جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

خون
دوره ۸ شماره ۴ زمستان ۹۰ (۲۴۱-۲۳۴)
مقاله پژوهشی

میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت در دو محیط مختلف پلاسما و کمپوسول

شیما آزادپور[۱]، فاطمه یاری[۲]، شهرام وائلی[۳]

چکیده

سابقه و هدف

پلاکت‌های فعال شده در پاسخ به محرک‌های خاص، میکروپارتیکل‌ها را در بدن و یا با گذشت زمان، در طول ذخیره در کیسه پلاکتی، آزاد می‌نمایند. هدف از این مطالعه، مقایسه تاثیر دو محیط ذخیره متفاوت شامل پلاسما و محلول افزودنی(کمپوسول) بر تولید میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت در طول زمان نگهداری بود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه تجربی، ۳۰ کیسه کنسانتره پلاکتی از بانک خون ایران تهیه و به دو بخش با حجم یکسان تقسیم شد و سپس پلاسمای یکی از این بخش‌ها با محلول افزودنی کمپوسول جایگزین گردید. از هردو نوع کیسه در روزهای ۲، ۴ و ۷ ذخیره، نمونه‌برداری شد. میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت جدا شده و جهت تعیین غلظت آن‌ها از روش اندازه‌گیری غلظت پروتئینی برادفورد استفاده شد. نتایج با استفاده از آزمون آماری t تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

تولید میکروپارتیکل‌های پلاکتی در دو محیط نگهداری مختلف، در طول زمان ذخیره افزایش می‌یابد. تفاوت غلظت نهایی میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت در فرآورده کنسانتره پلاکتی، در روز ۴ ذخیره در دو محیط پلاسما وکمپوسول معنادار نبود در حالی که در روز ۷ ذخیره این تفاوت معنادار شد و در پلاسما بیش از کمپوسول گردید($p< ۰/۰۵$).

نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، در میزان تولید میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت در دو محیط مختلف نگهداری(پلاسما و کمپوسول)، تفاوت معناداری وجود نداشت. هر چند پس از ۷ روز این تفاوت معنادار گردید و برای پلاسما نسبت به کمپوسول افزایش نشان داد که خود می‌تواند یک مزیت برای محیط نگهداری کمپوسول از این جهت محسوب گردد.

کلمات کلیدی: پلاکت‌ها، میکروپارتیکل‌های مشتق سلولی، پلاسما

تاریخ دریافت : ۹۰/۲/۲۸
تاریخ پذیرش : ۹۰/۶/۱۳

۱- کارشناس ارشد هماتولوژی ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۲ـ مؤلف مسؤول: PhD ایمنی‌شناسی پزشکی ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵
۳- دکترای علوم آزمایشگاهی ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

فرآورده‌های پلاکتی، زمان نگهداری کوتاهی داشته و در پایان این زمان غیرقابل مصرف می‌شوند. در این رابطه مطالعه‌های مختلفی در دست انجام است تا بتوان این زمان را افزایش داد. این مطالعه‌ها به کمک استفاده از محلول‌های افزودنی و جایگزین، ایجاد پلاکت فریز شده، پلاکت ذخیره شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، پلاکت لیوفیلیزه و استفاده از میکروپارتیکل‌های مشتق شده از پلاکت به عنوان جایگزین‌های پلاکتی در حال انجام است(۲، ۱). محلول‌های افزودنی مختلفی جهت کمک به افزایش بقای پلاکت و کاهش آسیب‌های ایجاد شده در آن‌ها در طول زمان نگهداری پلاکت(storage lesion) تحت مطالعه هستند. این محلول‌ها در مطالعه‌های مختلف ممکن است به شکل تجاری و یا بر اساس فرمول آن‌ها ساخته شوند یا حتی یک محلول با فرمول جدید ارایه گردد. این محلول‌ها با ۸۰٪-۷۰٪ پلاسمای کیسه پلاکت جایگزین می‌شوند و حداقل مزایای اثبات شده زیر برای آن‌ها ذکر شده است:۱- کاهش واکنش‌های آلرژیک ۲- کاهش واکنش‌های تب‌زای انتقال خون ۳- کاهش انتقال آنتی‌بادی‌های ناخواسته(برای مثال بر علیه ABO ، HLA) و ۴- افزایش مقدار ذخیره پلاسما جهت تهیه فراکسیون مانند: IVIG ، فاکتورهای انعقادی و آلبومین(۴، ۳). تقریباً سه دهه از مطالعه روی محلول‌های افزودنی PAS (Platelet Additive Solution) می‌گذرد. این محلول‌های افزودنی نمکی، فرمولاسیونی ساده دارند(۶، ۵). محلول افزودنی کمپوسول بدون گلوکز و حاوی استات، پتاسیم ومنیزیم می‌باشد که اثرات هر کدام از این مواد روی پلاکت در مطالعه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است(۸، ۷). استات به عنوان سوخت متابولیکی دوم پلاکتی و به عنوان بافر در محلول‌های افزودنی به کار برده می‌شود(۹). این ماده به عنوان عامل افزایش تنفس پلاکتی و کاهش گلیکولیز در این محیط عمل می‌نماید(۱۰). میکروپارتیکل‌های پلاکتی به طور خود به خودی در طول ذخیره پلاکت شکل می‌گیرند و در کنسانتره‌های پلاکتی، پلاسمای تازه منجمد شده و رسوب کرایو یافت می‌شوند. اندازه آن‌ها، ۰/۱ تا ۱ میکرون بوده و توانایی اتصال به لایه زیر اندوتلیال، تقویت چسبندگی پلاکتی و هم چنین فعالیت پیش انعقادی را دارند(۱۱). میکروپارتیکل‌ها در شرایط فیزیولوژی و یا پاتولوژی، از غشاهای سلولی جوانه زده و در غلظت‌های پایین در پلاسمای طبیعی وجود دارند. میکروپارتیکل‌ها علاوه بر پلاکت‌ها از سلول‌های اندوتلیال، منوسیت، گلبول‌های قرمز و گرانولوسیت نیز تولید می‌شوند و گیرنده‌های سلولی متفاوتی را بیان می‌کنند که از نظر کمیت و کیفیت بر اساس سلول منشا و مکانیسمی که باعث تشکیل آن‌ها شده است، متفاوت هستند(۱۳، ۱۲). میکروپارتیکل‌های پلاکتی، فراوان‌ترین میکروپارتیکل‌ها در جریان خون بوده و تقریباً ۷۰ تا ۹۰ درصد از میکروپارتیکل‌های جریان خون را تشکیل می‌دهند(۱۴). این میکروپارتیکل‌ها در نمونه‌های پلاسمای نرمال شناسایی شده و در سرم، غلظتی ۱۰ برابر پلاسما دارند(۱۵).

در این پژوهش تاثیر دو محیط متفاوت ذخیره کنسانتره پلاکتی(پلاسما و کمپوسول) بر روند تولید و غلظت نهایی میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت در طول زمان نگهداری در روزهای ۲، ۴ و ۷ ذخیره مورد بررسی قرار گرفته است تا جنبه دیگری از مقایسه فرآورده کنسانتره پلاکتی در دو محیط نگهداری مختلف روشن گردد.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه تجربی، ۳۰ کنسانتره پلاکتی از اهداکنندگان خون مراجعه کننده به پایگاه تهران به شکل تصادفی تهیه گردید و هیچ انتخابی در مورد گروه خونی، حجم، شکل ظاهری کیسه‌های پلاکت و یا نوع اهداکننده انجام نشد. به دلیل زمان لازم جهت تکمیل آزمایش‌های غربالگری ویروسی(HIV، HCV و HBV) روی فرآورده‌های خونی، کنسانتره‌های پلاکتی ۱۲ تا نهایتاً ۲۴ ساعت پس از زمان خونگیری تحویل گرفته شدند. نحوه انتقال کیسه‌های پلاکتی به دلیل دمای نگهداری پلاکت(۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد)، بدون یخ و در دمای محیط، در کمترین زمان ممکن(حداکثر ۹۰ دقیقه) پس از تحویل انجام شد، هم چنین به دلیل این که این مطالعه به صورت مقایسه‌ای صورت گرفته، حمل و نقل اثری روی نتایج این تحقیق نداشت.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

سپس هر کنسانتره طی فرآیند تبدیل کیسه کنسانتره پلاکتی به دو کیسه مجزا و جایگزین نمودن پلاسما با کمپوسول، تبدیل به دو کنسانتره پلاکتی شد و در روزهای دوم، چهارم و هفتم از هر دو بخش کنسانتره نمونه‌گیری صورت گرفت و مطالعه مذکور روی این نمونه‌ها انجام شد. علت انتخاب روز دوم برای نمونه‌گیری، تکمیل آزمایش‌های غربالگری ویروسی پس از تهیه کنسانتره پلاکتی در پایگاه انتقال خون تهران بود.

پس از تحویل(تعداد کیسه‌های تحویل گرفته شده در هر روز ۶ تا ۱۰ عدد بوده است) و انتقال کنسانتره‌های پلاکتی به آزمایشگاه، برای دو قسمت نمودن هر کیسه و جایگزین کردن پلاسما با محلول افزودنی(کمپوسول)، کنسانتره‌های پلاکتی به بخشی که دارای تجهیزات لازم برای این امر می‌باشد، منتقل شدند. قبل از شروع هر مرحله کاری، شماره برچسب کیسه‌های کنسانتره، تاریخ تحویل، تاریخ تهیه، زمان تحویل و زمان شروع کار در فرم مخصوص این کار ثبت شده و سپس به هر کدام از کیسه‌ها، کد شناسه مخصوص این مطالعه داده شد. در نهایت وزن هر یک از کیسه‌های کنسانتره پلاکتی در فرم مذکور ثبت گردید. در مرحله بعد برای این که کنسانتره پلاکتی به دو قسمت مساوی تقسیم شود(درسیستم بسته)، لازم بود از کیسه‌های جمع‌آوری خون(چهارتایی) که حاوی سه کیسه اقماری و یک کیسه حاوی ماده ضد انعقاده/نگهدارنده(CPDA) بود، استفاده شود. برای جداکردن دو کیسه اقماری از هر یک از کیسه‌های جمع‌آوری خون مذکور به شکل استریل و حذف کیسه حاوی ماده ضد انعقاد/نگهدارنده، از دستگاه جداکننده برقی(Sealer) استفاده شد. سپس کیسه‌های اقماری دو تایی با کوردهای مناسب و استریل، برای اتصال به هر کدام از کنسانتره‌های پلاکتی تهیه شد. اتصال کیسه‌های اقماری به کیسه‌های حاوی کنسانتره پلاکتی باید به شکل استریل جهت ایجاد یک سیستم بسته انجام می‌شد، برای رسیدن به این هدف از دستگاه متصل کننده استریل که امکان اتصال کوردهای کیسه را بدون باز کردن کیسه‌ها فراهم نموده و یک سیستم بسته بین کیسه کنسانتره پلاکتی و کیسه‌های اقماری ایجاد می‌نماید، استفاده شد. پس از اتصال هر کیسه کنسانتره پلاکتی به کیسه اقماری دوتایی، اقدام به تقسیم کیسه‌های کنسانتره پلاکتی شد. برای تهیه دو کیسه یکسان از هر کنسانتره پلاکتی، لازم است که هر دو قسم کیسه تهیه شده به مقدار برابر حاوی پلاسما و پلاکت باشند. برای این کار، وزن کنسانتره پلاکتی که قبلاً ثبت شده بود را از وزن کیسه خالی(مشابه کیسه کنسانتره) کسر نموده و عدد به دست آمده بیانگر وزن خالص پلاکت و پلاسمای داخل کیسه کنسانتره می‌باشد. وزن خالص پلاسما و پلاکت را تقسیم بر دو کرده و عدد حاصل، نصف وزن خالص پلاسما و پلاکت داخل هر کیسه کنسانتره پلاکتی می‌شود. سپس وزن خالی هر کیسه را با نصف وزن خالص پلاسما و پلاکت جمع نموده تا وزن نهایی هر قسمت یک کنسانتره پلاکتی به دست آید. پس از محاسبه‌های مذکور و محاسبه وزن هر قسم از یک کنسانتره پلاکتی با کمک ترازوی دیجیتال Sartorius-GE4101 با دقت(۰/۱ gr)، اقدام به تقسیم کنسانتره شد. لازم به ذکر است در این مطالعه، تهیه نمونه از کنسانتره در روزهای مختلف بدون باز کردن کیسه‌ها انجام شده است. برای این کار قسمت عمده کورد روی هر کیسه باقی گذاشته شد و با کمک سیلر دستی، کوردها از محتویات کیسه پر شده و در نهایت کوردهای مذکور با کمک سیلر برقی از کیسه کنسانتره جدا شدند. کیسه اولیه که اکنون حاوی نیمی از پلاسما و پلاکت بود به انکوباتور مخصوص پلاکت(دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد و همراه با آژیتاسیون) منتقل شد.

در مرحله بعد، پلاسمای کیسه با سانتریفوژ کردن حذف(پلاسما به کیسه دیگر منتقل شده) و به رسوب پلاکتی حاصل، محلول نگهدارنده کمپوسول(Additive Solution) در حجمی معادل حجم پلاسمای برداشت شده اضافه گردید. لازم به ذکر است در این تعویض پلاسما با محلول نگهدارنده کمپوسول، حدود ۱۵درصد پلاسما در کیسه باقی می‌ماند. برای سانتریفوژ نمودن این کیسه‌ها در سانتریفوژ مخصوص تهیه فرآورده‌های خونی، کیسه‌ها در ابتدا به شکل ایستاده(قسمت کوردها بیرون از راک نگهدارنده کیسه‌ها) قرار داده شده و با کمک قطعات پلاستیکی، وزن راک‌ها جهت ایجاد بالانس در سانتریفوژ تنظیم شد. سپس کیسه‌ها را سانتریفوژ کرده و با کمک

فشارنده دستی(Extractor)، پلاسمای روی رسوب پلاکتی به کیسه دیگر منتقل شد. برای جلوگیری از برگشت پلاسما به کیسه، به کورد آن کلیپس زده شده و بلافاصله با کمک سیلر برقی، پلاسما از کیسه جدا گردید. سپس حجم پلاسمای برداشت شده، با ترازو تعیین شده و محلول نگهدارنده کمپوسول تجاری به کمک دستگاه متصل کننده استریل(Connection Device) به مقدار پلاسمای برداشت شده به کیسه‌ها منتقل گردید. متعاقباً کیسه‌هایی که به آن‌ها کمپوسول اضافه شده بود با کمک دستگاه سیلر برقی از کیسه کمپوسول جدا و سپس کیسه‌ها به انکوباتور مخصوص نگهداری پلاکت منتقل شدند.

پس از نمونه‌گیری از کیسه‌ها، محتویات کورد یا کیسه به لوله‌های آزمایش منتقل گردید. جهت خروج پلاکت‌ها، لوله‌ها را به مدت ۸ دقیقه در ۱۲۰۰ gr سانتریفوژ نموده و محلول رویی حاوی پلاسما و میکروپارتیکل‌های پلاکتی جمع‌آوری گردید. جهت حذف پلاسما، چند مرحله شستشو با سالین انجام گرفت. جهت تعیین غلظت میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت در طول زمان نگهداری، از روش اندازه‌گیری غلظت پروتئینی برادفورد استفاده شد. در این روش، معرف برادفورد به شیوه زیر تهیه گردید: ۱۰۰ میلی‌گرم کوماسی‌بلو G-250 (Coomassie Brilliant Blue) را در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد حل کرده و سپس این محلول را با ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد مخلوط نموده و محلول حاصل با آب مقطر به حجم ۱ لیتر رسانیده شد. معرف تهیه شده با استفاده از کاغذ واتمن فیلتر شده و در دمای اتاق، در شیشه تیره نگهداری گردید. در ادامه پروتئین BSA (Bovin Serum Albumin) با غلظت ۱۰۰۰ µg/ml به عنوان ذخیره در تهیه غلظت‌های مختلف پروتئین استاندارد(۸۰۰ µg/ml، ۴۰۰، ۲۰۰، ۵۰ و ۰) مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های استاندارد تهیه شده در تعیین غلظت میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت به کار برده شد. برای اندازه‌گیری غلظت پروتئینی میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت در روش برادفورد، ابتدا از هر نمونه(استاندارد و نمونه‌های مجهول) ۵۰ میکرولیتر برداشته و در لوله‌های آزمایش از قبل شماره‌گذاری شده، ریخته شد و سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف تهیه شده برادفورد به هر لوله اضافه گردید. پس از یکنواخت‌سازی، جذب نوری نمونه‌ها به طور هم زمان در طول موج ۵۹۵ خوانده شد. منحنی استاندارد ترسیم و از جذب نوری نمونه‌های مجهول در سنجش غلظت‌آن‌ها استفاده شد. نتیجه نهایی در ضریب رقت ضرب گردید.

یافته‌ها

در طول ذخیره فرآورده پلاکت کنسانتره به مدت هفت روز، تغییرات قابل مشاهده چشمی در میزان تجمع (Aggregation) سلولی مشاهده شد. فرآورده پلاکتی نگهداری شده در محیط پلاسما، در روز ۷ ذخیره در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و تحت آژیتاسیون، اشکال مجتمع و آگرگیت نشان داد در حالی که این اشکال مجتمع در فرآورده نگهداری شده در محیط کمپوسول مشهود نبود.

افزایش کدورت فرآورده پلاکتی در طول زمان ذخیره پس از انجام سانتریفوژ و حذف پلاکت‌ها می‌توانست مؤید افزایش تولید میکروپارتیکل‌ها در این زمان باشد.

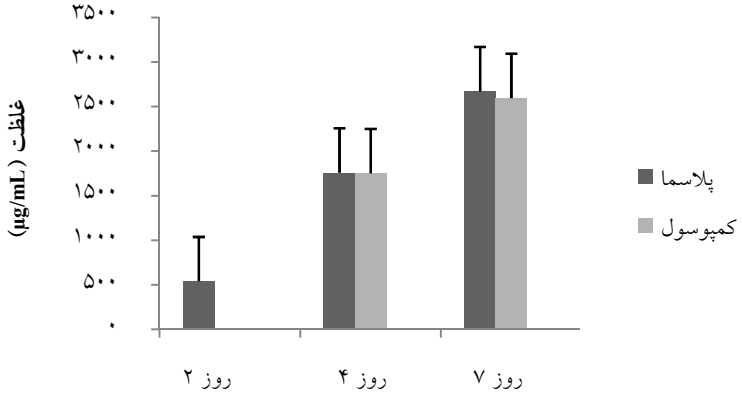
در روز دوم(۲۴ ساعت بعد از خونگیری)، پس از تبدیل هر واحد کنسانتره پلاکتی به دو واحد مجزا و جایگزینی پلاسما با محلول افزودنی کمپوسول، غلظت پروتئینی میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت در نمونه‌های کنسانتره پلاکتی اولیه که حاوی پلاسما بود تعیین شد. غلظت پروتئینی میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت در کنسانتره پلاکتی حاوی پلاسما در طول ۷ روز نگهداری، روند رو به افزایش نشان داد و این روند در کنسانتره پلاکتی حاوی محلول افزودنی کمپوسول نیز صدق می‌نماید(جدول و نمودار ۱).

افزایش تعداد میکروپارتیکل‌های پلاکتی در طی جداسازی آن‌ها با مقایسه میزان کدورت آن‌ها قابل استنتاج می‌باشد، به این صورت که میانگین غلظت پروتئینی میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت و انحراف معیار اندازه‌گیری شده در نمونه‌های کنسانتره پلاکتی حاوی پلاسما در روزهای ۲، ۴ و ۷ به ترتیب ۱۰۱ ± ۵۳۶، ۳۳۲ ± ۱۷۵۶ و ۴۰۹ ± ۲۶۶۸ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد. از طرف دیگر میانگین غلظت پروتئینی میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت و انحراف معیار اندازه‌گیری شده در

جدول ۱: میانگین غلظت پروتئینی میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت اندازه‌گیری شده در نمونه‌های کنسانتره پلاکتی حاوی پلاسما و کمپوسول در روزهای ۲، ۴ و ۷

	روز ۲	روز ۴	روز ۷
غلظت میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت در محیط پلاسما (میکروگرم در میلی‌لیتر)	۵۳۶ ± ۱۰۱	۱۷۵۶ ± ۳۳۲	۲۶۶۸ ± ۴۰۹
غلظت میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت در محیط کمپوسول (میکروگرم در میلی‌لیتر)	- *	۱۷۴۹ ± ۳۱۹	۲۵۹۴ ± ۳۳۴

* روز ۲، روز انتقال پلاکت به محیط کمپوسول می‌باشد بنابراین اندکس قابل اندازه‌گیری در این روز در محیط کمپوسول وجود ندارد.



نمودار ۱: نمودار مقایسه میانگین غلظت میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت در روزهای ۲، ۴ و ۷ نگهداری در دو محیط پلاسما و کمپوسول

نمونه‌های کنسانتره پلاکتی حاوی کمپوسول در روزهای ۴ و ۷ به ترتیب ۳۱۹ ± ۱۷۴۹ و ۳۳۴ ± ۲۵۹۴ میکروگرم در میلی‌لیتر معین گردید. نتایج حاصل از آزمون آماری Paired Samples T-Test نشان داد که در هر یک از دو محیط پلاسما وکمپوسول، تفاوت معناداری در روند تولید و غلظت نهایی میکروپارتیکل‌های مشتق از پلاکت در روزهای ۴ و۷ ذخیره وجود دارد(p= ۰/۰۰۱). از طرف دیگر، غلظت نهایی این میکروپارتیکل‌ها در دو محیط (پلاسما و کمپوسول) در روز ۴ ذخیره تفاوت معنادار نشان نمی‌دهد در حالی که در روز ۷ در دو محیط (پلاسما و کمپوسول)، این تفاوت معنادار می‌گردد و در محیط پلاسما بیش از محیط کمپوسول است.

بحث

مدت زمان نگهداری فرآورده‌های پلاکتی کوتاه بوده و پس از انقضای این زمان، غیر قابل مصرف می‌گردند. در این رابطه مطالعه‌های مختلفی در دست انجام است تا بتوان این زمان را افزایش داد. چنانچه بتوان با تغییر محیط نگهداری(با محلول افزودنی مناسب)، زمان بقای پلاکت را افزایش داد، از هدر رفتن تعداد زیادی واحدهای پلاکتی پس از زمان انقضا(که درحال حاضر ۵-۳روز است) جلوگیری می‌گردد(۲).

میکروپارتیکل‌های پلاکتی، وزیکول‌های غشایی هستند که از پلاکت‌های فعال شده آزاد می‌شوند و بسیاری از خصوصیات آنتی‌ژنی پلاکت از جمله GPIb و GPIIb را دارا می‌باشند. این میکروپارتیکل‌ها توسط روش‌های رایج شمارش پلاکت مشخص نمی‌شوند اما توسط روش فلوسیتومتری و برخی روش‌های دیگر قابل شناسایی هستند(۱۶). میکروپارتیکل های پلاکتی در ابتدا به دلیل ویژگی فعالیت پیش انعقادیشان، مطالعه شدند و مطالعه‌های بعدی، شرکت آن‌ها را در پاتوفیزیولوژی بیماری‌ها به خصوص بیماری‌های عروقی نشان داد. میزان این

میکروپارتیکل‌ها در بسیاری از بیماری‌های وابسته به ترومبوز مانند: ترومبوسیتوپنی القا شده توسط هپارین(HIT)، سپسیس، پورپورای ترومبوتیک ترومبوسیتوپنیک(TTP)، پورپورای ترومبوسیتوپنیک ایمنی (ITP)، دیابت قندی، بیماری‌های قلبی عروقی و سقط خود به خودی مکرر، افزایش می‌یابد. در ITP به نظر می‌رسد که سطح افزایش یافته میکروپارتیکل‌های پلاکتی در برابر خونریزی، محافظت‌کننده باشد(۱۹-۱۷، ۱۵). این اطلاعات پیشنهاد می‌کند که ریزش میکروپارتیکل از غشای پلاکت‌های فعال شده، می‌تواند در هموستاز و ترومبوز نقش داشته باشد(۱۹).

در این مطالعه، از محیط نمکی کمپوسول به عنوان محیط جایگزین پلاسما در نگهداری فرآورده پلاکت کنسانتره استفاده شد. علت این انتخاب، وجود استات در این بافر می‌باشد زیرا بر اساس مطالعه کینگر و همکارانش در سال ۱۹۹۶ روی محلول‌های افزودنی حاوی استات و بدون استات، مشخص شد که برای کاهش آسیب‌های ایجاد شده در طول زمان نگهداری پلاکت (storage lesion)، محلول افزودنی حاوی استات در طول هشت روز نگهداری پلاکت، نتایج بهتری از سایر محلول‌های افزودنی داشته است(۱۷، ۸).

بررسی میکروپارتیکل‌های پلاکتی از جنبه‌های مختلف انجام شده است. از جمله، هورستمن در سال ۱۹۹۹ جنبه‌های مختلفی از میکروپارتیکل‌های پلاکتی از جمله کمیت و فعالیت‌های عملکردی(فعالیت‌های انعقادی) را شناسایی کرد. این مطالعه‌ها در رابطه با بررسی میزان تولید میکروپارتیکل‌ها در جریان خون در ارتباط با بیماران انجام شده است. جهت تعیین غلظت و تعداد میکروپارتیکل‌های پلاکتی، از روش بررسی Total Phosphate و جهت ارزیابی شاخص‌های سطحی آن‌ها، از روش فلوسیتومتری که رایج‌ترین روش مطالعه میکروپارتیکل‌ها در اکثر تحقیق‌ها می‌باشد، استفاده شده است(۱۶).

در این تحقیق غلظت میکروپارتیکل‌های تولید شده در کنسانتره پلاکتی با گذشت زمان نگهداری تا ۷ روز بررسی شد. هر چند مطالعه‌های مختلفی وجود دارند که بیانگر عملکرد و فعالیت مطلوب پلاکت کنسانتره نگهداری شده در محیط‌های نمکی حاوی محلول‌های افزودنی می‌باشند(۶، ۵). درخصوص تولید میکروپارتیکل‌ها در فرآورده کنسانتره پلاکتی، مطالعه‌ها محدود می‌باشد. از جمله می‌توان به مطالعه آیرس در سال ۲۰۱۰ اشاره نمود. در این مطالعه، ایجاد میکروپارتیکل‌های پلاکتی در کنسانتره پلاکتی با استفاده از روش فلوسیتومتری بررسی گردیده و مشخص شد که تعداد میکروپارتیکل‌های پلاکتی با گذشت زمان در این فرآورده افزایش می‌یابد(۲۰). مطالعه مشابهی که در آن میزان تولید میکروپارتیکل‌ها در فرآورده پلاکتی در طول زمان نگهداری را به دو محیط نگهداری مختلف تعمیم دهد، یافت نگردید.

نتیجه‌گیری

میزان تولید میکروپارتیکل‌های پلاکتی در محیط نگهداری پلاسما در طول ۷ روز نگهداری نسبت به کمپوسول افزایش نشان می‌دهد که خود می‌تواند یک مزیت برای محیط نگهداری کمپوسول محسوب گردد. جایگزینی قطعی محلول افزودنی با پلاسما در فرآورده پلاکتی، مستلزم تلاش بیشتر در جهت انجام آزمایش‌های تکمیلی در آینده می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از سازمان انتقال خون ایران به دلیل حمایت مالی تشکر و قدردانی می‌گردد.

References :

1- Fisk JM, Pisciotto PT, Snyder EL, Perrota PL. Platelets and related product s. In: Hillyer CD, editor. Blood banking and transfusion medicine, basic principle and practice. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2001. p. 308-41.
2- Lee DH, Blajchman MA. Novel treatment modalities: new platelet preparations and substitutes. Br J Haematol 2001; 114(3): 496-505.
3- Slichter SJ, Bolgiano D, Jones MK, Christoffel T, Corson J, Rose L, *et al*. Viability and function of 8-day-stored apheresis platelets. Transfusion 2006; 46(10): 1763-9.
4- Blajchman MA. Novel platelet products, substitutes and alternatives. Transfus Clin Biol 2001; 8(3): 267-71.
5- Van der Meer PF, Pietersz RN, Reesink HW. Storage of platelets in additive solution for up to 12 days with maintenance of good *in-vitro* quality. Transfusion 2004; 44(8): 1204-11.
6- Cardigan R, Sutherland J, Garwood M, Bashir S, Turner C, Smith K, *et al*. *In vitro* function of buffy coat-derived platelet concentrates stored for 9 days in CompoSol, PAS II or 100% plasma in three different storage bags. Vox Sang 2008; 94(2): 103-12.
7- Gulliksson H, AuBuchon JP, Cardigan R, van der Meer PF, Murphy S, Prowse C, *et al*. Storage of platelets in additive solutions: a multicentre study of the *in vitro* effects of potassium and magnesium. Vox Sang 2003; 85(3): 199-205.
8- Gulliksson H. Storage of platelets in additive solutions: the effect of citrate and acetate in *in vitro* studies. Transfusion 1993; 33(4): 301-3.
9- Kaufman RM. Platelets: testing,dosing and the storage lesion--recent advances. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2006: 492-6.
10- Holme S. Effect of additive solutions on platelet biochemistry. Blood Cells 1992 ; 18(3) : 421-30: discussion 431-4.
11- Blajchman MA. Substitutes and alternatives to platelet transfusions in thrombocytopenic patients. J Thromb Haemost 2003; 1(7): 1637-41.
12- Alving BM, Reid TJ, Fratantoni JC, Finlayson JS. Frozen platelets and platelet substitutes in transfusion medicine. Transfusion 1997; 37(8): 866-76.
13- Piccin A, Murphy WG, Smith OP. Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. Blood Rev 2007; 21(3): 157-71.
14- Flaumenhaft R. Formation and fate of platelet microparticles. Blood Cells Mol Dis 2006; 36(2): 182-7.
15- George JN, Thoi LL, McManus LM, Reimann TA. Isolation of human platelet membrane microparticles from plasma and serum. Blood 1982; 60(4): 834-40.
16- Horstman LL, Ahn YS. Platelet microparticles: a wide-angle perspective. Crit Rev Oncol Hematol 1999; 30(2): 111-42.
17- Klinger MH. The storage lesion of platelets: ultrastructural and functional aspects. Ann Hematol 1996; 73(3): 103-12.
18- Kaptan K, Beyan C, Ifran A, Pekel A. Platelet-derived microparticle levels in women with recurrent spontaneous abortion. Int J Gynaecol Obstet 2008; 102(3): 271-4.
19- Cohen Z, Gonzales RF, Davis-Gorman GF, Copeland JG, McDonagh PF. Thrombin activity and platelet microparticle formation are increased in type 2 diabetic platelets: a potential correlation with caspase activation. Thromb Res 2002; 107(5): 217-21.
20- Ayers L, Kohler M, Harrison P, Sargent I, Dragovic R, Schaap M, *et al*. Measurement of circulating cell-derived microparticles by flow cytometry: Sources of variability within the assay. Thromb Res 2011; 127(4): 370-7.

خون

Original Article

Generation of platelet-derived microparticles during storage in two different storage media

Azadpour Sh.[1], Yari F.[1], Vaeli Sh.[1]

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

Abstract

Background and Objectives

Activated platelets release microparticles (MPs) *in vivo* or in the platelet concentrate (PC) product in response to some stimulators. This study compared the two different storage media of plasma and Composol for PC regarding the extent of MPs formation as a new index for comparing platelet stability.

Materials and Methods

In this experimental study, 30 PC units were prepared. The platelets were divided into two equal portions. Plasma was replaced with the additive solution of Composol in one of the portions. Sampling was carried out at the days 2, 4 and 7 after storage. Afterwards, the MPs were separated and their concentrations were collected using Bradford method. T-tests was used to compare the results of this experiment.

Results

The results showed that the amounts of MPs increased during the storage. In each media of plasma or Composol, the concentration of MPs showed a significant difference between the days 4 and 7 of the storage. Besides, the final concentration of MPs did not show a significant difference between the two media at the day 4 of the storage whereas this difference was significant at the day 7 of storage ($p<0.05$).

Conclusions

There were no significant differences in the quantity of MPs in PCs stored in plasma or Composol up to the day 4 of the storage. This difference became significant after 7 days of the storage, in which the generation of MPs showed significant increase in plasma than Composol. These observations revealed an advantage for Composol as a PC storage medium.

Key words: Platelets, Cell-Derived Microparticles, Plasma

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2012; 8(4): 234-241

Received: 18 May 2011
Accepted: 4 Sep 2011

Correspondence: Fatemeh Yari., Ph.D of Immunology. 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) 82052237; Fax : (+9821) 88601555
E-mail: *f.yari@ibto.ir*