خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۶ شماره ۳ پاییز ۹۸ (۱۷۱-۱۶۱)

مقاله پژوهشی

آسیب ذخیره‌سازی گلبول‌های قرمز متراکم: اثر زمان اهدای خون بر فاکتورهای بیوشیمیایی

سارینا جهانشاهی قاجار[۱]، محمدرضا دیهیم[۲]، فتاح ستوده نژاد نعمت‌الهی[۳]، محمد حسام رفیعی[۴]

چکیده

سابقه و هدف

ریتم و تغییرات شبانه‌روز در ظرفیت اکسیداسیون/احیا در پلاسمای خون و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در طی ذخیره‌سازی گلبول‌های قرمز در بانک خون گزارش شده است. بنابراین ممکن است خون اهدا شده بر اساس زمان اهدا، دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدان متفاوت و در نتیجه یک پاسخ بیوشیمیایی متفاوت طی ذخیره سازی باشد. این مطالعه تلاش می‌کند که به این مهم بپردازد.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه تجربی، ۲۰ واحد RBC در دو گروه اهداکننده صبح (ساعت۱۱-۸) و عصر (ساعت ۲۰-۱۷) جمع‌آوری شد و ۳ تا ۴۲ روز در دمای ۸-۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سنجش گلوکز، سدیم، پتاسیم، لاکتات، لاکتات دهیدروژناز، pH، مالون‌دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام با استفاده از کیت تجاری انجام شد. متابولیت‌های نیترات/نیتریت با روش گریس اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها

در گروه عصر در مقایسه با گروه صبح، متابولیت‌های نیتریک اکسید، غلظت مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز افزایش یافته بود($p< ۰/۰۵$). در هر دو گروه صبح و عصر، میزان pH ، گلوکز، سدیم و ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام روند کاهشی و غلظت مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم لاکتات دهیدرژوناز روند افزایشی داشتند($p< ۰/۰۵$).

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که آسیب اکسیداتیو در خون‌های اهدایی در عصر بیشتر از صبح، در زمان ذخیره‌سازی بوده که ممکن است سبب کاهش بقا و آسیب ذخیره بیشتری گردند. به همین علت نیاز به مطالعه‌های بیشتر با تعداد نمونه زیادتر برای بررسی تاثیر زمان اهدا بر آسیب ذخیره گلبول قرمز می‌باشد.

کلمات کلیدی: **اهدای خون، بانک خون، ریتم شبانه‌روز**

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۱۰
تاریخ پذیرش: ۹۸/ ۳/۱۲

۱- کارشناس ارشد بیوشیمی ـ واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی ـ تهران ـ ایران
۲- دکترای تخصصی بیوشیمی بالینی ـ استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۳- PhD ایمنی‌شناسی سلولی و مولکولی ـ استادیار گروه ژنتیک سلولی و مولکولی ـ دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات ـ تهران ـ ایران
۴- مؤلف مسئول: دکترای تخصصی بیوشیمی بالینی ـ استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵

مقدمه

فرآیند انتقال خون از مهم‌ترین جنبه‌های درمانی بوده که هدف آن، فراهم نمودن خون کافی و سالم برای رسیدن به بهترین پیامد بالینی 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 شود(۵، ۴). با این وجود تغییرات ساختاری و بیوشیمیایی در طی ذخیره‌سازی گلبول قرمز ایجاد می‌شود که می‌تواند سبب اختلال در عملکرد، مورفولوژی و هم‌چنین سبب کاهش بقای این فرآورده حیاتی گردد که به آن "آسیب ذخیره‌سازی گلبول قرمز" گفته می‌شود(۶).

تغییرات بیوشیمیایی که در هنگام ذخیره‌سازی گلبول قرمز رخ می‌دهد شامل افزایش گلیکولیز و مصرف گلوکز است که منجر به کاهش سطح pH می‌شود(۴). کاهش pH موجب کاهش ۲ و۳ دی‌فسفوگلیسرات و در نتیجه تحریک تولید ATP می‌شود. افزایش در ATP منجر به کند شدن گلیکولیز، تجمع لاکتیک اسید و نهایتاً کاهش سطح خود ATP می‌گردد(۷). کاهش در ATP فرآیندهای نیازمند انرژی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بنابراین اختلال در پمپ سدیم- پتاسیم همراه با کاهش پتاسیم درون سلولی و افزایش سدیم سیتوپلاسمی و کاهش واکنش‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود(۶، ۴). سایر تغییرات مرتبط با آسیب ذخیره‌سازی RBC شامل افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، افزایش فعالیت لاکتات دهیدروژناز(LDH)، بروز آسیب اکسیداتیو، افزایش همولیز در کیسه‌های RBC و کاهش ظرفیت نیتریک اکسید(NO) می‌شود که همگی می‌توانند سبب کاهش طول عمر RBC در طی ذخیره‌سازی و افزایش بروز عوارض جانبی ناشی از تزریق خون در بیماران گردد(۱۱-۸، ۶، ۴).

بدن انسان به صورت شبانه روز تحت کنترل ریتم سیکاردین است(۱۳، ۱۲). برخی مطالعه‌ها حاکی از ریتمیک بودن ظرفیت اکسیداتیو و تغییر متابولیت‌های درگیر در واکنش‌های اکسیداسیون و احیا در گردش خون انسان در طول شبانه‌روز هستند(۱۳، ۱۲). این ریتم شبانه‌روز در متابولیسم سلولی RBC از جمله مقادیر نیکوتین‌آمید آدنین دی‌نوکلئوتید فسفات(NADPH) به عنوان متابولیت درگیر در واکنش‌های اکسیداسیون و احیا، گزارش شده است (۱۴). ریتم شبانه‌روزی در سطوح گلوتاتیون نیز در محصولات ذخیره شده پلاسمای غنی از پلاکت(PRP) مشاهده شده است(۱۵). مطالعه‌های اخیر نیز نشان می‌دهند که سطوح آنتی‌اکسیدان تام خون در ساعت ۹ صبح بالاتر از سطوح آن در ساعات بعد از ظهر و نیمه شب است و هم چنین ترشح ملاتونین در بدن به عنوان مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان داخلی بدن و مهم‌ترین تنظیم‌کننده ریتم شبانه‌روز نیز به طور معمول از ساعت ۹ تا ۱۰ شب بوده و پایان آن در حدود ۷ تا ۹ صبح است(۱۷، ۱۶).

با توجه به یافته‌های ذکر شده در بالا یعنی کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کیسه‌های گلبول قرمز در طول ذخیره‌سازی و کاهش عمر آن‌ها از یک طرف و تغییرات شبانه روز در ظرفیت آنتی اکسیدانی خون انسان از طرف دیگر، این احتمال وجود دارد که خون‌های اهدایی جمع‌آوری شده در صبح و عصر دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی می‌باشد. این در حالی است که امروزه برای همه خون‌های اهدایی در طول شبانه‌روز یک دستورالعمل ثابت نگهداری از نظر مقدار افزودنی‌ها و نیز یک دستورالعمل نگهداری یکسان ۳۵ تا ۴۲ روزه در نظر گرفته می‌شود. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی ارتباط زمان اهدای خون و تغییرات شبانه‌روز در سطوح آنتی‌اکسیدانی گلبول‌های قرمز تهیه شده در مراکز انتقال خون و اثرات آن بر فاکتورهای بیوشیمیایی گلبول‌های قرمز در هنگام ذخیره‌سازی است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی و ذخیره‌سازی فرآورده گلبول‌های قرمز:

در این مطالعه تجربی، ۲۰ واحد کیسه خون حاوی گلبول قرمز متراکم، به صورت تصادفی ساده بدون در نظر گرفتن سن و نوع گروه خونی اهداکنندگان انتخاب شده و مورد بررسی قرار گرفتند. معیار ورود اهداکنندگان خون به

مطالعه، اهداکنندگان سالمی بودند که توسط معیارهایی که از طرف سازمان انتقال خون برای انتخاب اهداکننده سالم تدوین شده است، توسط پزشک اهدا انتخاب گردیدند. تمامی کیسه‌های خون مورد استفاده در زمان جمع‌آوری خون از نوع کیسه‌های سه تایی(ماکوفارما) حاوی ضد انعقاد CPD-A1 (Citrate phosphate dextrose) بود. واحدهای گلبول قرمز متراکم به دلیل انجام آزمایش‌های غربالگری، در روز سوم جمع‌آوری طبق دستورالعمل حمل خون و فرآورده‌های خونی سازمان انتقال خون ایران با حفظ زنجیره سرد و پایش دمای آن توسط دیتا لاگر از پایگاه انتقال خون استان تهران به آزمایشگاه ستاد مرکزی سازمان انتقال خون منتقل شدند و فرآورده‌های گلبول قرمز سریعاً به یخچال‌های استاندارد بانک خون در دمای ۶-۲ درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند.

در این مطالعه پارامترهای بیوشیمیایی و آسیب اکسیداتیو گلبول قرمز در دو گروه واحدهای گلبول قرمز جمع‌آوری شده از اهداکنندگان صبح(ساعت ۱۱-۸ ؛ ۱۰ نفر) و اهداکنندگان عصر(ساعت۲۰-۱۷؛ ۱۰ نفر) در طول مدت نگهداری گلبول قرمز به ترتیب در روزهای ۴۲، ۳۵، ۲۸، ۲۱، ۱۴، ۷ ، ۳ سنجش شد. کلیه آزمایش‌ها به صورت دوتایی انجام گرفت و جهت اطمینان از دقت و صحت آزمایش‌ها قبل از شروع به کار با هر دستگاه، مراحل کنترل کیفی با استفاده از کنترل‌های تجاری معتبر صورت گرفت.

اندازه‌گیری غلظت گلوکز:

اندازه‌گیری گلوکز به روش آنزیماتیک(کیت شرکت من ـ ایران) گلوکز اکسیداز با استفاده از آنالایزر شیمی (رُوش، آلمان، Hitachi-911) انجام شد. شدت رنگ تولید شده متناسب با غلظت گلوکز نمونه می‌باشد که از طریق منحنی استاندارد محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لاکتات دِهیدروژناز(LDH):

این آزمایش بر اساس تبدیل پیروات به لاکتات توسط آنزیم LDH با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر(آلمان، رُوش، Hitachi-911) سنجش شد(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 LDH بود. فعالیت آنزیم بر اساس واحد IU/L اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری غلظت لاکتات:

در این آزمایش(کیت پارس آزمون ـ ایران)، لاکتات در حضور NAD در مجاورت آنزیم لاکتات دِهیدروژناز به پیروات تبدیل می‌گردد. جذب نوری NADH تولید شده در این واکنش توسط اتوآنالایزر شیمی(آلمان، رُوش، Hitachi-911) اندازه‌گیری شده که با مقدار لاکتات نمونه رابطه مستقیم دارد.

اندازه‌گیری غلظت سدیم و پتاسیم:

این آزمایش در روزهای مقرر نمونه‌برداری با استفاده از دستگاه الکترولیت آنالایزر(آلمان، Effox5054 ، اپندورف) بر روی پلاسماهای جدا شده از گلبول‌های قرمز متراکم انجام گرفت.

اندازه‌گیری pH :

در روزهای مقرر نمونه‌برداری، میزان pH در گلبول‌های قرمز، با استفاده از pH متر کالیبره شده(آمریکا، Metrohm) و محلول‌های استاندارد(انگلیس، Metler) انجام گرفت. به این صورت که زیر هود از کورد کیسه RBC به حجم ۵ میلی‌لیتر به داخل فالکون منتقل شده و برای انجام آزمایش pH استفاده شد. در هر بار نمونه‌گیری، کورد کیسه مجدداً seal شده و برای نگهداری به داخل یخچال منتقل گردید. اندازه‌گیری pH در نمونه RBC به صورت مستقیم انجام گرفت و از هیچ بافری برای رقیق‌سازی استفاده نشد. الکترود مخصوص سنجش pH متر در داخل لوله‌های فالکون حاوی گلبول قرمز فرو برده و بعد از ثابت شدن عدد روی نمایشگر، pH نهایی ثبت شد.

اندازه‌گیری غلظت توتال آنتی‌اکسیدان:

برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در گلبول‌های قرمز از کیت تجاری شرکت Zell Bio ، ساخت کشور آلمان استفاده شد که بر اساس واکنش اکسیداسیون

2,2 azino-bis (3-ethylbenzylthiazoline-6 sulfonic acid) (ABTS) می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه، اثر مهاری بر این واکنش داشته و هر چه میزان آن‌ها در نمونه بیشتر باشد، میزان کمتری رادیکال کاتیون $ABTS^{+}$ تشکیل می‌شود که سبب کاهش میزان جذب نوری می‌گردد. در این روش به عنوان استاندارد از آنالوگ محلول در آب ویتامین E (Torolox) به عنوان آنتی‌اکسیدان استفاده شد. در چاهک‌های مربوط به نمونه‌ها ۱۰میکرولیتر پلاسما و به آن ۱۹۰ میکرولیتر از محلول کاری رنگ‌زای ABTS به همه چاهک‌ها اضافه شد. بعد از یک مرحله جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر توسط الایزا ریدر(آمریکا، Awareness) خوانش شد. در مرحله بعد ۵۰ میکرولیتر محلول کاری میوگلوبین به چاهک‌ها اضافه شد و پلیت به مدت ۳ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. در انتهای زمان انکوباسیون، ۵۰ میکرولیتر از محلول متوقف‌کننده واکنش به هر چاهک اضافه شد. در نهایت جذب نمونه‌ها برای بار دوم در ۴۹۰ نانومتر توسط الایزا ریدر خوانده شد و با محاسبه میانگین جذب نمونه‌ها و بردن آن بر روی منحنی استاندارد، غلظت آنتی‌اکسیدان تام نمونه‌های پلاسما بر حسب میلی‌مول محاسبه گردید.

اندازه‌گیری غلظت متابولیت‌های نیتریک اکسید(نیترات/ نیتریت):

تعیین مقدار متابولیت‌های نیتریک اکسید، با روش رنگ‌سنجی معرف گریس انجام شد. واکنش گریس شامل تشکیل یک کروموفور از دیازو شدن سولفانیل آمید (آلمان‌ـ مِرک) توسط نیتریت اسیدی و به دنبال آن جفت شدن با آمین‌های دو حلقه‌ای نظیرN- نفتیل اتیل دی-آمین(آلمان ـ مِرک) و در نهایت تولید رنگ ارغوانی است. این رنگ در طول موج nm ۵۴۰ دارای حداکثر جذب نوری است. پس از سانتریفیوژ نمونه برداشت شده از کیسه‌های خون، قبل از سنجش، نمونه‌های پلاسمای رویی دِپروتئینه شدند. برای این کار به ۳۰۰ میکرولیتر از پلاسما، ۱۵۰ میکرولیتر سدیم هیدروکسید ۰/۳ مولار(آلمان‌ـ مِرک) اضافه شده و سپس ۱۵۰ میکرولیتر از سولفات روی ۵٪ (آلمان ـ مِرک) اضافه گردید. نمونه‌ها، به مدت ۲۵-۲۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند، سپس در سانتریفیوژ یخچال دار با دور g ۳۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای انجام سنجش نیتریت، نیترات‌های پلاسما با یک احیاکننده شیمیایی به نام وانادیوم تری‌کلراید(آلمان‌ـ مِرک) به نیتریت تبدیل شده و سپس کل نیتریت محیط با استفاده از معرف گریس اندازه‌گیری شد. برای این کار به هر یک از چاهک‌های میکروپلیت، ۱۰۰ میکرولیتر پلاسما و ۱۰۰ میکرولیتر معرف گریس اضافه کرده و به مدت ۱۰ دقیقه پلیت در تاریکی در دمای اتاق قرار گرفت، سپس به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر وانادیوم تری کلراید اضافه کرده و به مدت ۴۵ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد(آلمان ـ ممرت) انکوبه شد. پس از آن جذب نوری رنگ تولید شده توسط الایزا ریدر در ۵۴۰ نانومترخوانده شد و بر اساس منحنی استاندارد نیتریت سدیم(آلمان‌ـ مِرک) که از قبل آماده شده بود، غلظت متابولیت‌ها به دست آمد. با توجه به این که رقت اضافه شدن معرف‌های گریس و وانادیوم کلراید برای نمونه پلاسما و نمونه استاندارد یکسان بود، صرفاً رقت انجام شده با سدیم هیدروکسید و سولفات روی منظور شد و نتایج نهایی ضرب در عدد ۲ شد.

اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدئید(MDA):

MDA اصلی‌ترین فرآورده پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع چندگانه می‌باشد. در این روش MDA با اسید تیوباربیتوریک وارد واکنش شده و تشکیل کمپلکس رنگی می‌دهد. در این واکنش ابتدا، پس از سانتریفیوژ نمونه برداشت شده از کیسه RBC، ۱۲۵ میکرولیتر از نمونه پلاسما با ۶۲۵ میکرولیتر تری‌کلرو استیک اسید ۲۰٪ (آلمان- سروا) دِپروتئینه شد. اسیدهای چرب غیر اشباع که اکسید شده‌اند(MDA) با ۲۵۰ میکرولیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۶٪ (آلمان‌ـ مِرک) تحت درجه حرارت بالا (۱۰۰-۹۰ درجه سانتی‌گراد) وارد واکنش شده و جذب نوری کمپلکس ایجاد شده که به رنگ صورتی می‌باشد در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط الایزا ریدر اندازه‌گیری گردید. سپس غلظت MDA بر اساس منحنی استانداردی که از قبل تهیه شده بود با واحد میکرومول/لیتر محاسبه گردید.

آنالیز آماری:

تمامی داده‌ها وارد نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ گردید. کلیه داده‌ها با استفاده از آزمون آماری کولموگروف اسمیرنوف دارای توزیع غیر طبیعی بود و به همین دلیل برای مقایسه داده‌ها در دو گروه صبح و عصر در روزهای مختلف از آزمون من‌ویتنی استفاده شد و برای ارزیابی روند تغییرات داخل گروهی، صبح و عصر از آزمون‌های واریانس Anova یک طرفه استفاده شد. مقادیر($p< ۰/۰۵$) از نظر آماری معنادار در نظرگرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تحلیل واریانس با استفاده از آزمون آماری Anova نشان می‌دهد که میزان غلظت پارامترهای مورد بررسی در روزهای مختلف اندازه‌گیری با یکدیگر تفاوت معناداری دارند. درحالی که تأثیر زمان جمع‌آوری خون بر میزان غلظت سایر پارامترهای مورد بررسی، وابسته به گروه‌ها نبوده و مستقل از آن‌ها می‌باشد و در طول زمان بین دو گروه گلبول قرمز جمع‌آوری شده در صبح و عصر از نظر میزان غلظت در آن‌ها تفاوت معناداری

جدول ۱: تجزیه و تحلیل آماری پارامترهای بیوشیمیایی گلبول قرمز طی ذخیره‌سازی در دو گروه اهداکننده صبح و عصر. اعداد حاصل میانگین سنجش به دست آمده از ۲۰ کیسه RBC است.

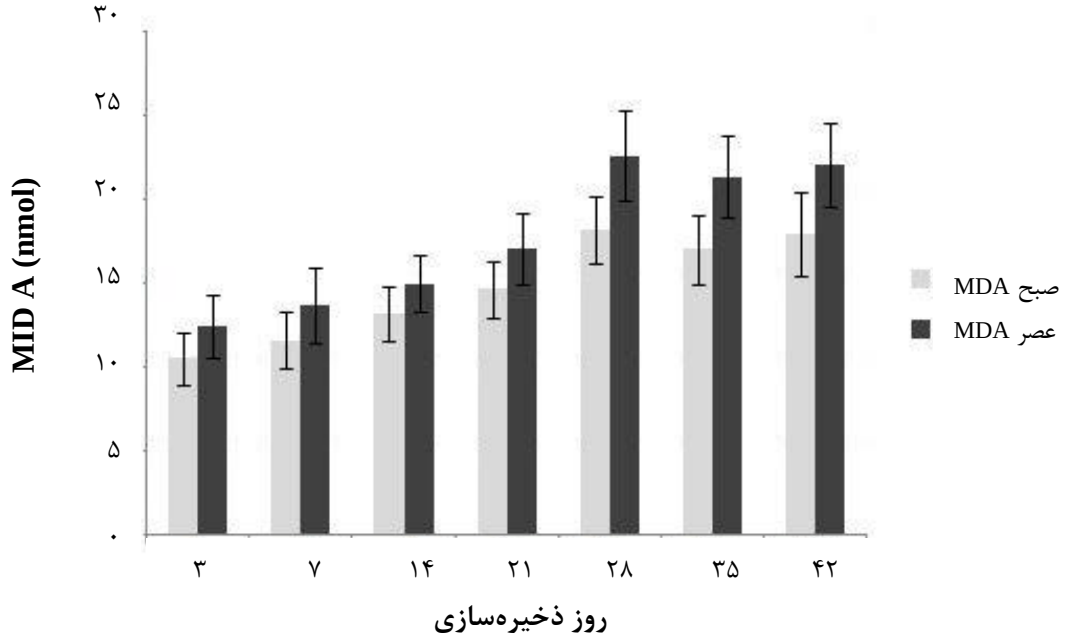
متابولیت	p value (مقایسه صبح و عصر)*	زمان جمع‌آوری	مقدار طی روزهای ذخیره‌سازی (SD ± میانگین)						
			روز ۳	روز ۷	روز ۱۴	روز ۲۱	روز ۲۸	روز ۳۵	روز ۴۲
TAC (mMol)	روز ۲۸ = ۰/۰۱	صبح	۰/۴۱۰±۰/۱۱	۰/۳۷۵±۰/۱۲	۰/۳۶±۰/۱۳	۰/۲۷۰±۰/۰۸	۰/۲۶۰±۰/۰۸	۰/۱۸۰±۰/۰۶	۰/۱۰۰±۰/۰۵
		عصر	۰/۴۰۰±۰/۱۰	۰/۳۴۰±۰/۰۹	۰/۳۳۵±۰/۰۹	۰/۲۷۰±۰/۱۲	۰/۱۹۲±۰/۱۰	۰/۱۶۵±۰/۱۵	۰/۱۰۰±۰/۱۶
مالون‌ی‌آلدئید (nMol)	–	صبح	۱۰/۵۴±۴/۹۱	۱۱/۶۴±۵/۲۲	۱۳/۱۸±۵/۲۳	۱۴/۶۹±۵/۲۹	۱۸/۱۷±۶/۳۲	۱۷/۰۴±۶/۵۸	۱۷/۹۴±۸/۰۰
		عصر	۱۲/۴۲±۵/۸۷	۱۳/۷۴±۷/۰۸	۱۵/۰۱±۵/۳۴	۱۷/۰۶±۶/۸۱	۲۲/۶۵±۸/۵۲	۲۱/۴۰±۷/۷۰	۲۲/۱۲±۷/۹۹
نیتریت/ نیترات (µMol)	روز ۷ = ۰/۰۱	صبح	۲۶/۰۵±۱۰/۰۶	۲۱/۹۶±۴/۷۷	۲۵/۳۰±۱۰/۱۲	۲۵/۵۲±۱۰/۱۴	۲۶/۴۰±۱۰/۷۲	۲۳/۹۱±۱۳/۰۲	۲۳/۶۸±۱۲/۲۸
	روز ۴۲ = ۰/۰۱	عصر	۲۸/۴۰±۷/۴۲	۲۵/۱۰±۲/۳۲۶	۲۵/۳۰±۳/۰۴	۲۶/۱۱±۴/۰۰	۲۵/۴۰±۳/۹۳	۲۴/۹۰±۳/۰۱	۲۵/۷۰±۳/۳۹
گلوکز (mg/dL)	–	صبح	۳۸۰/۵۲±۱۴/۲۳	۳۲۹/۱۸±۱۷/۷۸	/۳۷±۳۹/۰۰ ۲۴۴	/۳۰±۲۹/۹۱ ۱۸۹	/۳۴±۳۲/۲۲ ۱۳۷	/۵۶±۳۱/۲۵ ۱۰۵	۶۹/۲۱±۳۲/۲۰
		عصر	۳۸۲/۳۲±۲۹/۷۶	۳۳۵/۹۱±۲۶/۶۹	/۹۷±۳۰/۰۲ ۲۶۴	/۵۰±۲۲/۶۲ ۱۸۳	/۱۴±۱۹/۸۴ ۱۲۹	۹۳/۷۶±۲۰/۲۷	۶۸/۴۱±۲۲/۰۶
لاکتات (mg/dL)	روز ۷ = ۰/۰۰۹	صبح	۲۹/۷۶±۰/۳۲	۱۰۴/۸۵±۱۰/۲۸	/۵۷±۲۲/۷۶ ۱۷۳	/۸۰±۱۵/۸۹ ۲۲۰	/۷۵±۱۳/۲۳ ۲۴۷	/۰۰±۵۸/۳۳ ۲۸۷	/۲۱±۲۶/۲۶ ۲۸۹
		عصر	۷۴/۵۵±۱۶/۷۷	۹۱/۲۵±۱۱/۰۸	/۱۷±۱۱/۲۱ ۱۶۱	/۷۵±۱۰/۶۲ ۲۱۵	/۲۵±۱۶/۱۶ ۲۵۷	/۵۵±۲۴/۱۰ ۲۷۹	/۸۵±۱۸/۱۵ ۲۸۳
LDH (IU/L)	روز ۱۴= ۰/۰۴	صبح	۶۰/۰۸±۱۶/۷۰	۸۱۶/۰۰±۳۴۳/۲۱	/۹۱±۶۲۳/۶۱ ۱۳۰۹	/۲۳±۷۶۶/۹۹ ۱۹۱۰	/۸۳±۸۵۸/۷۷ ۲۴۵۴	/۹۶±۸۰۳/۸۲ ۲۷۷۳	/۴۳±۷۰۲/۹۳ ۳۲۴۱
	روز ۴۲ = ۰/۰۲	عصر	۴۳۹/۲۱±۱۳۶/۵۱	۹۴۶/۴۰±۳۴۱/۳۷	/۵۰±۶۶۵/۵۵ ۱۷۲۶	/۰۵±۹۶۰/۶۵ ۲۵۰۵	/۲۰±۹۱۹/۳۸ ۳۱۹۰	/۴۶±۱۱۴۱/۳۹ ۳۶۸۸	±۱۰۸۵/۵۹ ۴۰۱۸/۰۰
pH	روز ۲۱= ۰/۰۲	صبح	۴۲۵/۱۱±۸۲/۵۶	۷/۳۰±۰/۰۹	۷/۲۵±۰/۱۱	۷/۱۱±۰/۱۰	۶/۹۳±۰/۰۹	۶/۸۳±۰/۱۳	۶/۸۳±۰/۰۸
		عصر	۷/۳۵±۰/۰۸	۷/۳۰±۰/۰۹	۷/۲۸±۰/۰۶	۷/۲۰±۰/۰۶	۶/۹۷±۰/۰۸	۶/۹۳±۰/۰۹	۶/۸۹±۰/۰۹
Na (mEq)	روز ۴۲ = ۰/۰۳	صبح	۱۵۸/۸۰±۳/۸۷	۱۴۷/۹۵±۷/۸۴	۱۳۶/۲۵±۴/۶۱	/۰۰±۱۲/۱۷ ۱۳۰	۹۹/۱۵±۱۹/۲۳	۸۵/۲۰±۸/۷۸	۷۷/۴۰±۱۱/۱۹
		عصر	۱۵۵/۲۵±۴/۲۸	۱۴۵/۸۵±۱۲/۲۳	/۷۰±۱۲/۳۷ ۱۳۹	۱۲۲/۴۵±۸/۰۰	۹۱/۲۵±۱۱/۹۸	۷۸/۲۰±۹/۷۶	۶۹/۲۰±۱۰/۲۹
K (mEq)	روز ۳ = ۰/۰۰۹	صبح	۱۲/۸۲±۱/۶۳	۳۰/۰۸±۸/۸۶	۵۰/۲۷±۶/۴۷	۶۰/۳۰±۶/۴۷	۶۳/۴۴±۴/۴۶	۷۲/۹۶±۶/۹۴	۷۸/۸۱±۵/۴۹
		عصر	۱۱/۲۳±۱/۷۵	۳۲/۲۹±۴/۱۶	۵۳/۰۹±۵/۵۳	۶۱/۶۸±۶/۱۹	۶۶/۹۶±۷/۱۹	۷۲/۲۵±۴/۸۳	۸۲/۰۵±۶/۰۱

* برای مقایسه داده ها در دو گروه صبح و عصر در روزهای مختلف از آزمون **Mann Whitney** استفاده شد و **$p < ۰/۰۵$** معنادار در نظر گفته شد. در ستون دوم، فقط **P value** بین گروه های صبح و عصر در روزهایی که معنادار شده، ذکر شده است. **TAC**: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام؛ **LDH**: لاکتات دهیدروژناز.

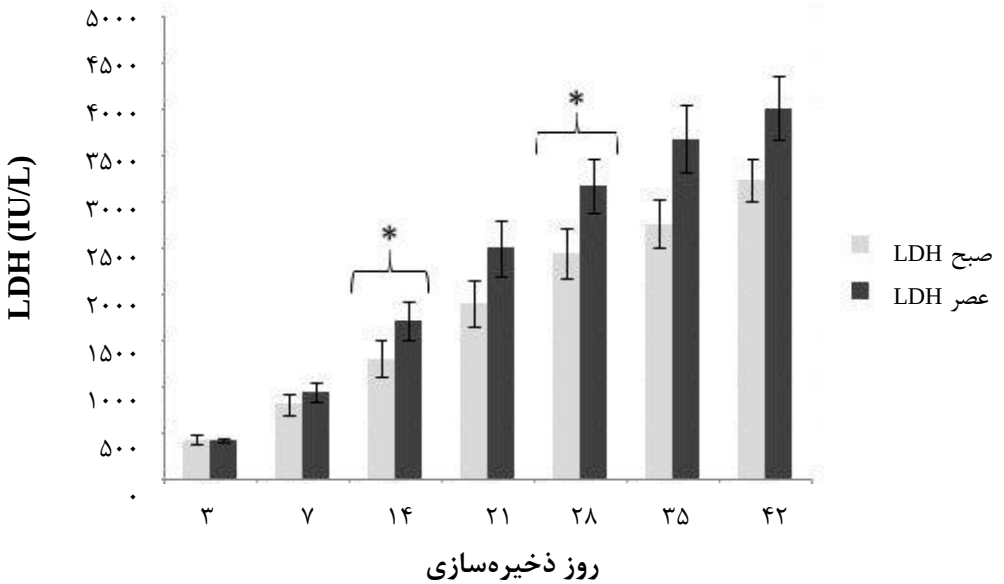
مشاهده نشد.

در مرحله اول، روند کاهشی یا افزایشی تمامی پارامترهای بیوشیمیایی از روز سوم تا چهل و دوم در هر دو گروه صبح و عصر انجام شد. بدین منظور، از آزمون Anova استفاده شد(جدول ۱). مقادیر TAC از روز سوم تا چهل و دوم در هر دو گروه صبح و عصر یک روند کاهشی معنادار را نشان داد($p< ۰/۰۰۱$). هم‌چنین مقادیر MDA از روز سوم تا چهل و دوم در هر دو گروه صبح و عصر یک روند افزایشی معنادار را نشان داد($p< ۰/۰۰۱$). این روند برای سدیم و پتاسیم از روز سوم تا چهل و دوم به ترتیب کاهشی و افزایشی بود($p< ۰/۰۰۱$). مقادیر گلوکز و pH از روز سوم تا چهل و دوم در هر دو گروه صبح و عصر یک روند کاهشی معنادار را نشان داد و برای مقادیر لاکتات و LDH از روز سوم تا چهل و دوم در هر دو گروه صبح و عصر یک روند افزایشی معنادار را نشان داد($p< ۰/۰۰۱$). متابولیت نیتریت/نیترات تنها فاکتور سنجش شده‌ای بود که از روز سوم تا چهل و دوم و در هر دو گروه صبح و عصر از نظر آماری هیچ روند کاهشی یا افزایشی نشان نداد.

در مرحله بعد، مقایسه تمامی پارامترهای بیوشیمیایی در گروه‌های صبح و عصر به تفکیک روزهای اندازه‌گیری انجام شد. بدین منظور، از آزمون من‌ویتنی استفاده شد (جدول ۱). همان‌گونه که در ستون دوم جدول ۱ مشاهده می‌شود بعضی از پارامترها در برخی از روزهای ذخیره‌سازی گلبول قرمز، بین گروه صبح و عصر سطح معناداری نشان دادند($p< ۰/۰۵$). این سطح معنادار برای TAC در روز بیست و هشتم، لاکتات در روز هفتم، سدیم در روز چهل و دوم و پتاسیم در روز سوم مشاهده شد به گونه‌ای که مقادیر سنجش در گروه صبح بیشتر از عصر بود. این سطح معنادار برای نیتریت/نیترات در روزهای هفتم و چهل و دوم، LDH در روزهای چهاردهم و چهل و دوم و pH در روز بیست و یکم مشاهده شد به گونه‌ای که مقادیر سنجش در گروه عصر بیشتر از صبح بود. برای TAC غیر از روز ۲۸، نیز در تمامی روزهای ذخیره‌سازی مقدار سنجش شده در صبح بیشتر از عصر بود هر چند از نظر آماری سطح معناداری حاصل نشد.



نمودار ۱: ارزیابی غلظت مالون‌دی‌آلدئید(MDA) درکیسه‌های گلبول قرمز طی ذخیره‌سازی در دو گروه اهداکننده صبح و عصر. روند افزایشی MDA در هر دو گروه مشاهده می‌شود($p < ۰/۰۰۱$)



نمودار ۲: ارزیابی میزان فعالیت آنزیم لاکتات دِهیدروژناز(LDH) در کیسه‌های گلبول قرمز طی ذخیره‌سازی در دو گروه اهداکننده صبح و عصر. روند افزایشی LDH در هر دو گروه مشاهده می‌شود (p< ۰/۰۰۱)

برای مالون‌دی‌آلدئید در تمامی روزهای ذخیره‌سازی، مقدار سنجش شده در عصر بیشتر از صبح بود هر چند از نظر آماری سطح معناداری حاصل نشد. روندی مشابه MDA نیز برای سطح LDH و سطح pH مشاهده شد.

تاثیر زمان جمع‌آوری خون بر میزان فعالیت آنزیم LDH و میزان غلظت MDA، وابسته به گروه‌ها است و مستقل از آن‌ها نمی‌باشد و در طول زمان تفاوت معناداری بین دو گروه گلبول قرمز صبح و عصر از نظر میزان فعالیت و غلظت آن‌ها مشاهده شد(p = ۰/۰۱)(نمودارهای ۱و ۲).

بحث

در این مطالعه به تاثیر آسیب اکسیداتیو بر پارامترهای بیوشیمیایی در گلبول‌های قرمز فرآوری شده از خون‌های کامل که در دو نوبت صبح و عصر از اهداکنندگان خون جمع‌آوری شده بود در طول مدت ذخیره‌سازی تا چهل و دو روز پرداخته شد. روندهای افزایشی و کاهشی پارامترهای بیوشیمیایی در طول شرایط ذخیره‌سازی گلبول قرمز تقریباً در هر دو گروه صبح و عصر یکسان بود. اما تفاوت در گروه‌های صبح و عصر برای هر کدام از پارامترها، صرفاً در برخی از روزهای ذخیره‌سازی مشاهده شد. با این حال با دانش ما و با جستجو در موتورهای جستجوگر معتبر، به نظر می‌رسید این اولین مطالعه‌ای است که به مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی گلبول‌های قرمز تهیه شده در صبح و عصر در طول ذخیره‌سازی در مراکز انتقال خون می‌پردازد.

بر طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که غلظت گلوکز در طی مدت نگهداری گلبول قرمز تا روز چهل و دوم در هر دو گروه گلبول قرمز جمع‌آوری شده در صبح و عصر به صورت معناداری کاهش یافت و این کاهش از روز چهاردهم به بعد با میزان بیشتری اتفاق افتاد اما تفاوت معناداری در کاهش غلظت گلوکز بین دو گروه گلبول قرمز جمع‌آوری شده در صبح و عصر دیده نشد. مطابق با مصرف گلوکز توسط گلبول‌های قرمز، در طی فرآیند گلیکولیز، تولید لاکتات نیز در طول مدت نگهداری به خصوص از روز چهاردهم به بعد افزایش چشمگیری داشته است. در همین راستا، هم زمان با تولید بیش از حد لاکتات، pH محیط گلبول قرمز نیز به خصوص از روز بیست و هشتم به بعد ذخیره‌سازی با کاهش شدیدی مواجه بود. این روند کاهشی در پارامترهای ذکر شده با نتایج به دست آمده از مطالعه امیدخدا و ماخرجی مطابقت داشت (۱۹، ۱۸). جالب این که این گروه توصیه کرده بودند که به علت کاهش کیفیت گلبول‌های قرمز در طی دوران

نگهداری، بهتر است که تزریق این فرآورده به بیماران تا قبل از روز بیست و یکم نگهداری انجام گردد. یافته‌ای که تقریباً با نتایج این مطالعه مطابقت داشت.

در بررسی ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی که یکی دیگر از پارامترهای این مطالعه بود، تجزیه و تحلیل آماری نشان‌دهنده کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در هر دو گروه گلبول قرمز جمع‌آوری شده در نوبت صبح و عصر در طول ذخیره‌سازی بود. کاهش ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در طول مدت نگهداری گلبول قرمز وابسته به گروه نبود و در هر گروه روند کاهش در ظرفیت آنتی‌اکسیدان یکسان بود. نتایج مقایسه دو تایی در دو گروه گلبول قرمز جمع‌آوری شده در صبح و عصر، فقط در روز چهاردهم نگهداری اختلاف معناداری را از نظر آماری در میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در دو گروه نشان می‌داد و سطح آنتی‌اکسیدانی گلبول‌های قرمز جمع‌آوری شده در عصر به مراتب کمتر از گروه گلبول قرمز صبح بود. روند کاهشی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام کیسه‌های گلبول قرمز در طول ذخیره‌سازی نیز در مطالعه اوگانرو و همکاران گزارش شده است(۲۰). در این مطالعه یک کاهش ۲۷٪ در روز بیستم نسبت به روز اول مشاهده شد. هم‌چنین این مطالعه نشان می‌داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و سوپراکسید دیس موتاز، کاهش قابل توجهی در روزهای ۱۵ و ۲۰ نشان می‌دهد که توجیه‌کننده کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در طول ذخیره‌سازی است. این روند کاهشی در ظرفیت آنتی‌اکسیدان و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مطالعه دیهیم و همکاران نیز گزارش شده است(۱۱). این گروه نیز با آنالیز وضعیت آنتی‌اکسیدانی، بهترین زمان ذخیره‌سازی گلبول‌های قرمز را تا دو هفته پیشنهاد کرده بودند. نتیجه‌ای که در وضعیت آنتی‌اکسیدانی گروه عصر این مطالعه نیز مشاهده می‌شد.

بر طبق نتایج به دست آمده از این مطالعه، میزان فعالیت آنزیم LDH در روند ذخیره‌سازی خون در دو گروه گلبول قرمز جمع‌آوری شده در صبح و عصر افزایش یافته بود. این افزایش در گروه گلبول قرمز جمع‌آوری شده در عصر، در مقایسه با گروه صبح به خصوص از روز بیست و هشتم به بعد تفاوت معناداری را از نظر آماری نشان می‌داد. این نتایج نشان داد که احتمال آسیب غشاء گلبول قرمز و در نتیجه لیز گلبول‌های قرمز در نتیجه آسیب‌های اکسیداتیو در گلبول‌های قرمز جمع‌آوری شده در عصر بیشتر از گروه صبح بود. بررسی فعالیت آنزیم LDH در طول مدت نگهداری، به عنوان فاکتور مهمی در ارزیابی میزان آسیب وارد شده به گلبول قرمز مطرح می‌باشد(۱۲، ۱۱). در مطالعه‌های بسیاری از جمله مطالعه مرجانی و همکاران و قزلباش و همکاران افزایش سطح فعالیت LDH در طول ذخیره‌سازی گلبول قرمز گزارش شده است(۲۲، ۲۱). هر چند بر خلاف مطالعه ما که سطح معنادار از روز بیست و هشتم مشاهده شد، در مطالعه مرجانی و همکاران از روز پنجم و در مطالعه قزلباش و همکاران از روز چهاردهم این تفاوت معنادار گزارش شده است.

یکی دیگر از پارامترها در طی ذخیره‌سازی، اندازه‌گیری غلظت سدیم و پتاسیم بود. در گلبول‌های قرمز گرادیانت سدیم ـ پتاسیم به طور طبیعی توسط پمپ سدیم ـ پتاسیم ATPase تأمین می‌شود که در طول ذخیره‌سازی گلبول قرمز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد عملکرد این پمپ دچار اختلال شده و بدین ترتیب غلظت پتاسیم داخل سلولی کاهش و غلظت پتاسیم در داخل پلاسما افزایش می‌یابد و بر عکس آن غلظت سدیم در داخل سلول افزایش و غلظت آن در پلاسما کاهش می‌یابد(۴). نتایج این تحقیق نشان می‌داد که غلظت پتاسیم در طی نگهداری گلبول‌های قرمز در هر دو نوبت اندازه‌گیری صبح و عصر، از روزهای سوم تا چهل و دوم به صورت متوالی و به صورت معناداری در هر دو گروه گلبول قرمز جمع‌آوری شده در صبح و عصر افزایش یافته بود. غلظت سدیم در پلاسما نیز، در طی نگهداری گلبول‌های قرمز در هر دو نوبت صبح و عصر، از روزهای سوم تا چهل و دوم به صورت متوالی و به صورت معناداری کاهش یافته بود. اما از نظر آماری، اختلاف معناداری در میانگین غلظت سدیم و پتاسیم بین دو گروه گلبول قرمز جمع‌آوری شده در صبح و عصر وجود نداشت. نتایج این مطالعه برای سدیم و پتاسیم همسو با نتایج مطالعه‌های دیهیم و همکاران، هاشمی طیر و همکاران و اوگانرو و همکاران برای روند افزایشی پتاسیم و کاهشی سدیم بود(۲۰، ۱۱، ۹).

بر طبق نتایج به دست آمده از این مطالعه میزان متابولیت‌های نیتریک اکسید(نیترات و نیتریت) در طی نگهداری گلبول‌های قرمز تهیه شده در هر دو نوبت صبح و عصر سطح بالایی داشت که نسبت مستقیم با افزایش مصرف نیتریک اکسید و در نتیجه کاهش سطح آن در سلول دارد. هر چند هیچ گونه روند افزایشی یا کاهشی معناداری در روزهای ذخیره‌سازی در هر دو گروه صبح و عصر مشاهده نشد. با این وجود نتایج آماری مقایسه دوتایی، نشان داد که متابولیت‌های نیتریک اکسید در گروه گلبول قرمز جمع‌آوری شده در عصر نسبت به صبح در روزهای هفتم و چهل و دوم نگهداری گلبول قرمز از افزایش معناداری برخوردار بود و این نتایج شاید بتواند این فرضیه را تایید کند که میزان برداشت نیتریک اکسید توسط میکروپارتیکل‌های گلبول قرمز و هم چنین اتصال آن‌ها به هموگلوبین آزاد، در گلبول‌های قرمز جمع‌آوری شده در عصر نسبت به صبح بیشتر بوده که باعث کاهش سطح نیتریک اکسید شده است که می‌تواند بر کیفیت این فرآورده تاثیر منفی داشته باشد(۲۴، ۲۳).

در این مطالعه، هم چنین به بررسی وضعیت پراکسیداسیون لیپیدها در فرآورده گلبول قرمز در طی مدت زمان نگهداری در هر دو نوبت صبح و عصر از طریق اندازه‌گیری غلظت MDA پرداخته شد. با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق، طی نگهداری گلبول‌های قرمز در هر دو نوبت گلبول‌های قرمز جمع‌آوری شده در صبح و عصر، از روزهای سوم تا چهل و دوم به صورت متوالی غلظت MDA به صورت معناداری افزایش یافته بود که این افزایش در طی نگهداری گلبول قرمز، به خصوص از روز بیست و یکم به بعد نگهداری، از افزایش بیشتری برخوردار بود. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که غلظت MDA درگلبول های قرمز جمع‌آوری شده در عصر نسبت به صبح از افزایش بیشتری برخوردار بود و این اختلاف از نظر آماری معنادار بود. افزایش پراکسیداسیون لیپیدها یکی از مهم‌ترین رخدادهای آسیب اکسیداتیو می‌باشد که می‌تواند سبب افزایش شکنندگی اسمزی غشای گلبول قرمز و تشکیل اسفروسیت‌ها و اکینوسیت‌ها شده و در نتیجه لیز گلبول قرمز را به همراه داشته و سبب کاهش کیفیت این فرآورده در طول مدت نگهداری گردد(۱۲). اوگانرو و همکاران نیز مانند مطالعه ما روند افزایشی سطح MDA را گزارش کرده‌اند و در مطالعه شان یک کاهش ۲۴٪ در سطح MDA مشاهده کردند(۲۰). هم‌چنین در مطالعه مرجانی و همکاران و اصلان و همکاران نیز مانند این مطالعه، روند افزایشی MDA طی ذخیره‌سازی گزارش شده است(۲۵، ۲۱). هر چند بر خلاف مطالعه ما، مرجانی و همکاران افزایش معنادار را از روز نهم ذخیره‌سازی گزارش کردند. در مطالعه اصلان و همکاران نیز افزایش را تا روز نوزدهم مشاهده کردند که این افزایش تقریباً در سطحی ثابت تا پایان دوره ذخیره‌سازی تغییر نکرده بود. یافته‌ای که در مطالعه ما مشاهده نشد زیرا روند افزایشی MDA هم‌چنان تا روز چهل و دوم ادامه داشت.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد فرآورده گلبول قرمز تهیه شده از خون کامل جمع‌آوری شده از اهداکنندگان در نوبت عصر نسبت به واحدهای جمع‌آوری شده در صبح از کیفیت پایین‌تری بالاخص در روزهای آخر ذخیره‌سازی برخوردار بوده و به همین علت شاید بتوان توصیه کرد که خون‌های اهدایی در عصر در هفته‌های ذخیره‌سازی کوتاه‌تری مورد مصرف قرار گرفته و تزریق شوند. این نتایج نیازمند مطالعه‌های بیشتر و گسترده‌تری در این زمینه است و این احتمال وجود دارد که با بررسی‌های بیشتر و تایید احتمالی این نتایج در حجم نمونه‌های بالا، این یافته‌ها مورد توجه مراکز انتقال خون قرار گرفته و با توجه به افزایش ارتقای کیفیت فرآورده گلبول‌های قرمز تهیه شده در صبح، در دستورالعمل‌های زمان نگهداری گلبول قرمز تهیه شده بر اساس زمان خونگیری بازنگری ایجاد نمود.

تشکر و قدردانی

این پروژه بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد که در تاریخ ۹۶/۱۱/۲۵ 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 هم چنین 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.
2- Sabzehkar F, Yaghoobi M, Pakzad R, Charkhat-Gorgij E, Shirzaie K, Salehiniya H. Effect of education on the knowledge of health care workers about blood products, blood administration, and transfusion complicationss. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2015; 11(4): 337-42. [Article in Farsi]
3- Teimuri Naghadeh H, Karimi G, Rostamian A, Kiadaliri K, Behzad J, Vafaei Shooshtari M, *et al*. Assessment of cold chain equipment and the study of effective factors in storage of blood and blood components in mazandaran and gilan provinces. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2011; 7(4): 235-41. [Article in Farsi]
4- Adams F, Bellairs G, Bird A, Oguntibeju O. Biochemical storage lesions occurring in nonirradiated and irradiated red blood cells: a brief review. BioMed Res Int 2015; 2015: 968302.
5- Bode AP. Platelet activation may explain the storage lesion in platelet concentrates. Blood Cells 1990; 16(1): 109-25.
6- Yoshida T, Prudent M, D'alessandro A. Red blood cell storage lesion: causes and potential clinical consequences. Blood Transfus 2019; 17(1): 27-52.
7- D'Alessandro A, Liumbruno G, Grazzini G, and Zolla L. Red blood cell storage: the story so far. Blood Transfus 2010; 8(2): 82-8.
8- 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.
9- Hashemi Tayer A, Amirizadeh N, Mghsodlu M, Nikogoftar M, Deyhim MR, and Ahmadinejad M. Evaluation of Blood Storage Lesions in Leuko-depleted Red Blood Cell Units. Iran J Ped Hematol Oncol 2017; 7(3): 171-9.
10- Barzegar S, Nadali F, Pourfathollah AA, Abbaspour AR, 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]
11- 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.
12- 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.
13- Milev NB, Reddy AB. Circadian redox oscillations and metabolism. Trends Endocrinol Metab 2015; 26(8): 430-7.
14- O'Neill JS, Reddy AB. Circadian Clocks in Human Red Blood Cells. Nature 2011; 469(7331): 498-503.
15- Radha E, Hill TD, Rao GH, White JG. Glutathione levels in human platelets display a circadian rhythm *in vitro*. Thromb Res 1985; 40(6): 823-31.
16- Morera-Fumero AL, Abreu-Gonzalez P, Henry-Benitez M, Fernandez-Lopez L, Diaz-Mesa E, Cejas-Mendez MR, *et al*. Day/Night and Summer/Winter Changes in Serum Total Antioxidant Capacity. Med Chem 2018; 14(3): 225-9.
17- Zawilska JB, Skene DJ, Arendt J. Physiology and pharmacology of melatonin in relation to biological rhythms. Pharmacol Rep 2009; 61: 383-410.
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- Ogunro PS, Ogungbamigbe TO, Muhibi MA.The influence of storage period on the antioxidants level of red blood cells and the plasma before transfusion. Afr J Med Med Sci 2010; 39(2): 99-104.
21- Marjani A, Abolvahab Moradi, Araz Berdie Ghourcaie. Alterations in Plasma Lipid Peroxidation and Erythrocyte Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Enzyme Activities During Storage of Blood. Asian J Biochem 2007; 2(2): 118-23.
22- 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.
23- Liu C, Zhao WX, Christ GJ, Gladwin MT, Kim-Shapiro DB. Nitric Oxide Scavenging by Red Blood Cell Microparticles. Free Radic Biol Med 2013; 65: 1164-73.
24- Stapley R, Owusu BY, Brandon A, Cusick M, Rodriguez C, Marques MB, *et al*. Erythrocyte storage increases rates of NO and nitrite scavenging: implications for transfusion-related toxicity. Biochem J 2012; 446(3): 499-508.
25- Aslan R, Sekeroğlu MR, Tarakçioğlu M, Köylü H. Investigation of malondialdehyde formation and antioxidant enzyme activity in stored blood. Haematologia (Budap). 1997; 28(4): 233-7.

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2019;16 (3): 161-171

Original Article

Red blood cells storage lesion: the effect of blood donation time on biochemical parameters

Jahanshahi Ghajar S.[1], Deyhim M.R.[2], Sotoudehnejad Nematollahi F.[3], Rafiei M.H.[2]

[1]Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2]Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran
[3]Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

There is a circadian rhythm and diurnal variation in the redox capacity in blood plasma and there is a decrease in antioxidant capacity (TAC) during the RBCs storage in blood banking. So it is possible that donated blood, based on donation time, has a different antioxidant capacity and as a result a different biochemical response during storage. This study attempts to uncover this issue.

Materials and Methods

In this experimental study, Twenty RBC units were collected from two donor groups in the morning (8-11am) and evening (5-8pm) and were stored for 3 to 42 days at 4 to 8 degrees Celsius. Glucose, Sodium, potassium, lactate, lactate dehydrogenase (LDH), pH, malondialdehyde (MDA), and total antioxidant capacity were measured by a commercial kit. Nitrate/nitrite was measured by Griess method.

Results

The levels of nitrate/nitrite, MDA, and LDH in the evening group increased significantly when compared to the morning group ($p < 0.05$). However, a decreasing trend in TAC, pH, Glucose, and sodium levels ($p < 0.05$) versus an increasing trend in potassium, lactate, LDH, and MDA was seen in both groups during storage ($p < 0.05$).

Conclusions

This study showed that oxidative damage in donated blood in the evening was higher than in the morning during storage, which may reduce RBC survival. Therefore, more studies are required with more sample sizes to examine the effect of donation time on the RBC storage lesion.

Key words: Blood Donation, Blood Banking, Circadian Rhythm

Received: 31 Dec 2018
Accepted: 2 Jun 2019

Correspondence: Rafiei MH., PhD in Clinical Biochemistry. 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) 82052230; Fax: (+9821) 88601555
E-mail: *hessam.rafiee@yahoo.com*