

تعادل اکسیدان - آنتی اکسیدان در کیسه های خون در هفته های متوالی پس از اهدا

سعید برزگر^۱، فاطمه نادعلی^{۲*}، علی اکبر پورفتح الله^۳، علیرضا عباسپور^۴،
سمیه فرخی نیا^۵، یاور شیراوند^۱

^۱ کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون گروه هماتولوژی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
^۲ دانشیار هماتولوژی و بانک خون گروه هماتولوژی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
^۳ استاد مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و مرکز انتقال خون تهران و گروه ایمنولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
^۴ استادیار بیوشیمی بالینی گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۵ کارشناس آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بیمارستان امام علی (ع)، بجنورد، ایران
^{*} نویسنده مسئول: دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
پست الکترونیک: Nadalifa@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: بالغ بر ۹۰ سال است که خون به صورت سوسپانسیون برای نجات جان افراد زیادی مورد استفاده قرار می گیرد. امروزه با استفاده از تکنیک های جدید و استفاده از کیسه های خون مخصوص، شرایط برای جداسازی و نگهداری اجزای خون در خارج از بدن فراهم شده است. با این وجود همچنان عوارض نگهداری کیسه های خون از چالش های پیش روی تزریق خون است. یکی از این عوارض افزایش تدریجی استرس اکسیداتیو می باشد که در نتیجه عدم تعادل بین واسطه های فعال اکسیژنی و آنتی اکسیدان ها ایجاد می شود. بنابراین تیم تحقیق بر آن شد تا میزان تعادل اکسیدان - آنتی اکسیدان (PAB) را در هفته های متوالی بعد از اهدای خون بررسی نماید.

مواد و روش کار: تعداد ۱۰۰ کیسه خون از افراد ۱۸ تا ۵۷ سال با میانگین سنی ۳۵/۵ سال مراجعه کننده به پایگاه انتقال خون شهر بجنورد دریافت گردید. کیسه ها برای مدت ۵ هفته در شرایط استاندارد بانک خون قرار گرفتند. طی هفته های متوالی، پس از بررسی ظاهری خون از نظر سلامت، از کیسه ها نمونه گیری به عمل آمد. آزمایش PAB بر روی نمونه های هر هفته انجام شد.

یافته ها: یافته ها افزایش معنی دار تعادل اکسیدان - آنتی اکسیدان طی هفته های متوالی بعد از اهدای خون را نشان داد ($p=0/001$). همچنین مشخص شد میزان اکسیدان ها از هفته اول بعد از اهدا افزایش می یابد.

نتیجه گیری: به تدریج از هفته اول به بعد با افزایش زمان نگهداری کیسه های خون میزان استرس اکسیداتیو افزایش می یابد.

واژه های کلیدی: تعادل اکسیدان - آنتی اکسیدان، کیسه خون، استرس اکسیداتیو

مقدمه

انتقال خون یکی از انواع پیوند بافت می باشد. سالانه ۸۵ میلیون فرآورده خونی در جهان و از جمله ایران استفاده می شود. از این تعداد ۱۵ میلیون تزریق مربوط به گلبول قرمز می باشد [۱]. خون جمع آوری شده باید از افراد سالم و بعد از طی مراحل غربالگری تهیه شود. در مدت زمان ذخیره سازی، کیسه های خون باید به نحوی نگهداری شوند که دارای شرایط مناسب در زمان تزریق به بیمار باشد؛ به طوری که علاوه بر اینکه نباید تهدید کننده جان بیمار باشد، بلکه بتواند سبب بهبود شرایط وی نیز بشود. از جمله تغییراتی که در کیسه های خون در حین نگهداری و ذخیره ایجاد می شود استرس اکسیداتیو است [۲]. استرس اکسیداتیو در سیستم های زنده به عدم تعادل بین تولید واسطه های فعال اکسیژنی و دفاع آنتی اکسیدانی بر می گردد [۳]. این عدم تعادل زمانی اتفاق می افتد که یک افزایش در تولید واسطه های فعال اکسیژنی و یا کاهش در فعالیت های آنتی اکسیدانی وجود داشته باشد. رادیکال های آزاد، اتم ها یا مولکول هایی هستند که به خاطر داشتن یک یا تعداد بیشتری الکترون جفت نشده قادرند به کربوهیدرات ها، لیپیدها، پروتئین ها و دزوکسی ریبو نوکلئیک اسید سلولی آسیب رسانده و آنها را اکسید نمایند [۴]. در درون گلبول قرمز یون های اکسید (سوپراکسید) تولید شده توسط سیستم آنتی اکسیدانی موجود در سلول خنثی می شود. اما این امر در شرایط نگهداری کیسه های خون با روندی کند انجام می پذیرد؛ بنابراین انتظار می رود مواد اکسیدانی موجود در کیسه های خون افزایش پیدا کند، که سبب اکسید شدن قند، پروتئین ها و لیپید های غشاء گلبول قرمز می گردد [۵]. از سوی دیگر مواد اکسیدان تولید شده در طی نگهداری کیسه خون سبب تبدیل آهن دو ظرفیتی به سه ظرفیتی در مولکول هموگلوبین شده و سبب ایجاد مت هموگلوبین به مقدار زیاد می گردد [۶]. این مسئله از دو جنبه می تواند دارای اهمیت باشد: اول عدم توانایی آنزیم مت هموگلوبین ردوکتاز در تبدیل مت هموگلوبین به هموگلوبین و دوم اینکه گلبول های قرمز تزریق شده به بیمار فاقد توانایی کافی برای اکسیژن رسانی خواهند بود. بنابراین استرس اکسیداتیو می تواند یکی از دلایل کاهش

طول عمر و عملکرد بد گلبول های قرمز در کیسه های خون باشد [۷] و به عنوان یکی از دلایل عوارض ذخیره سازی خون قابل بررسی است. بدیهی است انجام آزمایشات متعدد برای بررسی مواد اکسیدان و آنتی اکسیدان به طور مجزا و تعمیم دادن نتایج این آزمایش ها به وضعیت استرس اکسیداتیو در خون های ذخیره شده مشکل و نیاز به تداخل بیشتری در کیسه خون های اهدایی دارد. بنابراین استفاده از روشی که تغییرات استرس اکسیداتیو را با دقت، حساسیت و در زمان کوتاهی نشان دهد ضروری به نظر می رسد.

روش کار

از مراجعه کنندگان برای اهدای خون در شهرستان بجنورد تعداد صد نفر انتخاب و کیسه خون های اهدایی آنان برای انجام مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. پس از غربالگری و تأیید عدم وجود بیماری های قابل انتقال از طریق تزریق خون مانند هیپاتیت، ایدز و سیفلیس، غیره نمونه ها وارد مطالعه شدند. محدوده سنی افراد مورد مطالعه ۱۸ تا ۵۷ سال با میانگین سنی ۳۵/۵ سال بود. کلیه کیسه های خون از جنس پلی وینیل کلراید، حاوی ضد انعقاد CPD-A1 و از نوع گلبول قرمز متراکم بودند. با احتساب روز اول اهدا از هر کیسه خون ۶ بار نمونه گیری طی ۵ هفته متوالی انجام شد. کیسه های خون پس از هر بار نمونه گیری دوباره در شرایط بانک خون (اتاق ۴ درجه سانتیگراد) قرار گرفتند. نمونه های جمع آوری شده در هر مرحله به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در نهایت پلاسما از گلبول های قرمز جدا و آزمایش PAB انجام شد.

روش انجام آزمایش PAB: آزمایش PAB از طریق استفاده از پودر تترا متیل بنزیدین و انجام دو واکنش آنزیمی و شیمیایی قابل اجراست. در واکنش آنزیمی کروموژن تترا متیل بنزیدین توسط پراکسید هیدروژن (اکسیدان) به تترا متیل بنزیدین کاتیون دار اکسید می شود و در واکنش شیمیایی تترا متیل بنزیدین کاتیون دار توسط اسید اوریک (آنتی اکسیدان) احیا می شود [۸]. نتایج با کمک نرم افزار SPSS 20 و آزمون آماری Repeated Measure برای بررسی تغییرات PAB در هفته های متوالی بررسی شد.

یافته ها

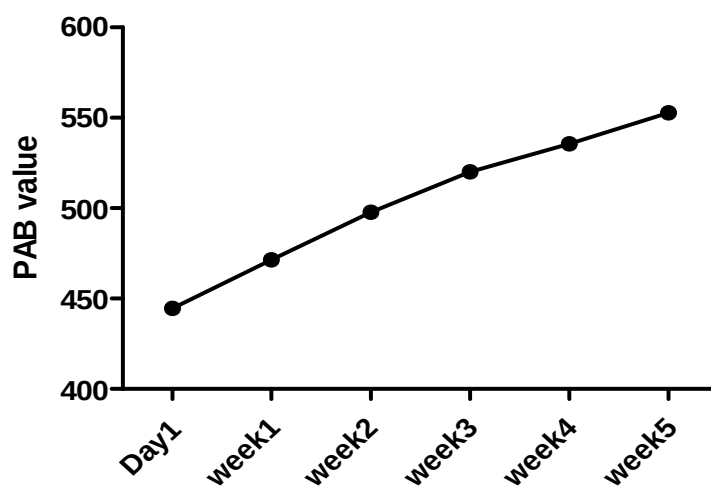
بررسی بر روی ۱۰۰ کیسه خون اهدایی در افراد ۱۸ تا ۵۷ ساله با میانگین سنی ۳۵/۵ که به پایگاه اهدای خون شهرستان بجنورد مراجعه کرده بودند انجام شد. بر اساس نتایج، میزان تعادل اکسیدان - آنتی اکسیدان (PAB) طی هفته های متوالی افزایش معنی داری را نشان داد ($p < 0.001$).

بحث

در مطالعه حاضر، افزایش معنی دار تعادل اکسیدان - آنتی اکسیدان طی هفته های متوالی بعد از اهدای خون مشاهده شد. شروع افزایش در طی هفته اول پس از اهدای خون اتفاق افتاد. نگهداری کیسه های خون می تواند سبب ایجاد تغییراتی در آن شود [۹]. جداسازی گلبول قرمز از شرایط داخل بدن و پلاسما در کیسه های

نتایج آزمایش PAB در هفته های متوالی پس از اهدای خون:

آزمایش	روز اول	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم
PAB Mean±SD	۴۴۴±۶۰/۱۸	۴۷۱/۴۰±۵۹/۵۳	۴۹۷/۷۰±۵۵/۳۳	۵۲۰/۱۰±۵۹/۵۰	۵۳۵±۶۲/۱۰	۵۵۲/۷±۵۵/۴۸



نمودار تغییرات میزان PAB در هفته های متوالی پس از اهدا

حاوی گلبول قرمز متراکم به عنوان منابع عوامل آنتی اکسیدان می تواند سبب افزایش اکسیدان ها در گلبول های قرمز گردد. بنابراین برای بررسی استرس اکسیداتیو در گلبول قرمز ذخیره شده می توان تغییرات تعادل اکسیدان - آنتی اکسیدان در کیسه های خون را اندازه گیری کرد.

تخمین تعادل اکسیدان - آنتی اکسیدان قابل اجراست. تاکنون چندین مطالعه در رابطه با ارزیابی استرس اکسیداتیو با استفاده از روش PAB انجام شده است. در سال ۲۰۰۸ برای اولین بار این روش تخمین تعادل اکسیدان - آنتی اکسیدان جهت ارزیابی استرس اکسیداتیو در ایران توسط علمداری و همکارانش در بیماران قلبی و عروقی آنژیوگرافی شده به کار رفت و نتایج آن تفاوت معنی داری را در گروه های مطالعه نشان داد [۸] و یا می توان از مطالعه فال سلیمان و همکارانش در سال ۲۰۱۱ جهت سنجش استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به سندروم حاد کرونری نام برد [۱۰]. همچنین پریزاده و همکارانش در سال ۲۰۱۱ با استفاده از این روش مطالعه ای در ارتباط با تأثیر استاتین ها بر تعادل اکسیدان - آنتی اکسیدان در بیماران دیس لیپیدمی انجام دادند که از این روش استفاده کردند [۱۱].

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه میزان تعادل اکسیدان - آنتی اکسیدان طی هفته های متوالی بعد از اهدا به تدریج افزایش یافت. این یافته با نتایج بسیاری از مطالعات در رابطه با افزایش استرس اکسیداتیو همسو بود؛ از جمله در مطالعه ای که شازیا^۱ و همکارانش در مالزی انجام دادند اعلام کردند که استرس اکسیداتیو در بیماران تالاسمی در اثر تزریق خون افزایش می یابد و دلیل آنرا بالا بودن استرس اکسیداتیو در کیسه های خون در اثر تجمع آهن ذکر کردند [۱۲]. جزویک^۲ و همکارانش در بررسی هایی که در ۸ کیسه خون اهدایی در لهستان انجام دادند بیان کردند میزان آنتی اکسیدان کل در طی نگهداری کیسه های خون کاهش می یابد [۱۳] سارا رینالدوسی^۳ و همکارانش در سال ۲۰۱۲ در ایتالیا با

بررسی چهار کیسه خون افزایش استرس اکسیداتیو و در نتیجه تخریب گلبول قرمز در اثر این افزایش را گزارش کردند [۱۴]. چوداری^۴ و همکارانش در سال ۲۰۱۲ با بررسی ۳ کیسه خون، اکسیداسیون هموگلوبین را دلیلی برای استرس اکسیداتیو و تخریب غشا گلبول قرمز در داخل کیسه های خون اعلام کردند [۱۵]. دیهم^۵ و همکارانش با بررسی کیسه خون های اهدایی از نظر آنزیم های آنتی اکسیدان سوپر اکسید دیسموتاز و گلوکاتینون پراکسیداز کاهش این آنزیم ها را گزارش کردند [۱۶]. اوگونرو^۶ و همکارانش در سال ۲۰۱۰ در نیجریه با مطالعه ۱۵ کیسه خون کاهش آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله سوپر اکسید دیسموتاز را گزارش کردند [۱۷]. در مطالعه حاضر نیز PAB افزایش پیدا کرد. احتمال آن می رود که در شرایط کیسه خون ادامه روند متابولیسم گلبول های قرمز و تولید مواد زائد توسط آنها بر روی شرایط کیسه خون تأثیر گذار باشد به طوری که از یک سو سبب تولید مواد اکسیدان در گلبول قرمز و مصرف آنزیم های آنتی اکسیدانی گردد و از سوی دیگر با کاهش pH کیسه خون سبب کاهش فعالیت آنزیم های مذکور شود.

همچنین اکثر مطالعات انجام شده تغییرات استرس اکسیداتیو را از هفته دوم بعد از اهدای خون گزارش کرده اند [۱۸]. در مطالعه ای مشابه در ترکیه که توسط اصلان^۷ و همکارانش انجام شد کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در روز های ۱۳ تا ۲۷ بعد از اهدای خون گزارش شد [۱۹]. گلاتکن^۸ و همکارانش در سال ۲۰۰۰ کاهش گلوکاتینون پراکسیداز را در مدت ۷ تا ۱۴ روز گزارش کردند [۲۰]. مرجانی و همکارانش نیز با بررسی ۶۷ کیسه خون اهدایی در سال ۲۰۰۷ کاهش گلوکاتینون پراکسیداز را گزارش کردند. آنها همچنین بهترین زمان برای تزریق خون را روز ۱۴ بعد از خونگیری اعلام کردند [۲۱]. در حالیکه ما نشان دادیم این تغییرات طی هفته اول به بعد اتفاق خواهد افتاد. دلیل این امر می تواند حساسیت بالاتر این روش نسبت به سایر روش های

4- Chaudhary

5- Deyhim

6- Ogunro

7- Aslan

8- Gultekin

1- Shazia

2- Józwick

3- Rinalducci

بررسی استرس اکسیداتیو باشد. از طرفی به نظر می رسد اندازه گیری آنزیم های آنتی اکسیدانی به تنهایی حساسیت لازم برای ارزیابی تغییرات زودرس استرس اکسیداتیو را ندارد و اندازه گیری تعادل مواد اکسیدان - آنتی اکسیدان مناسب تر باشد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج مشاهده شد که افزایش مواد اکسیدان در کیسه های خون باعث افزایش نسبت تعادل PAB می گردد و استرس اکسیداتیو بوجود آمده می تواند سبب تخریب گلبول های قرمز خون گردد. بنابراین پیشنهاد می شود جهت تزریق خون در افراد مستعد نظیر بیماران دیالیزی، سرطانی و بیماران قلبی - عروقی از خون تازه و با ماندگاری کمتر از یک هفته استفاده شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از جناب آقای دکتر پورفتح الله ریاست سازمان انتقال خون ایران و سرکار خانم دکتر نادعلی استاد گروه هماتولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران و سرپرست پایگاه انتقال خون تهران و کلیه پرسنل، همکاران و مدیریت پایگاه انتقال خون بجنورد (دکتر احسان روشن روان) تشکر و قدردانی صمیمانه می گردد. (کد تصویب طرح به شماره ۲۴۳۸۵-۳۱-۰۳-۹۲ و متولی مالی آن دانشگاه علوم پزشکی تهران می باشد).

References

1. Kriebardis AG, Antonelou MH, Stamoulis KE, Economou-Petersen E, Margaritis LH, Papassideri IS, Membrane protein carbonylation in non-leukodepleted CPDA-preserved red blood cells, *Blood Cells, Molecules and Diseases*, 2006;36(2):279-82.
2. Pandey KB, Rizvi SI, Biomarkers of oxidative stress in red blood cells, *Biomedical Papers*, 2011;155(2):131-6.
3. Carocho M, Ferreira IC, A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, *Food and Chemical Toxicology*, 2013;51:15-25.
4. Bryszewska M, Zavodnik IB, Niekurzak A, Szosland K, Oxidative processes in red blood cells from normal and diabetic individuals, *Biochemistry and molecular biology international*, 1995;37(2):345-54.
5. Pandey KB, Rizvi SI, Markers of oxidative stress in erythrocytes and plasma during aging in humans, *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2010;3(1):2-12.
6. Sivilotti ML, Oxidant stress and haemolysis of the human erythrocyte, *Toxicological reviews*, 2004;23(3):169-88.
7. Küçükakin B, Kocak V, Lykkesfeldt J, Nielsen HJ, Magnussen K, Rosenberg J, "et al", Storage-induced increase in biomarkers of oxidative stress and inflammation in red blood cell components, *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 2011;71(4):299-303.
8. Alamdari DH, Ghayour-Mobarhan M, Tavallaie S, Parizadeh MR, Moohebati M, Ghafoori F, "et al", Prooxidant-antioxidant balance as a new risk factor in patients with angiographically defined coronary artery disease, *Clinical biochemistry*, 2008;41(6):375-80.
9. Hess JR, Red cell storage, *Journal of proteomics*, 2010;73(3):368-73.
10. Falsoleiman H, Dehghani M, Moohebati M, Fazlinezhad A, Daloe MH, Alamdari DH, "et al", Changes in pro-oxidant-antioxidant balance after bare metal and drug eluting stent implantation in patients with stable coronary disease, *Clinical biochemistry*, 2011;44(2):160-4.
11. Parizadeh SM, Azarpazhooh MR, Moohebati M, Nematy M, Ghayour-Mobarhan M, Tavallaie S, "et al", Simvastatin therapy reduces prooxidant-antioxidant balance: results of a placebo-controlled cross-over trial, *Lipids*, 2011;46(4):333-40 [Persian].
12. Shazia Q, Mohammad Z, Rahman T, Shekhar HU, Correlation of oxidative stress with serum trace element levels and antioxidant enzyme status in Beta thalassemia major patients: a review of the literature, *Anemia*, 2012;2012.
13. Józwiak M, Józwiak M, Józwiak M, Szczypka M, Gajewska J, Laskowska-Klita T, Antioxidant defence of red blood cells and plasma in stored human blood, *Clinica chimica acta*, 1997;267(2):129-42.
14. Rinalducci S, Ferru E, Blasi B, Turrini F, Zolla L, Oxidative stress and caspase-mediated fragmentation of cytoplasmic domain of erythrocyte band 3 during blood storage, *Blood Transfusion*, 2012;10(Suppl 2):s55.
15. Chaudhary R, Likidililid A, Peerapatdit T, Tresukosol D, Srisuma S, Ratanamaneechat S, "et al", Apolipoprotein E gene polymorphism: effects on plasma lipids and risk of type 2 diabetes and coronary artery disease, *Cardiovasc Diabetol*, 2012;11:36.
16. Deyhim MR NZ, Jalili MA, Maghsoudloo M, Khoshnaghsh F. Alternation in Erythrocyte Enzyme Antioxidant Activity during Blood Storage, *IRANIAN JOURNAL OF BLOOD AND CANCER*, 2014;6(2):5.
17. Ogunro P, Ogunbamigbe T, Muhibi M, The influence of storage period on the antioxidants level of red blood cells and the plasma before transfusion, *African journal of medicine and medical sciences*, 2010;39(2):99-104.
18. Korgun DK, Bilmen S, Yesilkaya A, Alterations in the erythrocyte antioxidant system of blood stored in blood bags, *Research communications in molecular pathology and pharmacology*, 2000;109(5-6):357-63.

19. Aslan R, Sekeroğlu M, Tarakçıoğlu M, Köylü H, Investigation of malondialdehyde formation and antioxidant enzyme activity in stored blood, *Haematologia*, 1996;28(4):233-7.
20. Gultekin F, Akdogan M, Altuntas I, Delibas N, Kaptanagasi M, Changes in erythrocyte lipid peroxidation and antioxidant potential during storage of blood and protective effect of melatonin, *J Biochem*, 2000;25:83-91.
21. Marjani A, Mansoorian A, Joshaghani H, Heydari K, Sarikhani A, The Alterations of Plasma Lipid Peroxidation and erythrocyte Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Enzyme Activities During Storage of Blood, *Medical Laboratory Journal*, 2007;1(1):0-0[Persian].

Evaluation of pro-oxidant-antioxidant balance (PAB) in blood storage in consecutive weeks after donation

Original
Article

Barzegar¹, Nadali F^{2*}, Pourfatollah AA³, Abbaspour AR⁴, Farokhinia S⁵, Shiravand Y¹

¹MSc, Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Tehran university of Medical Sciences, Tehran, Iran

²PhD, Associate Professor, Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Tehran university of Medical Sciences, Tehran, Iran

³PhD, Iranian Blood Transfusion Research Center and Tehran Blood Transfusion Center, Tehran, Iran Department of Immunology, School of medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

⁴PHD, Assistant Professor of Biochemistry Department, School of medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnourd, Iran

⁵BSc, Imam Ali hospital, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnourd, Iran

***Corresponding Author:** School of Allied Medical Sciences, Tehran university of Medical Sciences, Tehran, Iran

Email: Nadalifa@yahoo.com

Abstract

Background & Objectives: Over 90 years, the blood suspension has been used to save the lives of many people. Nowadays, by the use of new techniques and blood bags, separation and storage of blood components have become possible outside the body. However, the effects of blood storage bags challenge blood transfusion. One of the side effects is oxidative stress that increases as a result of an imbalance between reactive oxygen species and antioxidants. The aim of this study was to investigate the balance of pro - oxidant - antioxidant (PAB) in consecutive weeks after blood donation.

Material and Methods: 100 blood bags produced from people's blood between 18 to 57 years old averaging 35.5 years in blood donation center of Bojnourd. The bags were kept in standard conditions for 5 weeks and after checking the health of blood in each week the needed amount were taken for examination. PAB tests were performed on samples every week.

Results: Findings showed a significant increase in oxidant - antioxidant balance in consecutive weeks after blood donation ($p=0.000$). It was also found that oxidants increase in the first week after the donation.

Conclusion: Oxidative stress gradually increases in blood bags as time passes after taking the bloods.

Keyword: pro-oxidant – antioxidant balance, blood bags, oxidative stress

Journal of North Khorasan University 2015;7(1): 37-44

Recieved:10 Mar 2015
Revised:13 Apr 2015
Accepted:27 Apr 2015