

مقایسه‌ی ژنوتیپ سیستم گروه خونی دافی در بیماران کُرد مبتلا به بتاتالاسمی ماژور، در شهر کرمانشاه: مطالعه‌ی مورد-شاهدی

علی ملکی^۱، مریوان نوری^۲، رضوان زمردی^۳، فخرالدین صبا^{*}

چکیده

زمینه و هدف: شناسایی ژنوتیپ گروه‌های خونی در جوامع مختلف، این فرصت را به تصمیم‌گیرندگان نظام سلامت خواهد داد که در پیشگیری و شناسایی عوارض ناخواسته‌ی انتقال خون از جمله تولید آلوآنتی‌بادی‌ها اقدام نمایند. گروه خونی دافی به‌دلیل انواعی از ژنوتیپ با شیوع متفاوت، احتمال تولید آلوآنتی‌بادی را در بیماران بتاتالاسمی ماژور که به‌طور منظم نیازمند انتقال خون هستند، افزایش داده است. با این حال تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با فراوانی توزیع گروه خونی دافی در بیماران بتاتالاسمی وابسته به انتقال خون در نژاد کُرد انجام نشده است.

روش بررسی: این مطالعه مورد-شاهدی بر روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به بتاتالاسمی ماژور، به‌عنوان گروه مورد و ۵۰ فرد سالم، به‌عنوان گروه شاهد در کلینیک بوستان دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، انجام شد. پس از جمع‌آوری نمونه خون محیطی از افراد شرکت‌کننده در مطالعه، DNA از سلول‌های مونونوکلئوئرها خون محیطی استخراج شد. سپس با استفاده از روش PCR-RFLP و الکتروفورز ژنوتیپ‌های دافی شامل FYA/A، FYB/B و FYA/B شناسایی شدند.

یافته‌ها: نتایج آزمون کای دو نشان داد در گروه بیمار، بین دو جنس از نظر فراوانی توزیع ژنوتیپ‌های دافی اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد ($P=0/588$). از سوی دیگر در گروه سالم نیز، بین دو جنس از نظر فراوانی توزیع ژنوتیپ‌های دافی اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($P=0/707$). طبق نتایج رگرسیون اسمی، با اینکه نسبت شانس (فاصله اطمینان ۹۵٪) رخداد ژنوتیپ FYA/FYA و ژنوتیپ FYB/FYB نسبت به ژنوتیپ FYA/FYB (رده مرجع) در گروه بیمار نسبت به افراد سالم به‌ترتیب $2/42$ (۰/۷۰ تا ۸/۳۴) و $0/76$ (۰/۳۶ تا ۱/۶۴) بود؛ اما بین گروه مورد و شاهد از نظر فراوانی توزیع این ژنوتیپ‌ها تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت ($P>0/05$).

نتیجه‌گیری: نحوه‌ی توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های دافی در بیماران کُرد بتاتالاسمی ماژور مشابه افراد سالم است و بین نحوه توزیع ژنوتیپ‌های دافی و بیماری بتاتالاسمی، ارتباطی وجود ندارد. ژنوتیپ FYB در هر دو گروه مورد و شاهد، دارای بیشترین فراوانی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تالاسمی، سیستم گروه خونی دافی، ژنوتیپ

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۵/۱

پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۹/۲۷

* نویسنده مسئول:

فخرالدین صبا؛

دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

Email:

fakhredin.saba@kums.ac.ir

۱ استادیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۲ کارشناس ارشد خون‌شناسی آزمایشگاهی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۳ کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تالاسمی یک اختلال وراثتی است که در اثر جهش در ژن‌های آلفا، بتا و یا سایر زنجیره‌های گلوبین، سنتز یک زنجیره و یا بیش از یک زنجیره مختل می‌شود. در نتیجه فنوتیپ‌هایی از آنمی به صورت خفیف، متوسط و شدید در افراد ظاهر می‌شود (۱). بر حسب زنجیره درگیر تالاسمی به انواع مختلفی از جمله آلفا و بتا تقسیم شده و بر اساس وابستگی به انتقال خون به انواع مینور، ایترومدیا و ماژور طبقه‌بندی می‌شوند (۲). بتاتالاسمی شیوع بالایی در آسیای جنوب شرقی، آفریقا و کشورهای مدیترانه و خاورمیانه دارد (۳). با این حال، توزیع جهانی بیماران مبتلا به بتاتالاسمی به دلیل مهاجرت جمعیت در حال تغییر است و در بسیاری از کشورها جمعیت قابل توجه از بیماران مبتلا به تالاسمی وجود دارند (۱). به طور کلی سالانه ۱ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر در سراسر دنیا و ۱ نفر از هر ۱۰۰۰۰ نفر در اتحادیه اروپا فنوتیپ بتاتالاسمی را بروز می‌دهند (۴). علایم بتاتالاسمی ماژور در ۲ سال اول زندگی بیماران بروز پیدا می‌کند، در حالی که علایم تالاسمی ایترومدیا در سال‌های بعدی زندگی این بیماران ظاهر می‌شود (۴). تالاسمی خفیف یا مینور معمولاً بدون علایم است و در موارد نادری، بیماران علایم یک آنمی متوسط را بروز می‌دهند. علایم شایع بیماران بتاتالاسمی ماژور شامل عدم رشد، رنگ‌پریدگی، زردی، ضعف عضلانی، هیپاتواسپلنومگالی، زخم‌پا، افزایش حجم هماتوپوئیس اکسترامدولاری و تغییر شکل استخوان‌ها به دلیل افزایش فعالیت خون‌سازی مغز استخوان می‌باشد (۵ و ۶).

بیماران مبتلا به بتاتالاسمی ماژور به طور مکرر و منظم نیاز به دریافت خون دارند که از مهم‌ترین عوارض انتقال خون و اکشن‌های آلوایمیونیزاسیون است که طی آن سیستم ایمنی علیه گروهای خونی بیگانه بر روی گلوبول‌های قرمز اهداکننده، آلوآنتی‌بادی تولید می‌کند. آلوآنتی‌بادی‌ها می‌توانند منجر به واکنش‌های حاد و مزمن انتقال خون، ناسازگاری‌های خونی مادر و جنین و همچنین رد پیوند در بیماران شود (۷ و ۸). گروه خونی دافی به سبب داشتن ژنوتیپ مختلف شانس بالایی در تولید آلوآنتی‌بادی در بیماران وابسته به انتقال خون دارد (۸).

سیستم گروه خونی دافی نخستین بار در سال ۱۹۵۰ در بیماری مشکوک به هموفیلی با سابقه‌ی ۳ واحد خون و وجود واکنش‌های ناخواسته، کشف شد. گروه خونی دافی دارای ۶ نوع آنتی‌ژن و ۴ نوع فنوتیپ شامل F(a-b-), F(a+b-), F(a-b+) و F(a+b+) است (۹). گروه خونی دافی در سطح گلوبول‌های قرمز، نوروها و اندوتلیوم عروقی بیان شده و به عنوان گیرنده‌ی غیر معمول

برای کموکاین‌ها نیز شناخته می‌شود (۱۰). گیرنده‌ی آنتی‌ژنی دافی برای کموکاین‌ها (DARC: Duffy antigen/chemokine receptor)، به بازه وسیعی از کموکاین‌ها متصل شده گلوبول‌های قرمز را قادر می‌سازد تا کموکاین‌ها را به دام انداخته و عملکرد لکوسیت‌ها را محدود سازند (۱۰ و ۹). همچنین این آنتی‌ژن به عنوان گیرنده مالاریا شناخته شده است (۱۱).

با توجه به این که سیستم گروه دافی و بتاتالاسمی ماژور با متغیرهای مشترکی مانند ایترووسیت‌ها در ارتباط هستند، امکان دارد توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های دافی در بیماران بتاتالاسمی ماژور در اقوام مختلف دارای الگوی ویژه‌ای باشد. شناسایی ژنوتیپ گروه‌های خونی در جوامع مختلف، این فرصت را به تصمیم‌گیرندگان نظام سلامت خواهد داد که در پیشگیری و شناسایی عوارض ناخواسته‌ی انتقال خون از جمله تولید آلوآنتی‌بادی‌ها اقدامات لازم را به انجام رسانند. همچنین این مطالعه اولین پژوهش انجام‌شده در این زمینه بر روی نژاد کرد و ساکن استان کرمانشاه می‌باشد.

روش بررسی

این مطالعه‌ی مورد-شاهدی (Case-Control) به منظور بررسی توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های سیستم گروه خونی دافی در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی ماژور شناسایی شده در کلینیک بوستان دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، از شهریور تا اسفند سال ۱۳۹۹ انجام شد. حجم نمونه بر اساس فرمول
$$N = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 [P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)]}{(P_1 - P_2)^2}$$
 بر اساس شیوع تالاسمی ۵ درصد در کشور (۱۲) و با در نظر گرفتن سطح خطای نوع اول ۵ درصد و توان آماری ۹۰ درصد، ۷۳ نفر تعیین گردید که در این مطالعه ۱۵۰ نفر به صورت تصادفی ساده انتخاب و بررسی شدند. فرایند مطالعه به شرکت‌کنندگان توضیح داده شد و پس از کسب رضایت آگاهانه، اقدام به جمع‌آوری نمونه‌ها شد. در صورت عدم رضایت، شرکت‌کنندگان می‌توانستند از مطالعه خارج شوند. در مرحله‌ی جمع‌آوری نمونه، ۵ میلی‌لیتر خون در لوله‌های حاوی اتیلن دی‌آمین تتراسدیک اسید (EDTA) جمع‌آوری شد. همچنین جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS و آزمون کای دو و رگرسیون اسمی (nominal) استفاده شد. مقدار $P < 0/05$ به عنوان سطح معناداری در این آزمون‌ها در نظر گرفته شد.

• استخراج DNA و انجام PCR

پس از جداسازی بافی کوت، با استفاده از کیت Blood genomic DNA Extraction Mini (یکتا تجهیز آزما) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده، DNA استخراج شد.

جدول ۱: اندازه قطعات DNA پس از مواجهه با آنزیم محدودکنندهی BanI و تفسیر نتایج روش PCR-RFLP

سایز برش در صورت حضور نوکلئوتید در بازه			سایز	محل برش آنزیم محدودکنندهی BanI	توالی پرایمر
AG	GG	AA			
۹۵	۹۵			5'...G↓G Y R C C...3'	F: CTCCCCCTCAACTGAGAACTCAAG
۱۵۳		۲۴۸	۲۴۸	3'...C C R Y G↑G...5'	R: AGAGCTGCCAGCGGAAGAG
۲۴۸	۱۵۳				

برای بررسی نتایج PCR-RFLP، با افزودن ۰/۵ μL رنگ Loading به ۵ μL از محصول DNA مواجهه شده با آنزیم روی ژل آگاروز ۲٪ تهیه شده در بافر TBE1X و حاوی ۱/۵ μL از DNA green viewer به مدت ۳۰ دقیقه با ولتاژ حدود ۱۱۰ ولت الکتروفورز گردید. تفسیر نتایج با بررسی قطعات ایجاد شده بر حسب وزن مولکولی در مقایسه با سایز مارکر انجام شد (جدول ۱). ژنوتیپ هموزیگوت FYA/FYA در نواحی ۹۵ و ۱۵۳ bp و ژنوتیپ هموزیگوت FYB/FYB در ناحیه ۲۴۸ bp و ژنوتیپ هتروزیگوت FYA/FYB در نواحی ۹۵ و ۱۵۳، ۲۴۸ bp قرار گرفتند.

همان‌طورکه در جدول ۱ اشاره شده است، پرایمرها به صورت اختصاصی با استفاده از نرم‌افزار Oligo3 و پایگاه‌های NEBcutter و WEBcutter در ناحیه برش آنزیم محدودکنندهی BshNI (BanI) طراحی شد. برای بررسی ژنوتیپ، ابتدا طی فرایند PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی طراحی شده (جدول ۱)، توالی مدنظر ژن دافی تکثیر شد. برای این منظور یک میکروتیوب جداگانه شامل ۰/۵ μL از DNA استخراج شده، ۲ μL مخلوط پرایمر افزوده، ۱۰ μL مستر میکس (شرکت سیناکلون) با افزودن ۷/۵ μL آب مقطر به حجم ۲۰ μL رسانده و با ورتکس (۱۰-۵ ثانیه) خوب مخلوط شدند.

یافته‌ها

اطلاعات دموگرافیک و همچنین فراوانی و درصد ژنوتیپ‌ها به تفکیک دو گروه بیمار و سالم در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. نمونه‌های گروه مورد شامل ۴۴ زن و ۵۶ مرد بودند. از طرفی تعداد نمونه‌ها در گروه شاهد شامل ۲۴ زن و ۲۶ مرد بودند. میانگین (انحراف معیار) سن در گروه بیمار و افراد سالم به ترتیب (۵/۴۲) و (۱۱/۶۶) و (۶/۷۰) و (۱۵/۶۰) بود و طبق آزمون کای دو بین دو گروه بیمار و سالم از نظر میانگین سن، تفاوت آماری معناداری وجود نداشت.

• استفاده از آنزیم محدودکننده و انجام PCR-RFLP

هر واحد آنزیم BshNI (BanI) (شرکت Thermofisher)، مقدار آنزیم مورد نیاز برای برش ۱ میکروگرم DNA در دمای ۳۷ درجه به مدت ۱ ساعت است. هر میکروتیوب حاوی ۱۰ μL محصول PCR، ۱-۲ μL آنزیم BanI، ۲ μL بافر ۱۰X در حجم نهایی ۲۰ μL بود. میکروتیوب به مدت چند ثانیه به آرامی مخلوط شده، سپس به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. در نهایت برای غیرفعال کردن آنزیم، محلول حاوی محصول PCR و آنزیم به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه انکوبه شد.

جدول ۲: مقایسه فراوانی و درصد متغیرهای دموگرافیک و نوع ژنوتیپ در افراد بیمار و سالم

متغیر	رده‌ها	بیمار	سالم	P
نوع ژنوتیپ	FYA/FYA	۲۰ (٪۲۰)	۴ (٪۸)	*۰/۱۳۱
	FYB/FYB	۴۹ (٪۴۹)	۳۱ (٪۰/۶۲)	
	FYA/FYB	۳۱ (٪۳۱)	۱۵ (٪۳۰)	
جنسیت	زن	۵۶ (٪۵۶)	۲۱ (٪۴۲)	*۰/۱۰۶
	مرد	۴۴ (٪۴۴)	۲۹ (٪۵۸)	
سن (میانگین و انحراف معیار)		۱۱/۶۶ (۵/۴۲)	۱۵/۶۰ (۶/۷۰)	#۰/۱۶۵

*P بر اساس آزمون کای دو / #P بر اساس آزمون تی تست مستقل

ژنوتیپ FYB/FYB، ۳۱٪ دارای ژنوتیپ هتروزیگوت FYA/FYB و ۲۰٪

همان‌طورکه در جدول ۲ نشان داده شده، در گروه مورد ۴۹٪ افراد دارای

دارای ژنوتیپ FYA/FYA بودند. همچنین در گروه شاهد ۶۲٪ از افراد دارای ژنوتیپ FYB/FYB، ۳۰٪ دارای ژنوتیپ FYA/FYB و ۸٪ دارای ژنوتیپ FYA/FYA بودند. طبق آزمون کای دو بین دو گروه بیمار و سالم از نظر جنسیت، تفاوت آماری معناداری وجود نداشت.

جدول ۳: مقایسه‌ی فراوانی ژنوتیپ‌ها در بین دو جنس به تفکیک افراد بیمار و سالم

P	ژنوتیپ سیستم گروه خونی دافی			رده‌ها	نمونه‌ها
	FYA/FYB	FYB/FYB	FYA/FYA		
۰/۵۸۸	۱۵(٪۲۶/۸)	۲۹(٪۵۱/۸)	۱۲(٪۲۱/۴)	زن	گروه بیمار
	۱۶(٪۳۶/۴)	۲۰(٪۴۵/۵)	۸(٪۱۸/۲)	مرد	
۰/۷۰۷	۵(٪۲۳/۸)	۱۴(٪۶۶/۷)	۲(٪۹/۵)	زن	افراد سالم
	۱۰(٪۳۴/۵)	۱۷(٪۵۸/۶)	۲(٪۶/۹)	مرد	

کای دو در گروه سالم نیز، بین دو جنس از نظر فراوانی توزیع ژنوتیپ‌های دافی اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($P=۰/۷۰۷$).

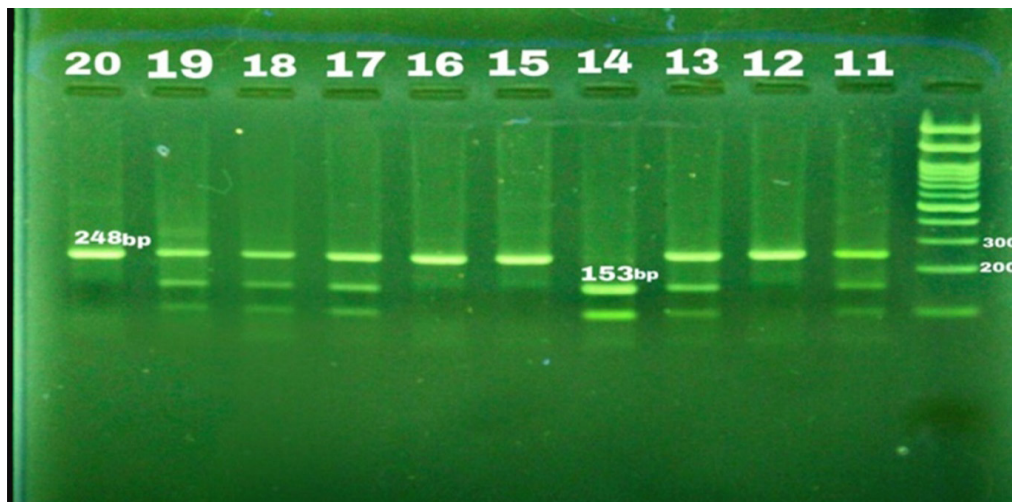
همچنین برخی از نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات DNA مواجهه شده با آنزیم در شکل ۱ و ۲ آورده شده است.

مقایسه‌ی نحوه‌ی توزیع ژنوتیپ‌ها بین دو جنس مرد و زن به تفکیک گروه بیمار و سالم نیز در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج آزمون کای دو نشان داد که در گروه بیمار، بین دو جنس از نظر فراوانی توزیع ژنوتیپ‌های دافی اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد ($P=۰/۵۸۸$). از سوی دیگر نیز طبق نتایج آزمون



شکل ۱: نمونه‌ی تفکیک باندهای DNA در نمونه‌های سالم بر روی ژل الکتروفورز

مطابق شکل ۱، باندهای تفکیک‌شده متعلق به نمونه‌های ۱ تا ۱۰ گروه کنترل می‌باشند. نمونه‌های ۳، ۴ و ۸ دارای ژنوتیپ FYB/B، نمونه‌های ۲ و ۱۰ دارای ژنوتیپ FYA/FYA و نمونه‌های ۱، ۵، ۶ و ۷ دارای ژنوتیپ FYB/FYA می‌باشند.



شکل ۲: نمونه‌ی تفکیک باندهای DNA در نمونه‌های بیماران مبتلا به بتاتالاسمی ماژور بر روی ژل الکتروفورز

۱۴ دارای ژنوتیپ FYA/FYA بوده و نمونه‌های ۱۱، ۱۳، ۱۷، ۱۸ و ۱۹ ژنوتیپ

مطابق شکل ۲، باندهای تفکیک شده متعلق به نمونه‌های ۱۱ تا ۲۰ گروه

دارند. FYA/FYB

مورد هستند. نمونه‌های ۱۲، ۱۵، ۱۶ و ۲۰ دارای ژنوتیپ FYB/FYB، نمونه

جدول ۴: مقایسه‌ی فراوانی توزیع ژنوتیپ‌ها در گروه بیمار و سالم

متغیر	نسبت شانس	فاصله اطمینان ۹۵٪	P
FYA/FYA	بیمار	۰/۷۰ تا ۸/۳۴	۰/۱۶۲
	سالم	-----	
FYB/FYB	بیمار	۰/۳۶ تا ۱/۶۴	۰/۴۹۱
	سالم	-----	

*ژنوتیپ FYA/FYB رده مرجع می‌باشد.

مطالعه‌ی مورد-شاهدی توسط معافی و همکاران بر نحوه‌ی توزیع پراکندگی آنتی‌ژن‌های گروه خونی در بیماران تالاسمی در شهر اصفهان از سال ۱۳۸۲ تا ۱۳۸۳ انجام شد. فراوانی آنتی‌ژن FYB در هر دو گروه مورد و شاهد بیشتر از FYA بود. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که بین توزیع پراکندگی آنتی‌ژن‌های دافی و بیماری تالاسمی ارتباط معناداری وجود ندارد (۱۳). بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز فراوانی ژنوتیپ FYB بیشتر از FYA است و بین توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های دافی و بیماری بتا تالاسمی ماژور ارتباط معناداری وجود نداشت که با نتایج مطالعه‌ی معافی و همکاران همسوست. همچنین شایگان و همکاران در مطالعه‌ی در شهر تهران بر روی بیماران تالاسمی، فراوانی توزیع ژنوتیپ‌های دافی را با روش مولکولی تعیین کردند. مطالعه آن‌ها نشان داد که فراوانی آنتی‌ژن (۸۰٪) FYB در بیماران مبتلا به تالاسمی بیشتر از آنتی‌ژن FYA بود که همسو با این مطالعه است (۱۴).

طبق نتایج رگرسیون اسمی (Nominal)، با اینکه نسبت شانس (فاصله اطمینان ۹۵٪) رخداد ژنوتیپ FYA/FYA و ژنوتیپ FYB/FYB نسبت به ژنوتیپ FYA/FYB (رده مرجع) در گروه بیمار نسبت به افراد سالم به ترتیب ۲/۴۲ تا ۰/۷۰ و ۸/۳۴ و ۰/۷۶ تا ۰/۳۶ (۱/۶۴) بود، بین گروه مورد و شاهد از نظر فراوانی توزیع این ژنوتیپ‌ها تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$) (جدول ۴).

بحث

بر اساس داده‌های حاصل از این مطالعه، در هر دو گروه مورد و شاهد بیشترین فراوانی ژنوتیپ دافی متعلق به FYB/FYB و کمترین فراوانی متعلق به ژنوتیپ FYA/FYA بود. در گروه مورد فراوانی مردان با ژنوتیپ‌های FYB/FYB، FYA/FYB و FYA/FYA به ترتیب ۴۵/۵٪، ۳۶/۴٪ و ۱۸/۲٪ و در زنان به ترتیب ۵۱/۸٪، ۲۶/۸٪ و ۲۱/۴٪ بود. در گروه شاهد فراوانی مردان با ژنوتیپ‌های FYB/FYB، FYA/FYB و FYA/FYA به ترتیب ۵۸/۷٪، ۳۴/۵٪ و ۶/۹٪ و در زنان، ۶۶/۷٪، ۲۳/۸٪ و ۹/۵٪ بود. در مطالعه‌ی حاضر ژنوتیپ FYnull در گروه مورد و شاهد مشاهده نشد. با توجه به نتایج به دست آمده، در هر دو گروه مورد و شاهد فراوانی ژنوتیپ FYB بیشتر از FYA می‌باشد. همچنین داده‌های حاصل از مطالعه نشان داد که بین توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های دافی و بیماری بتا تالاسمی ماژور ارتباط معناداری وجود ندارد. از طرفی بین جنسیت افراد و توزیع ژنوتیپ‌های دافی در هیچ کدام از گروه‌های مورد و شاهد ارتباطی وجود نداشت. همچنین مقایسه‌ی گروه مورد با شاهد نیز اختلاف معناداری را نشان نداد؛ بدین معنی که بین این دو گروه از نظر فراوانی توزیع ژنوتیپ‌ها اختلافی یافت نشد.

مطالعه‌ای بر روی ۱۰ بیمار مبتلا به بتا تالاسمی و دارای آلوایمیونیزاسیون توسط Castilho و همکاران انجام شد که فراوانی ژنوتیپ‌های FYB/FYB، FYA/FYB و FYA/FYA در این بیماران به ترتیب برابر با ۴۰٪، ۴۰٪ و ۲۰٪ بود (۱۵). در مطالعه‌ی حاضر نیز در هر دو گروه مورد و شاهد، ژنوتیپ FYB/FYB بیشترین فراوانی و ژنوتیپ FYA/FYA کمترین فراوانی را داشت؛ که با نتایج مطالعه Castilho و همکاران مطابقت دارد (۱۵). همچنین در مطالعه‌ی دیگر Castilho و همکاران فراوانی ژنوتیپ‌های دافی را در ۵۰ بیمار مبتلا به بتا تالاسمی در آمریکا و برزیل تعیین کردند. ژنوتیپ FYA/FYB بیشترین فراوانی و ژنوتیپ FYA/FYA کمترین فراوانی را داشت که با توجه به نتایج به دست آمده فراوانی ژنوتیپ FYB بیشتر از FYA بود (۱۶). داده‌های آن‌ها با نتایج مطالعه‌ی حاضر از نظر فراوانی ژنوتیپ در بیماران بتا تالاسمی مغایرت



شاهد، دارای بیشترین فراوانی است. همچنین، در هر دو گروه بیمار و سالم، از نظر فراوانی توزیع ژنوتیپ‌های دافی بین دو جنس اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت ($P < 0/05$). از سوی دیگر طبق نتایج رگرسیون نیز بین گروه مورد و شاهد از نظر فراوانی توزیع ژنوتیپ‌ها تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$). به عبارت دیگر، نحوه‌ی توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های دافی در بیماران کُرد مبتلا به بتاتالاسمی ماژور، مشابه افراد سالم است. با وجود این پیشنهاد می‌شود که در سایر قومیت‌ها مطالعه مشابه بر روی گروه خونی دافی و سایر گروه‌های خونی انجام گردد تا به نظام سلامت کشور در پیشگیری از رخداد واکنش‌های ناخواسته در بیماران وابسته به انتقال خون کمک شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه‌ی دوره کارشناسی ارشد هماتولوژی آزمایشگاهی و بانک خون با عنوان «مقایسه ژنوتیپ سیستم گروه خونی دافی در بیماران کُرد مبتلا به تالاسمی وابسته به انتقال خون و افراد نرمال در شهر کرمانشاه» با شماره طرح ۵۰۰۰۰۳۴۳ است و توسط کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه بررسی و با کد اخلاق IR.KUMS.REC.1400.502 تایید شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند تا مراتب تشکر صمیمانه خود را از کارکنان کلینیک بوستان و مسئولان پژوهشی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه که در انجام و ارتقای کیفی این پژوهش همکاری نمودند، اعلام کنند.

دارد، اما با سایر نتایج به دست آمده از این مطالعه همسوست.

مطالعات دیگری در زمینه‌ی تعیین ژنوتیپ افراد با نژادها و بیماری‌های مختلف انجام شده است. به‌عنوان مثال در مطالعه‌ای در کشور کره جنوبی بر روی نحوه‌ی توزیع ژنوتیپ‌های دافی در این نژاد، مشخص شد که فراوانی ژنوتیپ FYnull و FYA/FYA، FYA/FYB، FYB/FYB برابر با ۸۴/۹٪، ۱۴/۲٪، ۱٪ و ۰٪ می‌باشد. مطالعه‌ای بر روی ۲۵۴ نفر از کشورهای کره جنوبی، تایلند، چین و فیلیپین نشان داد که بیشترین و کمترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ FYB/FyB و FYA/FyA بود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت ندارد (۱۷).

مطالعه‌ی حاضر اولین پژوهش در زمینه‌ی بررسی توزیع ژنوتیپ‌های دافی در بیماران بتاتالاسمی ماژور با نژاد کُرد است، داده‌های حاصل از این مطالعه ارتباط توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های دافی با ریسک ابتلا به بتاتالاسمی ماژور و یا جنسیت افراد را رد می‌کند. نتایج مطالعه‌ی حاضر با اطلاعات به دست آمده از پژوهش‌های انجام شده در تهران، اصفهان و یکی از مطالعات انجام شده توسط Castilho و همکاران مطابقت دارد، درحالی‌که با مطالعه‌ی محدود انجام شده در آسیای شرقی از نظر فراوانی ژنوتیپ دافی مغایرت دارد (۱۷-۱۳). این مغایرت می‌تواند به دلیل اختلاف نژادی در بین افراد مورد مطالعه و همچنین حجم نمونه باشد.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، ژنوتیپ FYB در هر دو گروه مورد و

References

1. Shah FT, Sayani F, Trompeter S, Drasar E & Piga A. Challenges of blood transfusions in β -thalassemia. *Blood Reviews* 2019; 37(1): 100588.
2. Taher AT & Cappellini MD. How I manage medical complications of β -thalassemia in adults. *Blood (American Society of Hematology)* 2018; 132(17): 1781-91.
3. Weatherall DJ. The evolving spectrum of the epidemiology of thalassemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America* 2018; 32(2): 165-75.
4. Galanello R & Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2010; 5(11): 1-15.
5. Muncie-Jr HL & Campbell JS. Alpha and Beta Thalassemia. *American Family Physician* 2009; 80(4): 339-44.
6. Karimi M, Nikrooz P, Kashef S, Jamalian N & Davatolhagh Z. RBC alloimmunization in blood transfusion-dependent β -thalassemia patients in southern Iran. *International Journal of Laboratory Hematology* 2007; 29(5): 321-6.
7. Hosseini MS, Jafari L, Shiri-Heris R & Gharehbaghian A. Red blood cell alloimmunization in Iran: A comprehensive review of the literature. *Asian Journal of Transfusion Science* 2020; 14(1): 4-8.

8. Sarihi R, Oodi A, Dadkhah-Tehrani R, Jalali SF, Mardani F, Azarkeivan A, et al. Blood group genotyping in alloimmunized multi-transfused thalassemia patients from Iran. *Molecular Genetics and Genomic Medicine* 2021; 9(7): e1701.
9. Aldarweesh FA. The duffy blood group system. Available at: https://pdfs.semanticscholar.org/86cf/bba044712a6d2cfbba9807a0379a9da04804.pdf?_ga=2.233554398.1965282763.1675576321-636809713.1645334546. 2019.
10. Jinna N, Rida P, Su T, Gong Z, Yao S, LaBarge M, et al. The DARC side of inflamm-aging: Duffy antigen receptor for chemokines (DARC/ACKR1) as a potential biomarker of aging, immunosenescence, and breast oncogenesis among high-risk subpopulations. *Cells* 2022; 11(23): 3818.
11. Benjamin GY, Ojodale PI & Makolo D. Role of haemoglobinopathies and duffy antigen receptor for chemokines (DARC) in Malaria. *The Bioscientist Journal* 2022; 10(1): 97-112.
12. Hagi M, Poladi N, Hoseinpor-Feizi M & Hoseinpor-Feizi A. B-Thalassemia in Iran. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences* 2010; 18(2): 127-33[Article in Persian].
13. Moafi AR, Rahgozar S, Pourfathollah AA & Hariri MM. Blood group antigens frequency: A comparative study in intermediate thalassemics versus healthy people in Isfahan. *The Scientific Journal of Iranan Blood Transfusion Organization* 2005; 2(3): 23-9[Article in Persian].
14. Shaiegan M, Samiee SH, Azar-Keivan A, Daneils J, Martin P, Ataiee Z, et al. Molecular blood genotyping in patients with thalassemia major in Tehran adult thalassemic clinic. *The Scientific Journal of Iranian Blood Transfusion Organization* 2009; 6(2): 107-15[Article in Persian].
15. Castilho L, Rios M, Pellegrino-Jr J, Saad STO & Costa FF. Blood group genotyping facilitates transfusion of Beta-Thalassemia patients. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2002; 16(5): 216-20.
16. Castilho L, Rios M, Pellegrino-Jr J, Carvalho MHM, Alberto FL, Saad STO, et al. Genotyping of kell, Duffy, Kidd and RHD in patients with Beta Thalassemia. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* 2000; 22(2): 69-76.
17. Lim CS, Kim YK & Lee KN. The Duffy blood group genotypes in Asian populations. *The Korean Journal of Blood Transfusion* 2007; 18(3): 145-51.

Comparison of Duffy Blood Group System Genotype in Kurdish Patients with Beta-Thalassemia Major in Kermanshah City: A Case-Control Study

Ali Maleki¹ (Ph.D.), Marivan Noori² (M.S.), Rezvan Zomorodi³ (B.S.),
Fakhredin Saba^{1*} (Ph.D.)

1 Assistant Professor, Department of Medical Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

2 Master of Science in Laboratory Hematology and Blood Banking, School of Allied Medical Sciences, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

3 Bachelor of Science in Medical Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Abstract

Received: 23 Jul. 2022
Accepted: 18 Dec. 2022

Background and Aims: Identifying the genotype of blood groups in different communities will give the decision makers of the health system to take the necessary measures to prevent and identify the possible side effects of blood transfusion, including the production of alloantibodies. Duffy blood group has increased the possibility of alloantibody production in beta-thalassemia major patients who regularly need blood transfusion due to different types of genotype with different prevalence. However, no study has been conducted regarding the frequency of Duffy blood group distribution in beta-thalassemia Kurd patients dependent on blood transfusion.

Materials and Methods: This case-control study was conducted on 100 patients with beta thalassemia major, as case group and 50 healthy individuals, as control group, in Bostan Clinic, Kermanshah University of Medical Sciences. After collecting peripheral blood samples from people participating in the study, DNA was extracted from peripheral blood mononuclear cells. Then, using PCR-RFLP and electrophoresis, Duffy genotypes including FYA/A, FYB/B and FYA/B were identified.

Results: The results of Chi-square test showed that in the patient group, there is no statistically significant difference between the two genders in terms of the frequency of distribution of Duffy genotypes ($P=0.588$). On the other hand, in the healthy group too, there was no statistically significant difference between the two sexes in terms of the frequency of distribution of Duffy genotypes ($P=0.707$). According to nominal regression results, although the distribution ratio rate (95% confidence interval) of FYA/FYA and FYB/FYB genotypes as compared to FYA/FYB genotype (reference category) in the patient group as compared to healthy people was 2.42 (0.7 to 8.34) and 0.76 (0.36 to 1.64) respectively, but there was no statistically significant difference between the case and control groups in terms of the distribution frequency of these genotypes ($P>0.05$).

Conclusion: The frequency distribution of Duffy genotypes in beta-thalassemia major patients is similar to that of healthy people, and there is no relationship between the distribution of Duffy genotypes and beta-thalassemia disease. FYB genotype has the highest frequency in both case and control groups.

Keywords: Thalassemia, Duffy Blood Group System, Genotype

* Corresponding Author:
Saba F
Email:
fakhredin.saba@kums.ac.ir