

Original Article

Association of HLA-DR polymorphisms and Febrile Non-Hemolytic Transfusion Reaction in multi-transfused thalassemia patients

Tasbiti Z.¹, Dadashi M.S.¹, Chegini A.¹, Zadsar M.¹

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

Abstract

Background and Objectives

β-thalassemia patients need regular blood. Regular blood transfusion has side effects. The most common of which is FNHTR. One of the causes of FNHTR is the antibody production against HLA-II antigens. HLA polymorphism vary in different communities and may affect the susceptibility or resistance to FNHTR. In this study, the relationship between HLA-DR polymorphisms and development of FNHTR in multi-transfused thalassemia patients in Tehran province was investigated.

Materials and Methods

In this cross-sectional study, 88 β-thalassemia major and intermediate patients with average age 38.63 ± 11.28 with 35 being male (39.8%) and 53 female (60.2%) were enrolled and for better results, 70 thalassemia patients with FNHTR were compared with 18 thalassemia patients without FNHTR. HLA-DR genotype was investigated by PCR-SSP method. Data were analyzed by chi-squared and pearson test.

Results

The results of PCR-SSP showed that HLA-DRB1*11 allele had the highest prevalence (26.7%) in the total study population. No statistically significant correlation between HLA-DR alleles and development of FNHTR was observed. Although HLA-DRB1*10 as a possible genetic marker may play a role in protecting against FNHTR ($p = 0.049$).

Conclusions

In this study, no significant association between HLA-DR allele frequency and FNHTR was found. Although alleles HLA-DRB1*03, HLA-DRB1*10, HLA-DRB1*13 and HLA-DRB1*16 have higher prevalence in the no FNHTR group, but only in the case of HLA-DRB1*10 this relationship was significant and was considered as possible genetic markers against development of FNHTR. Further studies investigating HLA-II allelic levels in larger populations may provide more deep data on this association.

Key words: Febrile Non-Hemolytic Transfusion Reaction, Blood Transfusion, Polymorphism (Genetics), HLA-DR, Thalassemia

Received: 9 Oct 2023

Accepted: 4 Nov 2023

Correspondence: Zadsar M., MD. Specialist in Infectious Diseases. Associate Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88621248; Fax: (+9821) 88601555
E-mail: maryam.zad@gmail.com

ارتباط پلی مورفیسم در آلل های HLA-DR و بروز عارضه تبزای غیر همولیتیک در بیماران تالاسمی دارای تزریق خون مکرر

زینب تشبیتی^۱، مریم سادات داداشی^۲، آریتا چگینی^۳، مریم زادسر^۴

چکیده

سابقه و هدف

بیماران بتا تالاسمی نیازمند تزریق خون منظم هستند. واکنش تبزای غیر همولیتیک یا FNHTR شایع ترین واکنش ناشی از تزریق خون می باشد. یکی از دلایل بروز FNHTR، آنتی بادی ضد آنتی ژن های لکوسیتی کلاس دو است. پلی مورفیسم های HLA در جوامع مختلف متفاوت بوده و می تواند در بروز و یا مقاومت به FNHTR نقش داشته باشد. در مطالعه حاضر، به بررسی ارتباط پلی مورفیسم در آلل های HLA-DR با بروز FNHTR در بیماران بتا تالاسمی با تزریق خون مکرر استان تهران پرداختیم.

مواد و روش ها

در مطالعه مقطعی - تحلیلی حاضر، ۸۸ بیمار بتا تالاسمی ماژور و ایترومدیا با میانگین سنی $38/63 \pm 11/28$ سال و نسبت ۳۵ مرد (۳۹/۸٪) و ۵۳ زن (۶۰/۲٪) وارد مطالعه شده و جهت نتیجه بهتر، ۷۰ بیمار تالاسمی با بروز FNHTR با ۱۸ بیمار تالاسمی که بروز FNHTR نداشتند، مقایسه شدند. ژنوتیپ HLA-DR بیماران با روش PCR-SSP بررسی شد. مقایسه ها با آزمون کای دو و پیرسون انجام شد.

یافته ها

بررسی آلل های HLA-DRB1 نشان داد که آلل HLA-DRB1*11 بیشترین شیوع (۲۶/۷٪) را دارد. ارتباط آماری معناداری بین آلل های HLA-DR با بروز FNHTR مشاهده نشد. اگر چه ممکن است HLA-DRB1*10 به عنوان یک مارکر ژنتیکی احتمالی در محافظت از بروز FNHTR نقش داشته باشد ($p=0/049$).

نتیجه گیری

در این مطالعه، ارتباطی بین فراوانی آلل های HLA-DR با بروز واکنش FNHTR در بیماران بتا تالاسمی با تزریق خون مکرر مشاهده نشد، درخصوص HLA-DRB1*10 این ارتباط معنادار بوده و می تواند آلل محافظت کننده باشد. بررسی سطح آللی HLA کلاس II در جمعیت های بزرگ تر می تواند داده های عمیق تری را در مورد این ارتباط نشان دهند.

کلمات کلیدی: واکنش تبزای غیر همولیتیک، تزریق خون، پلی مورفیسم (ژنتیک)، HLA-DR، تالاسمی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۱۳

۱- کارشناس ارشد خون شناسی آزمایشگاهی و بانک خون - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

۲- دکترای خون شناسی آزمایشگاهی و بانک خون - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

۳- متخصص بیهوشی - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

۴- مؤلف مسئول: متخصص بیماری های عفونی و گرمسیری - دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

تهران - صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵

مقدمه

تزریق خون و فرآورده‌های خونی باید عاقلانه و با تشخیص صحیح تجویز شود زیرا علاوه بر این که نجات‌دهنده زندگی است، می‌تواند به علت بروز واکنش‌های ناشی از تزریق خون کشنده هم باشد (۱). واکنش‌های تب‌زای غیر همولیتیک (FNHTR) و واکنش‌های آلرژیک از جمله واکنش‌های حاد ناشی از انتقال خون بوده و از بالاترین شیوع برخوردار هستند و می‌توانند برای بیمار بسیار آزاردهنده باشند (۲). FNHTR معمولاً به صورت افزایش دمای بدن به بیش از ۱ درجه سانتی‌گراد و یا ۲ درجه فارنهایت نسبت به حالت پایه با یا بدون لرز (chills)، سرگیجه (rigors)، سردرد (headache)، افزایش تعداد تنفس (تاکی‌پنه)، تغییر در فشار خون و اضطراب مشاهده می‌شود. در بعضی موارد ممکن است بیمار تب نداشته باشد، اما یک یا چند علامت دیگر مشاهده گردد.

ناسازگاری HLA می‌تواند منجر به ایجاد آنتی‌بادی ضد لکوسیت انسانی در گیرنده فرآورده خونی شود که مسئول طیف وسیعی از واکنش‌های ایمنونولوژیک مانند مقاومت به تزریق پلاکت (PTR)، آسیب حاد ریوی مرتبط با تزریق خون (TRALI)، بیماری پیوند علیه میزبان مرتبط با تزریق خون (TA-GVHD) و هم چنین FNHTR می‌باشد. آنتی‌بادی ضد HLA پس از تزریق خون‌های مکرر در بیماران و یا پس از چندین بارداری در زنان تولید می‌شود و زمانی که تزریق خون مجدد صورت پذیرد، آنتی‌بادی‌های ضد HLA با لکوسیت‌ها و پلاکت‌های تزریق‌شده واکنش داده و منجر به تجزیه و آزادسازی مدیاتورهای تب‌زا از لکوسیت‌ها و پلاکت‌ها شده و FNHTR بروز پیدا می‌کند (۳).

سیستم HLA مجموعه‌ای از ژن‌هایی واقع بر کروموزوم ۶ بوده که پروتئین‌های اصلی کمپلکس سازگار بافتی اصلی (MHC) را کد می‌کند. مولکول‌های MHC شامل دو کلاس اصلی می‌باشد. MHC کلاس یک که تقریباً بر روی همه سلول‌های سوماتیک بدن و MHC کلاس دو که بر سطح گروهی از سلول‌های ایمنی از جمله B سل، T سل فعال

شده، ماکروفاژها و دندریتیک سل ها بیان می‌شوند (۴). ناحیه MHC Class II شامل سه لوکوس DR، DQ و DP بوده و هر کدام از این لوکوس‌ها سری A و B داشته و زنجیره‌های آلفا و بتا را کد می‌کنند. ۵ هاپلوتایپ برای لوکوس HLA-DR وجود دارد و HLA-DRB1 پلی‌مورفیک‌ترین لوکوس می‌باشد (۵). سیستم HLA-DRB1 نقش حیاتی در سیستم ایمنی در رابطه با عرضه آنتی‌ژن‌ها به سلول‌های T و تولید آنتی‌بادی از طریق پلاسما سل‌ها ایفا می‌کند (۶). آلل‌های خاص HLA-DR با افزایش خطر ابتلا به برخی بیماری‌ها مرتبط است (۴). برای مثال، آلل‌های HLA-DRB1 با بیماری‌های خود ایمنی مانند آرتریت روماتوئید و لوپوس اریتماتوز سیستمیک مرتبط هستند (۷). مطالعه‌های متعددی حاکی از ارتباط پلی‌مورفیسم‌های HLA و آلوایمونیزاسیون به دنبال تزریق خون مکرر در بیماران تالاسمی و آنمی داسی شکل بوده است (۸).

میزان بروز و شدت عوارض تزریق خون در همه بیماران یکسان نبوده و متفاوت است. یکی از دلایل مهم این تفاوت، بروز تفاوت در ویژگی‌های ژنتیکی بیماران است. بررسی مطالعه‌های قبلی که درخصوص میزان شیوع آلل‌های HLA-DR در جامعه طبیعی ایرانی بوده است نشان داد که آلل HLA-DRB1*11 شایع‌ترین آلل در جامعه ایرانی می‌باشد (۹، ۱۰). با توجه به عدم وجود گزارش منتشر شده از فراوانی آلل‌های HLA-DR در بیماران تالاسمی مولتی ترنسفیوز ایرانی که مبتلا به عارضه FNHTR بوده‌اند، لذا فراوانی آلل‌های این سیستم به روش PCR-SSP در ۸۸ نفر بیمار تالاسمی مولتی ترنسفیوز مورد بررسی قرار گرفت و با مطالعه‌های انجام شده در جامعه طبیعی ایرانی مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر یک مطالعه مقطعی - تحلیلی در سال ۱۴۰۲ بوده و از ۸۸ بیمار تالاسمی با تزریق خون مکرر مراجعه‌کننده به درمانگاه تالاسمی بزرگسالان ظفر تهران، مقدار ۶ میلی‌لیتر خون در لوله حاوی ضد انعقاد EDTA گرفته شد. قبل از نمونه‌گیری از بیماران خواسته شد تا فرم

رضایت نامه را پر کنند. به منظور ارزیابی بهتر، بیماران در دو گروه بررسی شدند. گروه اول شامل ۷۰ بیمار تالاسمی که سابقه بروز عارضه FNHTR داشتند و گروه دوم ۱۸ بیمار تالاسمی که سابقه بروز هیچ گونه واکنش ناشی از تزریق خون را نداشتند. اطلاعات مورد نیاز از قبیل سن، جنس، سن شروع تزریق خون و تعداد دفعات تزریق خون در طول یک سال ثبت گردید. این مطالعه مورد تأیید کمیته اخلاق مؤسسه طب انتقال خون با کد اخلاق IR.TMI.REC.1402.002 می باشد.

روش مولکولی:

استخراج DNA: بعد از نمونه گیری و انتقال نمونه ها به آزمایشگاه، استخراج DNA با استفاده از کیت تجاری FAVORGEN طبق بروشور کیت صورت پذیرفت. به طور خلاصه داخل یک میکروتیوب ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه خون با ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز K و ۲۰۰ میکرولیتر بافر FABG با استفاده از ورتکس کاملاً مخلوط گشت. میکروتیوب به منظور لیز شدن نمونه خون به مدت ۱۵ دقیقه در ۶۰ درجه سانتی گراد انکوبه شده و پس از سانتریفیوژ مختصر، ۲۰۰ میکرولیتر اتانول (۱۰۰٪ - ۹۶٪) به نمونه اضافه شد. یک مینی ستون FABG درون یک لوله جمع آوری قرار داده شده و مخلوط نمونه به درون مینی ستون انتقال داده شد. پس از سانتریفیوژ سریع، مینی ستون درون یک لوله جمع آوری جدید گذاشته شد. مینی ستون با استفاده از ۴۰۰ میکرولیتر از بافر W1 و سپس ۷۵۰ میکرولیتر بافر شستشو شسته شده و مایع دور ریخته شد. با اضافه کردن بین ۵۰ تا ۲۰۰ میکرولیتر بافر شستشوی گرم شده و یا (۷/۵-۹/۰ pH) ddH₂O به مرکز غشای مینی ستون و سپس سانتریفیوژ بالاترین دور، تمام DNA از مینی ستون خارج شد. سپس به منظور ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده، جذب نوری DNA در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر خوانش شد.

روش PCR-SSP:

حجم کلی محتوای واکنش ۳۰ میکرولیتر (شامل ۱۶/۸ میکرولیتر آب مقطر، ۸/۴ میکرولیتر مخلوط Ready PCR،

۲/۲ میکرولیتر آنزیم Taq Polymerase و ۲/۶ میکرولیتر نمونه DNA) بوده که پس از آماده سازی به میزان ۱۰ میکرولیتر در چاهک های بلوک PCR ریخته شد. سپس با استفاده از کاور روی استریپ ها پوشانده شده و داخل دستگاه ترموسایکلر قرار گرفته و طبق برنامه زیر دستگاه ران شده است: یک چرخه در ۹۶ درجه سانتی گراد به مدت دو دقیقه، ۱۰ چرخه (۱۵ ثانیه در ۹۶ درجه سانتی گراد و ۶۰ ثانیه در ۶۵ درجه سانتی گراد) و ۲۰ چرخه (۱۵ ثانیه در ۹۶ درجه سانتی گراد و ۵۰ ثانیه در ۶۱ درجه سانتی گراد و ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی گراد) و در نهایت چرخه در ۴ درجه سانتی گراد پایان یافت.

الکتروفورز:

در نهایت محصولات حاصل از PCR، بر روی ژل آگارز ۲ درصد حاوی رنگ DNA Safe Stain با ولتاژ ۱۲۰ تا ۱۵۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه ران شده و سپس باندها زیر دستگاه UV-Trans laminator و در طول موج ۳۱۲ نانومتر مشاهده گشت.

تجزیه و تحلیل داده ها:

تمام محاسبات و تجزیه و تحلیل های آماری توسط نرم افزار IBM SPSS Statistics ۲۴ انجام شده و به منظور بررسی رابطه بین دو متغیر کیفی، آزمون کای دو مورد استفاده قرار گرفت.

یافته ها

مجموع ۸۸ بیمار تالاسمی به طور تصادفی انتخاب و وارد مطالعه شدند که شامل ۳۵ مرد (۳۹/۸٪) و ۵۳ زن (۶۰/۲٪) با میانگین سنی $11/28 \pm 38/63$ سال و در محدوده ۲۲-۷۵ سال بودند. در بیماران این مطالعه میانگین سن شروع تزریق $12/13 \pm 5/94$ سال بود. هم چنین تعداد تزریق در سال به طور میانگین در بیماران $13/74 \pm 22/25$ واحد در سال بود. ۸۸ بیمار تالاسمی بر اساس بروز واکنش FNHTR، در دو گروه با و بدون FNHTR وارد مطالعه شدند. ۷۰ بیمار FNHTR با ۱۸ بیمار که هیچ گونه عارضه ای نداشتند مقایسه شدند.

جدول ۱: فراوانی آللی برای HLA-DR در ۸۸ بیمار تالاسمی مورد مطالعه

کل بیماران تالاسمی در این مطالعه ۸۸ نفر (درصد)		
HLA-DR	B1*01	۷ (۴/۰)
	B1*03	۱۸ (۱۰/۲)
	B1*04	۱۹ (۱۰/۸)
	B1*07	۲۴ (۱۳/۶)
	B1*08	۱ (۰/۶)
	B1*10	۵ (۲/۸)
	B1*11	۴۷ (۲۶/۷)
	B1*13	۱۴ (۸/۰)

میانگین سنی تقریباً $11/62 \pm 38/41$ سال در گروه FNHTR و $10/10 \pm 39/44$ سال در گروه بدون FNHTR بود. هم‌چنین نسبت جنسیتی در گروه FNHTR به صورت $35/7\%$ مرد و $64/3\%$ زن و در گروه بدون FNHTR $55/6\%$ مرد و $44/4\%$ زن، میانگین سن شروع تزریق در گروه FNHTR $12/66 \pm 6/1$ سال و در گروه بدون FNHTR $10/08 \pm 5/31$ سال، میانگین تعداد تزریق در هر سال $14/65 \pm 22/23$ واحد در گروه FNHTR و $9/76 \pm 22/33$ واحد در گروه بدون FNHTR بود. از نظر

نوع تالاسمی نیز $83/3\%$ در گروه بدون FNHTR و $88/6\%$ در گروه FNHTR، تالاسمی ماژور و $16/7\%$ در گروه بدون FNHTR و $11/42\%$ در گروه تالاسمی ایترمدیا بودند. مقایسه‌ها نشان داد دو گروه از نظر عوامل دموگرافیک و موقعیت‌های بالینی یکسان بوده و تفاوت معناداری بین دو گروه دیده نشده است. با مقایسه نتایج به دست آمده مشخص شد که آلل HLA-DRB1*11 با درصد فراوانی $26/7\%$ بیشترین فراوانی را در جمعیت تالاسمی مورد مطالعه دارد (جدول ۱). فراوانی سایر آلل‌ها HLA-DRB1*07 ($13/6\%$)، HLA-DRB1*04 ($10/8\%$)، HLA-DRB1*3 ($10/2\%$) به ترتیب در رتبه‌های دوم تا چهارم قرار دارد. از طرفی مشخص شد که آلل HLA-DRB1*08 با درصد فراوانی $8/6\%$ دارای کمترین شیوع در جمعیت تالاسمی مورد مطالعه می‌باشد.

هم‌چنین با مقایسه نتایج به دست آمده مشخص شد که توزیع فراوانی آلل HLA-DRB1*10 ($0/992-0/026$ CI 95%)، $0/159$ (OR=) ارتباط منفی با بروز FNHTR در جمعیت تالاسمی ایرانی دارد ($p=0/049$). در گروه بدون FNHTR، 10 آلل HLA-DR و در گروه FNHTR، 11 آلل شناسایی شد.

جدول ۲: فراوانی آللی برای HLA-DR در گروه FNHTR و گروه بدون FNHTR

HLA-DR	گروه FNHTR ۷۰ نفر (درصد)	گروه بدون FNHTR ۱۸ نفر (درصد)	p value	Odds ratio (۹۵ CI)	
B1*01	۶ (۴/۳)	۱ (۲/۸)	۰/۶۸۲	۱/۵۶۷ (۰/۱۸۳-۱۳/۴۴۷)	
B1*03	۱۴ (۱۰/۰)	۴ (۱۱/۱)	۰/۸۴۴	۰/۸۸۹ (۰/۲۷۴-۲/۸۸۴)	
B1*04	۱۷ (۱۲/۱)	۲ (۵/۶)	۰/۲۶۹	۲/۳۵۰ (۰/۵۱۷-۱۰/۶۷۴)	
B1*07	۲۰ (۱۴/۳)	۴ (۱۱/۱)	۰/۶۲۱	۱/۳۳۳ (۰/۴۲۵-۴/۱۷۸)	
B1*08	۱ (۰/۷)	۰ (۰)	۰/۸۲۲	۰/۷۸۵ (۰/۰۳۱-۱۹/۶۷۲)	
B1*10	۲ (۱/۴)	۳ (۸/۳)	۰/۰۴۹	۰/۱۵۹ (۰/۰۲۶-۰/۹۹۲)	
B1*11	۳۸ (۲۷/۱)	۹ (۲۵/۰)	۰/۷۹۶	۱/۱۱۸ (۰/۴۸۲-۲/۵۹۲)	
B1*13	۱۰ (۷/۱)	۴ (۱۱/۱)	۰/۴۳۶	۰/۶۱۵ (۰/۱۸۱-۲/۰۹۰)	
B1*14	۱۲ (۸/۶)	۳ (۸/۳)	۰/۹۶۳	۱/۰۳۱ (۰/۲۷۵-۳/۸۶۷)	
B1*15	۱۳ (۹/۳)	۳ (۸/۳)	۰/۸۵۹	۱/۱۲۶ (۰/۳۰۳-۴/۱۸۴)	
B1*16	۷ (۵/۰)	۳ (۸/۳)	۰/۴۴۶	۰/۵۷۹ (۰/۱۴۲-۲/۳۶۰)	

، HLA-DRB1*16 (۵/۷) ، HLA-DRB1*13 (۰/۸) (۴) ، HLA-DRB1*01 (۲/۸) و HLA-DRB1*10 (۰/۶) HLA-DRB1*08 .

بر اساس مطالعه های گذشته در جمعیت های ایرانی فراوان ترین آلل HLA-DRB1*11 بوده است (۱۱). الگوی فراوانی HLA-DRB1*11 در بیماران تالاسمی ایرانی مورد مطالعه بسیار شبیه به جمعیت طبیعی و اهداکنندگان ایرانی بوده و تفاوت معناداری در فراوانی HLA-DRB1*11 بین جامعه طبیعی و بیماران تالاسمی وجود ندارد، به جز مطالعه ای بر روی قوم بلوچ که نشان داد شایع ترین آلل در آن ها HLA-DRB1*03 می باشد (۱۲).

ژن *HLA* بسیار پلی مورفیک بوده و همین امر باعث تنوع ژنتیکی سیستم ایمنی میزبان و به دنبال آن پاسخ های متفاوت به عفونت یکسان می گردد (۱۴، ۱۳). در همین راستا محققان در بیرمنگهام به نقش HLA-DR3 در افزایش خطر ابتلا به بیماری گریوز و تیروئیدیت هاشیموتو دست یافتند در حالی که HLA-DR7 دارای نقش محافظتی در ابتلا به این بیماری ها بود (۱۵). مطالعه ای در چین توسط ونگ و همکارانش نشان دهنده ارتباط HLA-DRB1*14:04 و HLA-DQA1*01:01 با شدت بیماری کووید-۱۹ و در مقابل نقش محافظتی HLA-DPB1*03:01 و HLA-DRB1*12:01 در برابر ابتلا به فرم شدید بیماری بود (۱۶). در حالی که در ژاپن محققان به ارتباط مثبت HLA-DRB1*09:01 با شدت بیماری اشاره کرده اند (۱۷). مطالعه دیگری در ایتالیا بیان کننده ارتباط HLA-DRB1*08:01 با شدت بیماری و نقش محافظی HLA-B*58:01 ، HLA-DRB1*03:01 و HLA-A*02:05 در برابر شدت علائم بالینی بیماری کووید-۱۹ بود. بر اساس مطالعه داداشی و همکاران و هم چنین سایر مطالعه ها در جمعیت ایرانی، HLA-A*24 و HLA-B*55 ممکن است نقش محافظتی در بروز FNHTR در بیماران بتا تالاسمی ایرانی داشته باشند (۱۸، ۱۹).

به طور کلی، توزیع پلی مورفیسم های HLA-DR بیماران تالاسمی با آن چه در مطالعه های قبلی در جمعیت های مختلف ایرانی پیدا شده بود، مطابقت داشت.

اطلاعات نشان می دهد که بیشترین و کمترین فراوانی HLA-DR در گروه بدون FNHTR مربوط به HLA-DRB1*11 و HLA-DRB1*01 بوده که به ترتیب ۲۵٪ و ۲/۸٪ می باشد. در گروه FNHTR نیز HLA-DRB1*11 و HLA-DRB1*08 با درصد های ۲۷/۱٪ و ۰/۷٪ به ترتیب بیشترین و کمترین شیوع را داشته اند (جدول ۲).

در گروه FNHTR فراوانی بالاتری از آلل های HLA-DRB1*01 (۴/۳٪ در مقابل ۲/۸٪)، HLA-DRB1*04 (۱۲/۱٪ در مقابل ۵/۶٪)، HLA-DRB1*07 (۱۴/۳٪ در مقابل ۱۱/۱٪)، HLA-DRB1*08 (۰/۷٪ در مقابل ۰/۰٪)، HLA-DRB1*11 (۲۷/۱٪ در مقابل ۲۵/۰٪)، HLA-DRB1*14 (۸/۶٪ در مقابل ۸/۳٪)، HLA-DRB1*15 (۹/۳٪ در مقابل ۸/۳٪) نسبت به گروه بدون FNHTR مشاهده شده است. علاوه بر این، فراوانی HLA-DRB1*03 (۱۰/۰٪ در مقابل ۱۱/۱٪)، HLA-DRB1*10 (۱/۴٪ در مقابل ۸/۳٪)، HLA-DRB1*13 (۷/۱٪ در مقابل ۱۱/۱٪)، HLA-DRB1*16 (۵/۰٪ در مقابل ۸/۳٪)، در گروه FNHTR نسبت به گروه بدون FNHTR کاهش یافت.

بحث

مطالعه حاضر که در مورد پلی مورفیسم در آلل های HLA-DR و ارتباط آن با واکنش تبزای غیرهمولیتیک (FNHTR) در بیماران تالاسمی بود، نشان داد که هیچ رابطه مثبتی در ارتباط پلی مورفیسم در آلل های HLA-DR و بروز FNHTR در بیماران تالاسمی ایرانی وجود نداشته ولیکن احتمال نقش محافظتی آلل HLA-DRB1*10 در بروز FNHTR در این بیماران وجود دارد ($p=0.049$). بیشترین فراوانی آلل HLA-DR در این مطالعه HLA-DRB1*11 با درصد فراوانی ۲۶/۷٪ در ۸۸ نفر جمعیت مورد مطالعه و هم چنین ۲۷/۱٪ در جمعیت گروه FNHTR و ۲۵٪ در جمعیت بدون FNHTR بوده است. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، درصد فراوانی آلل های HLA-DR در جمعیت مورد مطالعه به ترتیب فراوانی بدین صورت بود:

، HLA-DRB1*11 (۲۶/۷) ، HLA-DRB1*07 (۱۳/۶) ، HLA-DRB1*04 (۱۰/۸) ، HLA-DRB1*03 (۱۰/۲) ، HLA-DRB1*15 (۹/۱) ، HLA-DRB1*14 (۸/۵) ،

در مطالعه‌ای که نیک‌بین و همکارانش در سال ۲۰۱۷ بر روی جمعیت اهداکننده استان یزد داشتند، فراوانی آل‌ها بدین شرح بوده است: HLA-DRB1*11 (۲۴/۴٪)، HLA-DRB1*15 (۱۳/۳٪)، HLA-DRB1*07 (۱۳/۳٪)، HLA-DRB1*13 (۱۰/۰٪)، HLA-DRB1*01 (۸/۸٪)، HLA-DRB1*03 (۸/۸٪)، HLA-DRB1*04 (۷/۲۲٪)، HLA-DRB1*14 (۴/۴٪)، HLA-DRB1*08 (۳/۸٪)، HLA-DRB1*10 (۲/۷٪)، HLA-DRB1*16 (۲/۲٪)، HLA-DRB1*09 (۰/۰۵٪) (۲۰).

عرب و همکارانش در سال ۲۰۱۸ با مطالعه جمعیت اهداکننده گیلک، فراوانی آل‌های HLA-DR را بدین شرح گزارش کردند: HLA-DRB1*11 (۱۴/۱٪)، HLA-DRB1*01 (۱۳/۵٪)، HLA-DRB1*04 (۱۱/۸٪)، HLA-DRB1*14 (۱۱/۲٪)، HLA-DRB1*15 (۱۰/۰٪)، HLA-DRB1*03 (۹/۴٪)، HLA-DRB1*16 (۷/۶٪)، HLA-DRB1*07 (۶/۵٪)، HLA-DRB1*10 (۶/۵٪)، HLA-DRB1*13 (۵/۳٪)، HLA-DRB1*13 (۳/۵٪) و کمترین فراوانی نیز متعلق به HLA-DRB1*08 (۰/۰۶٪) بوده است که در مطالعه حاضر نیز HLA-DRB1*08 کمترین شیوع را داشته است (۲۱). اسماعیلی و همکاران نیز در سال ۲۰۱۷ فراوانی آل‌های HLA-DRB1 را در جمعیت طبیعی مشهد به شرح زیر گزارش کرده‌اند: HLA-DRB1*16 (۲۰/۰٪)، HLA-DRB1*13 (۱۶/۲٪)، HLA-DRB1*11 (۰/۱۵٪)، HLA-DRB1*07 (۰/۱۵٪) (۲۲).

ایران از نظر نژادی کشوری متنوع بوده و شامل نژادهای مختلفی از جمله فارس، ترک، کرد، عرب، ترکمن، لر و بلوچ می‌باشد. بر خلاف این که شایع‌ترین آل رایج در جمعیت ایران HLA-DRB1*11 می‌باشد، مطالعه بر روی قوم بلوچ حاکی از شیوع بیشتر آل HLA-DRB1*03 (۲۹٪) بود که بیان‌کننده قرابت ژنتیکی بین جمعیت بلوچ در ایران و بلوچ‌ها و براهویی‌های پاکستان است (۱۲). با توجه به این که فراوانی آل‌های HLA-DR بیماران تالاسمی در مطالعه حاضر مشابه جمعیت طبیعی و اهداکنندگان ایرانی است، لذا می‌توانیم میزان شیوع آل‌ها را با مطالعه‌های صورت گرفته در کشورهای دیگر نیز مقایسه کنیم.

مطالعه‌های متعددی در زمینه شیوع آل‌های مختلف HLA-DR در کشورهای دیگر صورت گرفته است. محققان در دانمارک با مطالعه ارتباط پلی‌مورفیسم‌های HLA-DRB1 با سقط مکرر بارداری، فراوانی آل‌های HLA-DRB1 در جمعیت طبیعی را به ترتیب زیر گزارش کرده‌اند: HLA-DRB1*15 با درصد فراوانی ۱۷/۵۲٪، HLA-DRB1*04 با ۱۶/۳۶٪، HLA-DRB1*13 با ۱۳/۷۵٪ در رتبه‌های اول تا سوم قرار داشتند (۲۲). فراوانی آل‌های HLA-DRB1 سال ۲۰۱۶ در سوریه به ترتیب HLA-DRB1*11 (۲۶/۴٪)، HLA-DRB1*04 (۱۴٪) و HLA-DRB1*04 (۱۲٪) بوده است (۲۳). در فرانسه نیز فراوان‌ترین آل‌ها در جمعیت طبیعی اهداکنندگان سلول‌های بنیادی به صورت HLA-DRB1*13 (۱۴/۱٪)، HLA-DRB1*07 (۱۳/۵٪)، B1*11 (۱۳/۲٪) و B1*15 (۱۳/۰٪) گزارش شده است (۲۴).

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر در خصوص فراوانی آل‌های HLA-DR نه تنها تفاوت آماری معناداری در بیماران تالاسمی مبتلا به FNHTR و گروه بدون FNHTR نشان نداد، بلکه مشابه با اهداکنندگان ایرانی بود. بیشترین فراوانی آل‌های مربوط به HLA-DRB1*11 و کمترین نیز مربوط به HLA-DRB1*08 بوده است. هم‌چنین در این مطالعه، ارتباط منفی بین آل HLA-DRB1*10 و وقوع FNHTR یافت شده است. به عبارت دیگر، فراوانی آل HLA-DRB1*10 گروه FNHTR پایین‌تر بوده است، اگرچه تأیید این ارتباط احتمالی نیازمند بررسی‌های دقیق‌تر با گروه کنترل بزرگ‌تر می‌باشد تا بتوان به صورت دقیق‌تر اعلام کرد که آل مذکور سیستم HLA به عنوان یک فاکتور محافظتی بالقوه در برابر FNHTR در جمعیت تالاسمی ایران ایفای نقش می‌کنند.

حمایت مالی

این مطالعه با حمایت مالی مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون انجام شده است.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه دارای کد اخلاق IR.TMI.REC.1402.002 از مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون

می‌باشد.

تحقیق و ادیت نهایی مقاله

عدم تعارض منافع

نویسندگان اظهار کردند در انتشار این اثر منافع تجاری نداشتند و در مقابل ارائه اثر وجهی دریافت نکرده‌اند.

نقش نویسندگان

زینب تثبیتی: انجام آزمایش‌ها و تحلیل آن‌ها و هم چنین تجزیه و تحلیل‌های آماری و نگارش اولیه مقاله
دکتر مریم سادات داداشی: ناظر انجام آزمایش‌ها و صحت خوانش نتایج تست‌ها و تحلیل آن‌ها، تحلیل‌های آماری و نگارش بخش یافته‌ها
دکتر آزیتا چگینی: همکاری در نوشتن پروپوزال، پژوهش و نگارش آن و همکاری در نگارش پیش‌نویس مقاله
دکتر مریم زادسر: نویسنده مسئول و محقق اصلی پژوهش، ارائه دهنده طرح اولیه پژوهش، ناظر انجام

تشکر و قدردانی

این مطالعه قسمتی از پایان‌نامه دانشجویی دوره کارشناسی ارشد رشته خون‌شناسی و بانک خون مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون بوده و همه مراحل عملی پروژه در آزمایشگاه مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون انجام شده است. از همکاران مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون و بخش تالاسمی مرکز تالاسمی بزرگسالان ظفر که همکاری صمیمانه در این تحقیق داشتند و هم چنین خانم دکتر آزیتا آذریوان برای انتخاب بیماران FNHTR سپاسگزاریم. هم چنین از زحمات دکتر مریم سادات داداشی و بنیامین رحمتی در کمک به جمع‌آوری نمونه بیماران کمال تشکر را داریم.

References:

- Kumar P, Thapliyal R, Coshic P, Chatterjee K. Retrospective evaluation of adverse transfusion reactions following blood product transfusion from a tertiary care hospital: A preliminary step towards hemovigilance. *Asian J Transfus Sci* 2013; 7(2): 109-15.
- Delaney M, Wendel S, Bercovitz RS, Cid J, Cohn C, Dunbar NM, *et al.* Transfusion reactions: prevention, diagnosis, and treatment. *Lancet* 2016; 388(10061): 2825-36.
- Wang H, Ren D, Sun H, Liu J. Research progress on febrile non-hemolytic transfusion reaction: a narrative review. *Ann Transl Med* 2022; 10(24): 1401.
- Klein J, Sato A. The HLA system. *N Engl J Med* 2000; 343(10): 702-9.
- Jones EY, Fugger L, Strominger JL, Siebold C. MHC class II proteins and disease: a structural perspective. *Nature Reviews Immunology* 2006; 6(4): 271-82.
- Campbell-Lee SA, Kittles RA. Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease: listen to your ancestors. *Transfus Med Hemother* 2014; 41(6): 431-5.
- Andersson G. Evolution of the human HLA-DR region. *Front Biosci* 1998; 3(4): d739-45.
- Rodrigues C, Sell A, Guelson G, Higa T, Pagliarini e Silva S, Macedo L, *et al.* HLA polymorphisms and risk of red blood cell alloimmunisation in polytransfused patients with sickle cell anaemia. *Transfus Med* 2017; 27(6): 437-43.
- Ebrahimi M, Dayer D, Jalalifar MA, Keikhaei B, Tahan Nejad Asadi Z. Association between HLA-DRB1*01 and HLA-DRB1*15 with alloimmunisation in transfusion-dependent patients with thalassaemia. *Transfus Med* 2020; 30(4): 275-80.
- Farjadian S, Naruse T, Kawata H, Ghaderi A, Bahram S, Inoko H. Molecular analysis of HLA allele frequencies and haplotypes in Baloch of Iran compared with related populations of Pakistan. *Tissue Antigens* 2004; 64(5): 581-7.
- Medhasi S, Chantratita N. Human Leukocyte Antigen (HLA) System: Genetics and Association with Bacterial and Viral Infections. *J Immunol Res* 2022; 2022: 9710376.
- Li D, Sun K, Zhao Y, Lin A, Li S, Jiang Y, Feng J. Polymorphism in the major histocompatibility complex (MHC class II B) genes of the Rufous-backed Bunting (*Emberiza jankowskii*). *PeerJ* 2017; 5: e2917.
- Simmonds M, Gough S. The HLA region and autoimmune disease: associations and mechanisms of action. *Curr Genomics* 2007; 8(7): 453-65.
- Wang F, Huang S, Gao R, Zhou Y, Lai C, Li Z, *et al.* Initial whole-genome sequencing and analysis of the host genetic contribution to COVID-19 severity and susceptibility. *Cell Discov* 2020; 6(1): 83.
- Anzurez A, Naka I, Miki S, Nakayama-Hosoya K, Isshiki M, Watanabe Y, *et al.* Association of HLA-DRB1*09:01 with severe COVID-19. *HLA* 2021; 98(1): 37-42.
- Dadashi M, Ostadali M, Mohammadi S, Azarkeivan A, Zadsar M. Major histocompatibility complex (MHC) antigens polymorphism and alloimmunization study in thalassemia patients with febrile non-hemolytic transfusion reaction (FNHTR). *Transfus Clin Biol* 2023; 30(2): 205-11.
- Abedini F, Rahmanian N, Heidari Z, Feizi A, Sherkat R, Rezaei M. Diversity of HLA class I and class II alleles in Iran populations: Systematic review and

- Meta-Analysis. Transplant Immunol 2021; 69: 101472.
- 18- Dehghani Firouzabadi F, Salimi J, Amirzargar A, Dehghani Firouzabadi M, Arbabi H, Mousavizadeh SM, Izadpanah K. Human leukocyte antigen class I (A, B) and class II (DRB1) allele and haplotype frequencies in Iranian patients with Buerger's disease. Immun Inflamm Dis 2020; 8(3): 434-40.
 - 19- Nikbin B, Nicknam MH, Hadinedoushan H, Ansaripour B, Moradi B, Yekaninejad M, *et al.* Human leukocyte antigen (HLA) class I and II polymorphism in Iranian healthy population from Yazd Province. Iran J Allergy Asthma Immunol 2017; 16(1): 1-13.
 - 20- Arab M, Pourpak Z, Mohammadian S, Zare A, Shakiba Y, Shokouhi Shoormasti R, *et al.* The Frequency of Human Leukocyte Antigen Class I and II Alleles and the Relationship Between Haplotypes in Gilaks Population of Iran. Immunoregulation 2019; 2(1): 57-66.
 - 21- Esmaeili A, Rabe SZT, Mahmoudi M, Rastin M. Frequencies of HLA-A, B and DRB1 alleles in a large normal population living in the city of Mashhad, Northeastern Iran. Iran J Basic Med Sci 2017; 20(8): 940.
 - 22- Thomsen C, Steffensen R, Nielsen H, Kolte A, Krog M, Egerup P, *et al.* HLA-DRB1 polymorphism in recurrent pregnancy loss: New evidence for an association to HLA-DRB1* 07. J Reprod Immunol 2021; 145: 103308.
 - 23- Jazairi B, Khansaa I, Ikhtiar A, Murad H. Frequency of HLA-DRB1 and HLA-DQB1 alleles and haplotype association in Syrian population. Immunol Invest 2016; 45(2): 172-9.
 - 24- Pedron B, Yakouben K, Adjaoud D, Auvrignon A, Landman J, Guerin V, *et al.* Listing of common HLA alleles and haplotypes based on the study of 356 families residing in the Paris, France, area: implications for unrelated hematopoietic stem cell donor selection. Hum Immunol 2005; 66(6): 720-30.