



Comparative Analysis of Oxidative Damage and Metabolic Parameters in Red Blood Cells Stored in CPDA1 and CPD+SAGM

Zahra Rahimi Sabet¹, Maryam Ghobeh¹ , Mona Khorshifar² , Mohammad Reza Deyhim³

¹Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

²UBC Center Heart Lung Innovation, British Columbia, Vancouver, Canada

³Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran



Received: 2025/04/15
Accepted: 2025/06/10

<http://dx.doi.org/10.61882/bloodj.22.2.123>

Citation:

Rahimi Sabet Z, Ghobeh M, Khorshidfar M, Deyhim M.R. Comparative Analysis of Oxidative Damage and Metabolic Parameters in Red Blood Cells Stored in CPDA1 and CPD+SAGM. J Iran Blood Transfus. 2025; 22 (2): 123-136

Correspondence: Deyhim M.R., 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) 82052180
E-mail: m.deyhim@tmi.ac.ir

ABSTRACT

Background and Objectives

During storage, Red Blood Cells (RBCs) undergo a series of morphological and functional changes that diminish their survival and function, and collectively are known as Red Blood Cell storage lesion. Oxidative damage and metabolic changes in RBCs are the main causes of this lesion. This study aimed to evaluate RBC storage lesion using oxidative and metabolic parameters in two distinct preservation systems: CPDA1 and CPD combined with SAGM.

Materials and Methods

In this experimental study, carried out at the Blood Transfusion Research Center, five RBC units containing CPDA1 and five with CPD+SAGM were selected through simple random sampling. Oxidative and metabolic parameters were evaluated over a 42-day storage period, with evaluations conducted on days 0, 2, 7, 14, 21, 28, 35, and 42. For each sampling point, parameter measurements were performed in duplicate. Independent t-tests and Mann-Whitney tests were used to compare variables at each time between groups. A two-way variance test with repeated measures was employed point to evaluate the trend of changes within the group over time.

Results

The findings indicated that the activity of lactate dehydrogenase (LDH) and the concentration of lactate exhibited a markedly lower increase in the CPD+SAGM group compared to the CPDA1 group ($p<0.05$). Furthermore, the glucose concentration and pH exhibited a less reduction in the CPD+SAGM group than in the CPDA1 group ($p<0.05$). In a pairwise group, comparison of malondialdehyde (MDA) and total oxidant concentration showed a less increase in the CPD+SAGM group when compared to the CPDA1 group across various days of RBC storage, particularly from the day 7 onward ($p<0.05$).

Conclusions

The results of this study showed that SAGM more effectively mitigates the RBC storage lesion compared to CPDA1 by maintaining metabolic activity and reducing oxidative damage. This may contribute to better preservation of RBC survival and improvement of the quality during storage. However, further studies are required at both *in vitro* and *in vivo* levels.

Key words: Red Blood Cells, Blood Banking, Oxidative Damage



Copyright © 2025 Journal of Iranian Blood Transfusion, Published by Blood Transfusion Research Center.
This work is licensed under a Creative Common Attribution-Non Commercial 4.0 International license.



بررسی مقایسه‌ای پارامترهای آسیب اکسیداتیو و متابولیزم فرآورده گلبول قرمز در دو محیط CPDA1 و CPD+SAGM در طول مدت ذخیره‌سازی

زهرا رحیمی ثابت^۱، مریم قبه^۲، مونا خورشیدفر^۳، محمدرضا دیهیم^۴

۱- کارشناس ارشد بیوشیمی - دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات - تهران - ایران
۲- PhD تخصصی بیوشیمی - استادیار گروه زیست‌شناسی - دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات - تهران - ایران
۳- PhD تخصصی هماتولوژی و بانک خون آزمایشگاهی - مرکز تحقیقات قلب و ریه دانشکده پزشکی بریتیش کلمبیا - ونکوور - کانادا
۴- PhD تخصصی بیوشیمی بالینی - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

چکیده

سابقه و هدف

گلبول‌های قرمز در طول مدت نگهداری دچار یکسری تغییرات مورفولوژیک و عملکردی شده که می‌تواند سبب کاهش بقا و کاهش عملکرد آن گردد که اصطلاحاً به آسیب ذخیره گلبول قرمز معروف می‌باشد. آسیب‌های اکسیداتیو و تغییرات متابولیکی گلبول قرمز در طی نگهداری از دلایل اصلی این آسیب‌ها می‌باشند. در این تحقیق به بررسی آسیب ذخیره گلبول قرمز با استفاده از پارامترهای آسیب اکسیداتیو و متابولیزم در دو گروه گلبول قرمز حاوی CPDA1 و گلبول قرمز حاوی CPD+SAGM پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۰ در مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون انجام گردید، ۵ فرآورده گلبول قرمز دارای CPDA1 و ۵ فرآورده دیگر حاوی SAGM+CPD، به صورت تصادفی ساده انتخاب شد و به ارزیابی پارامترهای آسیب اکسیداتیو و متابولیزم تا ۴۲ روز نگهداری در فواصل زمانی روزهای صفر، ۲، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ پرداخته شد. در هر بار نمونه‌برداری، اندازه‌گیری پارامترها به صورت ۲ بار تکرار انجام گردید. برای مقایسه متغیرها در هر نوبت اندازه‌گیری بین گروه‌ها از آزمون‌های آماری تی-مستقل و من ویتنی و برای ارزیابی روند تغییرات داخل گروهی از آزمون واریانس دو طرفه با اندازه‌گیری تکراری استفاده شد.

یافته‌ها

فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) و غلظت لاکتات در گروه SAGM+CPD به مراتب افزایش کمتری را نسبت به گروه CPDA1 نشان داد ($p < 0.05$). همچنین غلظت گلوکز و میزان pH نیز در گروه CPD+SAGM نسبت به گروه CPDA1 کاهش کمتری را نشان می‌داد ($p < 0.05$). در مقایسه دو به دو گروه‌ها، غلظت مالون دی‌آلدهید (MDA) و غلظت توتال اکسیدان در روزهای مختلف نگهداری گلبول قرمز به خصوص از روز هفتم به بعد در گروه SAGM+CPD نسبت به گروه CPDA1 افزایش کمتری را نشان داد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که SAGM توانسته بود با حفظ متابولیزم و کاهش آسیب اکسیداتیو سبب کاهش آسیب ذخیره گلبول قرمز نسبت به گروه CPDA1 شود که می‌تواند منجر به حفظ بهتر بقا و ارتقاء کیفیت این فرآورده در طول مدت ذخیره‌سازی گردد. البته نیاز به انجام مطالعه‌های تکمیلی بیشتری در سطوح *In vivo* و *In vitro* می‌باشد.

کلمات کلیدی: گلبول‌های قرمز، بانک خون، آسیب اکسیداتیو



تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۲۰

<http://dx.doi.org/10.61882/bloodj.22.2.123>

Citation:

Rahimi Sabet Z, Ghobeh M, Khorshidfar M, Deyhim M.R. Comparative Analysis of Oxidative Damage and Metabolic Parameters in Red Blood Cells Stored in CPDA1 and CPD+SAGM. J Iran Blood Transfuse. 2025; 22 (2): 123-136

نویسنده مسئول:

دکتر محمدرضا دیهیم، استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران - ایران
صندوق پستی: ۱۴۶۶۵-۱۱۵۷
E-mail: m.deyhim@tmi.ac.ir

مقدمه

امروزه تحقیقات مرتبط با فرآورده‌های خونی و ارتقاء سلامت خون یکی از موضوعات اصلی تحقیق در حوزه طب انتقال خون می‌باشد. در این رابطه، حفظ و سلامت فرآورده گلبول قرمز به عنوان یکی از پرمصرف‌ترین فرآورده‌های خونی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱).

هدف اولیه از تزریق گلبول قرمز، افزایش حمل اکسیژن به بافت‌ها و اندام‌هایی است که به علت کم خونی، ظرفیت حمل اکسیژن توسط گلبول‌های قرمز در آن‌ها کاهش یافته است (۳، ۲). گلبول‌های قرمز تهیه شده در مراکز انتقال خون می‌توانند برای ۳۵ الی ۴۲ روز در دمای ۲ تا ۶ درجه سانتی‌گراد در بانک‌های خون بیمارستانی نگهداری شوند (۵)، با توجه به پیشرفت‌هایی که امروزه در حفظ و نگهداری گلبول‌های قرمز رخ داده است، مانند ارتقاء کیفیت کیسه‌های نگهداری خون، طرز تهیه فرآورده گلبول قرمز، انتقال و توزیع آن با حفظ زنجیره سرد و همچنین چرخه نگهداری آن، اما کماکان گلبول‌های قرمز در طی فرآیندهای ذکر شده به خصوص در طی دوران ذخیره‌سازی، دچار یک سری تغییرات مورفولوژیک، عملکردی و بیوشیمیایی شده که می‌تواند سبب کاهش بقاء، کاهش عملکرد و همچنین کاهش کیفیت آن قبل از تزریق به بیماران گردد که اصطلاحاً به مجموعه این تغییرات آسیب ذخیره گلبول قرمز گفته می‌شود (۲).

این تغییرات، شامل یک‌سری تغییرات متابولیزم مثل افزایش گلیکولیز و مصرف گلوکز است که موجب افزایش غلظت لاکتات به عنوان محصول گلیکولیز شده و می‌تواند سبب اسیدی شدن محیط گلبول قرمز و در نتیجه سبب کاهش pH گردد که با تغییرات مورفولوژی گلبول قرمز ارتباط مستقیم دارد. کاهش غلظت آدنوزین تری‌فسفات (ATP)، کاهش غلظت دی‌فسفوگلیسرات (DPG) و افزایش غلظت یون پتاسیم از دیگر تغییرات بیوشیمیایی است که در طول مدت ذخیره‌سازی گلبول قرمز رخ داده و می‌توانند سبب کاهش بقاء گلبول‌های قرمز در طی ذخیره‌سازی و افزایش بروز عوارض ناشی از تزریق خون گردد (۱۳-۷، ۶، ۴).

سایر تغییرات مرتبط با آسیب ذخیره گلبول قرمز، بروز آسیب‌های اکسیداتیو می‌باشد. در طول ذخیره‌سازی گلبول قرمز با تولید بیش از حد اکسیدان‌ها، تعادل سیستم اکسیدان-آنتی‌اکسیدانی گلبول قرمز مختل شده و ظرفیت

آنتی‌اکسیدانی گلبول قرمز دیگر توانایی مهار این شدت از اکسیدان‌ها را ندارد. در نتیجه آن سطح اکسیدان‌هایی مثل رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش سطح رادیکال‌های هیدروکسیل در گلبول قرمز افزایش یافته که می‌تواند با صدمه به پروتئین‌های غشاء، سبب تخریب غشاء گلبول قرمز گردند. این صدمات در بسیاری از مواقع بسیار جدی بوده و به صورت برگشت‌ناپذیر می‌باشند که می‌تواند سبب لیز گلبول‌های قرمز شوند (۵-۳).

اگر چه تاثر آسیب ذخیره گلبول قرمز و جنبه‌های بالینی آن هنوز به طور کامل شناخته شده نیست، به همین علت در رابطه با تاثر آسیب‌های ذخیره بر کارایی و کیفیت گلبول‌های قرمز، مطالعه‌های زیادی در حال انجام می‌باشد.

امروزه در طی جمع‌آوری خون کامل و تهیه گلبول قرمز از ماده سیترات-فسفات-دکستروز-آدنین (CPDA1) به عنوان ضد انعقاد در کیسه‌های نگهداری خون استفاده می‌شود. در مواردی هم که نیاز به استفاده از گلبول‌های قرمز کم لکوسیت باشد، پس از فیلتراسیون لکوسیت‌ها، به کیسه‌های نگهداری محلول سالین-آدنین-گلوکز-مانیتول (SAGM) اضافه می‌گردد که برای مصارف خاص مانند بیماران مبتلا به لوسمی و یا تالاسمی به کار می‌رود (۶).

با توجه به اهمیت آسیب ذخیره گلبول قرمز و تاثر مخرب آن بر کیفیت این فرآورده خونی و از طرفی معرفی تغییرات متابولیزم و آسیب‌های اکسیداتیو به عنوان عوامل اصلی در بروز آسیب ذخیره گلبول قرمز، هدف مطالعه حاضر، بررسی آسیب ذخیره گلبول قرمز از طریق ارزیابی پارامترهای متابولیزم و اکسیداتیو در دو محیط CPDA1 و CPD+SAGM به صورت جداگانه در طول مدت ذخیره‌سازی این فرآورده تا ۴۲ روز در شرایط بانک خون بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که در مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران در سال ۱۴۰۰ انجام شد، ۱۰ کیسه خون حاوی گلبول قرمز متراکم که به صورت تصادفی ساده، بدون در نظر گرفتن سن و نوع گروه خونی اهداکنندگان انتخاب شده بود مورد بررسی قرار گرفت. ۵ کیسه خون حاوی CPDA1 و ۵ کیسه خون نیز دارای نگهدارنده CPD+SAGM بودند. کلیه اهداکنندگان خون در این مطالعه مرد

TuruLab (پارس آزمون - ایران) صورت گرفت.

الف - پارامترهای هماتولوژیک

شمارش گلبول قرمز و اندکس‌های گلبول قرمز:

شمارش گلبول‌های قرمز روشی برای ارزیابی کیفیت، تعداد و حجم گلبول‌های قرمز است. شمارش تعداد گلبول‌های قرمز در هر دو گروه با استفاده از دستگاه اتوماتیک شمارشگر سلول‌های خونی (ژاپن، ۱۰۰۰ Sysmex K- انجام گردید. نمونه‌ها به میزان ۱:۵ با فسفات بافر سالین (PBS) رقیق شدند و توسط دستگاه شمارشگر سلولی، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و شاخص‌های آن که شامل غلظت هموگلوبین (Hb)، میزان هماتوکریت (Hct)، میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، MCH و MCHC بود اندازه‌گیری شد.

ب - بررسی و ارزیابی پارامترهای متابولیزم گلبول قرمز

در این بخش ابتدا ۵ میلی‌لیتر از فرآورده گلبول قرمز در شرایط کاملاً استریل از طریق کورد کیسه به داخل لوله آزمایش منتقل گردید، سپس نمونه در ۳۷۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و پلاسما از گلبول قرمز جدا گردید. پلاسما جهت بررسی و ارزیابی پارامترهای متابولیزم که شامل اندازه‌گیری غلظت گلوکز، اندازه‌گیری غلظت لاکتات و اندازه‌گیری pH بود با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر شیمی (ژاپن، هیتاچی ۹۱۱) اندازه‌گیری شد.

۱- اندازه‌گیری غلظت گلوکز:

غلظت گلوکز با استفاده از روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت دارواش - ایران)، به صورت واکنش رنگ‌سنجی انجام شد. جذب نوری رنگ ایجاد شده در مقابل استاندارد در طول موج ۵۰۰ نانومتر قرائت گردید که شدت آن متناسب با غلظت گلوکز در نمونه بود.

۲- اندازه‌گیری غلظت لاکتات:

اندازه‌گیری غلظت لاکتات با استفاده از روش آنزیمی (شرکت پارس آزمون - ایران) انجام شد. در این آزمایش لاکتات در حضور NAD در مجاورت آنزیم لاکتات دهیدروژناز به پیرووات تبدیل می‌گردد. میزان NADH تولید شده در این واکنش با مقدار لاکتات در نمونه رابطه مستقیم داشت.

بودند. معیار ورود اهداکنندگان خون به مطالعه، افراد سالمی بودند که توسط معیارهایی که از طرف سازمان انتقال خون برای انتخاب اهداکننده سالم تدوین شده است توسط پزشک اهدا انتخاب شده بودند. افرادی که دارای این شرایط نبودند از مطالعه خارج می‌شدند. تعداد نمونه نیز با توجه به حجم نمونه در مطالعه‌های مشابه تعیین شد (۱۱).

فرآورده گلبول قرمز تهیه شده طبق دستورالعمل حمل خون و فرآورده‌های خونی سازمان انتقال خون ایران با حفظ زنجیره سرد و پایش دما توسط دیتا لاگر از پایگاه انتقال خون استان تهران به آزمایشگاه مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون آورده شد و سریعاً به یخچال‌های استاندارد بانک خون در دمای ۲-۶ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید.

در این مطالعه، پارامترهای متابولیزم، هماتولوژیک و آسیب اکسیداتیو گلبول قرمز در دو گروه گلبول قرمز حاوی CPDA1 و گلبول قرمز حاوی SAGM+ CPD در طول مدت نگهداری این فرآورده به ترتیب در روزهای صفر (روز تهیه گلبول قرمز) ۲، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ مورد ارزیابی قرار گرفت. برای ارزیابی آسیب اکسیداتیو گلبول قرمز از شاخص‌هایی نظیر اندازه‌گیری مالون دی آلدئید (MDA) که شاخص پراکسیداسیون لیپیدی بود، اندازه‌گیری اکسیدان‌های کل (total oxidant) و اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) استفاده شد. برای ارزیابی وضعیت متابولیزم گلبول قرمز نیز از شاخص‌های متابولیزم که شامل اندازه‌گیری غلظت گلوکز، اندازه‌گیری غلظت لاکتات و اندازه‌گیری pH بود استفاده گردید. در این مطالعه، اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) و میزان همولیز گلبول‌های قرمز نیز به عنوان شاخص‌های آسیب سلولی مورد سنجش قرار گرفت. همچنین پارامترهای هماتولوژیک گلبول قرمز که شامل اندازه‌گیری تعداد شمارش گلبول قرمز، میزان هماتوکریت (Hct)، غلظت هموگلوبین (Hb) و اندکس‌های MCV، MCH و MCHC بود نیز انجام شد.

نمونه‌گیری از کیسه‌ها در شرایط کاملاً استریل در زیر هود لامینار کلاس ۲ انجام شد و ارزیابی پارامترها نیز به صورت دوتایی انجام گرفت. مراحل کنترل کیفی، جهت اطمینان از دقت و صحت آزمایش‌ها قبل از شروع به کار با هر دستگاه، با استفاده از کنترل‌های تجاری معتبر

۳- اندازه‌گیری pH:

در این روش، ابتدا دستگاه pH متر (Metler, UK)، با محلول‌های استاندارد کالیبره شد و سپس pH خارج سلولی اندازه‌گیری گردید.

ج- بررسی شاخص‌های آسیب سلولی

۱- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH):

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم LDH پلاسما بر اساس تبدیل پیرووات به لاکتات است که توسط آنزیم LDH کاتالیز می‌گردد (کیت شرکت پارس آزمون- ایران). در این واکنش آنزیمی که در آن $NADH^+$ به NAD^+ تبدیل می‌شود، تغییرات جذب نوری در واحد زمان و در طول موج ۳۴۰ نانومتر محاسبه گردید که متناسب با فعالیت آنزیم بود که بر اساس واحد IU/L گزارش شد.

۲- بررسی شاخص همولیز در گلبول‌های قرمز:

فاکتور همولیز یکی از مهم‌ترین پارامترهای کنترل کیفیت در گلبول‌های قرمز طی مدت ذخیره‌سازی آن می‌باشد. در این روش میزان هموگلوبین آزاد در پلاسما ارزیابی می‌گردد. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از پلاسما نمونه‌ها به لوله آزمایش منتقل شده و سپس ۱ میلی‌لیتر سدیم کربنات به تمامی لوله‌ها اضافه گشته و میزان جذب نوری هر نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Cecil 7200, UK) در طول موج‌های ۴۱۵، ۴۵۰ و ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. سپس با استفاده از فرمول زیر، شاخص همولیز محاسبه گردید (۱۲). این روش ارزیابی، طبق دستورالعمل سازمان انتقال خون ایران انجام شد.

$$\text{Plasma Hb} = (\text{OD } 415 \text{ nm} \times 154/7) - (\text{OD } 450 \text{ nm} \times 13/7) - (\text{OD } 700 \text{ nm} \times 123/9)$$

$$\text{Hemolysis } (\%) = \text{plasma Hb (mg/dL)} - \text{Hct } (\%) / \text{Total Hb (mg/dL)}$$

د- شاخص‌های آسیب اکسیداتیو

۱- اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA):

روش تیوباربیتوریک اسید یکی از روش‌های استاندارد جهت اندازه‌گیری MDA (محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها) می‌باشد. در این روش که بر اساس واکنش MDA با تیوباربیتوریک اسید در دمای جوش می‌باشد، جذب نوری کمپلکس ایجاد شده که به رنگ صورتی بود در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد و بر اساس منحنی استاندارد که از قبل تهیه شده بود، غلظت MDA در واحد میکرومول محاسبه گردید (۱۳).

۴- اندازه‌گیری غلظت اکسیدان‌های تام (Total oxidant):

به منظور اندازه‌گیری غلظت اکسیدان‌ها از کیت کمپانی (زل‌بیو - آلمان) استفاده شد. اندازه‌گیری به روش رنگ‌سنجی و بر مبنای واکنش اکسیداسیون و احیاء می‌باشد. جذب نوری محصول به دست آمده در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد و بر اساس منحنی استاندارد که از قبل تهیه شده بود، غلظت اکسیدان‌ها در واحد میلی‌مول محاسبه گردید.

۳- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD):

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان SOD، از کیت کمپانی (زل‌بیو - آلمان) استفاده شد. در این روش از آنیون سوپراکسید برای تبدیل هیدروژن پراکسید و اکسیژن تحت شرایط آنزیماتیکی استفاده می‌شود. در نهایت با اضافه کردن کروموزن به محیط واکنش، کمپلکس رنگی ایجاد شده و میزان جذب نوری آن در صفر و ۲ دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر قرائت گردید و سپس با استفاده از فرمول زیر، فعالیت آنزیم SOD از طریق فرمول و بر اساس IU/mL محاسبه شد.

$$\text{SOD activity} = (V_p - V_c) / V_{p1} \times 100 \text{ u/mL}$$

در این فرمول

$$V_p = \text{جذب نوری نمونه در ۲ دقیقه} - \text{جذب نوری بلانک در ۲ دقیقه}$$

$$V_c = \text{جذب نوری نمونه در صفر دقیقه} - \text{جذب نوری بلانک در صفر دقیقه}$$

۴- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوکاتاتیون پراکسیداز (GPX):

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان GPX از کیت کمپانی (زل‌بیو - آلمان) استفاده شد. این آنزیم گلوکاتاتیون را به عنوان اهداکننده الکترون نهایی برای احیای سلنوسیسستین از طریق افزودن GSH استفاده می‌کند. گلوکاتاتیون پراکسیداز آن را به GSSG تبدیل کرده و GSH باقی‌مانده توسط DTNB، کمپلکس زرد رنگی را ایجاد می‌نماید. فعالیت این آنزیم، به طور غیر مستقیم در ارتباط با تشکیل کمپلکس زرد رنگ توسط احیا DTNB می‌باشد. جذب نوری این کمپلکس در طول موج ۴۱۲ نانومتر قرائت شد و نهایتاً فعالیت آنزیم از طریق فرمول زیر بر اساس IU/mL محاسبه گردید.

$$\text{فعالیت آنزیم گلوکاتاتیون پراکسیداز (GPX)} = (\text{جذب نوری کنترل} - \text{جذب نوری نمونه}) / (\text{جذب نوری استاندارد} - \text{جذب نوری بلانک}) \times 6000$$

هـ - آنالیز آماری:

تمامی داده‌ها وارد نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ گردید و قبل از شروع آزمون‌های آماری روی داده‌ها، طبیعی بودن توزیع متغیرهای مورد تحقیق توسط آزمون شاپیرو ویلک بررسی شد. متغیرهای تحقیق، بین گروه‌ها و نیز بین دفعات اندازه‌گیری مختلف توسط آنالیز واریانس با اندازه‌های تکراری (Repeated measure Anova) مقایسه گردید. جهت مقایسه زوجی داده‌ها نیز با توجه به توزیع پارامتریک یا غیر پارامتریک متغیرها در هر نوبت اندازه‌گیری، از آزمون آماری تی مستقل (independent paired T-test) و یا از آزمون آماری من ویتنی (Mann-Whitney) استفاده شد و مقادیر متغیرها در هر نوبت اندازه‌گیری بین گروه‌ها مقایسه گردید. مقادیر $p < 0/05$ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها**الف - پارامترهای هماتولوژیک**

نتایج آنالیز واریانس نشان می‌داد که تعداد گلبول‌های قرمز در روزهای مختلف اندازه‌گیری با یکدیگر تفاوت معناداری نداشتند. همچنین نوبت اندازه‌گیری و گروه با یکدیگر اثر متقابل نداشت. یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی میزان RBC وابسته به گروه‌ها نبوده و مستقل از آن بود. بر اساس این نتایج غلظت Hb در روزهای مختلف اندازه‌گیری با یکدیگر تفاوت معناداری داشت ($p = 0/015$). همچنین نوبت اندازه‌گیری و گروه با یکدیگر اثر متقابل نداشت یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) Hb وابسته به گروه‌ها نبوده و مستقل از آن بود. در روزهای مختلف اندازه‌گیری با یکدیگر تفاوت معناداری داشت ($p = 0/001$) ولی نوبت اندازه‌گیری و گروه با یکدیگر اثر متقابل نداشت یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی میزان HCT وابسته به گروه‌ها نبوده و مستقل از آن می‌باشد. همچنین، نتایج آزمون واریانس نشان می‌داد که میزان MCV در روزهای مختلف اندازه‌گیری با یکدیگر تفاوت معناداری داشت ($p = 0/001$). MCV یک روند افزایشی را در طول زمان در هر دو گروه نشان می‌داد و نوبت اندازه‌گیری و گروه با یکدیگر اثر متقابل نداشت، یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی میزان MCV وابسته به گروه‌ها نبوده و مستقل از آن بود. بر اساس این نتایج، میزان MCH در روزهای مختلف اندازه‌گیری با یکدیگر تفاوت معناداری نداشت. همچنین نوبت اندازه‌گیری

و گروه با یکدیگر اثر متقابل را نشان نداد، یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی میزان MCH وابسته به گروه‌ها نبوده و مستقل از آن بود. همچنین نتایج آنالیز واریانس نشان داد که میزان MCHC در روزهای مختلف اندازه‌گیری با یکدیگر تفاوت معناداری داشت ($p = 0/001$). MCHC یک روند کاهشی را در هر دو گروه CPDA1 و SAGM + CPD در طول زمان نشان می‌داد. نوبت اندازه‌گیری و گروه با یکدیگر اثر متقابل نداشت. یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی میزان MCHC وابسته به گروه‌ها نبوده و مستقل از آن بود. با توجه به نتایج آنالیز واریانس، میزان همولیز گلبول قرمز در روزهای مختلف اندازه‌گیری با یکدیگر تفاوت داشت و یک روند افزایشی را نشان می‌داد ($p = 0/045$). مقایسه مقادیر همولیز در گروه‌های مطالعه به تفکیک هر یک از نوبت‌های اندازه‌گیری انجام شد و بر طبق آن، نوبت اندازه‌گیری و گروه با یکدیگر اثر متقابل نداشت یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی میزان همولیز وابسته به گروه نبود و مستقل از آن بود.

در مرحله بعدی آنالیز آماری، مقایسه تمامی پارامترهای هماتولوژیک در گروه‌های CPDA1 و SAGM + CPD به تفکیک روزهای اندازه‌گیری انجام شد. به دلیل این که کلیه داده‌ها دارای توزیع غیر طبیعی (non-parametric) بودند بدین منظور، از آزمون غیر پارامتریک من ویتنی استفاده شد ($p < 0/05$). بر طبق نتایج به دست آمده از آزمایش غیر پارامتریک من ویتنی مشخص شد که تعداد RBC در روزهای ۰، ۲، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸ و ۳۵ نگهداری گلبول قرمز در گروه CPD+SAGM به مراتب کمتر از تعداد گلبول‌های قرمز در گروه CPDA1 بود که این تغییرات از نظر آماری معنادار بود. نتایج نشان می‌داد که غلظت هموگلوبین در کیسه‌های حاوی CPD+SAGM در روزهای صفر ۲، ۱۴، ۲۱، ۲۸ و ۴۲ نگهداری نسبت به گروه CPDA1 به مراتب افزایش کمتری را نشان می‌داد که این تغییرات از نظر آماری معنادار بود. میزان هماتوکریست نیز در کیسه‌های حاوی CPD+SAGM در تمامی روزهای نگهداری گلبول قرمز نسبت به گروه CPDA1 به مراتب کمتر بود و این تغییرات نیز از نظر آماری معنادار بود (جدول ۱). بر طبق نتایج به دست آمده از آنالیز من ویتنی هیچ‌گونه اختلاف معناداری در تغییرات میانگین MCV، MCH و MCHC در دو گروه در مقایسه دو به دو در روزهای مختلف نگهداری گلبول قرمز مشاهده نشد. بر طبق این نتایج با وجود این که

جدول ۱: مقایسه نتایج به دست آمده از پارامترهای هماتولوژیک در دو گروه گلبول قرمز متراکم نگهداری شده در محلول‌های CPDA1 و CPD+SAGM

روزهای ذخیره‌سازی گلبول قرمز									نگهدارنده	محلول
روز ۴۲ میانگین ± انحراف معیار	روز ۳۵ میانگین ± انحراف معیار	روز ۲۸ میانگین ± انحراف معیار	روز ۲۱ میانگین ± انحراف معیار	روز ۱۴ میانگین ± انحراف معیار	روز ۷ میانگین ± انحراف معیار	روز ۲ میانگین ± انحراف معیار	روز صفر میانگین ± انحراف معیار			
۰/۹۶ ± ۸/۲	۰/۱۷ ± ۸/۴	۰/۳۵ ± ۸/۶	۰/۳۴ ± ۸/۶	۰/۳۱ ± ۸/۶	۰/۳۹ ± ۸/۲	۰/۳۸ ± ۸/۶	۰/۸۱ ± ۸/۱	CPDA1 n= ۵	تعداد گلبول قرمز (×۱۰ ^۹) (mL)	
۰/۳۲ ± ۷/۱	۰/۲۸ ± ۷/۱	۰/۳۴ ± ۷/۰	۰/۳۲ ± ۷/۱	۰/۲۸ ± ۶/۹	۰/۲۵ ± ۶/۹	۰/۲۴ ± ۶/۹	۰/۳۴ ± ۶/۸	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۰۲۳	۰/۰۱۰	۰/۰۱۲	۰/۰۱۵	۰/۰۰۹	۰/۰۰۵	۰/۰۰۸	۰/۰۵۶	p value		
۰/۹ ± ۲۵/۹	۱/۱ ± ۲۶/۰	۱/۰ ± ۲۶/۰	۱/۲ ± ۲۵/۹	۱/۱۳ ± ۲۵/۹	۱/۱ ± ۲۵/۹	۱/۱۸ ± ۲۶	۲/۱۱ ± ۲۴/۱	CPDA1 n= ۵	هموگلوبین (g/dL)	
۰/۴ ± ۲۱/۳	۰/۳۳ ± ۲۱/۴	۰/۴۶ ± ۲۱/۳	۰/۳۸ ± ۲۱/۳	۰/۳۲ ± ۲۰/۸	۰/۶۶ ± ۲۰/۸	۰/۶۱ ± ۲۰/۸	۰/۴۸ ± ۲۰/۵	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۵	۰/۰۰۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۵	p value		
۳/۲ ± ۷۹/۴	۲/۵ ± ۸۰/۳	۲/۳ ± ۸۱/۶	۲/۴ ± ۸۰/۵	۲/۱ ± ۷۸/۷	۴/۷ ± ۷۲/۸	۱/۲ ± ۷۳/۴	۵/۱ ± ۶۹/۶	CPDA1 n= ۵	هماتوکریت (%)	
۲/۴ ± ۶۸/۶	۱/۶ ± ۶۸/۲	۲/۱ ± ۶۷	۱/۷ ± ۶۶/۷	۱/۶ ± ۶۳/۶	۱/۸ ± ۶۱/۶	۲ ± ۶۰/۴	۱/۳ ± ۵۹/۵	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۰۱۵	۰/۰۱	۰/۰۰۵	۰/۰۰۶	۰/۰۰۸	۰/۰۱۵	۰/۰۱۰	۰/۰۲۱	p value		
۳/۹ ± ۹۶/۵	۹۵/۶ ± ۳/۴	۳/۵ ± ۹۴/۶	۳/۴ ± ۹۲/۹	۳/۲ ± ۹۱/۴	۲/۶ ± ۸۸/۰	۲/۹ ± ۸۵/۱	۳/۰ ± ۸۶/۱	CPDA1 n= ۵	MCV (fL)	
۳/۵ ± ۹۶/۳	۳/۶ ± ۹۵/۸	۳/۵ ± ۹۴/۷	۳/۶ ± ۹۳/۶	۳/۱ ± ۹۱/۶	۲/۷ ± ۸۸/۶	۲/۸ ± ۸۶/۶	۳/۷ ± ۸۶/۷	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۹۴۲	۰/۸۳۸	۰/۸۶۶	۰/۷۸۲	۰/۹۰۸	۰/۷۳۱	۰/۴۲۷	۰/۷۸۸	p value		
۲/۳ ± ۳۱/۹	۱/۴ ± ۳۱/۰	۱/۰ ± ۳۰/۱	۱/۰ ± ۳۰/۰	۰/۹۵ ± ۳۰/۱	۲/۹ ± ۳۱/۴	۲/۶ ± ۳۱/۰	۱/۰ ± ۲۹/۸	CPDA1 n= ۵	MCH (pg)	
۰/۹ ± ۲۹/۹	۱/۰ ± ۳۰/۰	۱/۲ ± ۳۰/۱	۱/۱ ± ۲۹/۹	۱/۱ ± ۳۰/۱	۱/۱ ± ۳۰/۲	۱/۰ ± ۲۹/۹	۱/۰ ± ۲۹/۹	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۲۲۲	۰/۴۹۶	۰/۷۲۱	۰/۷۵۶	۰/۶۳۱	۰/۴۳۸	۰/۵۴۸	۰/۶۳۳	p value		
۱/۲ ± ۳۲/۹	۱/۳ ± ۳۲/۵	۰/۵ ± ۳۱/۸	۰/۸ ± ۳۲/۲	۰/۹ ± ۳۲/۹	۱/۸ ± ۳۵/۷	۱/۲ ± ۳۵/۴	۱/۰ ± ۳۴/۶	CPDA1 n= ۵	MCHC (g/dL)	
۰/۶ ± ۳۱/۱	۰/۵ ± ۳۱/۴	۰/۴ ± ۳۱/۸	۰/۴ ± ۳۲/۰	۰/۴ ± ۳۲/۸	۰/۳ ± ۳۳/۸	۰/۳ ± ۳۴/۵	۰/۲ ± ۳۴/۵	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۳۶۷	۰/۵۳۷	۰/۷۴۲	۰/۷۵۴	۰/۴۹۱	۰/۳۱۰	۰/۷۹۶	۰/۸۴۱	p value		
۰/۱۱ ± ۰/۶۳	۰/۰۹ ± ۰/۵۶	۰/۰۸ ± ۰/۴۳	۰/۰۲ ± ۰/۳۵	۰/۰۵ ± ۰/۱۹	۰/۰۲ ± ۰/۱۳	۰/۰۳ ± ۰/۰۸	۰/۰۲ ± ۰/۰۵	CPDA1 n= ۵	همولیز (%)	
۰/۰۹ ± ۰/۶۹	۰/۰۸ ± ۰/۶۱	۰/۰۶ ± ۰/۴۹	۰/۰۳ ± ۰/۳۹	۰/۰۶ ± ۰/۲۱	۰/۰۳ ± ۰/۱۶	۰/۰۴ ± ۰/۱۲	۰/۰۲ ± ۰/۰۷	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۰۹	۰/۱۱	۰/۰۶۳	۰/۰۷۸	۰/۱۸	۰/۱۲۰	۰/۰۹۵	۰/۱۵۰	p value		

داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار می‌باشند. $p < ۰/۰۵$ به عنوان نتایج معنادار از نظر آماری ارائه شده است.

میزان همولیز در روزهای ۲، ۷، ۲۸ و ۴۲ نگهداری گلبول قرمز در گروه SAGM+CPD افزایش کمتری را نسبت به گروه CPDA1 نشان می‌داد ولی این تغییرات از نظر آماری معنادار نبود (جدول ۱).

ب - پارامترهای متابولیزم

بر طبق نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس، غلظت گلوکز در روزهای مختلف اندازه‌گیری با یکدیگر تفاوت معنادار داشت ($p < ۰/۰۵$). هم‌چنین نوبت اندازه‌گیری و گروه با یکدیگر اثر متقابل داشت ($p = ۰/۰۰۱$)، یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی میزان لاکتات وابسته به گروه بود. با توجه به نتایج به دست آمده، به طور کلی گروه CPDA1 در مقایسه با گروه CPD+SAGM، از افزایش لاکتات بیشتری برخوردار بود. بر طبق این نتایج، میزان pH در روزهای مختلف اندازه‌گیری با یکدیگر تفاوت معناداری داشت ($p < ۰/۰۰۱$) (نمودار ۱). با گذشت زمان، میزان pH در هر دو گروه CPDA1 و CPD+SAGM کاهش یافت و به طور کلی میزان pH در گروه CPD+SAGM در مقایسه با گروه CPDA1 اندکی بیشتر بود. مقایسه مقادیر pH در

میزان همولیز در روزهای ۲، ۷، ۲۸ و ۴۲ نگهداری گلبول قرمز در گروه SAGM+CPD افزایش کمتری را نسبت به گروه CPDA1 نشان می‌داد ولی این تغییرات از نظر آماری معنادار نبود (جدول ۱).

ب - پارامترهای متابولیزم

بر طبق نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس، غلظت گلوکز در روزهای مختلف اندازه‌گیری با یکدیگر تفاوت معنادار داشت ($p < ۰/۰۵$). هم‌چنین نوبت اندازه‌گیری و گروه با یکدیگر اثر متقابل را نشان داد ($p = ۰/۰۲$) یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی غلظت گلوکز وابسته به گروه‌ها بود. میانگین غلظت گلوکز با گذشت زمان از روز اول تا روز ۴۲ به طور متوالی در هر دو گروه SAGM+CPD و CPDA1 کاهش یافته بود ولی این کاهش در گروه

($p < 0/05$) (نمودار ۲) (جدول ۲).

ج - پارامترهای آسیب اکسیداتیو

نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس نشان می‌داد که نوبت‌های مختلف اندازه‌گیری از لحاظ غلظت MDA با یکدیگر تفاوت معناداری داشتند ($p = 0/001$). یعنی با افزایش زمان نگهداری گلبول قرمز، در هر دو گروه غلظت MDA افزایش یافته بود، ولی بین نوبت اندازه‌گیری و گروه اثر متقابل وجود نداشت، یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی میزان MDA وابسته به گروه‌ها نبوده و مستقل از آن بود. در ارتباط با غلظت اکسیدان‌ها هم به همین ترتیب، نوبت‌های مختلف اندازه‌گیری از لحاظ میزان اکسیدان‌ها با یکدیگر تفاوت معناداری داشت ($p = 0/001$), یعنی با افزایش زمان نگهداری گلبول قرمز، در هر دو گروه غلظت اکسیدان‌ها افزایش یافته بود، اما بین نوبت اندازه‌گیری و گروه اثر متقابل وجود نداشت یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی میزان اکسیدان‌ها وابسته به گروه‌ها نبوده و مستقل از آن بود. نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس نشان می‌داد که نوبت‌های مختلف اندازه‌گیری از لحاظ فعالیت آنزیم GPX با یکدیگر تفاوت معناداری دارند ($p = 0/001$). یعنی با افزایش زمان نگهداری گلبول قرمز، در هر دو گروه فعالیت آنزیم افزایش یافته بود. همچنین نتایج نشان می‌داد که بین نوبت اندازه‌گیری و گروه اثر متقابل وجود نداشت یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی فعالیت آنزیم وابسته به گروه‌ها نبوده و مستقل از آن بود. همچنین، نوبت‌های مختلف اندازه‌گیری از لحاظ فعالیت آنزیم SOD با یکدیگر تفاوت معناداری را نشان می‌داد ($p = 0/001$). یعنی با افزایش زمان نگهداری گلبول قرمز، در هر دو گروه فعالیت آنزیم افزایش یافته بود ولی بین نوبت اندازه‌گیری و گروه اثر متقابل وجود نداشت، یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی فعالیت آنزیم وابسته به گروه‌ها نبوده و مستقل از آن بود.

در مقایسه زوجی داده‌ها به تفکیک روزهای اندازه‌گیری، با توجه به توزیع داده‌ها، برای MDA و SOD از آزمایش غیر پارامتریک من‌ویتنی و برای مقایسه اکسیدان تام و GPX از آزمون T-test استفاده شد. بر طبق نتایج به دست آمده از آزمایش غیرپارامتریک من‌ویتنی مشخص شد که غلظت MDA در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ در

گروه‌های مطالعه به تفکیک هر یک از نوبت‌های اندازه‌گیری انجام شد و بر طبق آن، نوبت اندازه‌گیری و گروه با یکدیگر اثر متقابل داشت ($p = 0/011$), یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی میزان pH وابسته به گروه بود. میزان فعالیت آنزیم LDH در روزهای مختلف اندازه‌گیری با یکدیگر تفاوت معنادار را نشان می‌داد ($p < 0/001$). در هر دو گروه میانگین LDH با گذشت زمان افزایش یافت و در همه روزهای اندازه‌گیری، میانگین فعالیت LDH در گروه CPD+SAGM افزایش کمتری را نسبت به گروه CPDA1 نشان می‌داد. همچنین نوبت اندازه‌گیری و گروه با یکدیگر اثر متقابل داشت ($p = 0/002$). یعنی تأثیر نوبت اندازه‌گیری (زمان) روی میزان فعالیت آنزیم LDH وابسته به گروه بوده و مستقل از آن نبود. مقایسه تمامی پارامترهای متابولیزم در دو گروه به تفکیک روزهای اندازه‌گیری انجام شد و به دلیل این که کلیه داده‌ها با توجه به آنالیز شاپیرو، دارای توزیع غیر طبیعی (non-parametric) بودند، از آزمون غیر پارامتریک من‌ویتنی استفاده شد، به جز گلوکز که دارای توزیع طبیعی (parametric) بود و از آزمون پارامتریک T-test استفاده شد.

نتایج مقایسه زوجی که با استفاده از T-test به دست آمد، نشان داد که میانگین غلظت گلوکز در روزهای ۷، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ اختلاف معناداری را بین دو گروه نشان می‌داد و میانگین غلظت گلوکز در گروه CPDA1 به مراتب نسبت به گروه CPD+SAGM کمتر بود (جدول ۲). بر طبق همین نتایج، مشخص شد که غلظت لاکتات نیز در روزهای ۰، ۲، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ در گروه CPD+SAGM به مراتب افزایش کمتری را نسبت به گروه CPDA1 نشان داد که این تغییرات از نظر آماری معنادار بود ($p < 0/05$).

میزان pH نیز به دنبال افزایش لاکتات، در روزهای ۲، ۷، ۱۴، ۲۸ و ۴۲ در گروه CPDA1 نسبت به CPD+SAGM به مراتب کاهش بیشتری را نشان می‌داد، این تغییرات از نظر آماری معنادار بود ($p < 0/05$).

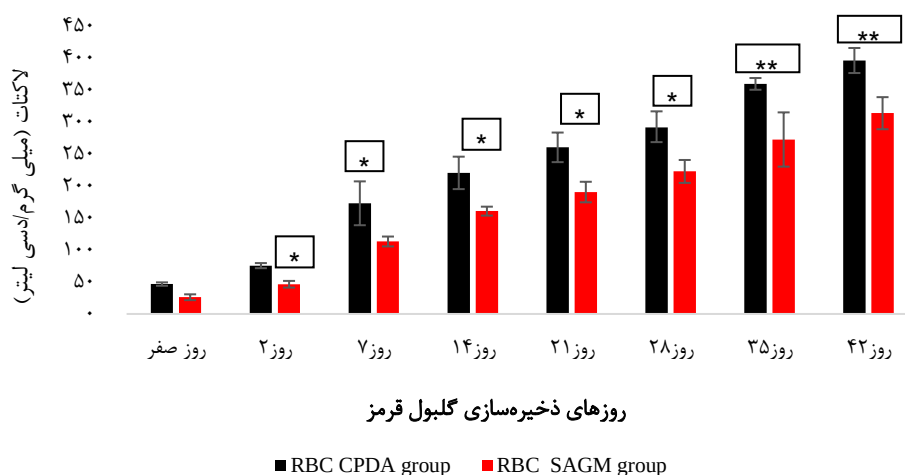
بر طبق نتایج به دست آمده از آزمایش غیر پارامتریک من‌ویتنی مشخص شد که میزان فعالیت آنزیم LDH در روزهای ۲، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ در گروه CPD+SAGM به مراتب افزایش کمتری را نسبت به گروه CPDA1 نشان می‌داد که این تغییرات نیز از نظر آماری معنادار بود

جدول ۲: مقایسه نتایج به دست آمده از پارامترهای متابولیزم و آسیب اکسیداتیو در دو گروه گلبول قرمز متراکم نگهداری شده در محلول‌های نگهدارنده CPD+SAGM و CPDA1

روزهای ذخیره‌سازی گلبول قرمز									محلول نگهدارنده	
روز ۴۲ میانگین ± انحراف معیار	روز ۳۵ میانگین ± انحراف معیار	روز ۲۸ میانگین ± انحراف معیار	روز ۲۱ میانگین ± انحراف معیار	روز ۱۴ میانگین ± انحراف معیار	روز ۷ میانگین ± انحراف معیار	روز ۲ میانگین ± انحراف معیار	روز صفر میانگین ± انحراف معیار			
۳۵ ± ۶۸	۴۶ ± ۷۰	۴۲ ± ۱۰۱	۳۲ ± ۱۵۰	۲۹ ± ۲۲۶	۲۸ ± ۳۱۱	۱۹/۱ ± ۳۶۷	۲۱ ± ۴۰۱	CPDA1 n= ۵	غلظت گلوکز (mg/dL)	
۴۰ ± ۱۶۹	۳۸ ± ۱۹۵	۳۰ ± ۲۱۸	۲۲ ± ۲۵۳	۱۶ ± ۳۱۳	۱۱ ± ۳۸۰	۱۳/۱ ± ۴۱۲	۱۷ ± ۴۳۹	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	۰/۰۰۹	۰/۰۰۱	۰/۰۱۳	۰/۰۱۶	۰/۰۸۳	۰/۰۹۵	p value		
۱۹ ± ۳۸۵	۱۸ ± ۳۴۹	۲۴ ± ۲۸۳	۲۲ ± ۲۵۳	۲۱ ± ۲۱۴	۲۳ ± ۱۶۸	۳/۹ ± ۷۳	۲/۶ ± ۴۵	CPDA1 n= ۵	غلظت لاکتات (mg/dL)	
۲۴ ± ۳۰۵	۲۲ ± ۳۶۵	۱۸ ± ۲۱۶	۱۶ ± ۱۸۵	۸/۸ ± ۱۵۶	۱۴/۵ ± ۱۱۰	۵/۱ ± ۴۵	۴/۴ ± ۲۵	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۰۰۷	۰/۰۰۹	۰/۰۱۱	۰/۰۱۵	۰/۰۱۸	۰/۰۲۱	۰/۰۳۲	۰/۰۵۱	p value		
۴۹۲ ± ۴۷۱۰	۵۰۴ ± ۴۶۵۳	۷۰۶ ± ۴۰۹۶	۷۵۲ ± ۳۰۸۶	۸۱۳ ± ۲۲۹۶	۳۴۶ ± ۱۰۹۳	۸۵ ± ۴۸۸	۲۹ ± ۴۵۴	CPDA1 n= ۵	فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (IU/L)	
۵۸۸ ± ۲۹۹۷	۵۷۵ ± ۲۸۴۹	۴۸۶ ± ۲۴۵۷	۵۰۶ ± ۱۸۳۳	۴۷۷ ± ۱۳۱۱	۳۸۷ ± ۸۰۶	۹۷ ± ۳۷۳	۴۳ ± ۳۰۲	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۱۱	۰/۰۱۶	۰/۰۲۵	۰/۰۵۳	۰/۲۲۲	۰/۴۵۷	p value		
۰/۰۹ ± ۶/۶۸	۰/۱۳ ± ۶/۷۵	۰/۱۲ ± ۶/۸۷	۰/۰۸ ± ۶/۹۵	۰/۱۲ ± ۷/۰۳	۰/۲۴ ± ۷/۱۵	۰/۱۹ ± ۷/۲	۰/۱ ± ۷/۳	CPDA1 n= ۵	pH	
۶/۷۶ ± ۰/۱۱	۰/۰۸ ± ۶/۸۴	۰/۱۰ ± ۶/۹۳	۰/۰۹ ± ۶/۱۰۵	۰/۰۹ ± ۷/۱	۰/۱۱ ± ۷/۲	۰/۱۳ ± ۷/۴	۰/۱ ± ۷/۵	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۰۳	۰/۰۲۳	۰/۰۳۳	۰/۰۴۹	۰/۰۳۵	۰/۰۳	۰/۰۱۸	۰/۰۲۱	p value		
۰/۴۵ ± ۱۲/۳	۰/۳ ± ۱۱/۴	۰/۳۵ ± ۱۰	۰/۷ ± ۸/۳	۰/۴۳ ± ۶/۹	۰/۱۶ ± ۵/۹	۰/۴۷ ± ۵/۱	۰/۱ ± ۳/۹	CPDA1 n= ۵	غلظت مالون دی آلیدید (nmol/L)	
۰/۵۴ ± ۱۱/۱	۰/۴۵ ± ۱۰/۵	۸ ± ۰/۶۴	۰/۵۴ ± ۶/۸	۰/۴۴ ± ۵/۸	۰/۱۷ ± ۵/۲	۰/۴۸ ± ۴/۱	۰/۲ ± ۳/۷	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۰۳۳	۰/۰۴۴	۰/۰۳۹	۰/۰۲۹	۰/۰۴۵	۰/۰۵۱	۰/۰۴۸	۰/۱۵	p value		
۰/۱۵ ± ۴/۲۳	۰/۲۱ ± ۳/۸	۰/۳۷ ± ۳/۲۶	۰/۱۹ ± ۲/۶	۰/۱۷ ± ۲/۴۶	۰/۱۶ ± ۱/۹۲	۰/۱۲ ± ۱/۶۵	۰/۰۷ ± ۱/۱	CPDA1 n= ۵	غلظت اکسیدان‌ها (m mol/L)	
۰/۱۷ ± ۳/۸۵	۰/۱۹ ± ۳/۴۲	۰/۲۷ ± ۲/۷۶	۰/۱۱ ± ۲/۲۱	۰/۱۳ ± ۲/۰۲	۰/۲۱ ± ۱/۴۳	۰/۱ ± ۱/۲۲	۰/۰۹ ± ۱	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۰۵۷	۰/۰۴۵	۰/۰۲۹	۰/۰۴۱	۰/۰۳۱	۰/۰۱۱	۰/۰۴۶	۰/۱۳۶	p value		
۱۴/۱ ± ۳۱۹	۱۳/۸ ± ۱۸۸	۱۰ ± ۱۴۵	۲۶ ± ۱۱۰	۱۳/۵ ± ۶۴	۱۱/۳ ± ۳۷	۲/۹ ± ۲۸	۳/۱ ± ۲۵	CPDA1 n= ۵	فعالیت آنزیم گلوکاتون پراکسیداز (IU/mL)	
۲۲/۵ ± ۲۴۲	۸/۶ ± ۱۹۹	۵/۸ ± ۱۵۹	۲۶ ± ۱۲۰	۱۰/۶ ± ۷۳	۱۱/۸ ± ۴۶	۵/۶ ± ۲۹	۲/۹ ± ۲۸	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۰۵۱	۰/۱۲	۰/۱۳۱	۰/۲۲۹	۰/۱۸۸	۰/۱۵۶	۰/۲۱۷	۰/۶۴۵	p value		
۱۱/۴ ± ۱۱۱	۱۱/۱ ± ۹۷	۹/۵ ± ۸۹	۱۰/۹ ± ۸۲	۹/۲ ± ۷۴	۸/۸ ± ۵۴	۹/۲ ± ۴۵	۳/۷ ± ۴۴	CPDA1 n= ۵	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (IU/mL)	
۹/۳ ± ۱۲۸	۱۳/۴ ± ۱۱۲	۸/۹ ± ۹۹	۹/۸ ± ۹۰	۱۱/۴ ± ۸۴	۱۰/۱ ± ۷۵	۱۱/۲ ± ۵۹	۴/۳ ± ۴۶	CPD+SAGM n= ۵		
۰/۰۵۲	۰/۰۶۸	۰/۰۹۸	۰/۱۵۱	۰/۰۸۶	۰/۰۵۷	۰/۰۶۷	۰/۵۲۲	p value		

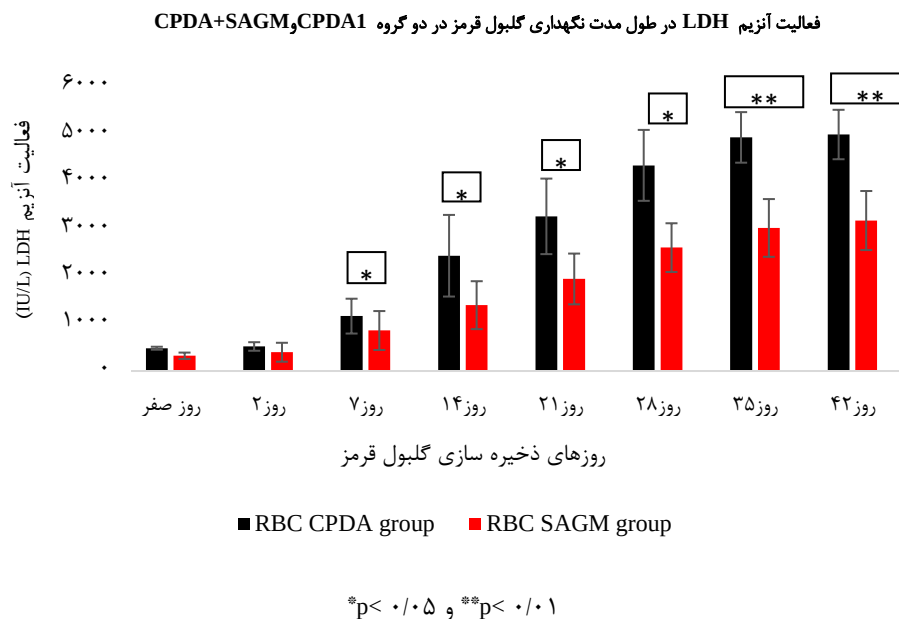
داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار می‌باشند. $p < ۰/۰۵$ به عنوان نتایج معنادار از نظر آماری ارائه شده است.

غلظت لاکتات در طول مدت نگهداری گلبول قرمز در دو گروه CPDA1 و CPD+SAGM

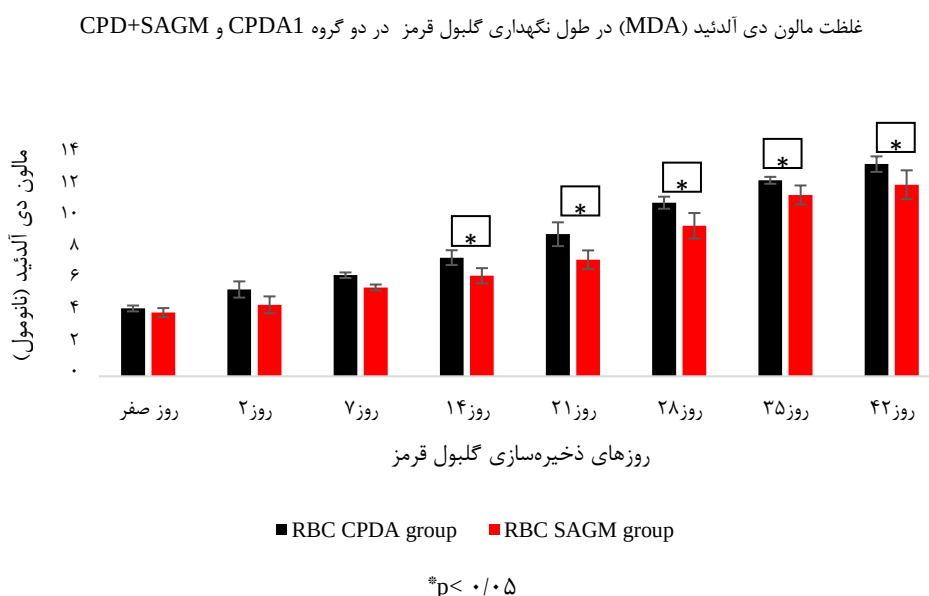


* $p < ۰/۰۵$ و ** $p < ۰/۰۱$

نمودار ۱: تغییرات میانگین غلظت لاکتات در نوبت‌های اندازه‌گیری در دو گروه گلبول قرمز حاوی CPDA1 و CPD+SAGM



نمودار ۲: تغییرات میانگین فعالیت آنزیم LDH در نوبت‌های اندازه‌گیری در دو گروه گلبول قرمز حاوی CPDA1 و CPD+SAGM



نمودار ۳: تغییرات میانگین غلظت مالون دی آلدئید در نوبت‌های اندازه‌گیری در دو گروه گلبول قرمز حاوی CPDA1 و CPD+SAGM

را نشان می‌داد (جدول ۲). بر طبق نتایج به دست آمده از آزمایش پارامتریک T-test، اگر چه در اغلب روزهای نگهداری گلبول قرمز در گروه CPD+SAGM فعالیت بیشتری از آنزیم GPX نسبت به گروه CPDA1 مشاهده می‌شد، ولی این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود (جدول ۲). بر طبق این نتایج، در اغلب روزهای نگهداری گلبول قرمز در گروه CPD+SAGM فعالیت بیشتری از

گروه CPD+SAGM به مراتب افزایش کمتری را نسبت به گروه CPDA1 نشان می‌داد که این تغییرات از نظر آماری معنادار بود (نمودار ۳، جدول ۲). از نظر میزان اکسیدان تام در روزهای ۲، ۷، ۱۴ ذخیره‌سازی گلبول قرمز، بین گروه‌های CPDA1 و CPD+SAGM اختلاف معناداری وجود داشت و در گروه CPD+SAGM، غلظت اکسیدان‌ها در روزهای ذکر شده به مراتب افزایش کمتری

آنزیم SOD نسبت به گروه CPDA1 مشاهده می‌شد ولی این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود (جدول ۲).

بحث

آسیب ذخیره گلبول قرمز می‌تواند باعث کاهش عملکرد، کاهش بقا و کاهش کیفیت فرآورده گلبول قرمز قبل از تزریق آن به بیماران گردد. آسیب‌های اکسیداتیو و تغییرات متابولیسم گلبول قرمز که در طی ذخیره‌سازی این فرآورده رخ می‌دهد، از دلایل اصلی آسیب ذخیره گلبول قرمز به شمار می‌آیند (۱۱). آسیب اکسیداتیو، نتیجه صدماتی است که از طرف رادیکال‌های آزاد اکسیژن به گلبول قرمز در طی ذخیره‌سازی وارد شده و در بسیاری از مواقع این آسیب‌ها به صورت برگشت‌ناپذیر بوده که می‌توانند منجر به لیز گلبول‌های قرمز گردند (۱۵، ۱۴). تأثیر آسیب ذخیره در گلبول‌های قرمز و جنبه‌های بالینی آن هنوز به طور کامل شناخته شده نیست و به همین علت در رابطه با تأثیر آن بر کارایی و کیفیت گلبول‌های قرمز در شرایط *in-vitro* و *in-vivo* مطالعه‌های زیادی در حال انجام می‌باشد.

با توجه به اهمیت آسیب ذخیره گلبول قرمز و تأثیر مخرب آن بر کیفیت این فرآورده خونی، در این مطالعه به بررسی و ارزیابی تغییرات اکسیداتیو و متابولیسم گلبول قرمز در دو محیط CPDA1 و CPD+SAGM در طول مدت ذخیره‌سازی این فرآورده تا ۴۲ روز پرداختیم.

یکی از متغیرهای تحقیق در این مطالعه، اندازه‌گیری غلظت گلوکز در کیسه‌های حاوی گلبول قرمز بود. گلوکز به عنوان یکی از منابع اصلی تولید آدنوزین تری‌فسفات (ATP) انرژی سلول را تأمین می‌کند ولی منابع گلوکز محدود بوده و در طول مدت ذخیره‌سازی گلبول قرمز مصرف می‌شود و به همین دلیل غلظت گلوکز کاهش یافته که می‌تواند سبب کاهش سطح ATP به عنوان منبع اصلی انرژی سلول گردد. بدین ترتیب، عدم تعادلی که بین مصرف گلوکز و کاهش سطح ATP در طول مدت ذخیره‌سازی به وجود می‌آید می‌تواند سبب کاهش زنده‌مانی گلبول قرمز در طی ذخیره‌سازی آن گردد (۱۶). بر طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که غلظت گلوکز در طی مدت نگهداری گلبول قرمز تا ۴۲ روز در هر دو گروه گلبول قرمز به صورت معناداری کاهش یافته و این کاهش از روز ۱۴ به بعد با میزان بیشتری می‌باشد. از

طرف دیگر مشاهده شد که غلظت گلوکز در گروه گلبول قرمز دارای CPD+SAGM به مراتب کاهش کمتری را نسبت به گروه CPDA1 در تمامی روزهای ذخیره‌سازی داشت و به نظر می‌رسد، گلوکز به عنوان منبع انرژی سلول، در گروه CPD+SAGM بهتر حفظ شده که می‌تواند منجر به کاهش کمتر ATP و در نتیجه زنده‌مانی بیشتر گلبول قرمز در طی دوران ذخیره‌سازی گردد.

بررسی غلظت لاکتات در فرآورده گلبول قرمز، یکی دیگر از متغیرهای این مطالعه بود. گلبول‌های قرمز به دلیل فقدان میتوکندری برای تأمین انرژی وابسته به مسیر بی‌هوازی گلیکولیز می‌باشند و هم‌زمان با مصرف گلوکز در طی فرآیند گلیکولیز، تولید لاکتات نیز به عنوان یکی از محصولات گلیکولیز افزایش می‌یابد. بر طبق نتایج به دست آمده، غلظت لاکتات در هر دو گروه گلبول قرمز افزایش یافته بود ولی در گلبول‌های قرمز حاوی CPD+SAGM نسبت به گروه CPDA1 این افزایش کمتر بود. بدین ترتیب گلبول‌های قرمز دارای SAGM، با توجه به مقدار گلوکزی که در این ترکیب بوده توانسته است ذخیره بیشتری از گلوکز را برای تأمین انرژی سلول فراهم سازد و با تأثیر خود بر گلیکولیز منجر به کاهش تولید لاکتات نسبت به گروه CPDA1 گردد.

بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه، میزان pH، هم‌زمان با تولید لاکتات در هر دو گروه کاهش یافته بود ولی این کاهش در گروه SAGM با توجه به تولید کمتر لاکتات، نسبت به گروه CPDA1 کمتر بود و حاکی از حفظ بهتر pH در این گروه بود. همان‌طور که قبلاً نیز گفته شد، کاهش pH یکی از عوامل اصلی است که می‌تواند سبب تغییرات مورفولوژیک و در نتیجه کاهش بقاء و زنده‌مانی فرآورده گلبول قرمز در طی ذخیره‌سازی آن گردد (۱۷، ۳-۵). این روند تغییرات متابولیسم در هر دو گروه گلبول قرمز با نتایج مطالعه امیدخدا، ماخاراجی و قاجار هم‌خوانی داشت (۱۹، ۱۸، ۵). بر اساس نتایج مطالعه‌ای که ان‌گوئن و همکارانش در سال ۲۰۲۴ انجام دادند، به این نکته اشاره داشتند که SAGM با حفظ فشار اسمزی و ممانعت از کاهش بیش از حد ATP و pH در طول مدت نگهداری گلبول قرمز می‌تواند آسیب ذخیره گلبول قرمز را تا حد زیادی کاهش داده و سبب زنده‌مانی بیشتر سلول و در نتیجه حفظ کیفیت فرآورده گلبول قرمز در طول مدت ذخیره‌سازی آن گردد (۱۷). نتایج مطالعه حاضر نیز حاکی

از این بود که تغییرات متابولیکی که می‌تواند منجر به آسیب ذخیره گلبول قرمز گردد در گروه SAGM نسبت به CPDA1 کمتر بود.

یکی دیگر از متغیرهای تحقیق، فعالیت آنزیم LDH بود که در این مطالعه به آن پرداخته شد. بر اساس نتایج به دست آمده فعالیت آنزیم LDH در طی ذخیره‌سازی گلبول قرمز در هر دو گروه دارای CPDA1 و CPD+SAGM یک روند افزایشی را نشان می‌داد ولی این روند در گروه SAGM به مراتب کمتر از CPDA1 بود. افزایش فعالیت آنزیم LDH در گلبول‌های قرمز یکی از شاخص‌های مهم در ارزیابی آسیب غشاء سلول می‌باشد (۲۰، ۱۲). در مطالعه‌های زیادی نشان داده شده که با افزایش زمان ذخیره‌سازی گلبول قرمز، فعالیت آنزیم LDH به صورت چشمگیری افزایش می‌یابد، در دو مطالعه جداگانه که توسط مرجانی و قزلباش نیز انجام شده به این مسأله اشاره کرده‌اند (۲۰، ۱۲). در مطالعه‌ای که توسط ورما بر روی ۳۰ اهداکننده انجام شد، پارامترهای بیوشیمیایی گلبول قرمز مورد پایش قرار گرفت. نتیجه این مطالعه حاکی از این بود که، گلبول‌های قرمز در طی مدت ذخیره‌سازی ممکن است تحت همولیز خود به خودی قرار گیرند و خواص بیوشیمیایی و مکانیکی آن‌ها تغییر کند. نتایج این تحقیق هم‌چنین نشان می‌داد که تغییرات قابل توجهی در میزان فسفر، پروتئین، pH و سطوح فعالیت آنزیم LDH و آنزیم آسپارات آمینو ترانسفراز (SGOT) ایجاد می‌گردد (۷). شاستری و همکاران در سال ۲۰۱۹ در مطالعه‌ای دیگر به بررسی تغییرات بیوشیمیایی و متابولیکی گلبول‌های قرمز در طی دوران ذخیره‌سازی پرداختند و بر طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که غلظت پتاسیم و فعالیت آنزیم LDH از هفته اول ذخیره‌سازی به شدت افزایش یافته و این افزایش در گلبول‌های قرمز دارای SAGM به مراتب کمتر از CPDA1 بود. به گفته این محققین یکی از دلایل آن می‌تواند بسته به میزان مانیتولی باشد که در ترکیب SAGM وجود دارد و این خود می‌تواند سبب حفظ و پایداری بیشتر غشاء سلول گردد (۶). بنابراین، با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که غشاء گلبول‌های قرمز دارای SAGM نسبت به گروه CPDA1 دچار آسیب کمتری در طول زمان ذخیره‌سازی بوده و SAGM توانسته است سبب حفظ و پایداری بیشتر غشا و هم‌چنین حفظ بیشتر

متابولیزم در این فرآورده خونی شده باشد. در این مطالعه، هم‌چنین به بررسی میزان اکسیدان‌ها و پراکسیداسیون لیپیدی که یکی از شاخصه‌های مهم آسیب اکسیداتیو سلولی است پرداخته شد. بر اساس نتایج به دست آمده، میزان اکسیدان‌ها و پراکسیداسیون لیپیدی در هر دو گروه گلبول قرمز، روند افزایشی را در طول مدت ذخیره‌سازی نشان می‌داد، این روند از روز ۱۴ به بعد تا روز ۴۲ بیشتر بود. این نتایج هم‌چنین نشان می‌داد که غلظت اکسیدان‌ها و غلظت MDA (شاخص پراکسیداسیون لیپیدی) در گروه CPD+SAGM نسبت به CPDA1 از افزایش کمتری برخوردار بوده است. هم‌چنین، مقایسه زوجی داده‌ها از روز ۱۴ نگهداری به بعد اختلاف معناداری بین میانگین MDA در دو گروه را نشان می‌داد. نتایج مطالعه‌های زیادی حاکی از تولید اکسیدان‌ها و پراکسیداسیون لیپیدی در طول مدت ذخیره‌سازی گلبول قرمز می‌باشد که این امر سبب افزایش استرس و آسیب اکسیداتیو و هم‌چنین افزایش شکنندگی اسمزی در گلبول‌های قرمز شده و منجر به لیز سلول‌ها می‌گردد (۲۵-۲۱، ۹، ۲).

در تحقیقی که توسط ون ویجک و همکارانش در سال ۲۰۱۹ انجام شد، شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز حاوی CPDA2 مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که گلبول‌های قرمز غشاء خود را به مرور زمان در طی ذخیره‌سازی از دست داده و شکننده می‌شوند. بخش عمده این افزایش شکنندگی مربوط به تجمع و خروج لاکتات از درون گلبول قرمز است و افزایش لاکتات در شکنندگی اسمزی گلبول قرمز تأثیر زیادی را خواهد داشت. نتیجه این پژوهش نشان می‌داد که هرچه به روزهای آخر ذخیره‌سازی گلبول‌های قرمز نزدیکتر می‌شویم، شکنندگی و تغییر شکل و عدم قابلیت زنده بودن گلبول‌های قرمز بیشتر خواهد شد (۱۰).

با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که گلبول‌های قرمز دارای SAGM با حفظ متابولیزم و حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، آسیب کمتری به غشاء گلبول قرمز وارد شده و پایداری غشاء در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو بیشتر می‌باشد و در نتیجه تغییرات متابولیزم و اکسیداتیوی که می‌توانند سبب بروز آسیب ذخیره گلبول قرمز گردند در گلبول‌های قرمز حاوی SAGM به مراتب کمتر از گلبول‌های قرمز حاوی CPDA1 است.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان می‌داد که SAGM توانسته است با کاهش تغییرات متابولیکی و اکسیداتیو سبب کاهش آسیب ذخیره گلبول قرمز گردد که می‌تواند منجر به بهبود عملکرد و افزایش بقاء گلبول قرمز در طی دوران ذخیره‌سازی این فرآورده شود که البته نیاز به انجام مطالعه‌های تکمیلی در سطوح *In vitro* و *In vivo* می‌باشد.

حمایت مالی

مطالعه فوق بدون حمایت مالی ارگان و نهاد خاصی انجام شده است.

عدم تعارض منافع

نویسندگان اظهار می‌کنند هیچ‌گونه تعارض منافی در این مطالعه وجود نداشته است.

نقش نویسندگان

زهره رحیمی ثابت: همکاری در طراحی اولیه پروژه، همکاری در جمع‌آوری و بررسی مقالات مرتبط با پروژه، راه‌اندازی و انجام آزمایش‌های تحقیق، همکاری در جمع‌آوری داده‌های تحقیق، هم‌چنین در نگارش نسخه اولیه مقاله شرکت داشته است.

تشکر و قدردانی

این پروژه بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد که در تاریخ ۱۳۹۹/۱۰/۲۰ در شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی به تصویب رسیده است. از معاونت آموزشی و پژوهشی مؤسسه آموزش عالی طب انتقال خون و همکاران محترم در پایگاه انتقال خون استان تهران که همکاری لازم را جهت اجرای این پروژه داشته‌اند و هم‌چنین از همکاران شاغل در آزمایشگاه‌های بیوشیمی، هماتولوژی و مرکز نوآوری سازمان انتقال خون نهایت تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References:

- 1- Tinmouth A, Chin-Yee I. The clinical consequences of the red cell storage lesion. *Transfus Med Rev* 2001; 15(2): 91-107. <https://doi.org/10.1053/tm.2001.22613> [DOI:10.1053/tmrv.2001.22613]
- 2- Chaudhary R, Katharia R. Oxidative injury as contributory factor for red cells storage lesion during twenty eight days of storage. *Blood Transfus* 2012; 10(1): 59-62
- 3- Olechnowicz J, Tinkov A, Skalny A, Suliburska J. Zinc status is associated with inflammation, oxidative stress, lipid, and glucose metabolism. *J Physiol Sci* 2018; 68(1): 19-31. [DOI:10.1007/s12576-017-0571-7] [PMID] []
- 4- Hashemi Tayer A, Amirizadeh N, Mghsodlu M, Nikogoftar M, Deyhim MR, Ahmadinejad M. Evaluation of Blood Storage Lesions in Leuko-depleted Red Blood Cell Units. *Iran J Ped Hematol Oncol* 2017; 7 (3):171-9. [Article in Farsi]
- 5- Jahanshahi Ghajar S, Deyhim MR, Sotoudehnejad Nematollahi F, Rafiei MH. Red blood cells storage lesion: the effect of blood donation time on biochemical parameters. *Sci J Iran Blood Transfus Organ* 2019; 16 (3): 161-71. [Article in Farsi]
- 6- Shastry S, Shivhare A, Murugesan M, Baliga PB. Red cell storage lesion and the effect of buffy-coat reduction on the biochemical parameters. *Transfus Apher Sci* 2019; 58(2): 179-82. [DOI:10.1016/j.transci.2019.01.003] [PMID]
- 7- Verma M, Dahiya K, Malik D, Sehgal P, Devi R, Soni A, et al. Effect of blood storage on complete biochemistry. *J Blood Disord Transfus* 2015; 6(6): 1-4. [DOI:10.4172/2155-9864.1000329]
- 8- Charles AT, Bungudu UG, Osaro E, Tosan E. Effect of Storage on Osmotic Fragility in CPDA-1 Stored Blood in Sokoto, Northwestern Nigeria. *Advances in Hematology and Oncology Research* 2018; 1(1): 1-6. [DOI:10.33140/AHOR.01.01.02]
- 9- Reval D, Sharma R, Lodha S, Prakash S. Biochemical Changes in the Stored Whole Blood Assessed at the Pediatric Intervals in CPDA1 Anticoagulant Containing Blood Bags. *Asian J*

- Pharm Clin Res 2023; 16(2): 113-5. [DOI:10.22159/ajpcr.2023.v16i2.47220]
- 10- Van Wijk R, Van Solinge WW. The energy-less red blood cell is lost: erythrocyte enzyme abnormalities of glycolysis. Blood 2005; 106(13): 4034-42. [DOI:10.1182/blood-2005-04-1622] [PMID]
 - 11- Danehpash S, Shirkhanloo H, Azami K, Deyhim MR. Evaluation of Lipid Peroxidation, Antioxidant Status and Trace Elements in Red Blood Cell Concentrates during Storage. Iranian Journal of Blood and Cancer 2021; 13(3): 85-91
 - 12- Ghezelbash B, Azarkeivan A, Pourfathollah AA, Deyhim M, Hajati E, Goodarzi A. Comparative Evaluation of Biochemical and Hematological Parameters of Pre-Storage Leukoreduction during RBC Storage. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res 2018; 12(1): 35-42.
 - 13- Mustafa I, Al Marwani A, Mamdouh Nasr K, Abdulla Kano N, Hadwan T. Time dependent assessment of morphological changes: leukodepleted packed red blood cells stored in SAGM. Biomed Res Int 2016; 2016: 4529434. [DOI:10.1155/2016/4529434] [PMID] []
 - 14- Orlov D, Karkouti K. The pathophysiology and consequences of red blood cell storage. Anaesthesia 2015; 70(1): 29-37. [DOI:10.1111/anae.12891] [PMID]
 - 15- 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. Scand J Clin Lab Invest 2011; 71(4): 299-303. [DOI:10.3109/00365513.2011.563789] [PMID]
 - 16- Aggarwal G, Tiwari AK, Pabbi S, Bhardwaj G, Rawat G, Harith AK, et al. Storage Lesions in Red Blood Cell-Saline Adenine Glucose Mannitol: In-vitro and In-vivo Analysis over 42 Days and its Implications in Routine Transfusion Practice. Global Journal of Transfusion Medicine 2022; 7(1): 12-7. [DOI:10.4103/gjtm.gjtm_113_20]
 - 17- Nguyen T, Fernández C, Pastora J. Impact of Different Red Blood Cell Storage Solutions and Conditions on Cell Function and Viability: A Systematic Review. Biomolecule 2024; 14(813): 1-28 [DOI:10.3390/biom14070813] [PMID] []
 - 18- Omidkhoda A, Hedayati B, Kafi-Abad SA. The effect of whole blood storage time on quality of RBCs. Scientific Journal of Iranian Blood Transfusion Organization. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2015, 11(1): 56-63. [Article in Farsi]
 - 19- Mukherjee S, Marwaha N, Prasad R, Sharma RR, Thakral B. Serial assessment of biochemical parameters of red cell preparations to evaluate safety for neonatal transfusions. Indian J Med Res 2010; 132: 715-20.
 - 20- Marjani A, Abolvahab Moradi A, Araz Berdie Ghourcaie A.B. Alterations in Plasma Lipid Peroxidation and Erythrocyte Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Enzyme Activities During Storage of Blood. Asian Journal of Biochemistry 2007; 2(2): 118-23. [DOI:10.3923/ajb.2007.118.123]
 - 21- Deyhim MR, Nabavi Z, Jalili MA, Maghsoudloo M, Khoshnaghsh F. Alternation in Erythrocyte Enzyme Antioxidant Activity during Blood Storage. Iranian Journal of Blood and Cancer 2014; 6(2): 69-74.
 - 22- Wilking M, Ndiaye M, Mukhtar H, Ahmad N. Circadian Rhythm Connections to Oxidative Stress: Implications for Human Health. Antioxid Redox Signal 2013; 19(2): 192-208. [DOI:10.1089/ars.2012.4889] [PMID] []
 - 23- Barzegar S, Nadali F, Pourfatollah A.A, Abbaspour A.R, Farokhinia S, Shiravand Y. Oxidative stress changes in blood bags in consecutive weeks after donation. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2016, 13(1): 11-8. [Article in Farsi]
 - 24- Saeideh Hajizamani, Kamran Atarodi, Mohammad Reza Deyhim, Fahimeh Ranjbar Kermani, Kamran Mousavi Hosseini. Antioxidative effects of α -tocopherol on stored human red blood cell units. Asian J Transfus Sci 2024; 18(1): 102-7. [DOI:10.4103/ajts.ajts_130_22] [PMID] []
 - 25- Mehrdadi N, Deyhim M.R, Hekmat A. The effect of N-acetyl-cysteine (NAC) on RBC oxidative damage and RBC metabolism during storage of red blood cell product in blood bank condition. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services 2021; 42(6): 667-76. [Article in Farsi] [DOI:10.34172/mj.2021.007]