Archive of SID

خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۶ شماره ۳ پاییز ۹۸ (۲۰۷-۲۰۱)

مقاله پژوهشی

تعیین ژنوتیپ گروه خونی Kidd در بیماران تالاسمی دارای آلوآنتی‌بادی

سیده فرزانه جلالی[۱]، آرزو اودی[۲]، آزیتا آذرکیوان[۳]، سمیرا گودرزی[۴]، ناصر امیری‌زاده[۵]

چکیده

سابقه و هدف

روش هماگلوتیناسیون به دلیل حضور گلبول‌های قرمز اهداکننده در گردش خون بیمار دارای محدودیت‌هایی است که سبب می‌شود در تعیین صحیح فنوتیپ بیمارانی که به تازگی خون دریافت کرده‌اند، مشکل ایجاد شود. گروه خونی **Kidd** از جمله گروه‌های خونی است که در طب انتقال خون اهمیت ویژه‌ای دارد. آنتی‌بادی‌های این سیستم مسئول یک سوم از واکنش‌های همولیتیک تأخیری ناشی از تزریق خون هستند. در این مطالعه از روش‌های مولکولی برای تعیین آلل‌های گروه خونی **Kidd** در بیماران تالاسمی استفاده شد.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه مقطعی ـ توصیفی، تعداد ۱۰۰ بیمار تالاسمی دارای آلوآنتی‌بادی مراجعه‌کننده به درمانگاه تالاسمی تهران در سال ۱۳۹۶ مورد بررسی قرار گرفتند. فنوتیپ این نمونه‌ها با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی تعیین شد. برای تعیین ژنوتیپ از روش‌های مولکولی **PCR-SSP** ، **PCR-RFLP** و تعیین توالی استفاده شد.

یافته‌ها

با مقایسه فنوتیپ و ژنوتیپ، ۲۰ مورد ناسازگاری دراین بیماران دیده شد. به طوری که(۵۵٪) ۱۱ بیمار دارای ژنوتیپ ***JkA/JkA*** و فنوتیپ($Jk(a^+ b^+)$ ، (۳۵٪) ۷ بیمار دارای ژنوتیپ ***JkB/JkB*** و فنوتیپ($Jk(a^+ b^+)$ ، (۵٪)۱ بیمار دارای ژنوتیپ ***JkA/JkB*** و فنوتیپ($Jk(a^+ b^-)$ و (۵٪)۱ بیمار دارای ژنوتیپ ***JkA/JkB*** و فنوتیپ($Jk(a^- b^+)$ بودند.

نتیجه گیری

استفاده از روش‌های مولکولی به عنوان یک روش مکمل همراه با نتایج روش‌های سرولوژی می‌تواند کمک شایانی برای حل مشکلات ناشی از تزریق خون و تعیین صحیح فنوتیپ گروه‌های خونی به خصوص در بیماران تالاسمی فراهم کند.

کلمات کلیدی: ژنوتیپ، تالاسمی، گروه‌های خونی، فنوتیپ

تاریخ دریافت: ۹۸/۳/۱۸
تاریخ پذیرش: ۹۸/۴/۳۰

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- PhD خون‌شناسی و بانک خون ـ استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۳- فوق تخصص هماتولوژی و انکولوژی کودکان ـ دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۴- کارشناس ارشد ایمونولوژی ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۵- مؤلف مسئول: PhD خون‌شناسی و بانک خون ـ دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵

www.SID.ir

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:47 +0330 on Sunday September 29th 2019

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:47 +0330 on Sunday September 29th 2019

مقدمه

یکی از مهم‌ترین عوارض تزریق خون، آلوایمیونیزاسیون بر علیه آنتی‌ژن‌های گلبول قرمز است(۱). تزریق خون مطمئن، مهمترین نقش را در جلوگیری از آلوایمیونیزاسیون در بیماران تالاسمی ایفا می‌کند(۲). برای سال‌های متمادی روش سرولوژی با استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال به عنوان روشی استاندارد برای تعیین آنتی‌ژن‌های گلبول قرمز استفاده می‌شد(۴، ۳). تعیین فنوتیپ گروه‌های خونی با استفاده از روش سرولوژی در بیماران تالاسمی به دلیل حضور گلبول قرمز اهداکننده در گردش خون بیمار، آزمایش آنتی‌گلبولین مثبت(DAT) و آنتی‌بادی‌های ناخواسته با مشکل مواجه می‌شود. با استفاده از روش‌های مولکولی می‌توان بر محدودیت‌های روش سرولوژی غلبه کرد و از این روش به عنوان روش مکمل استفاده نمود(۵).

از میان گروه‌های خونی که تاکنون شناخته شده، گروه‌های خونی Rh، Kell، Kidd و Duffy از جمله گروه‌های خونی هستند که از نظر بالینی مهم می‌باشند. سیستم گروه خونی Kidd از ۳ آنتی‌ژن Jk^a، Jk^b و Jk3 تشکیل شده است. پلی‌مورفیسم JK^a/JK^b ناشی از جایگزینی نوکلئوتید G>A ۸۳۸ در اگزون ۹ است که منجر به جایگزینی اسیدآمینه Asp280Asn در سطح پروتئین می‌شود. هنگامی که اسید آمینه اسید آسپارتیک در جایگاه ۲۸۰ حضور دارد، سبب ایجاد آنتی‌ژن JK^a شده و در صورت وجود آسپارژین در این جایگاه، آنتی‌ژن JK^b بیان می‌شود. فنوتیپ‌های این گروه خونی شامل ($JK(a^+b^-)$ ، $JK(a^+b^+)$ ، $JK(a^-b^-)$ ، $JK(a^-b^+)$ است که در سیاهپوستان $JK(a^+ b^-)$ و در سفیدپوستان $JK (a^+ b^+)$ بیشترین فراوانی را دارند(۷، ۶). شناسایی این آنتی‌بادی‌ها نه تنها به دلیل این که معمولاً این آنتی‌بادی‌ها در سرم همراه با ترکیبی از سایر آلوآنتی‌بادی‌ها وجود دارند، بلکه به دلیل این که اغلب این آنتی‌بادی‌ها به صورت ضعیف واکنش می‌دهند و همواره از قوانین پیروی نمی‌کنند، دشوار می‌باشد. آنتی‌بادی‌های سیستم گروه خونی Kidd مسئول یک سوم از واکنش‌های همولیتیک تاخیری هستند(۹، ۸).

تعیین صحیح آنتی‌ژن‌های سیستم گروه خونی Kidd اهمیت به سزایی در تزریق خون دارد. برای اولین بار در ایران تعیین ژنوتیپ آنتی‌ژن‌های گروه خونی Kidd با استفاده از روش‌های مولکولی PCR-SSP، PCR-RFLP و تعیین توالی صورت گرفت. هدف از این مطالعه، مقایسه روش سرولوژی و مولکولی برای تعیین آنتی‌ژن‌های گروه خونی Kidd در بیماران تالاسمی دارای تزریق خون متعدد بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع مقطعی- توصیفی بود و از روش نمونه‌گیری غیر احتمالی آسان استفاده شد. برای بیان نتایج از روش‌های آماری توصیفی استفاده گردید.

بیماران:

۵ میلی‌لیتر خون EDTA دار از ۱۰۰ بیمار تالاسمی مراجعه‌کننده به درمانگاه تالاسمی تهران در سال ۱۳۹۶ جمع‌آوری شد. فرم رضایت‌نامه از بیماران گرفته شد. این مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق مؤسسه طب انتقال خون با کد اخلاق IR.TMI.REC.1396.030 می‌باشد.

گروه کنترل:

تعداد ۱۰ اهداکننده سالم مراجعه‌کننده به سازمان انتقال خون به عنوان کنترل در نظر گرفته شدند. فنوتیپ و ژنوتیپ این بیماران تعیین شد و برای تایید نتایج، تعیین توالی انجام شد. از نمونه‌های کنترل جهت بهینه‌سازی راه‌اندازی روش‌های مولکولی و به عنوان نمونه کنترل مثبت استفاده شد.

تعیین فنوتیپ با استفاده از روش سرولوژی:

تعیین فنوتیپ آنتی‌ژن‌های Jk^a و Jk^b با استفاده از آنتی‌بادی منوکلونال مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده با روش لوله‌ای انجام شد($Anti\text{-}JK^b$ clone MS8 ، $Anti\text{-}Jk^a$ clone MS15 ، آلمان، Immundiagnostika GmbH).

روش مولکولی:

استخراج DNA : DNA ژنومی از بافی‌کوت نمونه‌ها با استفاده از کیت ستونی استخراج شد(یکتا تجهیز آزما،

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:47 +0330 on Sunday September 29th 2019

ایران) به منظور ارزیابی کیفیت DNA و آگاهی از میزان خلوص آن از دستگاه نانودراپ استفاده شد.

روش PCR-SSP:

ژنوتیپ تمامی بیماران با استفاده از روش PCR-SSP تعیین شد. حضور پلی‌مورفیسم(G838A) بر روی اگزون ۹ ژن گروه خونی Kidd با استفاده از آغازگرها بررسی شد(۱۰). برای انجام این روش از غلظت۱۰۰-۵۰ نانوگرم DNA ، مخلوط ۰/۴ µM از آغازگرهای هر آنتی‌ژن و 2x Master Mix PCR (یکتا تجهیز آزما ـ ایران) در حجم نهایی ۲۵ µL استفاده شد. برنامه ترمال سایکلر برای انجام PCR مورد نظر به این صورت بوده است: ۱ چرخه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه(در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه ، در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه) و ۱ چرخه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه. محصول حاصل از تکثیر PCR با استفاده از ژل آگارز ۲٪ مورد بررسی قرار گرفت.

روش PCR-RFLP:

برای تایید نتایج حاصل از PCR-SSP ، از روش PCR-RFLP برای بیمارانی که بین نتایج فنوتیپ و ژنوتیپ دارای ناسازگاری بودند، استفاده شد. از آغازگر پیشرو -5'] [TGAGATCTTGGTTCCTAGG-3' و آغازگر پیرو -5'] [ATTGCAATGCAGGCCAGAGA-3' برای تکثیر اگزون ۹ ژن گروه خونی Kidd استفاده شد(۱۱). برنامه ترمال سایکلر برای انجام PCR مورد نظر به این صورت بوده است: ۱ چرخه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ چرخه(در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، در ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه) و ۱ چرخه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه. محصول حاصل از تکثیر PCR–RFLP با استفاده از ژل آگارز ۲٪ مورد بررسی قرار گرفت.

محصول PCR تحت تاثیر آنزیم MnlI به مدت ۴ ساعت برش خورده و قطعات اختصاصی آلل مورد نظر را به وجود می‌آورد. سپس محصولات حاصل از آنزیم به وسیله ژل پلی آکریل آمید ۸٪ مورد بررسی قرار گرفتند.

تعیین توالی:

تعیین توالی با استفاده از آغازگر پیشرو -5'] [TTAGTCCTGAGTTCTGACCCCT-3' و آغازگر پیرو -5'] [GATCCTGTAGTCATGAGCAGC-3' برای نمونه‌های کنترل و نمونه‌هایی که بین نتایج فنوتیپ و ژنوتیپ حاصل از PCR-SSP دارای ناسازگاری بودند، انجام شد.

یافته‌ها

تعیین فنوتیپ:

نتایج این مطالعه نشان داد که ۵۱ نمونه(۵۱٪) دارای فنوتیپ$Jk(a^+b^+)$ ، ۱۷نمونه(۱۷٪) دارای فنوتیپ $Jk(a^+b^-)$ و۱۴ نمونه(۱۴٪) دارای فنوتیپ$Jk(a^-b^+)$ هستند. هم‌چنین فنوتیپ ۱۸ نمونه(۱۸٪) به دلیل واکنش آگلوتیناسیون زمینه مخلوط(mix-field) با استفاده از روش سرولوژی امکان‌پذیر نبود.

شیوع آلوآنتی‌بادی:

در مطالعه حاضر ۳۸ نمونه(۳۸٪) دارای مولتیپل آنتی‌بادی و ۶۲ نمونه(۶۲٪) دارای تنها یک نوع آلوآنتی‌بادی بودند. شایع‌ترین آلوآنتی‌بادی Anti-Kell (۲۸٪) و سپس Anti-E (۲۱٪) و Anti-D (۱۱٪) بود.

تعیین ژنوتیپ آنتی‌ژن‌های گروه خونی Kidd :

نتایج PCR-SSP:

قطعه حاصل از تکثیر PCR-SSP برای آلل‌های Jk^a و Jk^b ، ۵۲۸bp بود. نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ با استفاده از این روش نشان می‌دهد که ۴۷ بیمار(۴۷٪) دارای ژنوتیپ *JkA/JkB* ، ۲۹ بیمار(۲۹٪) دارای ژنوتیپ *JkA/JkA* و ۲۴ بیمار(۲۴٪) دارای ژنوتیپ *JkB/JkB* هستند(شکل ۱).

مقایسه نتایج فنوتیپ و ژنوتیپ نمونه‌ها:

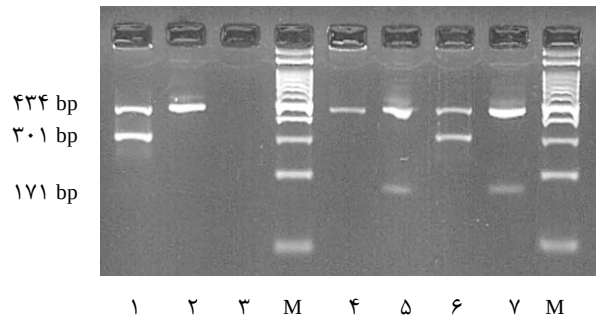
۲۰ نمونه دارای ناسازگاری بین نتایج فنوتیپ و ژنوتیپ

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:47 +0330 on Sunday September 29th 2019

بودند(جدول ۱).



شکل ۱: نمونه‌ای از الکتروفورز محصول PCR-SSP Set 2 Primers: ناحیه باند JKA و JKB به ترتیب bp ۳۰۱ و bp ۱۷۱ قرار می‌گیرد. از هورمون رشد(Hgh) به عنوان کنترل داخلی استفاده شد که باند آن bp ۴۳۴ است. تصویر حاصل از ژنوتیپ ۳ نمونه را مشاهده می‌کنید. چاهک ۱ و ۲ : آلل A مثبت(۱)، آلل B منفی(۲) و ژنوتیپ JkA/JkA ، ۴ و ۵ : آلل A منفی(۴)، آلل B مثبت(۵) و ژنوتیپ JkB/JkB ، ۶ و ۷ : JkA/JkB ، ۳ : کنترل منفی، M: bp ۱۰۰ Ladder است.

جدول ۱: نتایج ناسازگاری فنوتیپ و ژنوتیپ

روش مولکولی	روش سرولوژی	درصد	مورد
JKA/JKA	$JK(a^+b^+)$	٪۵۵	۱۱
JKB/JKB	$JK(a^+b^+)$	٪۳۵	۷
JKA/JKB	$JK(a^+b^-)$	٪۵	۱
JKA/JKB	$JK(a^-b^+)$	٪۵	۱

نتایج PCR-RFLP و تعیین توالی:

نتایج ناسازگاری نمونه‌هایی که بین فنوتیپ و ژنوتیپ دارای ناسازگاری بودند با استفاده از روش PCR-RFLP و تعیین توالی تایید شدند.

بحث

در این مطالعه ۱۰۰ بیمار تالاسمی دارای آلوآنتی‌بادی مورد بررسی قرار گرفتند که شایع‌ترین آلوآنتی‌بادی‌ها Anti-Kell (۲۸٪)، Anti-E (۲۱٪) و Anti-D (۱۱٪) بوده است. نتایج ژنوتیپ در مورد مطالعه ما به صورت ۴۷ نمونه(۴۷٪) دارای ژنوتیپ *JkA/JkB* ، ۲۹ نمونه(۲۹٪) دارای ژنوتیپ *JkA/JkA* و ۲۴ نمونه(۲۴٪) دارای ژنوتیپ *JkB/JkB* بود. هم‌چنین با مقایسه نتایج فنوتیپ و ژنوتیپ ۲۰ مورد(۲۰٪) ناسازگاری بین این دو روش مولکولی و سرولوژی مشاهده شد.

تعیین صحیح آنتی‌ژن‌های گروه خونی نقش مهمی در تزریق خون ایفا می‌کند. بیماران تالاسمی در طول عمرشان نیاز به تزریق خون متعدد دارند. مهم‌ترین عارضه‌ای که در اثر تزریق خون در این بیماران ایجاد می‌شود، تولید آلوآنتی‌بادی است. به عنوان مثال حضور گلبول‌های قرمز اهداکننده در بدن بیمار، تعیین فنوتیپ را در این بیماران مشکل می‌کند(۵). تعیین ژنوتیپ گروه خونی در بیماران تالاسمی که دارای تزریق خون متعدد هستند، سبب تسهیل در پیداکردن خون سازگار با این بیماران شده و در نهایت سبب جلوگیری از آلوایمیونیزاسیون می‌شود(۲).

میزان آلوایمیونیزاسیون در بیماران تالاسمی بسیار متغیر است و حدود ۴ تا ۳۷ درصد گزارش شده است(۱۳، ۱۲). این میزان در کشورمان بین ۲/۸۷ تا ۴۰/۴ درصد گزارش شده است(۱۶-۱۴). مهم‌ترین آنتی‌بادی‌های گزارش شده در بیماران تالاسمی به ترتیب Anti-D ، Anti-E و Anti-K است. در مطالعه حاضر شایع‌ترین آلوآنتی‌بادی Anti-Kell (۲۸٪)، سپس Anti-E (۲۱٪) و Anti-D (۱۱٪) بود. مشابه این مطالعه، آذرکیوان و همکاران در سال ۲۰۱۱، شایع‌ترین آلوآنتی‌بادی را در مطالعه‌شان به ترتیب Anti-Kell (۳۴٪) و سپس Anti-D (۱۰/۹٪) و Anti-E (۹/۹٪) گزارش کردند(۱۷). درویشی و همکاران در سال ۲۰۱۶، شایع‌ترین آلوآنتی‌بادی را در مطالعه‌شان به ترتیب Anti-Kell (۳۷٪) و سپس Anti-D (۲۹٪) و Anti-E (۲۰٪) گزارش نمودند(۱۴). در این مطالعه شیوع $Anti\text{-}Jk^a$ و $Anti\text{-}Jk^b$ به ترتیب ۴ و ۲ درصد بود. در سایر مطالعه‌ها این میزان بین ۳ تا ۹ درصد گزارش شده است(۲۲-۱۸). شیوع فنوتیپ گروه خونی Kidd در جمعیت سفیدپوست به صورت ۴۹٪ ($Jk(a^+b^+)$ ، ۲۸٪ ($Jk(a^+b^-)$ و ۲۳٪ ($Jk(a^-b^+)$ گزارش شده است. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از ژنوتیپ، جمعیت مورد مطالعه ما از نظر آنتی‌ژن‌های گروه خونی Kidd مشابه جمعیت سفیدپوست است.

در این مطالعه از ۱۰ اهداکننده سالم به عنوان نمونه

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:47 +0330 on Sunday September 29th 2019

کنترل استفاده شد. فنوتیپ و ژنوتیپ این نمونه‌ها به ترتیب با استفاده از روش استاندارد سرولوژی و روش‌های مولکولی تعیین شد. نتایج این نمونه‌ها کاملاً با یکدیگر تطابق داشته و می‌توان گفت حساسیت و اختصاصیت روش مولکولی نسبت به روش استاندارد ۱۰۰٪ بوده است. اما در مطالعه مورد نظر به دلیل این که بیماران تالاسمی به طور مکرر خون دریافت می‌کنند، در تعیین صحیح فنوتیپ این بیماران با مشکل مواجه هستیم و در این مطالعه ۲۰ مورد ناسازگاری بین فنوتیپ و ژنوتیپ دیده شد. بنابراین برای این بیماران، نمی‌توان از روش سرولوژی به عنوان روش استاندارد استفاده کرد. اگر در بین روش‌های مولکولی، روش تعیین توالی را به عنوان روش استاندارد در نظر بگیریم، خواهیم دید اختصاصیت و حساسیت سایر روش‌های مولکولی، نسبت به این روش ۱۰۰٪ بوده است.

در مطالعه حاضر ۲۰ بیمار از ۱۰۰ بیمار مورد مطالعه (۲۰٪) دارای ناسازگاری بین نتایج فنوتیپ و ژنوتیپ بوده‌اند. مشابه مطالعه ما، مطالعه‌های بسیاری انجام شده که با استفاده از روش‌های مولکولی متفاوت، نتایج فنوتیپ و ژنوتیپ را در بیماران تالاسمی مورد ارزیابی قرار دادند. میزان ناسازگاری در این مطالعه‌ها برای گروه خونی Kidd بین ۶ تا ۳۰ درصد گزارش شده است(۲۶-۲۳).

نتایج ناسازگاری بین روش سرولوژی و مولکولی در این مطالعه و هم چنین سایر مطالعه‌ها نشان می‌دهد که اگر چه روش سرولوژی به عنوان روش استاندارد برای تعیین فنوتیپ این بیماران استفاده می‌شود، اما محدودیت‌های این روش به خصوص در این بیماران که دارای تزریق خون مکرر هستند سبب تولید و گسترش آلوآنتی‌بادی می‌شود. در مطالعه حاضر از روش‌های مختلف برای تعیین ژنوتیپ گروه خونی Kidd استفاده شد که نتایج این روش‌ها همان طور که ذکر شد، یکدیگر را تایید کردند. نتایج این مطالعه و سایر مطالعه‌ها نشان می‌دهد که روش‌های مولکولی اختصاصیت بالایی داشته و می‌توان از آن‌ها به عنوان روش مکمل استفاده نمود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی و ایمنوهیستوشیمی انجام شده در روزهای مختلف بعد از ایجاد زخم نشان داد که استفاده از ژل پلاکتی حاوی فاکتورهای رشد در روند ترمیم زخم به‌ویژه در مراحل ابتدایی ترمیم مؤثر است به طوری که با افزایش میزان رگ‌زایی، تشکیل بافت پوششی و تشکیل کلاژن، هم‌چنین افزایش نفوذ سلول‌های التهابی(تک هسته‌ای) به علت تولید انواع فاکتورهای رشد، سیتوکین‌ها، کموکین‌ها، مدیاتورهای پیش التهابی و اعمال اثرات ضد میکروبی در فرآیند التیام، باعث تسریع روند بهبود زخم‌های پوستی می‌شود. این مطالعه می‌تواند در تعداد بیشتری از حیوانات آزمایشگاهی و با اندازه‌گیری شاخص‌های پاتولوژی بیشتر تکمیل شود. بدیهی است کاربرد این ژل پلاکتی در انسان نیازمند انجام بررسی‌های بیشتر از نظر میزان کارایی، ایمنی و اثر بخشی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از زحمات همکاران بخش ایمونوهماتولوژی ستاد مرکزی سازمان انتقال خون و کارکنان درمانگاه تالاسمی بزرگسالان ظفر که در این پژوهش ما را یاری کردند، صمیمانه سپاسگزاریم. این مقاله ماحصل طرح مصوب در مؤسسه ملی توسعه تحقیقات علوم پزشکی ایران با کد طرح ۹۴۲۶۴۴ مصوب سال ۱۳۹۵بوده و هزینه‌های آن از محل این سازمان تامین گردیده است.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:47 +0330 on Sunday September 29th 2019

References:

1- Osman NH. A comparison between using Peripheral Whole Blood and Buccal Swab For Red Cell Genotyping amongst Multiply-Transfused Thalassaemia patients. Malaysia: Universiti Sains Islam Malaysia; 2016. p. 76-90.
2- Putzulu R, Piccirillo N, Orlando N, Massini G, Maresca M, Scavone F, *et al*. The role of molecular typing and perfect match transfusion in sickle cell disease and thalassaemia: An innovative transfusion strategy. Transfus Apher Sci 2017; 56(2): 234-7.
3- Belsito A, Costa D, Fiorito C, De Iorio G, Casamassimi A, Perrotta S, *et al*. Erythrocyte genotyping for transfusion-dependent patients at the Azienda Universitaria Policlinico of Naples. Transfus Apher Sci 2015; 52(1): 72-7.
4- Rujirojindakul P, Flegel WA. Applying molecular immunohaematology to regularly transfused thalassaemic patients in Thailand. Blood Transfus 2014; 12(1): 28-35.
5- Reid ME, Rios M, Powell VI, Charles-Pierre D, Malavade V. DNA from blood samples can be used to genotype patients who have recently received a transfusion. Transfusion 2000; 40(1): 48-53.
6- Lomas-Francis C. The value of DNA analysis for antigens of the Kidd blood group system. Transfusion 2007; 47(1 Suppl): 23S-7S.
7- Hamilton JR. Kidd blood group system: a review. Immunohematology 2015; 31(1): 29-35.
8- Pineda A, Taswell H F, Brzica SM Jr. Transfusion reaction. An immunologic hazard of blood transfusion. Transfusion 1978; 18(1): 1-7.
9- Ness PM, Shirey RS, Toman SK, Buck SA. The differentiation of delayed serologic and delayed hemolytic transfusion reactions: incidence, long-term serologic findings, and clinical significance. Transfusion 1990; 30(8): 688-93.
10- Jungbauer C, Hobel CM, Schwartz DW, Mayr WR. High-throughput multiplex PCR genotyping for 35 red blood cell antigens in blood donors. Vox Sang 2012; 102(3): 234-42.
11- Xuereb K, Debono J, Borg J. Validation of a Polymerase Chain Reaction technique for Kidd blood group genotyping. Malta Journal of Health Sciences 2015: 66-9.
12- Chou ST, Liem RI, Thompson AA. Challenges of alloimmunization in patients with haemoglobinopathies. Br J Hematol 2012; 159(4): 394-404.
13- Matteocci A, Pierelli L. Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease and in thalassemia: current status, future perspectives and potential role of molecular typing. Vox Sang 2014; 106(3): 197-208.
14- Darvishi P, Azami M, Sayehmiri K, Sayehmiri F, Goodarzi A, Azarkeivan A, *et al*. Red blood cell alloimmunization in Iranian beta-thalassemia patients: a systematic review and meta-analysis. ISBT Sci Ser 2016; 11(3): 163-73.
15- Davoudi-Kiakalayeh A, Mohammadi R, Pourfathollah AA, Siery Z, Davoudi-Kiakalayeh S. Alloimmunization in thalassemia patients: New insight for healthcare. Int J Prev Med 2017; 8: 101.
16- Davari K, Soltanpour MS. Study of alloimmunization and autoimmunization in Iranian β-thalassemia major patients. Asian J Transfus Sci 2016; 10(1): 88-92.
17- Azarkeivan A, Ansari S, Ahmadi MH, Hajibeigy B, Maghsudlu M, Nasizadeh S, *et al*. Blood transfusion and alloimmunization in patients with thalassemia: multicenter study. Pediatr Hematol Oncol 2011; 28(6): 479-85.
18- Al-Joudi F, Ali AB, Majdan Bin Ramli SA, Ismail M. Prevalence and specificities of red cell alloantibodies among blood recipients in the Malaysian state of Kelantan. Asian J Transfus Sci 2011 Jan; 5(1): 42-5.
19- Ghasemi A, Abbasian S, Ghaffari K, Salmanpour Z. Prevalence of Alloantibodies and Autoantibodies in Transfusion Dependent Thalassemia Patients. IJBC 2016; 8(3): 80-5.
20- Dhawan HK, Kumawat V, Marwaha N, Sharma RR, Sachdev S, Bansal D, *et al* . Alloimmunization and autoimmunization in transfusion dependent thalassemia major patients: Study on 319 patients. Asian J Transfus Sci 2014; 8(2): 84-8.
21- Elhence P, Solanki A, Verma A. Red Blood Cell Antibodies in Thalassemia Patients in Northern India: Risk Factors and Literature Review. Indian J Hematol Blood Transfus 2014; 30(4): 301-8.
22- Rozman P, Dovc T, Gassner C. Differentiation of autologous ABO, RHD, RHCE, KEL, JK, and FY blood group genotypes by analysis of peripheral blood samples of patients who have recently received multiple transfusions. Transfusion 2000; 40(8): 936-42.
23- Guelsin GA, Sell AM, Castilho L, Masaki VL, Melo FC, Hashimoto MN, *et al*. Benefits of blood group genotyping in multi-transfused patients from the south of Brazil. J Clin Lab Anal 2010; 24(5): 311-6.
24- Castilho L, Rios M, Pellegrino Jr J, Carvalho MH, Alberto FL, Saad ST, *et al*. Genotyping of Kell, Duffy, Kidd and RHD in patients with beta Thalassemia. Rev Bras Hematol Hemoter 2000; 22(2): 69-76.
25- Castilho L, Rios M, Pellegrino Jr J, T O Saad S, F Costa F. Blood group genotyping facilitates transfusion of β-thalassemia patients. J Clin Lab Anal 2002; 16(5): 216-20.
26- Ye Z, Zhang D, Boral L, Liz C, May J. Comparison of Blood Group Molecular Genotyping to Traditional Serological Phenotyping in Patients with Chronic or Recent Blood Transfusion. Journal of Biosciences and Medicines 2016; 4(3): 1-8.

www.SID.ir

Archive of SID

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2019;16 (3): 201-207

Original Article

kidd blood group genotyping in alloimmunized thallasemia patients

Jalali S.F.[1], Oodi A.[1], Azarkeivan A.[1], Goudarzi S.[1], Amirizadeh N.[1]

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

Abstract

Background and Objectives

Hemagglutination has limitations in identifying the phenotype of patients who have been recently transfused due to the presence of donor red cells (RBCs) in the patient's circulation. Kidd blood group is one of the most important blood groups in transfusion medicine and related antibodies are responsible for one third of delayed haemolytic transfusion reactions (DHTRs). In this study we developed a molecular procedure for detection of alleles responsible for Kidd blood group in thalassemia patients.

Materials and Methods

In this cross sectional descriptive study, one hundred of alloimmunized thalassemic patients from Tehran Adult Thalassemic Clinic in 2017 were studied. The phenotype of samples was tested by routine serological methods. PCR-SSP, PCR-RFLP and DNA sequencing were used to determine the genotype of kidd blood group for these patients.

Results

Discrepancies were found between the phenotype and genotype in 20 out of 100 cases. In 11(55%) cases phenotype was determined as Jk (a^+b^+) but genotype was JKA/JKA, in 7 (35%) cases phenotype was Jk (a^+b^+) while the genotype showed JKB/JKB, 1(5%) case had been phenotyped as Jk (a^+b^-) but it was genotyped as JKA/JKB, and 1(5%) case had been phenotyped as Jk (a^-b^+) but it was genotyped as JKA/JKB.

Conclusions

Molecular techniques as a complementary method together with the results of serological methods can help resolve the problems caused by blood transfusion and bring about accurate determination of phenotype in thalassemic patients with multiple blood transfusions.

Key words: Genotype, Thalassemia, Blood Groups, Phenotype

Received: 8 Jun 2019
Accepted: 21 Jul 2019

Correspondence: Amirizadeh N., PhD of Hematology and Blood Banking. 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) 88601599; Fax: (+9821) 88601599
E-mail: *n.amirizadeh@ibto.ir*

www.SID.ir

Downloaded from bloodjournal.ir at 9:47 +0330 on Sunday September 29th 2019