Archive of SID

خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۵ شماره ۴ زمستان ۹۷ (۳۰۰-۲۹۳)

مقاله پژوهشی

ارزیابی فراوانی آنتی‌ژن پلاکتی نوع ۱ در زوجین ایرانی با سابقه سقط مکرر

غزال احمدزاده شاد[۱]، مریم زادسر[۲]، مژگان شایگان[۳]، شهرام سمیعی[۴]، احد زارع[۵]

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:28 +0330 on Saturday March 2nd 2019

چکیده

سابقه و هدف

سقط مکرر بیانگر وضعیتی است که فرد ۲ یا ۳ سقط پشت سر هم قبل از هفته ۲۰ بارداری را تجربه کند، که در ۲ تا ۵ درصد بانوان احتمال بروز دارد. پلی‌مورفیسم ژن *HPA-1* به عنوان عامل اصلی آلوایمیونیزاسیون در مادران باردار و ایجاد FNAIT و عوارض وابسته به آن و همین طور به عنوان یکی از فاکتورهای ترومبوفیلی مرتبط با سقط مکرر، مطرح می‌باشد. هدف این مطالعه، بررسی میزان ناسازگاری و پلی‌مورفیسم ژن *HPA-1* در زوجین ایرانی با سابقه سقط مکرر بود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی ـ مقطعی، ۷۵ زوج با سابقه حداقل دو سقط مکرر ایدیوپاتیک(طبق پرونده پزشکی) که در سال ۱۳۹۵ به بیمارستان تخصصی زنان و زایمان صارم مراجعه کردند، مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه خون در لوله EDTA جمع‌آوری شد و فراوانی آلل‌های HPA-1 a, b به روش مولکولی PCR-SSP تعیین شد. فراوانی ژنی با استفاده از معادله هاردی وینبرگ محاسبه گردید. سطح اطمینان ۰/۰۵ >p در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین سنی بانوان بررسی شده ۷ ± ۳۲ سال و میانگین تعداد سقط ۰/۹ ± ۲/۵ مورد بود. در این جمعیت، وفور ژن *HPA-1a* ۱۰۰٪ به دست آمد و ژن *HPA-1b* مشاهده نشد.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر بیانگر آن است که پلی‌مورفیسم ژن *HPA-1* و آلوایمیونیزاسیون احتمالی بر علیه *HPA-1a* در بروز سقط نقشی ندارد و برای مشخص شدن علت سقط مکرر ایدیوپاتیک نیاز به بررسی سایر عوامل می‌باشد.

کلمات کلیدی: پلاکت‌ها، سقط مکرر، ترومبوسیتوپنی

تاریخ دریافت: ۹۷/ ۴/ ۶
تاریخ پذیرش: ۹۷/۵/۲۹

۱- کارشناس ارشد خون‌شناسی 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 بیماری‌های عفونی 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- PhD ایمنی‌شناسی ـ دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۴- کارشناس ارشد بیوشیمی ـ مربی مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۵- دکترای ایمونولوژی ـ مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صارم ـ پژوهشکده سلولی مولکولی و سلول‌های بنیادی صارم ـ بیمارستان فوق تخصصی صارم ـ تهران ـ ایران

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:28 +0330 on Saturday March 2nd 2019

مقدمه

سقط مکرر یا عادتی، وضعیتی می‌باشد که فرد ۲ یا ۳ سقط پشت سر هم قبل از هفته ۲۰ بارداری را تجربه کند. طبق آمار در ۵-۲ درصد بانوان این عارضه محتمل است. تقریباً ۲۵٪-۱۵٪ کل بارداری‌هایی که توسط سیستم پزشکی شناسایی می‌شوند، به طور ناگهانی سقط می‌شوند ولی تعداد بسیار بیشتری قبل از تشخیص پزشکی در مراحل لقاح و لانه گزینی از بین می‌روند(۲، ۱). دلایل اتیولوژیک متعددی نظیر عوامل ژنتیکی، آناتومیک، بیماری‌های اتوایمیون، عفونت‌ها و اختلالات غدد اندوکرین برای بروز سقط مکرر ذکر شده است. ولی تقریباً در ۵۰٪ موارد علت آن نامشخص می‌باشد(۳).

غشاء پلاسمایی پلاکت‌ها از تعداد زیادی گلیکوپروتئین و فسفولیپید تشکیل شده است، بیشترین شمار آنتی‌ژن‌های پلاکتی شناخته شده و همین طور HPA-1 روی گلیکوپروتئین IIb/IIIa قرار دارند(۴). پلی‌مورفیسم آنتی‌ژن پلاکتی نوع ۱، HPA-1a/1b ناشی از یک جهش نقطه‌ای در نوکلئوتید ۱۵۶۵ در اگزون شماره ۲ ژن *GPIIIa* می‌باشد که منجر به جایگزینی تیمین با سیتوزین می‌گردد و در نتیجه اسید آمینه شماره ۳۳ زیر واحد β تغییر می‌کند و لوسین به پرولین تبدیل می‌شود(۶، ۵). در بسیاری از مطالعه‌ها پلی‌مورفیسم HPA-1 به عنوان فاکتور ترومبوفیلی در زنان یا زوجین با سابقه سقط مکرر بررسی شده است و ارتباط این فاکتور با مسأله سقط در برخی از این مطالعه‌ها مشاهده شده است(۱۰-۷). در برخی دیگر تاثیر حضور این فاکتور به عنوان عامل ترومبوفیلی دخیل در سقط مشاهده نگردیده است(۱۲، ۱۱، ۳). در مطالعه‌ای که مزیری در سال ۱۳۸۵ به بررسی تاثیر پلی‌مورفیسم HPA- 1 در زنان با سابقه سقط مکرر و گروه کنترل پرداخت، تاثیر پلی‌مورفیسم این آنتی‌ژن بر سقط مکرر مشاهده نشد(۱۳). در بین آنتی‌ژن‌های پلاکتی متعددی که بر سطح پلاکت‌ها حضور دارد، HPA-1 به عنوان عامل اصلی در آلوایمیونیزاسیون مادری- جنینی در جمعیت سفید پوست مطرح می‌باشد و عامل ۸۵٪-۷۵٪ موارد FNAIT (Fetal/Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia) است(۱۳).

امروزه FNAIT اصلی‌ترین عامل ترومبوسیتوپنی شدید در نوزادان زنده، شناخته شده است و تقریباً دلیل ۴۰٪ از مراجعات نوزادان به بخش مراقبت ویژه محسوب می‌شود. FNAIT درحال حاضر به عنوان عارضه‌ای پیچیده در بارداری مطرح است که عوارضی شدید و متناقض دارد. FNAIT رایج‌ترین علت خونریزی مغزی ICH (Intra Cerebral Hemorrhage) در جنین قبل از هفته ۲۰ بارداری و هم‌چنین در نوزادان کامل و سالم می‌باشد که می‌تواند منجر به عوارض دائمی عصبی و یا مرگ شود(۱۳). در مطالعه‌ای که در سوئد در سال ۲۰۱۷ با هدف بررسی اثر FNAIT بر میزان مرگ و میر انجام شد، به بررسی آلوآنتی‌بادی‌های مادر در نوزادانی که با عارضه ICH متولد شدند، پرداخته شد و بیان شد که نقش ترومبوسیتوپنی در بروز ICH کمتر از میزانی است که مطالعه‌های قبل گزارش کرده‌اند و عوامل دیگری غیر از ترومبوسیتوپنی در بروز ICH دخیلند(۱۴). برخی مطالعه‌ها احتمال بروز سقط قبل از هفته ۲۰ جنینی با مکانیسم مشابه FNAIT را پیشنهاد کرده‌اند؛ مکانیسم‌هایی هم چون خونریزی در نتیجه ترومبوسیتوپنی، ایجاد ترومبوز در جفت، به علاوه سیتوتوکسیسیته سلولی با واسطه NK Cell بر علیه β3 اینتگرین‌های سطح تروفوبلاست‌های جفت نیز در اثر پلی‌مورفیسم ژنی HPAs مطرح شده‌اند(۱۵).

در زمینه غربالگری FNAIT در کشورهای مختلف مانند لهستان و نروژ، مطالعه‌های کوهورت صورت گرفته است و مطالعه‌های مشابهی نیز در هلند و چین در حال انجام است ولی تاکنون هیچ کشوری روش غربالگری روتین جهت شناسایی موارد FNAIT را به کار نبرده است (۱۷، ۱۶، ۱۴، ۱۳). بیشتر مطالعه‌های صورت گرفته مربوط به جمعیت سفید پوست می‌باشد و آلوایمیونیزاسیون بر علیه HPA-1a موجب اکثر موارد آلوایمیونیزاسیون علیه HPAs شناخته شده است. تفاوت در فراوانی HPAs در جوامع و قومیت‌های مختلف، نشان‌دهنده تنوع در الگوی فراوانی HPAs می‌باشد و این مسأله لزوم مطالعه فراوانی این آنتی‌ژن‌ها در جوامع مختلف را مشخص می‌سازد، لذا در این مطالعه فراوانی آللی و ژنی HPA-1 و میزان ناسازگاری آن در زوجین

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:28 +0330 on Saturday March 2nd 2019

ایرانی با سابقه سقط مکرر به روش PCR-SSP (Sequence Specific Primed-PCR) بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع توصیفی- مقطعی بود که در آن ۷۵ زوج با سابقه حداقل دو سقط مکرر خود به خودی ایدیوپاتیک از میان مراجعه‌کنندگان به بیمارستان فوق تخصصی زنان و زایمان صارم تهران، وارد مطالعه شدند. انتخاب این افراد با نظر متخصص زنان و زایمان بر اساس پرونده پزشکی و به صورت تصادفی در روزهای مختلف مراجعه صورت گرفت، این افراد از نظر عوامل مؤثر در سقط مکرر مانند کاریوتیپ، عوامل آناتومیک، اختلالات هورمونی، عوامل عفونی و ایمونولوژیک بررسی شده و فاقد عامل اتیولوژیک سقط بودند که این اطلاعات از پرونده پزشکی ایشان منتج گردید. از افرادی که در مطالعه شرکت کردند جهت رعایت اخلاق پزشکی رضایت‌نامه دریافت گردید. این مطالعه، مصوبه کمیته اخلاق در پژوهش مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ایران را به شماره IR.TMI.REC.1395.002 دریافت کرد. نمونه‌های خون (۴ میلی‌لیتر خون کامل) در لوله‌های حاوی EDTA جمع‌آوری گردید. برای استخراج DNA از گلبول‌های سفید موجود در بافی‌کوت و کیت کیاژن که دارای ستون مخصوص می‌باشد استفاده شد.

برای آمپلیفیکاسیون از روش Touch down استفاده شد و هدف از استفاده از این روش، کاستن از واکنش‌های غیر اختصاصی در روند PCR بود(جدول ۱). دو لوله واکنش جداگانه برای تعیین ژنوتیپ ۲ آلل مورد نظر (HPA-1a, 1b) استفاده شد(جدول ۲). حجم کلی محتوای واکنش ۲۰ میکرولیتر بود(جدول ۳). پس از انجام مراحل تکثیر، محصولات PCR روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز شد و با استفاده از رنگ‌آمیزی سایبرگرین و ترانس لومیناتور UV مشاهده و بررسی گردید. اندازه مورد انتظار برای هر آلل مشخص شد(جدول ۴).

تعیین ژنوتیپ HPAs با استفاده از نتایج PCR صورت گرفت و وفور مشاهده شده شمارش گردید. فراوانی حاصله برای مطابقت با معادله هاردی وینبرگ به وسیله آزمون کای‌دو بررسی شد. سپس از نرم‌افزار معادله مذکور، وفور ژنی (که اساس آن مبتنی بر $a^2+b^2+2ab=1$ است) محاسبه گردید، در این فرمول a و b نشان‌دهنده وفور اشکال آللی هر یک از ژن‌های مورد بحث می‌باشند.

جهت مقایسه وفور آللی در جمعیت مورد مطالعه با سایر جمعیت‌ها از آزمون آماری مقایسه نسبت(آزمون Z)

جدول ۱: برنامه Touch down دستگاه ترمال سایکلر

مرحله		دما(درجه سانتی‌گراد)	زمان	چرخه (n= ۴۰)
فعال‌سازی		۹۵	۱۰ دقیقه	۱ x
مرحله اول تکثیر ۱	دناتوراسیون	۹۶	۲۵ ثانیه	۵ x
	آنیلینگ	۶۸	۴۵ ثانیه	
	اکستنشن	۷۲	۳۰ ثانیه	
مرحله اول تکثیر ۲	دناتوراسیون	۹۶	۲۵ ثانیه	۲۰ x
	آنیلینگ	۶۱	۴۵ ثانیه	
	اکستنشن	۷۲	۳۰ ثانیه	
مرحله اول تکثیر ۳	دناتوراسیون	۹۶	۲۵ ثانیه	۱۵ x
	آنیلینگ	۵۱	۱ دقیقه	
	اکستنشن	۷۲	۲ دقیقه	
سرد کردن		۴	۳ دقیقه	۱ x

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:28 +0330 on Saturday March 2nd 2019

جدول ۲: توالی آغازگرها، اندازه هر آغازگر و غلظت نهایی و دمای هر کدام

سیستم	آنتی‌ژن	سایز (bp)	دما (ºC)	غلظت نهایی (میکرومول)	سکانس‌ها
HPA-1	۱ a	۱۹	۶۲	۰/۵	5 `TCACAGCGAGGTGAGGCCA 3`
	۱ b	۱۹	۶۴		5 `TCACAGCGAGGTGAGGCCG 3`
	مشترک	۲۱	۶۶		5 `GGAGGTAGAGAGTCGCCATAG 3`
β-Actin	جلوبرنده	۲۰	۶۰	۰/۴	5'-AGAGCTACGAGCTGCCTGAC-3'
	معکوس	۲۰	۶۰		5'-AGCACTGTGTTGGCGTACAG-3'

جدول ۳: غلظت مواد اولیه برای مراحل PCR

مواد مورد نیاز	µL/rxn	غلظت نهایی
2X Master Mix (GentBio)	۱۰	۱ x
HPA Primer (10 µM)	۱	۰/۵ µM
Common Primer (10 µM)	۱	۰/۵ µM
Distilledwater (DNAase &RNAase free)	۴	–
DNA (30 ng/µL)	۴	–

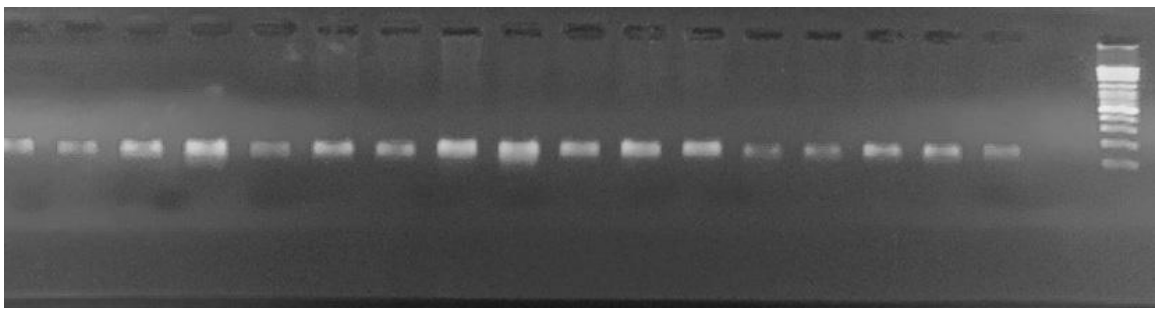
جدول ۴: اندازه مورد انتظار برای هر آنتی‌ژن

آنتی‌ژن	Allele specific size (bp)
HPA-1	۹۰
β Actin	۵۰۰

استفاده شده است و $p< ۰/۰۵$ بیانگر تفاوت معنادار می‌باشد.

یافته‌ها

در این مطالعه از ۷۵ زوج نمونه‌گیری شد. نتایج PCR یک زوج به علت مناسب نبودن کیفیت DNA استخراج شده قابل اطمینان نبود و لذا از مطالعه حذف شدند. در ۷۴ زوج مورد مطالعه، میانگین سنی خانم‌ها ۷ ± ۳۲ سال با طیف سنی ۲۲ تا ۴۶ سال، تعداد سقط‌ها در تاریخچه پزشکی ایشان به طور میانگین ۰/۹ ± ۲/۵ و میانگین سن حاملگی در زمان آخرین سقط ۰/۷ ± ۷/۵ هفته بود. قومیت زوج‌های فوق مورد نظر نبود و پرسش نگردید. همه زوجین دارای ژنوتیپ به صورت هموزیگوت HPA-1a/1a بودند و HPA-1b مشاهده نشد(شکل ۱). فراوانی ژن *HPA-1a* در این جمعیت ۱۰۰٪ یا ۱ برآورد شد. بررسی ژن بتااکتین برای همه نمونه‌ها به صورت جداگانه انجام شد(شکل۲).

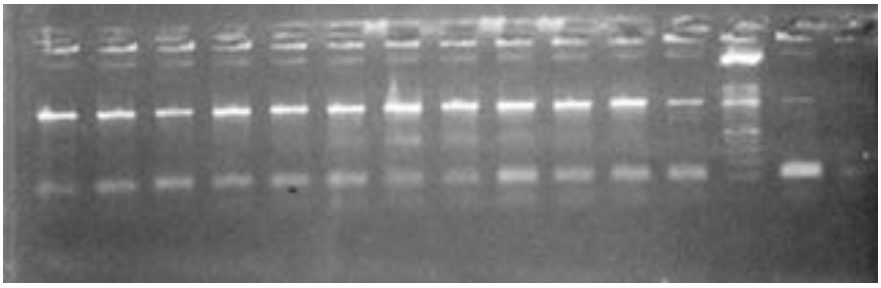


شکل ۱: نتایج الکتروفورز محصول PCR-SSP مربوط به ژن HPA-1a : ستون اول سمت راست سایز مارکر bp ۵۰ و ستون دوم سمت راست کنترل منفی بدون DNA می‌باشد. باند bp ۹۰ مربوط به HPA-1a می‌باشد که درتمام ستون‌های مربوط به زوجین مشاهده می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:28 +0330 on Saturday March 2nd 2019



شکل ۲: نتایج الکتروفورز محصول PCR-SSP مربوط به ژن β-Actin : ستون اول سمت راست ، نمونه کنترل منفی بدون DNA ستون دوم کنترل مثبت، ستون سوم سایز مارکر ۵۰ bp DNA می‌باشد. باند ۵۰۰ bp مربوط به β-Actin در نمونه‌های آزمایش شده قابل مشاهده می‌باشد. برای تمام نمونه‌های مورد آزمایش PCR-SSP برای ژن β-Actin صورت گرفت.

بحث

همه زوجین در مطالعه حاضر به صورت هموزیگوت HPA-1a/1a بودند و از این نظر ناسازگاری بین آن‌ها مشاهده نشد، لذا احتمال وقوع آلوایمیونیزاسیون علیه HPA-1a در حین بارداری در زنان مورد مطالعه مطرح نمی‌باشد.

بررسی پلی‌مورفیسم HPA-1 به دلیل مطرح بودن به عنوان فاکتور ترومبوفیلی و همین طور به عنوان اصلی‌ترین آنتی‌ژن پلاکتی در ایجاد عوارض ناشی از آلوایمیونیزاسیون در افراد با سابقه سقط مکرر حائز اهمیت است. جنین آنتی‌ژن‌های پدری و مادری را به ارث می‌برد و به ذات وضعیت Semi Allograft را دارا می‌باشد، آنتی‌ژن‌های پدری ممکن است توسط سیستم ایمنی مادر به عنوان بیگانه شناخته شود. سیستم ایمنی مادر باید ویژگی‌های منحصر به فردی داشته باشد تا بتواند به جنین Semi Allograft اجازه رشد دهد، این در حالی است که سیستم ایمنی مادر باید از مادر و جنین در برابر پاتوژن‌ها به طور مؤثر محافظت کند. اکثر این ویژگی‌های خاص ناشناخته می‌باشند(۱۸، ۱۴). در مطالعه حاضر با توجه به حضور ۱۰۰٪ HPA-1a در جمعیت مطالعه شده، مشخص شد که اگر HPA-1a را به عنوان فاکتور ترومبوفیلی در نظر بگیریم عدم تجانس آلل‌های HPA-1 و در نتیجه آلوایمیونیزاسیون مادران در بروز سقط مکرر ایدیوپاتیک در زوج‌های ایرانی احتمالاً نقشی ندارد(۱۹، ۹-۷). در بررسی مشخص شد که وفور آللی این ژن در جمعیت زنان با سقط مکرر در مقایسه با وفور آللی همین ژن در اهداکنندگان ایرانی تفاوت معنادار دارد(p= ۰/۰۱۵)(۲۰). ولی تفاوت وفور ژنی در دو جمعیت فوق در دو مطالعه، معنادار به دست نیامد.

مطالعه‌های متعددی به بررسی عوارض ناشی از آلوایمیونیزاسیون بر علیه HPA-1a در بارداری‌های دچار عوارضی مانند سقط، ICH ، FNAIT پرداخته است که در در ادامه چند مورد ذکر می‌شوند. مورفی و همکاران با بررسی خانمی که سابقه سه جنین مبتلا به ICH داشته است، آلوایمیونیزاسیون علیه HPA-1a را عامل این عارضه برشمردند. همین طور لوکاس خانمی را که در چهار بارداری اول عوارضی مانند سقط و جنین هیدروسفال را تجربه کرده بود، بررسی کرد و ژنوتایپ او به صورت HPA-1b/1b گزارش شد. عامل این عوارض آلوایمیونیزاسیون علیه HPA-1a برشمرده شد و در بارداری پنجم و ششم با استفاده از IVIG و داروهای استروئیدی، نوزاد سالم متولد شد(۲۲، ۲۱). در مطالعه‌ای که در ایتالیا در سال ۲۰۰۵ انجام شد به بررسی ژنوتیپی HPA1-6 در ۱۲ والد که نوزاد مبتلا به NAIT (Neonated Alluimmune Thrombocytopenia) شدید داشتند پرداخته شد و با بررسی آنتی‌بادی نتیجه‌گیری شد که HPA-1 عامل اصلی آلوایمیونیزاسیون و بروز NAIT شدید بوده است(۲۳). به علاوه در بسیاری از مطالعه‌ها پلی‌مورفیسم HPA-1 به عنوان فاکتور ترومبوفیلی در زنان یا زوجین با سابقه سقط مکرر بررسی شده است و ارتباط

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:28 +0330 on Saturday March 2nd 2019

این فاکتور با مسأله سقط در برخی از این مطالعه‌ها مشاهده شده است(۱۰-۷). در برخی دیگر تاثیر حضور این فاکتور به عنوان عامل ترومبوفیلی دخیل در سقط مشاهده نگردیده است(۱۲، ۱۱، ۳).

در مطالعه‌ای که مزیری در سال ۱۳۸۵ به بررسی HPA-1 در زنان با سابقه سقط مکرر و زنان بدون سابقه سقط پرداخت، تأثیر حضور این آنتی‌ژن بر سقط مکرر مشاهده نشد(۲۴).

با توجه به حضور HPA-1a در ۱۰۰٪ جمعیت مطالعه شده، این فاکتور نمی‌تواند به عنوان فاکتور آلوایمیونیزاسیون مؤثر در سقط و همین طور به عنوان یک فاکتور ترومبوفیلی مؤثر در سقط در جمعیت مطالعه شده مطرح باشد. مقایسه وفور آللی و ژنتیکی HPAs در اهداکنندگان اقوام مختلف بیانگر تنوع در فراوانی HPAs در کشورهای مختلف است(۲۸-۲۵). به نظر می‌رسد در جمعیت ایرانی نیز مطالعه‌های جداگانه‌ای بر اساس اقوام ضرورت دارد و با توجه به گستردگی قومیت‌های مختلف در ایران، فراوانی آنتی‌ژن‌های پلاکتی در این اقوام می‌تواند متفاوت باشد.

نتیجه‌گیری

در جمعیت مطالعه شده پلی‌مورفیسم ژن *HPA-1* نقشی در بروز سقط مکرر ندارد و تأثیر سایر عوامل در بروز این مسأله باید بررسی شود. عدم دسترسی به اطلاعات قومیت و نژاد افراد شرکت‌کننده در مطالعه حاضر از محدودیت‌های این مطالعه بود. نتیجه‌گیری در این زمینه نیازمند بررسی‌های گسترده‌تر است. از دیگر محدودیت‌های این مطالعه، عدم بررسی ژنوتیپ جنینی و بررسی آنتی‌بادی در مادر با احتمال آلوایمیونیزاسیون و همین طور بررسی افراد مورد مطالعه از نظر HLA Typing می‌باشد که پیشنهاد می‌شود در ادامه مطالعه‌های بعدی لحاظ گردند.

تشکر و قدردانی

نتایج این مطالعه از پایان‌نامه دانشجویی مصوب در مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ایران با کد اخلاق IR.TMI.REC.1395.002 در مقطع کارشناسی ارشد حاصل شده است. بدین‌وسیله از مرکز درمانی صارم که در امر تهیه نمونه مورد نیاز این پژوهش همکاری صمیمانه‌ای داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References:

1- Ford HB, Schust DJ. Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. Rev Obstet Gynecol 2009; 2(2): 76-83.

2- El Hachem H, Crepaux V, May-Panloup P, Descamps P, Legendre G, Bouet P-E. Recurrent pregnancy loss: current perspectives. Int J Womens Health 2017; 9: 331-45.

3- Hohlagschwandtner M, Unfried G, Heinze G, Huber JC, Nagele F, Tempfer C. Combined thrombophilic polymorphisms in women with idiopathic recurrent miscarriage. Fertil Steril 2003; 79(5): 1141-8.

4- Curtis B, McFarland JG. Human platelet antigens-2013. Vox Sang 2014; 106(2): 93-102.

5- Newman PJ, Derbes RS, Aster RH. The human platelet alloantigens, PlA1 and PlA2, are associated with a leucine33/proline33 amino acid polymorphism in membrane glycoprotein IIIa, and are distinguishable by DNA typing. J Clin Invest 1989; 83(5): 1778-81.

6- Reuner K, Elgas M, Kaps M, Ruf A, Patscheke H. The human platelet antigen HPA-1a/1b (PI (A1)/PI (A2)) polymorphism and cerebral ischaemia. Thromb Haemost 1997; 78(2): 964-5.

7- Goodman CS, Coulam CB, Jeyendran RS, Acosta VA, Roussev R. Which thrombophilic gene mutations are risk factors for recurrent pregnancy loss? Am J Reprod Immunol 2006; 56(4): 230-6.

8- Lambrinoudaki I, Armeni E, Kaparos GJ, Christodoulakos GE, Sergentanis TN, Alexandrou A, *et al*. The frequency of early, spontaneous miscarriage associated with the leu33pro polymorphism of Glycoprotein IIIa: a pilot study. Aust N Z J Obstet Gynaecol 2010; 50(5): 485-90.

9- Ruzzi L, Ciarafoni I, Silvestri L, Semeraro ML, Abeni D. Association of PLA2 polymorphism of the ITGB3 gene with early fetal loss. Fertil Steril 2005; 83(2): 511-2.

10- Ivanov P, Komsa-Penkova R, Ivanov I, Konova E,

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:28 +0330 on Saturday March 2nd 2019

Kovacheva K, Stoĭkov S, *et al*. High risk of recurrent spontaneous abortion during second trimester in women carriers of polymorphism A2 in platelet glycoprotein IIb/IIIa. Akush Ginekol (Sofiia) 2008; 47(4): 3-9. [Article in Bulgarian]

11- Ozdemir O, Yenicesu GI, Silan F, Köksal B, Atik S, Ozen F, *et al*. Recurrent pregnancy loss and its relation to combined parental thrombophilic gene mutations. Genet Test Mol Biomarkers 2012; 16(4): 279-86.

12- Pihusch R, Hiller E, Buchholz T, Rogenhofer N, Hasbargen U, Thaler CJ, *et al*. Thrombophilic gene mutations and recurrent spontaneous abortion: prothrombin mutation increases the risk in the first trimester. Am J Reprod Immunol 2001; 46(2): 124-31.

13- Tiller H, Husebekk A, Ahlen MT, Stuge TB, Skogen B. Current perspectives on fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia–increasing clinical concerns and new treatment opportunities. Int J Womens Health 2017; 9: 223-34.

14- Refsum E. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: immunological mechanisms and clinical consequences; 2017. Available from: https://openarchive.ki.se/xmlui/bitstream/handle/10616/46057/Thesis_Erle_Refsum.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

15- Schmaier AH. Are maternal antiplatelet antibodies a prothrombotic condition leading to miscarriage? J Clin Invest 2011; 121(11): 4241-3.

16- Tiller H, Killie M, Skogen B, Øian P, Husebekk A. Neonatal alloimmune thrombocytopenia in Norway: poor detection rate with nonscreening versus a general screening programme. BJOG 2009; 116(4): 594-8.

17- Chen L, Liu Z, Liu T, Ma X, Rao M, Wang Y, *et al*. Neonatal alloimmune thrombocytopenia caused by anti-HPA antibodies in pregnant Chinese women: a study protocol for a multicentre, prospective cohort trial. BMC Pregnancy Childbirth 2017; 17(1): 281.

18- Eksteen M. Anti-human platelet antigen (HPA)-1a antibodies: For better or for worse; 2015. Available from:https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/8568/thesis.pdf?sequence=2&isAllowed=y.

19- Hopkins M, Lucas G, Calvert A, Bendukidze N, Green F, Kotecha K, *et al*. Human platelet antigen (HPA)-specific immunoglobulin M antibodies in neonatal alloimmune thrombocytopenia can inhibit the binding of HPA-specific immunoglobulin G antibodies. Transfusion 2017; 57(5): 1267-71.

20- Madani T, Samiee S, Attaei Z, Kavari M, Babaei GR, Mostakhdemin M, *et al*. Platelet antigens frequency in blood donors: comparison of molecular detection with ELISA method (for HPA-1a). Sci J Iran Blood Transus Organ 2007; 4(3): 165-74. [Article in Farsi]

21- Murphy M, Metcalfe P, Waters A, Ord J, Hambley H, Nicolaides K. Antenatal management of severe feto-maternal alloimmune thrombocytopenia: HLA incompatibility may affect responses to fetal platelet transfusions. Blood 1993; 81(8): 2174-9.

22- Lucas G, Hamon M, Carroll S, Soothill P. Effect of IVIgG treatment on fetal platelet count, HPA-1a titre and clinical outcome in a case of feto-maternal alloimmune thrombocytopenia. BJOG 2002; 109(10): 1195-8.

23- Fratellanza G, Scarpato N, D'Agostino E, D'Onofrio M, Misso S, Fratellanza A, *et al*. Genomic restriction fragment length polymorphism typing of human platelet-specific antigens in blood donors from southern Italy and in alloimmunised pregnancies. Blood Transfus 2005; 3: 222-30.

24- Maziri P, Asaadi Tehrani G, Bahrami Hidagi F, Nejatollahi M, Asadi S. Association between Thrombophilic Gene Polymor-phisms and Recurrent Pregnancy Loss in Iranian Women. Iran J Neonatol 2017; 8(4): 13-9.

25- Cardone J, Chiba A, Boturão-Neto E, Vieira-Filho J, Bordin J. Gene frequencies of the HPA-15 (Gov) platelet alloantigen system in Brazilians. Transfus Med 2004; 14(6): 433-7.

26- Yang W-H, Cheng CS, Chang JB, Liu KT, Chang JL. Antibody formation in pregnant women with maternal-neonatal human platelet antigen mismatch from a hospital in northern Taiwan. Kaohsiung J Med Sci 2014; 30(1): 25-8.

27- Simsek S, Faber N, Bleeker P, Vlekke A, Huiskes E, Goldschmeding R, *et al*. Determination of human platelet antigen frequencies in the Dutch population by immunophenotyping and DNA (allele-specific restriction enzyme) analysis. Blood 1993; 81(3): 835-40.

28- 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.

www.SID.ir

Archive of SID

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2019; 15 (4): 293-300

Original Article

HPA-1 gene polymorphism in Iranian couples with history of recurrent abortion

Ahmadzadeh Shad Gh.[1], Zadsar M.[1], Shaiegan M.[1], Samiee Sh.[1], Zare A.[2]

[1]Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran
[2]Sarem Fertility and Infertility Research Center, Sarem Cell Research Center, Sarem Hospital, Tehran, Iran

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:28 +0330 on Saturday March 2nd 2019

Abstract

Background and Objectives

Recurrent abortion is referred to a condition that 2 or 3 consecutive pregnancies are affected by abortions before the 20th week of gestation, which is likely to occur in 2-5% of pregnancies. There are some etiologic factors such as anatomical, infectious and immunological elements. One of these immunological factors is the polymorphism of the HPA-1 gene as a factor able to cause FNAIT and its related complications; besides it contributes to abortion as a thrombophilic gene. This study was conducted to evaluate the prevalence of HPA-1 incompatibility in Iranian couples with a history of recurrent abortions.

Materials and Methods

In this cross-sectional descriptive study, totally 75 couples with at least two recurrent pregnancy losses without any specified causes (according to the medical records obtained from the infertility center) were entered to the study. Four-ml blood samples were collected in EDTA tubes and the allelic frequency of HPA-1 was determined by PCR-SSP. Gene frequency was calculated using the Hardy Weinberg equation. The $p< 0.05$ was considered significant.

Results

Totally 75 couples were included with the average age of women being 32 ± 7 years and the mean number of abortions 2.5 ± 0.9. HPA-1a was found in 100% of the under study population, and HPA-1b was absent in this population.

Conclusions

This study revealed that HPA-1a gene polymorphism does not have the likelihood of being involved in the recurrent abortion in Iranian couples, and other factors need to be investigated to determine the possible causes of recurrent abortion.

Key words: Platelets, Abortion، Recurrent, Thrombocytopenia

Received: 27 Jun 2018
Accepted:20 Aug 2018

Correspondence: Zadsar M., MD. Pathologist. 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*

www.SID.ir