعیت‌های مختلف نیز از مقایسه نسبت‌ها با آزمون کای‌دو و نرم‌افزار SPSS ۱۹ استفاده شد. $p< ۰/۰۵$ بیانگر تفاوت معنادار بود. در صورت فقدان باند تنها در حالتی جواب را منفی و به عنوان عدم حضور آلل تلقی کردیم که تکثیر ژن کنترل (HGH) صورت گرفته و باندی به اندازه ۴۲۹ bp در الکتروفورز مشاهده شد.

بررسی آنتی‌بادی‌های پلاکتی:

ابتدا Pooled پلاکتی از گروه خون O تهیه شد. نمونه‌های خون کامل که از ۵ فرد سالم در لوله حاوی ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شده بود، توسط آنتی سرم گروه‌بندی ABO (لورن) گروه‌بندی گردید. این لوله با نیروی ۲۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ خون کامل به سه قسمت تبدیل شد. قسمت ته لوله حاوی RBC، قسمت میانی بافی‌کوت و قسمت رویی حاوی پلاسما و پلاکت بود که به آن پلاسمای غنی از پلاکت(Platelet Rich Plasma ، PRP) گفته می شود. در این مرحله با سمپلر و به آرامی PRP را از لوله جدا کرده و در یک لوله مجزا ریخته شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از آن با دستگاه سل کانتر شمارش گردید و در نهایت تعداد کل پلاکت در هر میلی لیتر از PRP مورد نظر محاسبه گردید و به نحوی رقیق‌سازی انجام شد که سوسپانسیون پلاکتی با تعداد ۱۰×۱۰^5 pLt/mL از افراد با گروه خون O تهیه شد. ۵۰ میکرولیتر از PRP Pooled مذکور را در لوله فلوسیتومتری ریخته و ۵۰ میکرولیتر ازسرم بیمار را به آن افزودیم. در لوله کنترل فقط سوسپانسیون و بافر به جای سرم بیمار در لوله جداگانه اضافه گردید. به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و پس از طی زمان انکوباسیون، سوسپانسیون ۳ مرتبه با (PBS; phos phate buffered saline)(نیروی ۲۰۰۰g و زمان ۱۰ دقیقه) شست و شو داده شد. پس از آخرین مرحله شست و شو، به رسوب زیرین از آنتی‌هیومن گلوبولین کونژوگه با FITC (داکو) اضافه گردید. آنتی‌سرم مذکور در غلظت نهایی ۱/۳۰ با PBS رقیق شده و به لوله واکنش ۵۰ میکرولیتر اضافه نموده و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی در محیط آزمایشگاه انکوبه گردید. سپس یک بار با محلول شستشو PBS ، ۱۰ دقیقه در دور ۲۰۰g سانتریفیوژ گردید. مایع رویی دور ریخته شد و مابقی برای تجزیه و تحلیل به دستگاه فلوسیتومتری داده شد و تا ۱۰۰۰۰ event قرائت شد(۱۵). روش فلوسیتومتری با استفاده از دستگاه-partec cyFlow انجام شد و توسط نرم‌افزار فلومکس تجزیه و تحلیل گردید. در روش فلوسیتومتری در هر ران کاری یک نمونه کنترل مثبت (حاوی Daco Anti-HLA Positive Contorol + پولد پلاکتی) و یک نمونه کنترل منفی(حاوی PBS + پولد پلاکتی) و ایزوتایپ کنترل(حاوی Daco Isotype Control + پولد پلاکتی) به عنوان کنترل استفاده شدند. برای تنظیم نمودارها و ولتاژ دستگاه و شروع خوانش، ابتدا لوله حاوی ایزوتایپ کنترل به دستگاه فلوسیتومتری داده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه آنتی‌ژن‌ها و آنتی‌بادی‌های پلاکتی در ۶۰ بیمار در دو گروه شامل ۳۰ نفر در گروه بیماران دارای اختلالات هماتوانکولوژیک(بدون مقاومت پلاکتی) و۳۰ نفر در گروه بیماران تالاسمی ماژور به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفتند:

در گروه بیماران هماتوانکولوژیک از ۳۰ بیمار با تزریق خون مکرر(مراجعه‌کننده به بیمارستان شریعتی تهران) با میانگین سنی ۴/۱ ± ۳۰/۱۰ سال و محدوده سنی ۴۷-۱۰ سال، شامل ۱۶ (۵۳/۳٪) زن و ۱۴ (۴۶/۶٪) مرد و با شمارش پلاکتی یک ساعت پس از تزریق در محدوده ۱۵۰۰۰۰۰-۴۵۰۰۰۰/µL ، ۲۵ نفر(۸۳/۴٪) مبتلا به AML ، ۳ نفر(۱۰٪) مبتلا به ALL ، ۱ نفر (۳/۳٪) مبتلا به سندرم میلودیسپلازی و ۱نفر(۳/۳٪) نیز مبتلا به هموگلوبینوری حمله‌ای شبانه بودند. در این بیماران فراوانی مطلق و نسبی ژنوتیپی و وفور آللی آنتی‌ژن‌های پلاکتی به دست آمد (جدول ۲).

ارزش p محاسبه شده برای وفور ژنوتیپی آنتی‌ژن‌های

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]

جدول ۲: فراوانی مطلق و نسبی ژنوتیپی و فراوانی آللی آنتی ژن‌های پلاکتی در بیماران با اختلال هماتولوژیک(بدون مقاومت پلاکتی)

ژنوتیپ‌های HPA	تعداد	درصد	آلل‌های HPA	فراوانی آللی
HPA-1a/1a	۲۷	۹۰	HPA-1a	۰/۹۵
HPA-1a/1b	۳	۱۰	HPA-1b	۰/۰۵
HPA-1b/1b	–	–		
HPA-2a/2a	۲۲	۷۳/۳	HPA-2a	۰/۸۷
HPA-2a/2b	۸	۲۶/۷	HPA-2b	۰/۱۳
HPA-2b/2b	–	–		
HPA-3a/3a	۷	۲۳/۳	HPA-3a	۰/۵۲
HPA-3a/3b	۱۷	۵۶/۷	HPA-3b	۰/۴۸
HPA-3b/3b	۶	۲۰		
HPA-4a/4a	۳۰	۱۰۰	HPA-4a	۱
HPA-4a/4b	-	-	HPA-4b	۰
HPA-4b/4b	-	-		
HPA-5a/5a	۲۵	۸۳/۳	HPA-5a	۰/۹۲
HPA-5a/5ba	۵	۲۶/۷	HPA-5b	۰/۰۸
HPA-5b/5b	-	-		
HPA-15a/15a	۸	۲۶/۷	HPA-15a	۰/۵۵
HPA-15a/15b	۱۷	۷/۵۶	HPA-15b	۰/۴۵
HPA-15b/15b	۵	۱۶/۶		

مختلف در محدوده ۰/۹۸ >p > ۰/۷ نشان داد که فراوانی آللی در این بیماران مطابق قانون هاردی واینبرگ قابل محاسبه است که در ستون اول جدول ۲ از سمت راست نمایش داده شده است. در این گروه وفور آلل a برای آنتی‌ژن‌های15- ,5- ,4- ,3- ,2- ,1-HPA از وفور آلل b، بیشتر به دست آمد. هم‌چنین موردی از آلل HPA-4b و نیز موردی از هموزیگوت bb برای آنتی‌ژن‌های 5- ,2- ,1-HPA در این گروه مشاهده نشد.

در بررسی آنتی‌بادی‌های پلاکتی به روش PIFT در بیماران این گروه، شدت فلورسنت قرائت شده در روش فلوسیتومتری برای ۳۰ نمونه، در محدوده۴۶/۳۰٪-۰/۱٪ متغیر بود که برای آن میانگین و انحراف معیار محاسبه شد. برای تعیین cut off اگر درصد قرائت شده شدت فلورسنت برای فرد از M+ 2SD شدت فلورسنت(MF) قرائت شده (عدد ۱۰/۴٪ به دست آمده در مطالعه ما)، بزرگتر شد، نتیجه مثبت و اگر کمتر از ۱۰/۴٪ بود منفی تلقی شدند. در کل نتایج PIFT برای ۹ نفر(۳۰ ٪) شامل ۴ زن و ۵ مرد در این گروه مثبت(بالای ۱۰/۴٪) شدند که ۵ نفر از این بیماران دچار AML؛ ۳ نفر از این بیماران دچار ALL؛ و یک نفر نیز مبتلا به PNH بودند.

در گروه بیماران تالاسمی نیز تعداد ۳۰ بیمار با میانگین سنی ۱۰/۴ ± ۳۶/۴ سال و محدوده سنی ۶۸-۲۱ سال شامل ۱۷(۵۶/۶٪) زن و ۱۳ (۴۳/۳٪) مرد از مراجعین مرکز تالاسمی ظفر با مشارکت همکار طرح انتخاب شده و مورد مطالعه قرار گرفتند. بیماران منتخب سابقه عوارض همولیتیک تزریق خون نداشتند. این بیماران سال‌ها فرآورده گلبول قرمز متراکم(و در سال‌های اخیر از نوع کم لکوسیت عمدتاً prestorage) دریافت کرده بودند. فراوانی مطلق و نسبی ژنوتیپی و فراوانی آللی آنتی‌ژن‌های مختلف پلاکتی در این بیماران به دست آمد (جدول ۳).

جدول ۳: فراوانی مطلق و نسبی ژنوتیپی و فراوانی آللی آنتی‌ژن‌های پلاکتی در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور

HPA Genotypes	تعداد	درصد	HPA Alleles	فراوانی آللی
HPA-1a/1a	۲۸	۹۳/۳	HPA-1a	۰/۹۷
HPA-1a/1b	۲	۶/۷	HPA-1b	۰/۰۳
HPA-1b/1b	–	–		
HPA-2a/2a	۲۱	۷۰	HPA-2a	۰/۸۵
HPA-2a/2b	۹	۳۰	HPA-2b	۰/۱۵
HPA-2b/2b	–	–		
HPA-3a/3a	۱۱	۳۶/۷	HPA-3a	۰/۶۳
HPA-3a/3b	۱۶	۵۳/۳	HPA-3b	۰/۳۷
HPA-3b/3b	۳	۱۰		
HPA-4a/4a	۳۰	۱۰۰	HPA-4a	۱
HPA-4a/4b	–	–	HPA-4b	۰
HPA-4b/4b	–	–		
HPA-5a/5a	۲۴	۸۰	HPA-5a	۱
HPA-5a/5ba	۶	۲۰	HPA-5b	۰
HPA-5b/5b	–	–		
HPA-15a/15a	۷	۲۳/۳	HPA-15a	۰/۴۸
HPA-15a/15b	۱۵	۵۰	HPA-15b	۰/۵۲
HPA-15b/15b	۸	۲۶/۷		

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]

جدول ۴: وفور ژنوتیپی آنتی‌ژن‌های پلاکتی در دو گروه بیماران مورد بررسی

HPA Genotypes	بیماران هماتوانکولوژیک		بیماران بتا تالاسمی		p value
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
HPA-1a/1a	۲۸	۹۳/۳	۲۷	۹۰	۰/۴
HPA-1a/1b	۲	۶/۷	۳	۱۰	۰/۴
HPA-1b/1b	–	–	–	–	–
HPA-2a/2a	۲۲	۷۳/۳	۲۱	۷۰	۰/۷۷
HPA-2a/2b	۸	۲۶/۷	۹	۳۰	۰/۷۷
HPA-2b/2b	–	–	–	–	
HPA-3a/3a	۷	۲۳/۳	۱۱	۳۶/۷	۰/۲۶
HPA-3a/3b	۱۷	۵۶/۷	۱۶	۵۳/۳	۰/۷۹
HPA-3b/3b	۶	۲۰	۳	۱۰	۰/۲۸
HPA-4a/4a	۳۰	۱۰۰	۳۰	۱۰۰	–
HPA-4a/4b	–	–	-	–	–
HPA-4b/4b	–	–	-	–	–
HPA-5a/5a	۲۵	۸۳/۳	۲۴	۸۰	۰/۵۵
HPA-5a/5b	۵	۱۶/۷	۶	۲۰	۰/۵۵
HPA-5b/5b	–	–	–	–	
HPA-15a/15a	۸	۲۶/۷	۷	۲۳/۳	۰/۷۴
HPA-15a/15b	۱۷	۵۶/۷	۱۵	۵۰	۰/۶
HPA-15b/15b	۵	۱۶/۶	۸	۲۶/۷	۰/۳۵

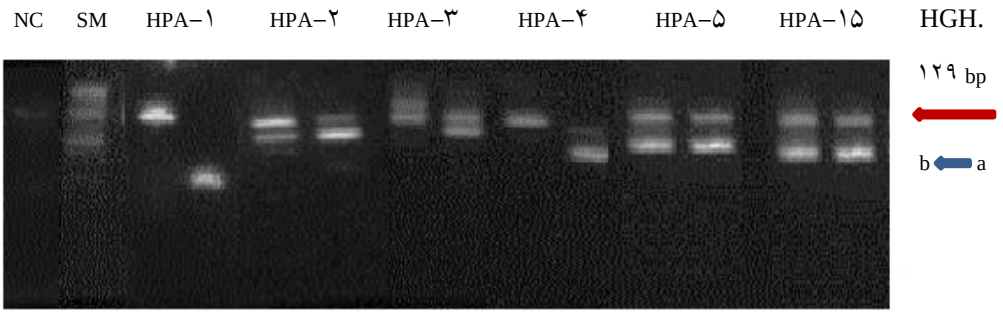
ارزش p محاسبه شده برای وفور ژنوتیپی آنتی‌ژن‌های مختلف در محدوده ۰/۰۹۲ >p> ۰/۸۳ نشان داد که فراوانی آللی برای HPAs در این بیماران مطابق قانون هاردی واینبرگ قابل محاسبه است که در ستون اول از سمت راست جدول ۳ نمایش داده شده است.

در بررسی آنتی‌بادی‌های پلاکتی به روش PIFT در این گروه شدت فلورسنت قرائت شده در روش فلوسیتومتری برای ۳۰ نمونه بیمار مبتلا به تالاسمی مورد بررسی در این مطالعه، در ۲۹ نمونه در محدوده ۳/۶۰٪-۰/۱٪ متغیر و منفی بود و فقط در یک مورد(۳/۳٪) بیمار خانم ۵۷/۸۵٪ قرائت شد که با توجه به این که بیش از ۱۰/۴٪ بود، مثبت در نظر گرفته شد.

در مقایسه وفور ژنوتیپی آنتی‌ژن‌ها و فراوانی آنتی‌بادی‌ها در دو گروه بیماران مورد بررسی در این مطالعه دیده شد که وفور ژنوتیپی همه آنتی‌ژن‌های پلاکتی بین بیماران تالاسمی و بیماران هماتوانکولوژیک یکسان است و این دو گروه از این لحاظ اختلاف معناداری ندارند. هم‌چنین آلل HPA-4b در هیچ یک از بیماران در مطالعه مشاهده نشد(جدول ۴).

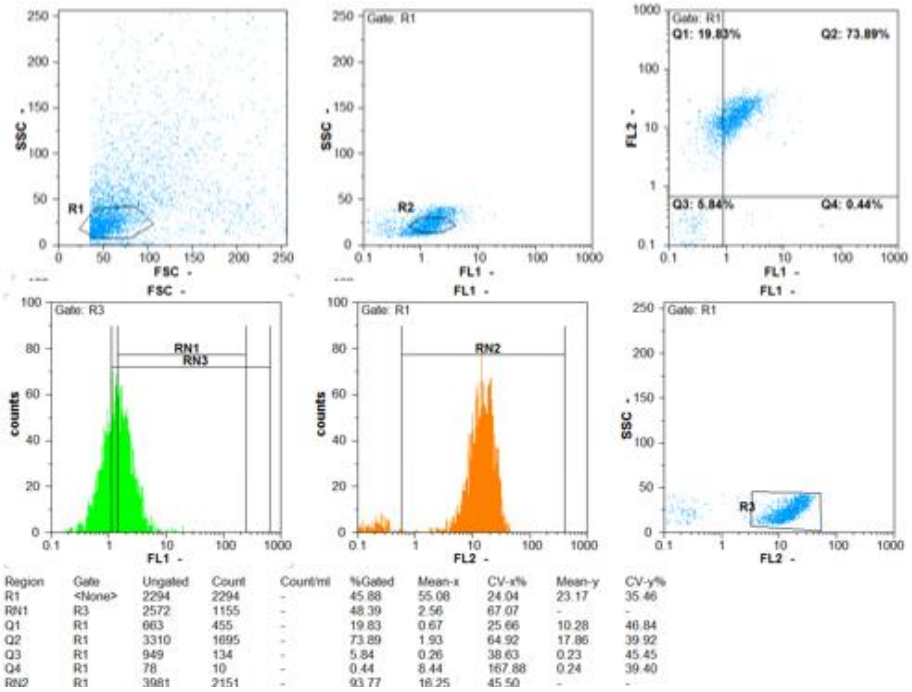
نتیجه PIFT در ۱۰ نفر از کل بیماران شامل ۴ زن و ۵ مرد از بیماران با اختلالات هماتوانکولوژی و یک زن مبتلا به تالاسمی مثبت شد. فراوانی موارد مثبت این آنتی‌بادی‌ها بین گروه بیماران هماتوانکولوژیک آشکارا و به طور معناداری بیشتر از گروه تالاسمی بود(p= ۰/۰۰۶).

نتایج قرائت شده ژل الکتروفورز PCR یک بیمار و یک نمونه نمودار سیتوگرام مثبت فلوسیتومتری نیز نشان داده شد(شکل‌های ۱ و ۲).



شکل ۱: باندهای حاصل از الکتروفورز محصولات PCR مربوط به ژن‌های مختلف HPAs در یکی از بیماران. در این شکل طول باند HPA-1:90 bp/ HPA-2:258 bp/ HPA-3: 367 bp/ HPA-4:126 bp/ HPA-5:250 bp و HPA-15:225 bp است و NC در چاهک اول کنترل منفی می‌باشد.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]



Region	Gate	Ungated	Count	Count/ml	%Gated	Mean-x	CV-x%	Mean-y	CV-y%
R1	<None>	2294	2294	-	45.88	55.08	24.04	23.17	35.46
RN1	R3	2572	1155	-	48.39	2.56	67.07	-	-
Q1	R1	663	455	-	19.83	0.67	25.66	10.28	46.84
Q2	R1	3310	1695	-	73.89	1.93	64.92	17.86	39.92
Q3	R1	949	134	-	5.84	0.26	38.63	0.23	45.45
Q4	R1	78	10	-	0.44	8.44	167.88	0.24	39.40
RN2	R1	3981	2151	-	93.77	18.25	45.50	-	-

شکل ۲: نمودار سیتوگرام یک بیمار مثبت از نظر وجود آنتی‌بادی‌های پلاکتی توسط آزمایش PIFT . نمودار SSC/FSC (R1 gate) میزان سلول‌های مورد بررسی را نشان می‌دهد. نمودار count/FL2 (RN2 gate) میزان سلول‌های CD41 مثبت(پلاکت‌ها) و نمودار count/FL1 (RN1 gate) میزان پلاکت‌های مثبت از نظر آنتی‌بادی‌های پلاکتی را نشان می‌دهد، (۴۸/۳۹= RN1 می‌باشد).

بحث

در ایـــن مطالعـــه آنتـــی‌ژن‌هـــای پلاکتـــی بـــه روش مولکولی PCR-SSP و آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های پلاکتی به روش فلو PIFT در ۶۰ بیمار با تزریق خون مکـرر شـامل ۳۰ بیمار هماتوانکولوژی بدون مقاومت پلاکتی و ۳۰ بیمار تالاسمی ماژور بررسی شدند.

وفور آللی آنتی‌ژن‌های پلاکتی در بیماران دارای اخـتلالات هماتوانکولوژی بدون مقاومت پلاکتی به صورت:

HPA-1a (۰/۹۵) ، HPA-1b (۰/۰۵) ، HPA-2a (۰/۸۷) ، HPA-2b (۰/۱۳) ، HPA-3a (۰/۵۲) ، HPA-3b (۰/۴۸) ، HPA-4a (۱/۰) ، HPA-5a (۰/۹۲) ، HPA-5b (۰/۰۸) ، HPA-15a (۰/۵۵) و HPA-15b (۰/۴۵)

و در بیماران تالاسمی ماژور به صورت:

HPA-1a (۰/۹۷) ، HPA-1b (۰/۰۳) ، HPA-2a (۰/۸۵) ، HPA-2b (۰/۱۵) ، HPA-3a (۰/۶۳) ، HPA-3b (۰/۳۷) ، HPA-4a (۱/۰) ، HPA-5a (۱/۰) ، HPA-15a (۰/۴۸) و HPA-15b (۰/۵۲)

به دست آمد.

هیچ موردی از HPA-4b در این مطالعه دیـده نشـد. در مقایسه وفور آللی آنتی‌ژن‌های پلاکتی بـین ایـن دو گـروه، اختلاف معناداری بین وفور ژنـوتیپی و آللـی آنتـی‌ژن‌هـای HPA-1,2,3,4,5,15 آن‌ها مشاهده نشد. طبق نتـایج حاصـله در بررسی فراوانی آنتی‌ژن‌های پلاکتـی بـین ایـن دو گـروه بیمار، به نظر می‌رسـد بیشـترین میـزان هموزیگوسـیتی بـه ترتیب مربوط به آنتی‌ژن‌های HPA-4a/4a با فراوانی ۱۰۰٪ و HPA-1a/1a بـا فراوانـی ۹۷٪ و HPA-5a/5a بـا فراوانـی ۹۲٪ باشـد. در مقابـل کمتـرین میـزان هموزیگوسـیتی در HPA-4b/4b و HPA-1b/1b و به ترتیب با فراوانی صـفر و ۳٪ مشـاهده شـد. از سـوی دیگـر بیشـترین میـزان هتروزیگوسیتی مربوط به آنتی‌ژن HPA-3 با میزان ۵۶/۷٪ و سپس آنتـی‌ژن HPA-15 بـا فراوانـی ۵۰٪ و کمتـرین میـزان هتروزیگوسیتی در این بیماران مربوط به آنتی‌ژن HPA-2 با درصد فراوانی ۳۶/۷٪ بود.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]

میزان فراوانی ژنی HPA-1 در این مطالعه با مطالعه نوذری در سال ۲۰۱۹ و مدنی در سال ۲۰۰۷ که هر دو بر روی اهدا کنندگان خون انجام شده مشابهت داشته و بین این دو مطالعه و مطالعه حاضر اختلاف معناداری مشاهده نشد(۱۷، ۱۶). در مطالعه مستخدمین که در سال ۲۰۱۹ بر روی بیماران هماتوانکولوژی دارای مقاومت پلاکتی صورت گرفت، فراوانی آلل a برای HPA-1,3,4,5 و آلل b برای HPA-2,15 در جمعیت مورد مطالعه بیشتر به دست آمد که این یافته‌ها به جز در مورد HPA-2 ، با مطالعه حاضر مشابهت داشتند. هم‌چنین در مطالعه مستخدمین هیچ موردی از HPA-4b و HPA-5b در بیماران دیده نشد که در خصوص HPA-4b با مطالعه ما مشابهت دارد. از سوی دیگر آنتی‌بادی ضد HPA در ۴٪ بیماران مقاومت پلاکتی ردیابی شد(۱۸)، در حالی که در مطالعه حاضر در ۳/۳٪ بیماران تالاسمی و ۳۰٪ بیماران هماتوانکولوژی بدون مقاومت پلاکتی موفق به ردیابی این آنتی‌بادی‌ها شدیم.

در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۵ توسط هالی در آفریقای مرکزی انجام گرفته بود، درصد فراوانی آنتی‌ژن HPA-1a ۱۰۰٪ گزارش شده و هیچ موردی از آنتی‌ژن 1b یافت نشده که این تفاوت اندک با نتایج حاصل از فراوانی این آنتی‌ژن در مطالعه ما احتمالا به دلیل حجم کم نمونه در این مطالعه است و اختلاف معناداری با هم ندارند(۱۹).

مدنی در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۷ فراوانی آنتی‌ژن‌های پلاکتی و وفور آللی و محدوده وفور آنتی‌ژن‌های پلاکتی در اهداکنندگان خون(افراد سالم) در کشورهای مختلف شامل انگلستان، چین، ژاپن، بحرین، اسپانیا، فنلاند، اتریش، کره، آمریکا، عربستان، تایلند و هم چنین ایران را بررسی کرد(۱۷).

در مقایسه وفور آللی بیماران مطالعه حاضر با **محدوده‌های وفور** آلل‌های آنتی‌ژن‌های پلاکتی در جمعیت‌های مختلف اهدا کنندگان(افراد سالم) در جهان، مشخص شد که فراوانی به دست آمده در بیماران این مطالعه برای آلل a مربوط به HPA-2, -15 اندکی کمتر از محدوده فوق و وفور آلل HLA-15b اندکی بیشتر از محدوده فوق است اما این اختلاف‌ها معنادار نمی‌باشند.

وفور آللی آنتی‌ژن‌های مختلف به دست آمده برای آلل a مربوط به HPA-1 در هر دو گروه تالاسمی و بیماران هماتوانکولوژیک فاقد مقاومت پلاکتی گرچه اندکی بیش از این محدوده است اما با وفور آلل‌های آن در اهداکنندگان خون در ایران تفاوت معناداری ندارد. وفور سایر آلل‌ها برای این دو گروه کما بیش در محدوده وفور آللی برای جمعیت اهداکنندگان کشورهای مختلف قرار دارد. گر چه اختلافات فوق با محدوده‌های کلی در جمعیت اهداکنندگان مختلف مشاهده شدند اما این موارد معنادار نبودند. در جمعیت‌های مختلف وفور آلل b برای HPA-15 در مقایسه با آلل a این آنتی‌ژن بیشتر است که در مورد مطالعه ما نیز چنین بود(۲۰).

وفور ژنوتیپی و آللی بین دو گروه بیماران مورد بررسی در این مطالعه با اهداکنندگان خون ایرانی در مطالعه مدنی و همکاران مقایسه شد(۱۷)(جدول ۵).

در مقایسه وفور آللی آنتی‌ژن‌های مختلف پلاکتی بین بیماران مبتلا به تالاسمی با اهداکنندگان خون در ایران(با p= ۰/۰۰۲) و بیماران هماتوانکولوژی بدون مقاومت پلاکتی با اهداکنندگان(با p= ۰/۰۰۱)، مشخص شد که فقط وفور آلل‌های a و b برای HPA-2 در هر دو گروه با اهداکنندگان تفاوت معناداری دارند و در سایر موارد بین این بیماران و اهداکنندگان ایرانی خون، مشابهت وجود دارد. به بیان دیگر وفور آللی برای HPA-2a/-2b بین اهداکنندگان برای آلل‌های 2a و 2b به ترتیب ۰/۵۴ و ۰/۴۶ و در بیماران تالاسمی ۰/۸۵ و ۰/۱۵ و در بیماران فاقد مقاومت پلاکتی۰/۸۷ و ۰/۱۳ ، بیانگر وفور بیشتر آلل b در بین اهداکنندگان و وفور کمتر آن در بیماران این مطالعه می‌باشد و این امر شاید بتواند مطرح‌کننده احتمال آلوایمونیزاسیون بیشتر علیه این آلل باشد که اثبات آن البته نیاز به بررسی‌ها و مطالعه‌های بیشتر دارد.

از سوی دیگر نتایج این تحقیق، حضور آنتی‌بادی‌های ضد HPA در بیماران تالاسمی ماژور و بیماران هماتوانکولوژیک بدون مقاومت پلاکتی که در طی درمان فرآورده گلبول قرمز متراکم و یا پلاکت دریافت نموده بودند را به ترتیب در ۳/۳٪ (۱ نفر) و ۳۰٪ (۹ نفر) بیماران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]

جدول ۵: مقایسه وفور ژنوتیپی و آللی بین بیماران این مطالعه با اهداکنندگان خون در ایران(۲۱)

HPA Genotypes	فراوانی نسبی ژنوتیپ در اهداکنندگان خون (n= ۱۰۰)	فراوانی آللی	فراوانی آللی در مطالعه حاضر	فراوانی آللی اهداکنندگان خون	فراوانی نسبی ژنوتیپ در بیماران بدون مقاومت پلاکتی	فراوانی نسبی ژنوتیپ در بیماران تالاسمی ماژور	فراوانی آللی بیماران بدون مقاومت پلاکتی	فراوانی آللی تالاسمی
1a/HPA-1a	۹۶	HPA-1a	۰/۸	۰/۹۸	۹۳/۳	۹۰	۰/۹۵	۰/۹۷
HPA-1a/1b	۴	HPA-1b	۰/۲	۰/۰۲	۶/۷	۱۰	۰/۰۵	۰/۰۳
HPA-1b/1b	۰				–	–		
HPA-2a/2a	۸	HPA-2a	۰/۶۸	۰/۵۴	۷۳/۳	۷۰	۰/۸۷	۰/۸۵
HPA-2a/2b	۹۲	HP-2b	۰/۳۲	۰/۴۶	۲۶/۷	۳۰	۰/۱۳	۰/۱۵
HPA-2b/2b	۰				–	–		
HPA-3a/3a	۱۹	HPA-3a	۰/۶۲	۰/۴۸	۲۳/۳	۳۶/۷	۰/۵۲	۰/۶۳
HPA-3a/3b	۵۹	HPA-3b	۰/۳۸	۰/۵۲	۵۶/۷	۵۳/۳	۰/۴۸	۰/۳۷
HPA-3b/3b	۲۲				۲۰	۱۰		
HPA-4a/4a	۱۰۰	HPA-4a	۱	۱	۱۰۰	۱۰۰	۱	۱
HPA-4a/4b	۰	HPA-4b	۰	۰	–	–	۰	۰
HPA-4b/4b	۰				–	–		
HPA-5a/5a	۹۸	HPA-5a	۰/۹۵	۰/۹۹	۸۳/۳	۸۰	۰/۹۲	۱
HPA-5a/5ba	۰	HPA-5b	۰/۰۵	۰/۰۱	۱۶/۷	۲۰	۰/۰۸	۰
HPA-5b/5b	۲				-	-		
HPA-15a/15a	۱۴	HPA-15a	۰/۴۲	۰/۴۷	۲۶/۷	۲۳/۳	۰/۵۵	۰/۴۸
HPA-15a/15b	۱۹	HPA-15b	۰/۵۸	۰/۵۳	۵۶/۷	۵۰	۰/۴۵	۰/۵۲
HPA-15b/15b	۶۷				۱۶/۶	۲۶/۷		

نشان داد که نشان‌دهنده میزان بالای حضور آنتی‌بادی‌های پلاکتی در بیماران هماتوانکولوژیک نسبت به بیماران تالاسمی بود(p= ۰/۰۰۶). با توجه به این که بیماران هماتوانکولوژیک در روند درمان بیشتر فرآورده پلاکتی و بیماران تالاسمی بیشتر فرآورده گلبول قرمز متراکم دریافت می‌کنند، بیشتر بودن فراوانی آنتی‌بادی‌های پلاکتی در گروه هماتوانکولوژی قابل قبول است. از سویی پیدا شدن آنتی‌بادی‌های پلاکتی در بیماران تالاسمی که غالباً فرآورده پلاکتی دریافت نمی‌کنند، احتمالاً می‌تواند ناشی از این باشد که متعاقب تزریق گلبول قرمز متراکم در بیماران تالاسمی، علاوه بر آلوایمونیزاسیون علیه آنتی‌ژن‌های گلبول قرمز، آلوایمونیزاسیون علیه آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکت HPAs و HLA-I هم به دلیل مقادیر مختصر پلاکت و گلبول سفید موجود در کیسه‌های خون متراکم روی می‌دهد.

در مطالعه شایگان که در سال ۲۰۰۴ بر روی ۸۲ بیمار هماتوانکولوژی با روش فلوسیتومتری صورت گرفت، ۵۳/۲٪ از بیماران دارای آنتی‌بادی ضد HLA-1 و ۴۳/۹٪

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]

دارای آنتی‌بادی ضد HPA بودند که همانند مطالعه ما نشان از وفور بالای آلوایمیونیزاسیون پلاکتی در این بیماران دارد(۴).

در مطالعه فریرا از برزیل در سال ۲۰۱۱ در ۱۶ بیمار هماتوانکولوژی بالاتر از ۱۸ سال (شامل ۹ زن و ۷ مرد)، آنتی‌بادی‌های ضد پلاکتی را به روش PIFT و آنتی‌بادی‌های HLA-I را به روش پانل راکتیو با کیت آماده به روش فلوسیتومتری بررسی کردند. ۵ بیمار مبتلا به AML ، ۲ نفر مبتلا به ALL ، ۴ نفر مبتلا به هوچکین و ۲ نفر نیز مبتلا به CLL بودند که ۱۱ نفرشان سابقه تزریق خون و فرآورده‌های آن را داشتند. آن‌ها دریافتند ۹ بیمار (۵۶٪) دارای آلوآنتی‌بادی بودند. ۸ نفر(۵۰٪) از بیماران PIFT مثبت شده که ۳ نفرشان(۱۹٪) نیز پانل راکتیو مثبت شدند. اما فقط ۳ نفر از ۹ بیماری که دارای آلوآنتی‌بادی بودند(۳۰٪)، مقاومت پلاکتی داشتند و ۶ نفر از افراد آلوایمیونیزه(۷۰٪) فاقد مقاومت پلاکتی بودند(۲۱). به عبارتی حضور آنتی‌بادی‌های پلاکتی الزاماً به معنای مقاومت پلاکتی نمی‌باشد زیرا این آنتی‌بادی‌ها در ۳۰٪ موارد در غیاب علایم بالینی مقاومت پلاکتی، در بیماران وجود دارند(۲۲). یافته‌های این مطالعه با یافته‌های مطالعه حاضر که در ۹ بیمار از ۳۰ بیمار هماتوانکولوژی(۳۰٪) که فاقد مقاومت پلاکتی بودند، آنتی‌بادی‌های پلاکتی را پیدا کردند، مشابهت داشت.

در مطالعه کومار در سال ۲۰۱۴ بر روی ۸۰ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور با تزریق خون مکرر، آنتی‌بادی‌های ضد HPAs و HLA به روش الایزا بررسی شدند و مشخص شد که آلوایمونیزاسیون علیه HPAs در ۹ بیمار (۱۱/۲۵٪) و علیه HLA-I در۲۳ بیمار(۳۰ ٪) روی داده است و ۵۹٪ بیماران فاقد آلوایمونیزاسیون بودند(۵). در مطالعه حاضر نیز در ۱(۳/۳٪) بیمار تالاسمی ماژور، علی‌رغم عدم دریافت فرآورده پلاکتی، آنتی‌بادی ضد HPA ردیابی شد. توجیه این موارد آلوایمونیزاسیون نیز احتمالاً این است که متعاقب تزریق گلبول قرمز متراکم در بیماران تالاسمی علاوه بر آلوایمونیزاسیون علیه آنتی‌ژن‌های گلبول قرمز، آلوایمونیزاسیون علیه آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکت HPAs و HLA-1 هم به دلیل مقادیر مختصر پلاکت و گلبول سفید موجود در کیسه‌های خون متراکم روی می‌دهد. در مطالعه کومار، بیشترین وفور آنتی‌بادی‌ها مربوط به آنتی‌بادی‌های علیه HPA-1b -2b , -5b بوده است(۵). از سوی دیگر آنتی‌ژن‌های گروه فرعی Bennet-Goodspeed (Bg antigen) در سطح گلبول‌های قرمز، از نظر ساختاری با HLA-1 شباهت دارند، لذا خود گلبول قرمز می‌تواند متهم اولیه برای آلوایمونیزاسیون علیه این آنتی‌ژن‌ها محسوب شود. این آنتی‌بادی‌ها با کاهش بقای گلبول‌های قرمز و همولیز گلبول‌های تزریقی، می‌توانند واکنش‌های همولیتیک تأخیری را ایجاد نمایند(۲۳). در مطالعه‌ای که تازاری در سال ۲۰۰۸ انجام داد و حضور آنتی‌بادی‌های ضد HPAs را در ۱۰ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور به روش(monoclonal antibody immobilized platelet antigen) MAIPA بررسی کرد، حضور آنتی‌بادی بر ضد آلل‌های a و b مربوط به HPA-2 در ۲ بیمار تالاسمی مشخص شد که نتیجه از لحاظ ردیابی آنتی‌بادی‌ها با نتایج مطالعه حاضر دارای مشابهت است. فرضیه احتمالی دیگری که برای تولید آنتی‌بادی در مطالعه تازاری مطرح شده آن است که HPA-2 (که بر روی CD2 قرار دارد) در این گروه بیماران احتمالاً ایمونوژن‌تر از HPA-1,-3 (که بر روی کمپلکس CD41/61 قرار دارد) می‌باشد(۲۳).

نتیجه‌گیری

در مقایسه وفور آللی کل بیماران در مطالعه حاضر با **محدوده‌های وفور** آلل‌های آنتی‌ژن‌های پلاکتی در جمعیت‌های مختلف اهداکنندگان در جهان، مشخص شد که فراوانی به دست آمده در کل بیماران برای آلل a مربوط به HPA-2, -15 اندکی کمتر از محدوده فوق و وفور آلل HLA-15b اندکی بیشتر از محدوده فوق است اما این اختلافات معنادار نیستند.

با توجه به فراوانی ۱۰۰ درصدی آلل HPA-4a و فقدان آلل HPA-4b و عدم مشاهده ژنوتیپ هموزیگوت b/b آلل‌های HPA-1/-2/-5 در بیماران این مطالعه، احتمال وقوع آلوایمیونیزاسیون پلاکتی ناشی از آنتی‌بادی‌های ضد این آنتی‌ژن‌ها در بیماران با تزریق خون مکرر کمتر است. البته انجام مطالعه‌های بیشتر با حجم نمونه بیشتر بر روی

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]

فراوانی این آنتی‌ژن‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه دانشجویی مصوب مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ایران در مقطع کارشناسی ارشد و با کد اخلاق IR.TMI.REC.1397.024 مصوب کمیته اخلاق در پژوهش مؤسسه و بخشی از یافته‌های طرح پژوهشی "بررسی آنتی‌ژن‌ها و آنتی‌بادی‌های پلاکتی در بیماران مبتلا به مقاومت پلاکتی و بیماران با تزریق مکرر خون و فرآورده‌ها" می‌باشد. بدین‌وسیله از آقای دکتر اسمردیس حاجتی مسئول محترم بخش فلوسیتومتری به دلیل کمک‌های بی‌دریغ‌شان در انجام و تنظیم و خوانش نتایج فلوسیتومتری و خانم دکتر آزیتا آذر کیوان و دکتر سعید محمدی و خانم سلطان‌آبادی که در جمع‌آوری نمونه‌های مورد نیاز این پژوهش همکاری صمیمانه‌ای داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References:

1- Brouk H, Bertrand G, Zitouni S, Djenouni A, Martageix C, Griffi F, *et al*. HPA antibodies in Algerian multitransfused patients: Prevalence and involvement in platelet refractoriness. Transfus Apher Sci 2015; 52(3): 295-9.
2- Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM. Wintrobe's Clinical Hematology. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wikins; 2004. p. 808-17.
3- Kupatawintu P, Nathalang O, Charoen RO, 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.
4- 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]
5- Philip J, Kumar S, Chatterjee T, Mallhi RS. Prevalence of Alloimmunization to Human Platelet Antigen Glycoproteins and Human Leucocyte Antigen Class I in beta Thalassemia Major Patients in Western India. Indian J Hematol Blood Transfus 2014; 30(4): 309-12.
6- Ficko T, Galvani V, Rupreht R, Dovc T, Rozman P. Real-time PCR genotyping of human platelet alloantigens HPA-1, HPA-2, HPA-3 and HPA-5 is superior to the standard PCR-SSP method. Transfus Med 2004; 14(6): 425-32.
7- Carr R, Hutton JL, Jenkins JA, Lucas GF, Amphlett NW. Transfusion of ABO-mismatched platelets leads to early platelet refractoriness. Br J Haematol 1990; 75: 408-13.
8- Rosenfeld CS, Bodensteiner DC. Detection of Platelet alloantibodies by flow cytometry. Am J Clin Pathol 1986; 85: 207-12.
9- Fabris F, Soini B, Sartori R, Randi ML, Luzzatto G, Girolami A. Clinical and laboratory factors that effect the post transfusion platelet increment. Transfus Sci 2000; 23(1): 63-8.
10- Halle L, Bigot A, Mulen-Imandy G, 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.
11- Sarkar RS, Philip J, Jain N. Detection and Identification of Platelet-Associated Alloantibodies by a Solid-Phase Modified Antigen Capture Elisa (MACE) technique and its correlation to platelet refractoriness in multi platelet concentrate transfused patients. Indian J Hematol Blood Transfus 2015; 31(1): 77-84.
12- Bianchi J, Azevedo M, Jens E, Nukui Y, Chamone D. Frequency of human platelet antigens in oncohematological patients with thrombocytopenia and the probability of incompatibility to platelet transfusions. Rev Bras Hematol Hemoter 2012; 34(3): 202-5.
13- Kiefel V, Kroll H, Santoso S. Platelet alloantibodies in transfused patients. Transfusion 2001; 41: 766-70.
14- Zimmermann R, Wittmann G, Zingsem J, Blasczyk R, Weisbach V, Eckstein R. Antibodies to private and public HLA class I epitopes in platelet recipients. Transfusion 1999; 39(7): 772-80.
15- Bub CB, Martinelli BM, Avelino TM, Gonçalez AC, Barjas-Castro Mde L, Castro V. Platelet antibody detection by flow cytometry: an effective method to evaluate and give transfusional support in platelet refractoriness. Rev Bras Hematol Hemoter 2013; 35(4): 252-5.
16- Nozari M, Zadsar M, Shaiegan M, Samiee S. Iranian Turkmen blood donors determining the HPA-1 gene frequency in 1397. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2019; 17(1): 12-9. [Article in Farsi]
17- Madani T, Samiee Sh, Attaei Z, Kavari M, Mostkademin M, Shaiegan M. 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]
18- Mostakhdemin Hosseini M, Samiee S, Shaiegan M,

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]

Mohammadi S, Jalaiekhoo H, Tabatabiepanah P, *et al*. Evaluation of platelet antigens and antibodies in patients with platelet refractoriness. Scientific Journal of Iran Blood Transfus Organ 2019; 16(2): 91-102. [Article in Farsi]

19- Halle L, Bigot A, Mulen-Imandy G, 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- Kulkarni B, Mohanty D, Ghosh K. Frequency distribution of human platelet antigens in the Indian population. Transfus Med 2005; 15(2): 119-24.

21- Ferreira AA, Zulli R, Soares S, Castro Vd, Moraes-Souza H. Identification of platelet refractoriness in oncohematologic patients. Clinics (Sao Paulo) 2011; 66(1): 35-40.

22- McPherson ME, Anderson AR, Castillejo MI, Hillyer CD, Bray RA, Gebel HM, et al. HLA alloimmunization is associated with RBC antibodies in multiply transfused patients with sickle cell disease. Pediatr Blood Cancer 2010; 54(4): 552-8.

23- Tazzari PL, Ricci F, Tassi C, Bontadini A, Fruet F, Conte R. Alloimmunization against human platelet antigen 2 (HPA2) in a series of multi-transfused beta-thalassemia patients. Haematologica 1998; 83(8): 765-6.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2020;17 (4): 294-307

Original Article

Platelet antigens and antibodies in multitransfused patients

Ebrahimzadeh E.[1], Alaei M.[1], Samiee Sh.[1], Shaiegan M.[1]

[1]Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Following incompatible blood transfusions, anti-HLA and anti- HPA antibodies may develop and cause various disorders such as post-transfusion purpura, platelet refractoriness, and thrombocytopenia leading to bleeding. The aim of this study was to investigate platelet antigens and antibodies in multi-transfused patients.

Materials and Methods

In this descriptive study, platelet antigens and presence of platelet antibodies were tested by PCR-SSP and PIFT flowcytometry in 30 Thalassemia major and 30 oncohematologic patients with one hour post transfusion platelet counts in the range of 150000-450000/µl. $\chi 2$ test was employed for comparing the results of the study.

Results

Molecular genotyping of HPA-1in thalassemia major patients and patients with oncohematologic disorder in this study revealed that HPA-1a/1a was the most and HPA-1a/1b and HPA-3b/3b were the least frequent genotypes. No homozygous cases of 1b/1b, 2b/2b and 5b/5b were detected. HPA-4b allele was not detected in any patient. Flow PIFT results revealed platelet antibodies in 10(30%) patients with hematologic disorders and 1(3.3%) thalassemia major patients.

Conclusions

According to %100 frequency of HPA-4a and total absence of HPA-4b allele and absence of homozygous b/b genotype for HPA-1/-2/-5 alleles in the patient polulation of this study, the prevalence of platelet alloimmunization due to antibodies against these antigens seems to be low. Although further studies in the field are nessessary.

Key words: Platelets, Antigens, Antibodies, PCR

Received: 7 Oct 2020
Accepted:15 Dec 2020

Correspondence: Alaei M., MD. Pathologist. 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: *alaeimastaneh@hotmail.com*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-14]