








Research Article

Evaluation of Effect of Plasmas Prepared from Packed Red Blood Cells at Different Weeks on Production of Nitric Oxide (NO) and Malondialdehyde (MDA) from Peripheral Blood Mononuclear Cells in Vitro

Allireza Abbaspour ¹ , Saeed Barzegar ² , Hasan Namdar Ahmadabad ^{3,*} , Shima Shekari ⁴ , Hamid Soorgi ⁵ 

¹ Assistant Professor of Medical Biochemistry, Department of Pathobiology and Laboratory Sciences, Faculty of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

² Instructor of Hematology, Department of Pathobiology and Laboratory Sciences, Faculty of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

³ Assistant Professor of Medical Immunology, Department of Pathobiology and Laboratory Sciences, Faculty of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

⁴ Assistant Professor of Pediatrics, Pediatric Department, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

⁵ Assistant Professor of Dermatology, Department of Internal Medicine, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

* **Corresponding author:** Hasan Namdar Ahmadabad, Department of Pathobiology and Laboratory Sciences, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran. E-mail: namdar360@gmail.com

DOI: [10.29252/nkjmd-12014](https://doi.org/10.29252/nkjmd-12014)

How to Cite this Article:

Abbaspour A, Barzegar S, Namdar Ahmadabad H, Shekari Sh, Soorgi H. Evaluation of Effect of Plasmas Prepared from Packed Red Blood Cells at Different Weeks on Production of Nitric Oxide (NO) and Malondialdehyde (MDA) from Peripheral Blood Mononuclear Cells in Vitro. *J North Khorasan Univ Med Sci.* 2020;**12**(1):27-33. DOI: [10.29252/nkjms-12014](https://doi.org/10.29252/nkjms-12014)

Received: 28 Jan 2020

Accepted: 06 May 2020

Keywords:

Blood Transfusion
Malondialdehyde
Nitric Oxide
Plasma
Peripheral Blood Mononuclear Cell

Abstract

Introduction: In present study, we evaluated the effect of plasma collected from packed red blood cells (PRBCs) at various weeks after donation on peripheral blood mononuclear cells (PBMCs).

Methods: In this experimental study, plasma prepared from twenty PRBCs in the first, second, fourth, and fifth weeks after donation. PBMCs were also isolated from healthy donors and treated with different concentrations of prepared plasma in vitro. NO and MDA levels were measured in culture supernatant using Griess reaction and thiobarbituric acid method, respectively and cell activity was evaluated using MTT assay. GraphPad Prism (version 5) software was used for statistical analysis (repeated measure) of the data. P values less than 0.05 were considered statistically significant.

Results: Our results indicated that plasma prepared from PRBCs during the early weeks increases the activity of PBMCs and enhance NO production. We also found that these plasmas have various effects on concentration of MDA released from PBMCs depending on time and concentration.

Conclusions: We concluded that plasma of PRBCs can have immunostimulatory or immunosuppressive effects on PBMCs, depending on the concentration and duration of blood bag storage.



بررسی اثر پلاسماهای تهیه شده از کیسه‌های خون طی هفته‌های مختلف بر میزان تولید مالون دی آلدئید (MDA) و نیتریک اکساید (NO) از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی در شرایط آزمایشگاهی

علیرضا عباسپور^۱، سعید برزگر^۲، حسن نامدار احمدآباد^{۳*}، شیما شکری^۴، حمید سورگی^۴

^۱ استادیار بیوشیمی پزشکی، گروه پاتوبیولوژی و علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

^۲ مربی خون شناسی، گروه پاتوبیولوژی و علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

^۳ استادیار ایمنی شناسی پزشکی، گروه پاتوبیولوژی و علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

^۴ استادیار کودکان، گروه اطفال، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

^۵ استادیار بیماری‌های پوست، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

* نویسنده مسئول: حسن نامدار احمدآباد، گروه علوم آزمایشگاهی و پاتوبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد،

ایران. ایمیل: Namdar360@gmail.com

DOI: 10.29252/nkjms-12014

چکیده	تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۰۸
مقدمه: ما در مطالعه حاضر اثر پلاسما جمع آوری شده از کیسه‌های خون فشرده در هفته‌های مختلف پس از اهدا را بر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMCs) مورد بررسی قرار دادیم.	تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۱۷
روش کار: در این مطالعه تجربی پلاسما از ۲۰ کیسه خون فشرده طی هفته‌های اول، دوم، چهارم و پنجم پس از اهدا تهیه شد. سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی نیز از دیگر دهنندگان سالم جدا شده و با غلظت‌های مختلف پلاسما تهیه شده در آزمایشگاه تیمار شدند. میزان نیتریک اکساید و مالون دی آلدئید در مایع رویی کشت به ترتیب با استفاده از واکنش‌های گریس و اسید تیوباریتوریک تعیین گردید و میزان فعالیت سلول‌ها با استفاده از روش MTT مشخص شد. از نرم افزار گراف پد پریم نسخه ۵ برای آنالیز آماری اطلاعات استفاده شد.	واژگان کلیدی: انتقال خون مالون دی آلدئید نیتریک اکساید پلاسما سلول تک‌هسته‌ای خون محیطی
یافته‌ها: نتایج ما نشان داد که پلاسماهای تهیه شده از کیسه‌های گلبول قرمز فشرده در طی هفته‌های ابتدایی میزان فعالیت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی و تولید نیتریک اکساید از آنها را افزایش می‌دهد. ما همچنین دریافتیم پلاسما بسته به زمان تهیه و غلظت استفاده شده اثرات متفاوتی بر رهاسازی مالون دی آلدئید از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی دارد. نتیجه گیری: ما دریافتیم که پلاسما تهیه شده از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی بسته به غلظت و طول مدت نگهداری کیسه خون می‌تواند اثرات مہاری یا تحریک کنندگی ایمنی بر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی داشته باشند.	

مقدمه

هدر رفتن خون اهدایی افراد داوطلب می‌شد [۴] اما امروزه با استفاده از مواد نگهدارنده، کیسه‌های مخصوص و امکان جداسازی اجزای خون، نگهداری آن نسبت به گذشته طولانی‌تر شده است و می‌توان آن را به مدت حداکثر ۴۲ روز در ۲ تا ۶ درجه سانتیگراد نگهداری کرد [۱]. نظر به اینکه به محض گرفتن خون از فرد اهدا کننده روند تخریب اجزای آن آغاز می‌شود [۵]، سلامت و اثربخشی آن به عنوان اولین هدف در نگهداری و انتقال خون مطرح می‌باشد. از این جهت همواره بهترین فاصله زمانی بین اهدا و انتقال فرآورده مورد بحث است. نگهداری خون در شرایط خارج از بدن می‌تواند فرآورده خونی را دستخوش تغییراتی کند که آنرا فاقد پتانسیل‌های کافی برای تزریق می‌کند. این تغییرات

امروزه انتقال خون به عنوان بخش مهمی از فعالیت‌های بالینی روزانه از جمله جراحی‌های مختلف، تروما، خون ریزی‌های گوارشی و زایمان به منظور جایگزینی خون از دست رفته کاربرد دارد [۱]. در کشورهای پیشرفته حدود یک درصد جمعیت به طور سالانه نیازمند تزریق خون هستند که در این میان تزریق گلبول‌های قرمز بیشترین میزان مصرف را دارد [۲]. در اکثر بیماران حتی در عدم حضور دیگر فرآورده‌های خونی، گلبول قرمز به عنوان پرکاربردترین فرآورده می‌تواند سبب نجات جان افراد شود و این کار بجز از طریق نگهداری گلبول‌های قرمز میسر نیست [۳]. در گذشته خون به صورت کامل و تنها با استفاده از مواد ضدانعقاد جمع آوری می‌شد که این امر سبب نگهداری کوتاه مدت و

از نظر وجود وجود عفونت‌های هیپاتیت B، هیپاتیت C، HIV و سیفیلیس منفی بودند.

پس از خون‌گیری و جداسازی فراورده، کیسه‌های خون تهیه شده همگی از جنس پلی‌وینیل کلراید و حاوی گلبول قرمز متراکم بودند. این کیسه‌ها برای مدت ۳۵ روز در شرایط استاندارد بانک خون (دمای ۶-۱ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. با احتساب روز اول از هر کیسه خون ۴ نوبت نمونه‌گیری در شرایط استریل به میزان ۱۵ سی‌سی طی هفته‌های اول، دوم، چهارم، پنجم انجام شد. کیسه‌های خون پس از هر بار نمونه‌گیری و با رعایت زمان ماندگاری در دمای محیط (کمتر از ۳۰ دقیقه) مجدداً در شرایط نگهداری در دمای بانک خون قرار گرفتند. نمونه‌های جمع‌آوری شده در لوله‌های استریل هر مرحله با دور ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و در نهایت پلاسما جدا و تا زمان آزمایش‌های بعدی در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

برای جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی از افراد داوطلب سالم بدون سابقه بیماری خاص و یا عدم مصرف طولانی مدت داروی خاص با رضایت آگاهانه استفاده گردید. ابتدا نمونه خون توسط سرنگ آغشته به هیپارین استریل گرفته و در داخل لوله‌های استریل جمع‌آوری شد و با استفاده از محیط گرادیان فایکول و بر اساس روشی که توسط دارایی و همکاران توصیف شده بود [۱۳] سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی جدا شدند. سلول‌های تک هسته‌ای جدا شده با استفاده از لام نئو بار شمارش شده، و با فراوانی ۱ میلیون سلول در محیط کشت کامل RPMI-1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی، پنی سیلین ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر، و استرپتومایسین ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر حل و با حجم ۱۰۰ میکرولیتر در پلیت‌های کشت ۹۶ خانه‌ای توزیع شدند. درصدهای مختلفی از پلاسما استخراج شده از کیسه‌های خون (۵، ۱۰، و ۲۰ درصد) به طور مجزا به چاهک‌های مختلف افزوده شده و به مدت ۷۲ ساعت در حضور میتوزن‌های PHA (فیتوهمگلوتینین) و LPS (لیپو پلی ساکارید) کشت داده شدند. سلول‌های تک هسته‌ای تحریک شده با PHA و LPS بدون افزودن پلاسما به عنوان کنترل مثبت استفاده شدند و سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی تیمار شده با سرم فیزیولوژی به عنوان کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفتند. پس از طی زمان انکوباسیون، مایع رویی کشت سلولی جمع‌آوری و برای آنالیزهای بعدی در ۷۰- درجه سانتی‌گراد فریز شد. مطابق روشی که توسط بردبار و همکاران توصیف شده بود [۱۴] میزان شاخص تحریکی سلول‌های تک هسته‌ای با تیمارهای مختلف با استفاده از آزمایش MTT و بر اساس فرمول: (میزان متوسط جذب نوری سلول‌های تیمار شده با درصدهای مختلف پلاسما ÷ میزان متوسط جذب نوری سلول‌های تیمار شده با بافر فسفات سالین) محاسبه گردید. اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید پلاسمایی با استفاده از کیت (طب پژوهان رازی، ایران) صورت گرفت. اساس این کیت روش رنگ سنجی و بر اساس واکنش با تیوباربیتریک اسید و مقایسه با منحنی استاندارد بود. برای اندازه‌گیری نیتریک اکساید نیز از کیت (سیب زیست فن، ایران) استفاده شد. اساس این کیت نیز روش رنگ سنجی و بر اساس واکنش گریس و مقایسه با منحنی استاندارد بود. برای حذف اثر زمینه‌ای مالون دی‌آلدهید و نیتریک اکساید موجود در پلاسماهای

در یک فرایند پیچیده سبب ایجاد "عوارض ذخیره سازی" خون می‌شود [۱۶].

یکی از عوارض ذخیره سازی خون افزایش تدریجی استرس اکسیداتیو در کیسه‌های خون می‌باشد که در نتیجه سبب عدم تعادل بین واسطه‌های فعال اکسیژنی و آنتی‌اکسیدانی می‌شود. ما در مطالعه قبلی نشان دادیم با افزایش هفته‌های نگه‌داری کیسه‌های خون شاهد کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش میزان رادیکال‌های آزاد و در نتیجه افزایش میزان استرس اکسیداتیو در کیسه‌های خون هستیم [۱۷]. یکی دیگر از عوارض شناخته شده در هنگام ذخیره سازی خون اثرات مهارکنندگی سیستم ایمنی در دریافت کنندگان خون است. بهبود بقای بافت پیوندی کلیه، افزایش شانس عود مجدد سرطان، کاهش شدت بیماری‌های خودایمنی و ریسک افزایش یافته عفونت از عوارض شناخته مرتبط با فعالیت‌های مهارکنندگی ایمنی ناشی از انتقال خون آلوژنیک است [۸، ۹]. تاکنون مطالعات محدودی در زمینه شناخت مکانیسم‌های ایمنومودولاتوری کیسه‌های خون بر گیرندگان خون صورت گرفته است که القای سلول‌های T تنظیمی بدون دخالت سایتوکاین‌ها یکی از این مکانیسم‌هایی است که در سال‌های اخیر معرفی شده است [۱۰].

در توجیه اثرات مهارکنندگی ایمنی کیسه‌های خون تزریقی در گیرندگان، ما پیش‌بینی نمودیم احتمالاً رادیکال‌های آزاد موجود در کیسه‌های خون بتوانند از طریق تخریب اکسیداسیونی اسیدهای چرب موجود در غشای سلول‌های ایمنی و تأثیر بر فعالیت عملکردی آنها سبب این اثر مهارکنندگی گردند. برای تأیید این پیش‌بینی ما در این مطالعه برای اولین بار اثر پلاسما استخراج شده از کیسه‌های خون طی هفته‌های متوالی را بر میزان فعالیت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی مورد بررسی قرار دادیم. در ضمن اثر این پلاسماها بر تولید مالون دی‌آلدهید-ترکیبی که تحت شرایط استرس اکسیداتیو و بدنال واکنش رادیکال‌های آزاد با اسیدهای چرب موجود در غشاهای سلولی تولید می‌شود و نشانه تخریب سلولی است [۱۱] و همچنین نیتریک اکساید- یک پیام‌رسان رادیکال آزاد که بدنال تحریک سلول‌های مختلف از ال-آرژنین تولید می‌شود [۱۲] را مورد بررسی قرار دادیم.

روش کار

در این مطالعه تجربی افراد مراجعه کننده به پایگاه انتقال خون شهرستان بجنورد به صورت تصادفی انتخاب و پس از تکمیل فرم رضایت آگاهانه از آنها کیسه‌های خون تهیه گردید. حجم نمونه مطالعه حاضر مطابق فرمول زیر با احتساب $Z = 1,96$ می‌باشد و دقت $= 0,05$ و d و انحراف معیار $s = 0,1$ محاسبه گردید، که مشابه مطالعه بلوزوف و همکارانش [۱۶] حجم نمونه ۱۵ بود که با احتساب ریزش جمعیت ۲۰ نفر اهدا کننده خون انتخاب شدند.

$$n = \frac{Z^2 S^2}{d^2}$$

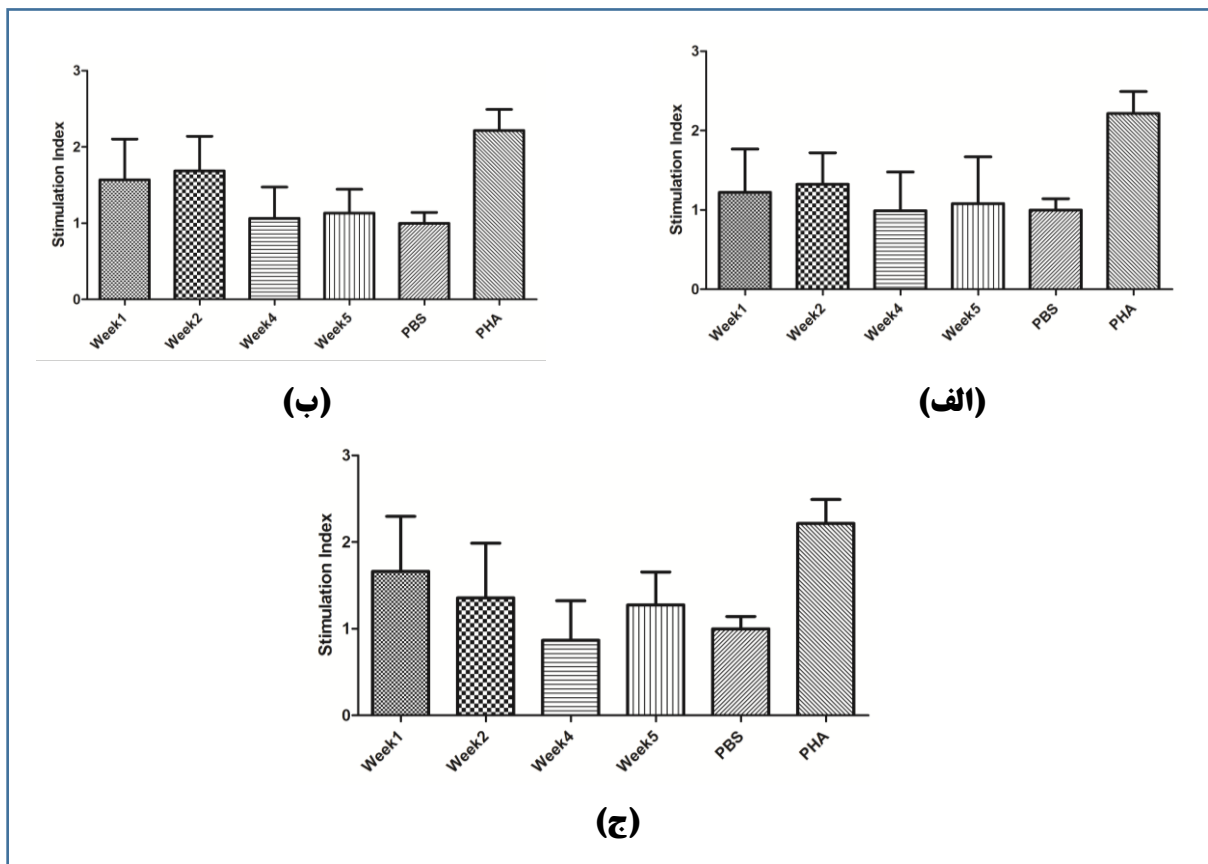
این افراد فاقد سابقه بیماری‌های قلبی عروقی، خودایمنی، سرطان، بیماری‌های متابولیک، و آلرژیک بودند و داروهای خاصی نیز مصرف نمی‌کردند. همچنین کلیه افراد از نظر شرایط اهدای خون و سلامت عمومی توسط پزشک انتقال خون به صورت فیزیکی و پرسشنامه سازمان انتقال خون مورد بررسی قرار می‌گیرند. کیسه‌های خون اهدایی

سنی افراد اهدا کننده خون برای جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای بین ۳۵ - ۱۸ و با میانگین سنی ۲۶/۵ بودند. در ضمن تمامی افراد انتخاب شده دارای گروه خونی O و از نظر نسبت وزن به مجذور قد (BMI) در محدوده طبیعی دارای اهدای خون مستمر بودند. نتایج آزمایش MTT نشان داد که پلاسماهای تهیه شده از کیسه‌های خون طی هفته‌های اول و دوم اثر تحریکی بیشتری از پلاسماهای هفته‌های سوم و چهارم بر فعالیت سلول‌های تک هسته‌ای دارند. بررسی‌های بیشتر نشان داد افزودن پلاسماهای کیسه‌های خون هفته‌های اول و دوم با غلظت ۱۰ درصد بیشترین اثر تحریکی و پلاسماهای هفته چهارم با درصد‌های ۵ و ۲۰ درصد کمترین اثر تحریکی را بر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی داشتند (شکل ۱).

کیسه خون، از چاهک‌های حاوی محیط کشت کامل RPMI-1640 که به آنها پلاسماهای ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد افزوده شده، استفاده گردید. از نرم افزار GraphPad Prism نسخه ۵ برای آنالیز آماری داده‌ها استفاده شد. اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از آزمون با آزمون‌های آماری Repeated Measure مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شدند. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

محدوده سنی افراد داوطلبی که کیسه خون از آنها تهیه شد بین ۱۸ تا ۵۷ سال و با میانگین سنی ۳۵/۵ سال بودند. این در حالی بود که دامنه

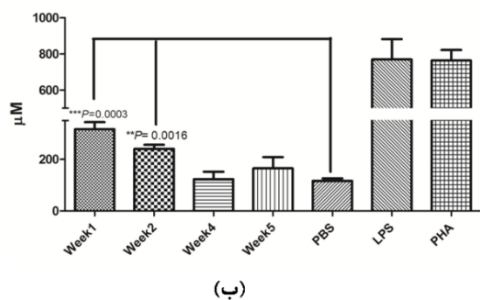


شکل ۱. اثر پلاسماهای با غلظت‌های ۵ درصد (الف)، ۱۰ درصد (ب)، و ۲۰ درصد (ج) تهیه شده از کیسه‌های خون طی هفته مختلف بر میزان فعالیت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی با استفاده از آزمون MTT. هفته اول: روز اول خونگیری، هفته دوم: روز هفتم پس از خونگیری، هفته چهارم: روز بیست و یکم بعد از خونگیری، هفته پنجم: روز بیست و هشتم بعد از خونگیری. سلول‌های تک هسته‌ای تیمار شده با لیوپلی ساکارید، PHA: سلول‌های تک هسته‌ای تیمار شده با فیتوهمگلوتینین، PBS: سلول‌های تک هسته‌ای تیمار شده با سرم فیزیولوژی. Stimulation Index: میزان متوسط OD ماکروفاژهای تیمار شده با درصد‌های مختلف پلاسما \div میزان متوسط OD سلول‌های تیمار شده با بافر فسفات سالین، * $P > 0.05$, ** $P > 0.01$, *** $P > 0.001$.

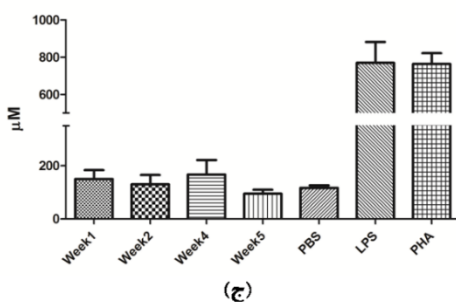
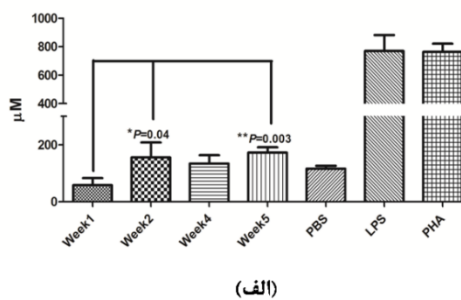
را در القای تولید مالون دی آلدیید ($19/01 \pm 172/7$ میکرومولار در میلی لیتر) و افزودن پلاسماهای هفته اول با غلظت ۵ درصد کمترین اثر را بر القای تولید این ترکیب ($24/51 \pm 58/49$ میکرومولار در میلی لیتر) داشت. در مورد اثر غلظت ۱۰ درصد پلاسما نیز نتایج نشان داد تفاوت معناداری در میزان تولید مالون دی آلدیید از سلول‌های تک هسته‌ای طی تیمار با پلاسماهای هفته‌های مختلف بخصوص پلاسماهای هفته اول و دوم مشاهده می‌شود ($P > 0.05$). افزودن پلاسماهای هفته‌های مختلف به استثنای هفته پنجم با غلظت ۲۰

در مقایسه اثر پلاسماهای هفته‌های مختلف با درصد‌های مختلف بر تولید مالون دی آلدیید از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی، آنالیزهای آماری نشان داد افزودن پلاسماهای مختلف تهیه شده از کیسه‌های خون طی هفته‌های اول، دوم، چهارم و پنجم با غلظت‌های ۵ درصد به محیط کشت سلول‌های تک هسته‌ای بصورت معناداری اثرات متفاوتی بر القای تولید مالون دی آلدیید از این سلول‌ها دارد ($P > 0.05$). در مقایسه با سلول‌های تک هسته‌ای که با سرم فیزیولوژی تیمار شده بودند، افزودن پلاسماهای هفته پنجم با غلظت ۵ درصد بیشترین میزان

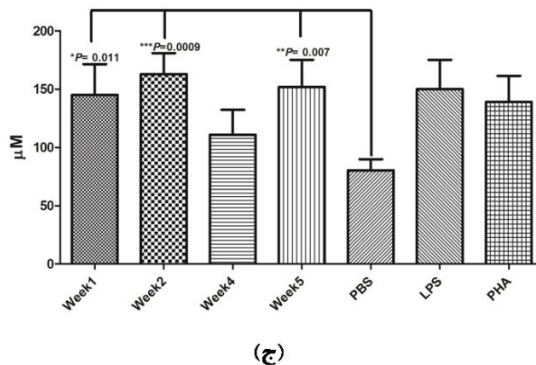
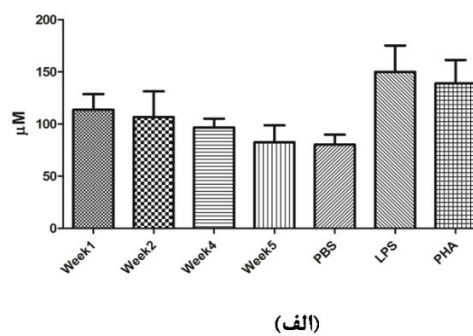
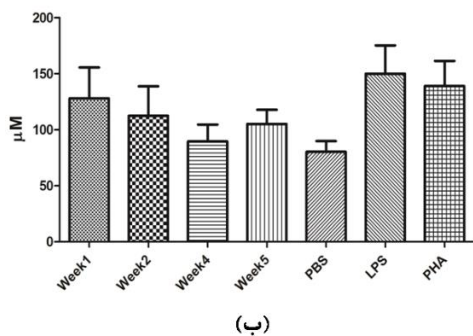
با غلظت ۱۰ درصد (۲۷/۴۷ ± ۳۱۶/۴ میکرومولار در میلی لیتر) و کمترین میزان القای تولید مالون دی آلدئید ناشی از افزودن پلاسماهی هفته اول با غلظت ۵ درصد (۲۴/۵۱ ± ۵۸/۴۹ میکرومولار در میلی لیتر) مشاهده می‌شود.



درصد به محیط کشت سلول‌های تک هسته‌ای منجر به افزایش تولید مالون دی آلدئید می‌گردد، هر چند در مقایسه به کنترل تفاوت آماری معنادار مشاهده نشد (شکل ۲) ($P < 0.05$). مقایسه کلی نشان داد بیشترین میزان تولید مالون دی آلدئید با افزودن پلاسماهی هفته اول



شکل ۲. اثر پلاسماهای با غلظت‌های ۵ درصد (الف)، ۱۰ درصد (ب)، و ۲۰ درصد (ج) تهیه شده از کبسه‌های خون طی هفته مختلف بر میزان تولید مالون دی آلدئید از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی. هفته اول: روز اول خونگیری، هفته دوم: روز هفتم پس از خونگیری، هفته چهارم: روز بیست و یکم بعد از خونگیری، هفته پنجم: روز بیست و هشتم بعد از خونگیری. سلول‌های تک هسته‌ای تیمار شده با لیپوپلی ساکارید، PHA: سلول‌های تک هسته‌ای تیمار شده با فیتوهمگلوتنین، PBS: سلول‌های تک هسته‌ای تیمار شده با سرم فیزیولوژی، * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.



شکل ۳. اثر پلاسماهای با غلظت‌های ۵ درصد (الف)، ۱۰ درصد (ب)، و ۲۰ درصد (ج) تهیه شده از کبسه‌های خون طی هفته مختلف بر میزان تولید نیتریک اکساید از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی. هفته اول: روز اول خونگیری، هفته دوم: روز هفتم پس از خونگیری، هفته چهارم: روز بیست و یکم بعد از خونگیری، هفته پنجم: روز بیست و هشتم بعد از خونگیری. LPS: سلول‌های تک هسته‌ای تیمار شده با لیپوپلی ساکارید، PHA: سلول‌های تک هسته‌ای تیمار شده با فیتوهمگلوتنین، PBS: سلول‌های تک هسته‌ای تیمار شده با سرم فیزیولوژی، * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

ابتدایی با غلظت بالا اثر اکسیداسیون بیشتری در آزادسازی مالون دی آلدیید از سلول‌های تیمار شده دارند (شکل ۲). در تأیید نتایج ما آنگرو و همکارانش در سال ۲۰۱۰ نشان دادند نگره داری کیسه‌های خون سبب کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانسی پلی‌اسمای آن‌ها می‌گردد و با گذشت زمان این وضعیت آنتی‌اکسیدانسی کاهش و غلظت مالون دی آلدیید افزایش پیدا می‌کند [۱۷]. در مطالعه‌ای که توسط مرجانی و همکاران نیز در سال ۲۰۰۷ به منظور تعیین تغییرات پراکسیداسیون لیپیدی پلی‌اسمای موجود در کیسه‌های خون انجام شد، مشخص شد میزان فعالیت اکسیدانسی پلی‌اسما و مالون دی آلدیید روند افزایشی را به دنبال ذخیره سازی خون نشان می‌دهد [۱۸]. موکوجی در سال ۲۰۱۲ نشان دادند به دنبال انتقال خون به نوزادان محصولات پراکسیداسیون لیپیدی از جمله مالون دی آلدیید افزایش پیدا می‌کند. این افزایش مشاهده شده ممکن است ناشی از واکنش پلی‌اسما با سلول‌های خون محیطی میزبان باشد [۱۹]. آزاد شدن مالون دی آلدیید از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی نشانه تخریب غشای سلولی می‌باشد و با توجه به اینکه این سلول‌ها ترکیبی از لنفوسیت‌های T، B و منوسیت‌ها می‌باشند، پیش بینی می‌شود پلی‌اسماهای کیسه‌های خون با این اثر مخرب زمینه مهار سیستم ایمنی در دریافت کنندگان خون را فراهم نمایند.

مطالعات قبلی نشان دادند در طول زمان ذخیره سازی خون غلظت نیتریک اکساید در کیسه‌های خون به تدریج افزایش پیدا می‌کند، بطوری که در ۳۰ روز پس از ذخیره سازی حداکثر میزان این ترکیب گزارش شده است [۲۰]. با توجه به اینکه افزایش ذخیره سازی خون با افزایش همولیز و رهاسازی هموگلوبین آزاد همراه است، سبب می‌شود هموگلوبین‌های آزاد با میل بالا به نیتریک اکساید متصل و سبب دی اکسیداسیون و تخریب نیتریک اکساید گردد [۲۱]. در این موارد کاهش میزان نیتریک با افزایش انقباض عروق و افزایش فشار خون همراه است [۲۱]. رنولدز و همکارانش در سال ۲۰۱۳ میلادی نشان دادند افزودن نیتریک اکساید به گلبولهای قرمز ذخیره شده خون باعث بهبود اکسیژن رسانی آن‌ها می‌شود [۲۲].

هر چند مطالعاتی در زمینه غلظت نیتریک اکساید در کیسه‌های خون و تغییرات غلظت نیتریک اکساید بدنبال انتقال خون صورت گرفته است، اما تا پیش از این مطالعه‌ای در زمینه اثر پلی‌اسماهای کیسه‌های خون بر تولید این ترکیب از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی صورت نگرفته بود. ما در مطالعه حاضر نشان دادیم پلی‌اسمای کیسه خون و بطور خاص پلی‌اسمای تهیه شده از کیسه‌ها طی هفته‌های اول و دوم ذخیره سازی اثر تحریکی در تولید نیتریک اکساید از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی دارند (شکل ۳). به عبارت دیگر نگهداری کیسه خون به مدت طولانی توانایی آنها برای القاء تولید نیتریک اکساید از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی را کاهش می‌دهد. بررسی‌های بیشتر در این مطالعه نشان می‌دهد این اثر القای تولید نیتریک اکساید از سلول‌های تک هسته‌ای وابسته به غلظت می‌باشد، بطوری که در غلظت‌های بالای پلی‌اسما بیشترین و در غلظت‌های پایین پلی‌اسما کمترین اثر القای تولید نیتریک اکساید مشاهده شد (شکل ۳).

با توجه به اینکه نیتریک اکساید نقش مهمی در ایمنی ذاتی و بروز واکنش‌های التهابی و حتی افزایش بقای بافت پیوندی دارد [۱۲، ۲۳]، به نظر می‌رسد همانند یک شمشیر دو لبه عمل می‌کند. زیرا از یک سو

در بررسی اثر پلی‌اسماهای تهیه شده از کیسه خون طی هفته‌های مختلف با غلظت ۵ و ۱۰ درصد بر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی مشخص شد که هر چند میزان تولید نیتریک اکساید از سلول‌های تک هسته‌ای تیمار شده با غلظت ۵ و ۱۰ درصد از پلی‌اسماهای مختلف (بخصوص پلی‌اسمای مرتبط با هفته‌های اول و دوم) در مقایسه با سلول‌های تک هسته‌ای که با سرم فیزیولوژی تیمار شده بودند، افزایش پیدا می‌کند، اما آنالیزهای آماری تفاوت معناداری را نشان نداد ($P < 0.05$) (شکل ۳). در بررسی اثر غلظت ۲۰ درصد پلی‌اسماهای تهیه شده از کیسه‌های خون طی هفته‌های مختلف نتایج نشان داد افزودن پلی‌اسمای هفته‌های مختلف منجر به افزایش تولید نیتریک اکساید از سلول‌های تک هسته‌ای می‌گردد، آنالیزهای آماری حاکی از وجود تفاوت آماری معنادار بین گروه کنترل با گروه تیمار شده با پلی‌اسماهای هفته اول، دوم و پنجم، (بجز هفته چهارم) بود. ($P > 0.05$).

بحث

نگهداری خون‌های اهدایی در شرایط خارج بدن سبب تغییرات زیادی در آن‌ها می‌شود. بخشی زیادی از مطالعات بر اثر مدت زمان نگره داری خون بر ریخت شناسی و عملکرد گلبول‌های قرمز متمرکز شده است و بسیاری از عوارض ناشی از انتقال خون را مرتبط با این تغییرات عنوان نموده‌اند [۱۵]. اما تاکنون مطالعات محدودی در زمینه اثرات پلی‌اسماهای موجود در کیسه‌های خون بر عوارض ناشی از انتقال خون صورت گرفته است. ما در این مطالعه برای اولین بار به بررسی اثر پلی‌اسماهای کیسه‌های خون طی هفته‌های مختلف نگره داری بر سلول‌های تک هسته‌ای خون پرداختیم. نتایج ما نشان داد پلی‌اسماهای موجود در کیسه‌های خون طی هفته‌های ابتدایی سبب افزایش فعالیت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی و افزایش تولید نیتریک اکساید از آن‌ها می‌گردد. در بررسی تولید مالون دی آلدیید از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی نیز نتایج نشان داد پلی‌اسماهای موجود در کیسه‌های خون سبب پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلول‌های تک هسته‌ای و آزادسازی مالون دی آلدیید می‌گردند.

در این مطالعه تجربی ما به منظور بررسی اثر رادیکال‌های آزاد موجود در پلی‌اسماهای کیسه‌های خون بر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی، اثر پلی‌اسماهای تهیه شده از کیسه‌های خون طی هفته‌های مختلف را بر میزان فعالیت سلول‌های تک هسته‌ای و میزان تولید مالون دی آلدیید مورد بررسی قرار دادیم. نتایج نشان داد شاخص تحریکی که نشان دهنده فعالیت و تکثیر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی است [۱۶] در سلول‌هایی که با پلی‌اسماهای هفته‌های اول و دوم تیمار شدند در سطح بالاتری در مقایسه با سلول‌های که با پلی‌اسماهای هفته چهارم و پنجم تیمار شده بودند (شکل ۱). در زمینه آزادسازی مالون دی آلدیید از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی نیز نتایج نشان داد تیمار پلی‌اسماهای هفته‌های مختلف سبب افزایش آزادسازی این ترکیب می‌گردد. این اثر تخریبی بسته به غلظت و زمانی که پلی‌اسما از کیسه‌های خون تهیه شده بودند، متفاوت بود. ولی بطور کلی می‌توان پیش بینی کرد پلی‌اسماهای کیسه‌های خون در هفته‌های انتهایی با غلظت پایین و پلی‌اسماهای تهیه شده از کیسه‌های خون در هفته‌های

