Original Article

The Evaluation of Quality Parameters of Platelet Apheresis Products Obtained from the Fresenius COM.TEC Device during Storage

Elahe Ashouri Kafshgar[1], Azita Chegini[1], Shahram Samiee[1], Maryam Zadsar[1]

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

Received: 2024/11/12
Accepted: 2025/07/29

http://dx.doi.org/10.61186/bloodj.21.4.296

Citation:
Ashouri kafshgar E, Chegini A, samiee Sh, Zadsar M. The Evaluation of Quality Parameters of Platelet Apheresis Products Obtained from the Fresenius COM.TEC Device during Storage. J Iran Blood Transfuse. 2025: 22 (2): 150-159

Correspondence: Chegini A., 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) 82052256
E-mail:
a.chegini@tmi.ac.ir

ABSTRACT

Background and Objectives

Platelets are small, nucleus-free cells vital for a variety of therapeutic interveutions. Ensuring the quality of transfused platelets is critical for optimal patient outcomes. Various devices are for separating platelet products from whole blood, each with unique characteristics. This study aimed to evaluate the Fresenius COM.TEC platelet apheresis machine by analyzing changes in pH, platelet count (PLT), Lactate dehydrogenase (LDH) levels, and platelet viability (MTT assay) across storage days 1, 3, and 5.

Materials and Methods

In this experimental study, 25 randomly selected platelet apheresis units from male donors were collected at the Tehran Blood Transfusion Center using the Fresenius COM.TEC device. The platelet products were stored at 20-24 °C in a shaker incubator. Samples were collected on storage days 1, 3, and 5 for evaluation of pH, LDH, PLT count, and platelet viability (MTT). All tests were conducted at the Blood Transfusion Research Center laboratory. Data analysis was performed using R software, and results with a p-values 0.05 were considered statistically significant.

Results

LDH levels were highest on day 5 and showed a significant increase throughout the storage period, with statistically significant differences between storage days. A consistent pH decline was also observed over time. MTT assay results indicated an transient increase on day 3, followed by a decline on day 5, with reaching statistical significance ($p< 0.0001$). in contrasts, platelet count did not exhibit any significant changes across all storage days ($p> 0.05$).

Conclusions

There was no significant change in Platelet counts in apheresis products collected via the Fresenius COM.TEC device during storage. However, the observed pH decrease and LDH increase on days 1, 3, and 5 are consistent with trends reproted in similar studies. Interpretation of MTT assay outcomes should be approaches with caution due to its limitations, underscoring the need for robust control.

Key words: Plateletpheresis, Quality control, Blood Platelets, Platelet Transfusion

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.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-09]

خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۲۲ شماره ۲ تابستان ۱۴۰۴ (۱۵۹-۱۵۰)

مقاله پژوهشی

بررسی پارامترهای کیفی پلاکت در فرآورده پلاکت فرزیس حاصل از دستگاه Fresenius COM.TEC در طی روزهای ذخیره‌سازی

الهه آشوری کفشگر[۱]، آزیتا چگینی[۲] ، شهرام سمیعی[۳] ، مریم زادسر[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد هماتولوژی و بانک خون ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۲- متخصص بیهوشی ـ استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۳- کارشناس ارشد بیوشیمی ـ مربی مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۴- متخصص بیماری‌های عفونی ـ دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۰۷

http://dx.doi.org/10.61186/bloodj.21.4.296

Citation:
Ashouri kafshgar E, Chegini A, samiee Sh, Zadsar M. The Evaluation of Quality Parameters of Platelet Apheresis Products Obtained from the Fresenius COM.TEC Device during Storage. J Iran Blood Transfuse. 2025: 22 (2): 150-159

نویسنده مسئول:
دکتر آزیتا چگینی. استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵
E-mail: *a.chegini@tmi.ac.ir*

کد اخلاق:
IR.TMI.REC.1402.009

چکیده

سابقه و هدف

پلاکت‌ها سلول‌های کوچک و بدون هسته‌ای هستند که برای انواع مداخلات درمانی حیاتی می‌باشند. اطمینان از کیفیت پلاکت‌های تزریق شده برای دستیابی به نتایج مطلوب برای بیمار بسیار مهم است. دستگاه‌های مختلفی برای جداسازی محصولات پلاکتی از خون کامل وجود دارند که هر کدام ویژگی‌های منحصر به فردی دارند. این مطالعه با هدف ارزیابی دستگاه آفرزیس پلاکت Fresenius COM.TEC با تجزیه و تحلیل تغییرات pH، تعداد پلاکت، سطح لاکتات دهیدروژناز و زنده‌مانی پلاکت (MTT) در روزهای نگهداری ۱، ۳ و ۵ انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، ۲۵ واحد آفرزیس پلاکت به صورت تصادفی از اهداکنندگان مرد در مرکز انتقال خون تهران با استفاده از دستگاه Fresenius COM.TEC جمع‌آوری شد. فرآورده‌های پلاکتی در دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد در شیکر انکوباتور نگهداری شدند. نمونه‌ها در روزهای نگهداری ۱، ۳ و ۵ برای ارزیابی pH، LDH، تعداد و زنده‌مانی پلاکت جمع‌آوری شدند. تمام آزمایش‌ها در آزمایشگاه مرکز تحقیقات انتقال خون انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار R انجام شد و مقادیر $p< ۰/۰۵$ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها

سطح LDH در روز ۵ به بالاترین حد خود رسید و در طول دوره نگهداری افزایش معناداری نشان داد و تفاوت آماری معناداری بین روزهای نگهداری وجود داشت. کاهش مداوم pH نیز در طول زمان مشاهده شد. نتایج سنجش MTT افزایشی گذرا در روز ۳ و به دنبال آن کاهش در روز ۵ را نشان داد که از نظر آماری معنادار بود ($p< ۰/۰۰۰۱$). در مقابل، تعداد پلاکت‌ها هیچ تغییر معناداری را در تمام روزهای نگهداری نشان نداد.

نتیجه گیری

هیچ تغییر قابل توجهی در تعداد پلاکت‌ها در فرآورده‌های آفرزیس جمع‌آوری شده از طریق دستگاه Fresenius COM.TEC در طول مدت نگهداری مشاهده نشد. با این حال، کاهش pH و افزایش LDH در روزهای ۱، ۳ و ۵ مشاهده شد که با روندهای گزارش‌شده در مطالعه‌های مشابه مطابقت دارد. تفسیر نتایج سنجش MTT به دلیل محدودیت‌های آن باید با احتیاط انجام شود و بر لزوم کنترل‌های دقیق تأکید می‌گردد.

کلمات کلیدی: **پلاکت فرزیس، کنترل کیفی، پلاکت‌های خون، انتقال پلاکت**

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-09]

مقدمه

پلاکت‌ها سلول‌های کوچک بدون هسته‌ای هستند که قطری حدود ۵-۲ میکرون دارند و از سلول‌های بزرگی تحت عنوان مگاکاریوسیت‌ها در مغز استخوان منشا می‌گیرند (۱). این سلول‌ها در حالت استراحت به دلیل شبکه‌هایی از رشته‌های اکتین و میکروتوبول‌های درونشان دارای شکلی دیسکویید می‌باشند. تعداد طبیعی پلاکت‌ها در خون حدود ۱۵۰ تا ۴۰۰ هزار در هر میکرولیتر است (۳، ۲). پلاکت‌ها نقش مهمی در هموستاز و فعالیت‌های انعقادی دارند، به طوری که تزریق آن‌ها برای بیماران با ترمبوسیتوپنی نجات‌دهنده بوده و یکی از راه‌های افزایش پلاکت بیماران، تزریق پلاکت‌های اهدایی تهیه شده با روش‌های مختلف می‌باشد (۴، ۱). فرآورده‌های پلاکتی با سه روش متفاوت PRP (Platelets rich plasma)، Buffy coat و Apheresis تهیه می‌شوند (۴). روش آفرزیس را می‌توان روشی ایمن برای تولید مؤثرتر پلاکت به دلیل تماس بیماران با اهداکنندگان کمتر در نظر گرفت (۵). اساس جداسازی پلاکت در روش آفرزیس ورود خون اهداکننده به دستگاه آفرزیس و جداسازی پلاکت و بازگشت باقی اجزای خون به بدن اهدا کننده است. این دستگاه‌ها با سیستم فیلتراسیون یا سانتریفیوژ یا ترکیبی از این دو قادر به جداسازی اجزای خون هستند (۶). Haemonetics MCS و Trima Accel و COBE Spectra و Fresenius و ... دستگاه‌های جداسازی پلاکت به روش سانتریفیوژ می‌باشند (۸، ۷). مطالعه‌های اخیر به بررسی دستگاه‌های مختلف از نظر ارزیابی هر چه دقیق‌تر عملکرد دستگاه‌ها و کیفیت فرآورده حاصل از آن‌ها همانند تعداد پلاکت‌ها و تغییرات Glucose, pH, LDH ، میزان فعال شدن پلاکت‌ها و هم‌چنین میکروپارتیکل‌های پلاکتی پرداخته‌اند (۹).

یکی از دستگاه‌های تهیه پلاکت آفرزیس، Fresenius COM.TEC است. این دستگاه بر اساس سانتریفیوژ جریان متناوب (IFC) به جداسازی پلاکت از سایر اجزای خونی می‌پردازد، در این روش خون پس از تکمیل فرآیند جداسازی به بدن اهداکننده باز می‌گردد. خون در فرآیند جداسازی با استفاده از پمپ‌های مختلف نظیر پمپ خون، پمپ ضد انعقاد، پمپ وریدی و پمپ جمع‌آوری در ست دستگاه به جریان می‌افتد. پس از سانتریفیوژ، پلاکت‌ها جدا شده و در نهایت فرآورده پلاکتی حاصل در کیسه پلاکت جمع‌آوری می‌گردد و سایر سلول‌ها به همراه پلاسما به بدن اهداکننده بازگردانده می‌شود. لذا در این مطالعه به بررسی تعداد پلاکت‌ها، MTT ، LDH و pH در پلاکت‌های تهیه شده توسط دستگاه Fresenius COM.TEC در طول مدت ذخیره‌سازی پلاکت‌ها پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، از واحدهای پلاکت آفرزیس حاصل ازدستگاه Fresenius COM.TEC که در اداره کل انتقال خون استان تهران در بخش اهدا تهیه شده بود، استفاده گردید. از اهداکنندگان داوطلب، رضایت‌نامه آگاهانه جهت استفاده از محصول نهایی پلاکت آفرزیس در کار تحقیقاتی گرفته شد. معیار ورود اهداکنندگان به این مطالعه، افراد کاملاً سالم با هموگلوبین بیش از ۱۲/۵ گرم در دسی‌لیتر، وزن اهداکننده بیش از ۵۰ کیلوگرم، هماتوکریت بیش از ۳۸٪، آزمایش‌های منفیHIV ، HBsAg ، HCV وRPR ، گذشت حداقل ۳ ماه پس از اهدای خون کامل و حداقل ۳ روز پس از آخرین اهدای پلاکت و دسترسی کافی به وریدهای اهداکننده با رعایت دستورالعمل‌های سازمان انتقال خون ایران بودند.

معیارهای خروج شامل مصرف داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAIDs) مانند آسپرین، ایبوپروفن، ناپروکسن، دیکلوفناک و غیره و ابتلا به بیماری زمینه‌ای بودند. نمونه‌گیری از فرآورده پلاکتی حاصل ازدستگاه Fresenius COM.TEC (Fresenius HemoCare GmbH آلمان) صورت گرفت.

پارامترهای تنظیم شده در دستگاه Fresenius COM.TEC شامل: جریان خون کامل ۷۵-۵۰ میلی‌لیتر در دقیقه، نقطه تنظیم رابط ۳۳ و ضد انعقاد خون به کل خون ۱: ۹ بود. اطلاعات زیر شامل وزن اهداکننده، جنس، قد، سطح هموگلوبین و میزان پلاکت قبل از آفرزیس به دستگاه داده می‌شد. میزان برداشت هدف پلاکت (Target PLT yield) به میزان ($۱۰^{۱۱} \times ۵-۳$) تعیین شد.

در هر آفرزیس ،دو کیسه فرآورده پلاکت آفرزیس تهیه می‌گردید که یک کیسه با حجم۲۵۰ میلی‌لیتر جهت تزریق به بیمار به بیمارستان ارسال می‌شد. کیسه دیگر برای بررسی و انجام آزمایش‌های مطالعه، با حجم حدود ۵۰ میلی‌لیتر تهیه گردید. همه کیسه‌های دریافت شده با حجم

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-09]

حـــــدود ۵۰ میلی‌لیتر جهت انجام آزمایش‌ها به مرکز تحقیقات انتقال خون منتقل شـد. به هرکدام ازکیسـه‌های آفرزیس تهیه شده ابتدا لیبل خاصی چسبانیده و سپس در شیـکر انکوباتور در آزمایشگاه مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون با دمای مشـخص ۲ ± ۲۲ درجه سـانتی‌گراد با حرکت دورانی ملایم ۶۰ rpm نگهداری شـدند و در روزهای ۱،۳،۵ کیسـه‌های پلاکت آفرزیس از نظر ظاهری و swirling مورد بررسـی قرار گرفتند. Swirling (یـــا چرخش) با بررسـی کیسـه‌های حاوی پلاکت در برابر نور ارزیابی و به صورت زیر امتیازدهی شد:

امتیاز ۰: همگن کدر است و با فشار تغییر نمی‌کند.

امتیاز ۱: همگن فقط در قسمتی از کیسه می‌چرخد و شفاف نیست.

امتیاز ۲: چرخش همگن واضح در تمام قسمت‌های کیسه.

امتیاز ۳: چرخش همگن بسـیار واضـح در تمام قسـمت‌های کیسه (۱۰). پس از تـــایید سلامت و طبیعی بودن رنگ و swirling، برای انجـــام آزمـــایش‌های مورد نظر در روزهای ۱،۳،۵ ذخیره‌ســـازی ، حـدود ۱۰ میلی‌لیتر از فرآورده از طریق کورد کیســـه، به لوله فالکون اســـتریل منتقل شـــد. فرآورده‌های منتقل شـــده به فالکون جهت بررســـی از نظر شـــمارش پلاکت، نمونه‌ها با PBS به نســـبت ۱ به ۵ رقیق شـده و سـپس، به دسـتگاه سـل کانتر SYSMEX KX1000 داده شـد تا از نظر تعداد پلاکت شـمارش شـوند. سـپس الکترودهـای دســـتگـاه pHمتر (Herisau ، pH lab ۸۲۷ Metrohm سوئیس) با استفاده از آب دیونیزه شسته و با گاز استریل آب‌گیری شد و در نهایـت در محلول pH خنثی (۷ =pH) کالیبره گردید و بعد از اطمینان از صـحت دسـتگاه و خوانش درسـت، pH نمونه‌ها با دسـتگاه pH متر در هر سـه روز ذخیره‌سـازی اندازه‌گیری شـد. برای بررسـی و تشـخیص آســـیـب ســـلولی و تعیین میزان آن، آزمـایش لاکتـات دهیدروژناز (LDH) برای کیسه‌ها انجام شد. ۵۰۰ میکرولیتر از نمونه پلاکتی از فالکون اســـتریل به میکروتیوب منتقل و سپس با دور rpm ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در هر سـه روز ۱، ۳ و ۵ ، فعالیت آنزیم LDH با اسـتفاده از کیت شـرکت دلتا درمان پارس بر اسـاس واکنش تبدیـــل لاکتـــات بـــه پیـــروات که توسط آنزیم LDH کاتـــالیز می‌شـــود، توســـط دســـتگاه کوباس ECL COBAS E411 اندازه‌گیری گردیـد. برای بررسی زنده‌مانی سلول‌ها، از روش (MTT) 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide استفاده شـد.

در ایـــن روش، ابتدا حـــدود $۱۰^{۷}$× ۱سـلول در ۱۰۰ میکرولیتر پلاکـــت آماده شد و به چاهک‌های پلیت منتقل گردیـد و سپس ۱۰ میکرولیتر از محلول فرمازون (Sigma-Aldrich,USA) به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۴ ساعت در انکوبـاتور CO_2 انکوبـه گردیـد. پس از طی مـدت انـکوبـاسیون، معرف DMSO (دی متیل سولفوکسید)(مرک، آلمان) را به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر بـــه نمونه‌ها اضافه کرده و سپس ۱۰ دقیقه در انکوباتور CO_2 انکوبـه شد. بعد از طی مدت زمان انکوباسیون، نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نـانومتر توسط الایزا ریـــدر (کارخانجات تولیدی نورهان فجر Elisa reader multiskan-thermo fisher scientific ، آمریکا) خوانده شد.

آزمون آماری:

به منظور محاسبه حجم نمونـــه در این طرح از نرم‌افزار G*power اســـتفاده شـــد. در این نرم‌افزار با در نظر گرفتن آزمون repeated measure تحت فرض سطح معناداری ۰/۰۵ و توان ۸۰ درصد و یـــک اندازه اثر (effect size f=0.17) ، حداقل حجم نمونه برابر ۲۵ محاسبه گردید.

بـــا توجه به توزیع طبیعی، داده‌های حاصل از آزمایش‌ها در نرم‌افزار R وارد و میانگین و انحراف معیار و p-value بـــا مدل Linear regression در روزهای مختلف ذخیره‌ســـازی (۱،۳،۵) محاسـبه گردید. p-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

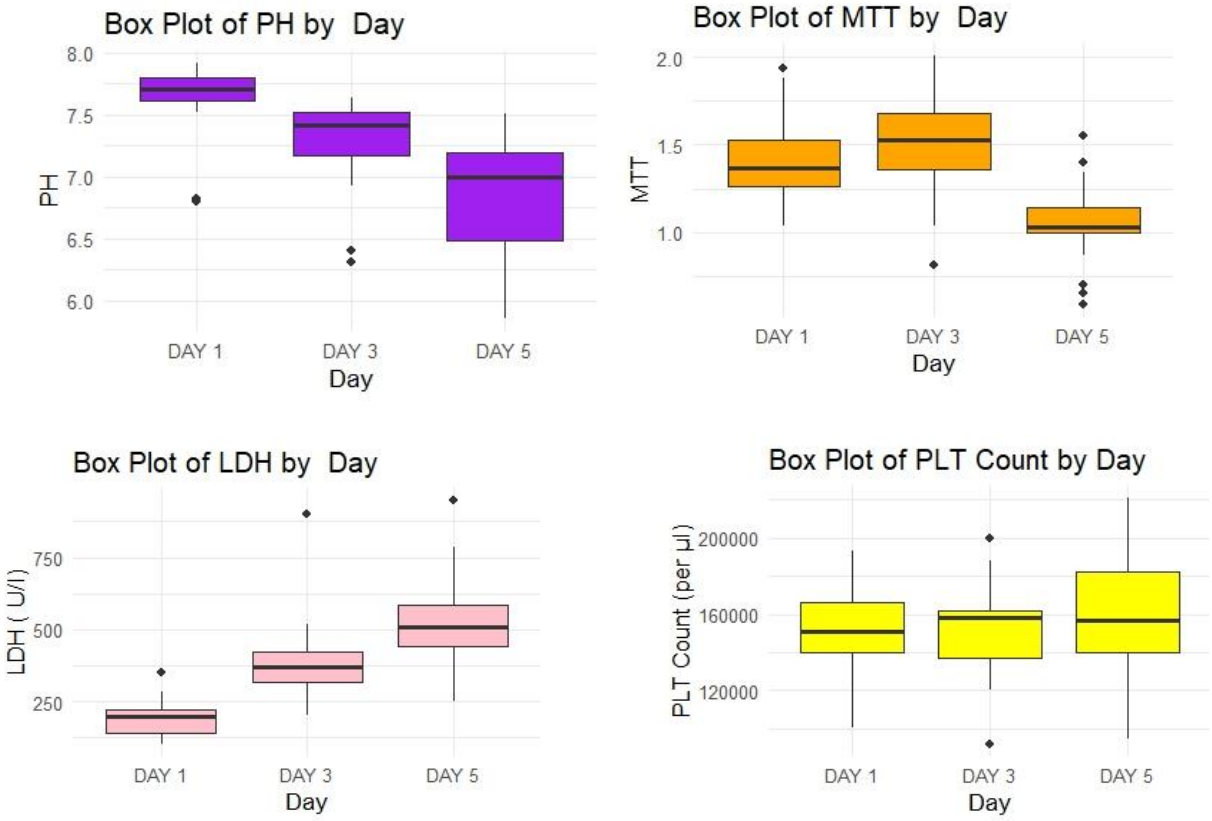
یافته‌ها

۲۵ فرآورده پلاکت حاصـــل از دســـتگاه Fresesnius COM.TEC در روزهای ذخیره‌سازی (۱،۳،۵) بررسی گردید. پلاکت‌های آفرزیس از نظر ظاهری و swirling در روزهای ذخیره‌ســـازی اول و ســـوم امتیاز ۲ و ۳ را گرفتند. میانگین نتایج شـمارش پلاکت در روز ۱ ذخیره‌ســـازی فرآورده‌های پلاکت آفرزیس حاصل از دستگاه Fresesnius ، COM.TEC $۱۵۱/۹۲۰\times۱۰^{۳}/\mu L$ و در روز ۳ ذخـــیـــره‌ســـــازی $۱۵۳/۶۴۰\times۱۰^{۳}/\mu L$ و هم‌چنین در روز پنجم $۱۵۹\times۱۰^{۳}/\mu L$ بود. تفاوت معناداری از روز اول تا پنجم در تعداد پلاکت مشـاهده نشـد. تغییرات pH در روز ۱ ذخیره‌سـازی ۷/۶۳ و در روز ۳ ، ۷/۳۰ و در روز ۵، ۶/۸۹ دیده شد (p< ۰/۰۰۰۱) (نمودار ۱)(جدول ۱).

میانگین زنـده‌مانی پلاکت‌ها با آزمایـش MTT در روز ۱ ذخیره‌ســـازی ۱/۴۰ در روز ۳، ۱/۵۱ و در روز ۵، ۱/۰۵ بود

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-09]

(p< ۰/۰۰۰۱). میـــانگیـــن میـــزان LDH نیـــــز در روز ۱، ۱۹۴/۲ Unit/L ، در روز ۳، ۳۷۸/۱۲ Unit/L و در روز ۵، ۵۱۷/۹۲ Unit/L به دست آمد (p< ۰/۰۰۰۱).



نمودار ۱: میانگین نتایج حاصل از آزمایش‌های MTT,LDH,pH و شمارش پلاکت در روزهای ذخیره‌سازی (۱، ۳ و ۵) در فرآورده‌های پلاکتی آفرزیس

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار و p-value نتایج آزمایش‌های حاصل از شمارش پلاکت و اندازه‌گیری pH,LDH وMTT در روز های ۱،۳،۵ ذخیره‌سازی بر روی فرآورده پلاکت آفرزیس از دستگاه Fresesnius COM.TEC (*p-value معنادار است)

	روز اول	روز سوم	روز پنجم	p value
PLT (Mean±SD)/µL	۱۵۱/۹۲۰×۱۰^{۳} ± ۲۰۳/۷×۱۰^{۳}	۱۵۳/۶۴۰×۱۰^{۳} ± ۲۳/۵×۱۰^{۳}	۱۵۹×۱۰^{۳} ± ۲۷/۹×۱۰^{۳}	*< ۰/۰۰۰۱
MTT (Mean±SD)	۱/۴۰۰۴ ± ۰/۲۳۹۷۶۵۲	۱/۵۱۵۶ ± ۰/۳۰۱۱۹۳۲	۱/۰۵۲۸ ± ۰/۲۱۸۳۳۶۹	*< ۰/۰۰۰۱
LDH (Mean±SD)/U/I	۱۹۴/۲ ± ۵۹/۳۶۸۹	۳۷۸/۱۲ ± ۱۳۴/۷۵۵۴	۵۱۷/۹۲ ± ۱۲۱/۴۱۵۶	*< ۰/۰۰۰۱
PH (Mean±SD)	۷/۶۵۳۶ ± ۰/۴۶۹۸۷۶۹	۷/۳۰۰۴ ± ۰/۳۳۶۸۱۷	۶/۸۹۵۲ ± ۰/۴۶۹۸۷۶۹	*< ۰/۰۰۰۱
Swirling	+++	++	+	*< ۰/۰۰۰۱

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-09]

بحث

در این مطالعه پلاکت‌های آفرزیس حاصل از دستگاه Fresenius COM.TEC از نظرظاهری و swirling در روزهای ذخیره‌سازی امتیاز ۲ و ۳ و سپس ۱ را گرفتند. در شمارش PLt این فرآورده‌های پلاکت فرزیس تفاوت معناداری در روزهای ۱ ، ۳ و ۵ ذخیره‌سازی مشاهده نشد، اما نتایج آزمایش‌های pH ، LDH و MTT در روزهای ذخیره‌سازی معنادار بود (p< ۰/۰۰۰۱).

Swirling و ارزیابی چرخش یک روش ساده و غیر تهاجمی برای بررسی پلاکت‌ها است که به صورت بصری انجام می‌شود و برای کنترل کیفی معمول هر پلاکت و در مقیاس بزرگ مفید است. بررسی بصری swirling با مورفولوژی پلاکت مرتبط است؛ وجود آن نشان‌دهنده مورفولوژی دیسکوئید و عدم وجود آن نشان‌دهنده مورفولوژی کروی پلاکت‌ها است (۱۰). سینگ و همکاران نمره ۳ swirling را در ۷۹/۷٪، ۸۳/۹٪ و ۹۰٪ از واحدهای پلاکت مشاهده کردند، در حالی که امتیاز ۲ به ترتیب به ۲۰/۳ ٪، ۱۶/۱ ٪ و ۱۰٪ از واحدهای PRP-PC ، BC-PC و apheresisPC داده شد. آن‌ها در هیچ واحدی امتیاز یک را در روز اول تهیه مشاهده نکردند (۱۰). برتولینی و همکاران در مطالعه خود گزارش کردند که پلاکت‌های تازه در ۸۳٪ از واحدها swirling مثبت و تنها در ۲٪ منفی بوده و بقیه swirling متوسط داشتند. پس از ۵ روز نگهداری، میزان swirling پلاکت‌های مثبت ۶۵٪ کاهش یافت و برتولینی نتیجه گرفت که این کاهش می‌تواند به دلیل آسیب‌هایی باشد که در طول نگهداری پلاکت‌ها رخ می‌دهند (۱۱). در مطالعه ما واحدهای پلاکت در روز اول امتیاز ۳ داشتند که در روز پنجم امتیاز هیچ‌کدام به ۰ نرسید.

فعالیت متابولیک فرآورده‌های پلاکت فرزیس عمدتاً با pH ، pCO_2 ، pO_2 ، بی‌کربنات، گلوکز و لاکتات بررسی می‌شود. متابولیسم پلاکت‌ها در خارج از بدن و حین نگهداری در دمای ۲۲±۲°C تغییر می‌کند و سبب تغییراتی در pH می‌شود (۱۲). اگر pH به کمتر از ۶/۸ نرسد، حجم پلاکت در طول سه روز تقریباً ۱۰٪ کاهش می‌یابد. در میزان pH کمتر از ۶/۸ تورم سلول‌ها شروع می‌شود و در pH= ۶/۰ به حداکثر خود می‌رسد. اگر pH از این سطح پایین‌تر بیاید، افزایش تدریجی حجم پلاکت و کاهش چگالی دیده می‌شود که نشان‌دهنده تورم به دلیل ورود مایع خارج سلولی است. در pH= ۶/۰ ، حجم پلاکت تقریباً دو برابر شده و سرعت تبدیل دیسک به کره افزایش می‌یابد.

به طوری که اگر pH به ۵/۷ تا ۵/۹ برسد، فقط کره‌های متورم دیده می‌شوند. اگر pH بالاتر از ۶/۱ بماند، این تغییرات تقریباً به طور کامل برگشت‌پذیر هستند، اما اگر pH به زیر ۶/۱ برسد، قابل برگشت نیستند. گلبول‌های سفید خون در محیط کشت PC اثر مخربی دارند و منجر به کاهش قابل توجه pH، افزایش مصرف گلوکز، تولید اسید لاکتیک و آزادسازی LDH در طول نگهداری می‌شوند. pH در طول ذخیره‌سازی بسته به محلول‌های موجود در کیسه‌های پلاستیکی نگهداری پلاکت و شرایط ذخیره‌سازی کاهش می‌یابد. افزایش گلیکولیز پلاکت منجر به کاهش pH به سطوح نزدیک به ۶/۰ در پلاکت‌های ذخیره شده در پلاسما می‌شود و با از دست دادن قابل توجه قابلیت حیات پلاکت‌ها همراه است (۱۰). در مطالعه ما تغییرات میانگین pH در روز ۱ ذخیره‌سازی ۷/۶۳ و در روز ۳ ، ۷/۳۰ و در روز ۵، ۶/۸۹ دیده شد که به کمتر از ۶/۸ نرسید (p< ۰/۰۰۰۱).

آزمایش دیگری که برروی فرآورده‌های پلاکت انجام شد LDH بود که افزایش آن را در روزهای نگهداری (۱،۳،۵) مشاهده کردیم. پروچازکوا و همکاران بر روی دو دستگاه Trima و MCS مطالعه‌ای انجام دادند. آن‌ها نیز افزایش LDH را در طی روزهای ذخیره‌سازی (۱،۳،۵) در هر دو دستگاه مشاهده نمودند که با میزان pH رابطه عکس داشت. آن‌ها افزایش LDH را در روز ۵ در فرآورده حاصل از دستگاه MCS به طور معناداری بیشتر گزارش کردند. سرکوب چرخه کربس در میتوکندری و انباشت اسید کربنیک در سیتوپلاسم حاصل از چرخه گلیکولیز سبب کاهش pH می‌شود و افزایش LDH هم می‌تواند به دلیل ادامه روند گلیکولیز در سیتوپلاسم سلول‌های پلاکت باشد (۱۳). ما نیز کاهش میزان pH و افزایش میانگین LDH در روزهای نگهداری پلاکت را مشاهده کردیم (p< ۰/۰۰۰۱).

ماچر و همکاران در سال ۲۰۱۰ به بررسی فرآورده‌های حاصل از دستگاه‌ها Amicus و Trimaپرداختند، آن‌ها نیز افزایش LDH و کاهش pH در روزهای ذخیره‌سازی را همانند مطالعه ما و تحقیق پروچازکوا گزارش نمودند و این موضوع را متأثر از جنس کیسه و تبادل مناسب اکسیژن دانستند (۱۴). بر اساس نتایج حاصل از مطالعه اکسیا و همکاران، ازدست دادن میزان زنده ماندن سلول‌ها (cellular viability) با افزایش LDH و لاکتات در کیسه، کاهش pH و طیف وسیعی از پدیده‌های متابولیکی دیگر مرتبط است. این تغییرات همراه با تغییرات مورفولوژیکی در پلاکت‌ها

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-09]

رخ می‌دهد کـه پارامترهای متابولیکی را بدتر می‌کند (۱۵). برای معکوس کردن این تغییرات از کیسـه‌هایی که امکان تبادل بهتر و مؤثرتر گاز در هنگام ذخیره‌سازی در دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد را فراهم می‌کنند و از ضد انعقادهای بهتر برای کـاهش میزان فعال شدن پلاکت در خـارج از بدن استفاده کرده‌اند (۱۵). اکسیا و همکاران برای بررسی فعالیت متابولیک سلول‌ها از آزمایش‌های MTT و LDH بـا روش اسـپکتروفتومتریـک استفاده کردند. آن‌ها فعالیت متابولیکی پنج جفت پلاکـت را با استفاده از روش MTT در فواصـل زمانی مختلف سـنجیدند و به یکی از آن‌ها PEG-rHuMGDF برای بررسـی تأثیر TPO بر زنده‌مانی پلاکت‌ها اضافـه کردند. پلاکت‌ها فعالیت متابولیکی طبیعی خود را برای ۶ روز اول ذخیره‌سازی حفظ کردند و سـپس در طول مـدت ذخیره‌سـازی بعـدی، کـاهش تـدریجی و خطی در فعالیت متابولیکی داشتند. بـا این حال، در هیچ زمانی هیچ تـأثیری از وجود PEG-rHuMGDF مشاهده نشد. تغییرات MTS و MTT در کیسـه‌های پلاکت در طول ذخیره‌سـازی بـه موازات تغییرات pH و LDH بود (۱۵). در مطالعه ما نیز آزمایش MTT در روز ۵ نسبت بـه روز ۱ کاهش داشت. این کاهش در نتایج حاصـل از MTT می‌تواند نشـانه‌ای از مرگ بیشـتر پلاکت‌ها در روز ۵ ذخیره‌سـازی نسبت به روز اول باشـد. ولی در روز سـوم افزایش در میزان آزمایش دیده شـد که می‌بایسـتی عوامل مخدوش‌کننده این آزمایش را درنظر گرفت. علی‌رغم کـاربردهای گسترده این آزمایش در طی چهار دهـه گذشته، روش MTT اغلب بدون توجه به مکانیسم‌های اساسی و محدودیت‌ها آن، تفسیر و استفاده می‌شـود. مکانیسـم بنیادی آزمایش MTT ،[۳-(۴،۵-دی متیل تـیازول-۲-ایـل)-۲،۵-دی فنیل-H۲-تترازولیوم بروماید] یک نمک مونو تترازولیوم است که از یک هسته حلقه تترازول چهارتایی با بار مثبت حاوی چهار اتم نیتروژن احاطه شده توسط سه حلقه آروماتیک شامل دو بخش فنیل و یک حلقه تیازولیل تشکیل شده است. احیای MTT منجر به اختلال در حلقه تترازول مرکزی و تشـکیل یک مولکول نامحلول در آب به رنگ آبی- بنفش به نام فورمازان می‌شود. معرف MTT می‌تواند از غشـای سـلولی و هم‌چنین غشـای داخلی میتوکندری سلول‌هـای زنده (احتمالاً به دلیل بار مثبت آن و هم‌چنین سـاختار لیپوفیلی آن) عبور کند و توسط سلول‌های فعال متابولیکی به فورمازان احیا شود. این سـنجش به عنوان یک سـنجش فعالیت متابولیک سـلولی کاربرد گسـترده‌ای دارد. بـا این حال، کاربرد آن به طور فزآینده‌ای برای اسـتنباط فرآیندهای ثـانویه یا حالت‌های سـلول‌ها، مانند زنده‌مانی، که اغلب بی‌اسـاس اسـت، به کار گرفته شـده اسـت. محل تشـکیل فورمازان و انتقال درون سـلولی آن هم‌چنـان بحث‌برانگیز اسـت. مطالعـه‌های بیوشـیمیایی و میکروسـکوپی، فورمازان را در اندامک‌های مختلف درون سـلولی (در شـبکه آنـدوپلاسـمی، قطرات لیپیدی سـیتوزولی، غشاهای پلاسما، هسته و میکروزوم‌ها) پیدا کرده‌اند. مطالعه‌های متعدد محدودیـت‌های سنجش MTT و عـوامل مخدوش‌کننده مختلفی را آشکار کرده‌اند. برخی از متغیرهای مخـدوش‌کننـده‌ای کـه معمولاً نـادیـده گرفته می‌شوند شامل تعداد سلول‌های کشت‌شده، غلظت معرف، MTT اضـافه شـده به سـلول‌ها، زمان انکوباسـیون سلول‌ها بـا MTT ، نوع محیط کشت، حـذف مایع رویی سلول‌ها پس از انکوباسیون MTT و طول موجی کـه در آن چگالی نوری اندازه‌گیری می‌شـود، هسـتند. افزایش تعداد سـلول‌ها، سـطح کل فورمازان تولید شـده توسـط جمعیت سلولی و در نتیجه OD اندازه‌گیری شده را افزایش می‌دهد. برای ارزیابی زنده‌ماندن سلول‌ها، بـاید آزمایش‌های کنترلی دقیقی به عنوان وسـیله‌ای برای تعیین چگونگی تـأثیر پارامترهای ذکر شـده بر رابطه بین OD اندازه‌گیری شـده و تعداد سلول‌ها انجام شود. سطح OD صرفاً یـک نمایش ساده از یک پارامتر مانند زنده‌ماندن سلول، تکثیر سلولی یا فعالیت متابولیک نیست، بلکه مجموعه‌ای از عوامل بسیاری در سـطح تک سـلول و جمعیت سـلولی و هم‌چنین سـایر عوامل سلولی مانند فاز رشد سلولی و میزان جذب MTT و خروج فورمازان اسـت که همگی می‌توانند به طور بالقوه آزمایش/محیط کشت را تحت تاثیر قرار دهد. این پیچیدگی حتی می‌توانـد باعث نتایج مثبت کاذب در هنگام آزمایش بـا استفاده از سنجش MTT شود (۱۶). بنابراین با توجه به آن که تعداد سـلول/تراکم و غلظت MTT بر میزان تشـکیل فرمازان تـأثیر می‌گذارد، بهینه‌سازی دقیق شرایط سنجش متناسب با رده‌های سلول‌های خاص و استفاده از کنترل‌های مناسـب همانند بررسـی اگریگومتری، فلوسـیتومتری و نشـانگرهای آپوپتوز از محدودیت‌های مطالعه ما به شـمار می‌رود.

حسین و همکـاران در سـال ۲۰۱۵ بـه بررسی تغییرات

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-09]

شمارش پلاکتی در روزهای ۱، ۳، ۵ و ۷ ذخیره‌سازی پرداختند. آن‌ها فرآورده‌های پلاکتی محصول دستگاه Cobe spectra را بررسی کردند. در مطالعه آن‌ها ۱۶ نفر، به تعداد ۹ مرد و ۶ زن پلاکت اهدا کردند. در مطالعه آن‌ها شمارش پلاکت در روزهای ذخیره‌سازی روند کاهشی داشت (۱۷). اما برخلاف تحقیق حسین و همکاران، نتایج حاصل از مطالعه ما تغییرات چشمگیر و معناداری در شمارش پلاکت در روزهای ذخیره‌سازی نشان نداد که می‌تواند به این دلیل باشد که آن‌ها روز ۷ را نیز در مطالعه خود گنجانیده بودند و ما تا روز ۵ میزان پلاکت‌ها را بررسی کردیم. در مطالعه تین گارد و همکاران در سال ۲۰۰۸ که به بررسی تفاوت فرآورده‌های حاصل از دو دستگاه cobe Spectra و Trima Accel بر روی ۲۰ پلاکت آفرزیس (از هر دستگاه ۱۰ فرآورده پلاکت آفرزیس) در روز های ۰، ۱، ۳، ۵ و ۷ پرداختند، نیز مشاهده شد. در نتایج حاصل از این مطالعه گزارش کردند که تغییرات تعداد پلاکت در هر دو دستگاه در طی روزهای ذخیره‌سازی ثابت بود ولی میانگین حجم پلاکت (MPV(mean platelet volume در روز ۱ نسبت به روز ۰ روند کاهشی داشت، ولی در سایر روزها در این پارامتر هم تغییراتی دیده نشد. آن‌ها نتیجه‌گیری کردند که کیفیت پلاکت پس از ذخیره‌سازی به مدت ۷ روز به خوبی حفظ شده بود، اگر چه فعال‌شدن پلاکت‌ها را در طول ذخیره‌سازی، توسط آزمایش‌های pCO_2 ، pO_2 و pH در گازهای خون، و مارکرهای سطح پلاکت GPIb (CD42b) and P-selectin (CD62P) در فلوسیتومتری مشاهده کردند و هیچ تفاوتی در کیفیت پلاکت بین PCهای تولید شده توسط دو دستگاه Spectra و Trima گزارش نکردند (۱۸). در مطالعه ما تفاوت معناداری در شمارش پلاکت فرآورده‌های پلاکت فرزیس حاصل از دستگاه Fresenius COM.TEC در روزهای ۱، ۳ و ۵ ذخیره‌سازی مشاهده نشد. اگر چه تین گارد و همکاران متغیرهای مختلف متابولیک همانند میزان قند، لاکتات، گازهای خونی، میزان Soluble P-selectin در پلاسما، مارکرهای سطح پلاکت ، Clotting time and coagulum G و hypotonic shock response (HSR) را نیز بررسی کردند.

گلبول‌های سفید خون در فرآورده پلاکت اثر مخربی بر محیط ذخیره‌سازی دارند و منجر به کاهش قابل توجه pH، افزایش مصرف گلوکز، تولید اسید لاکتیک و آزادسازی LDH در طول ذخیره‌سازی می‌شوند. در نتیجه، در فرآورده پلاکتی که غلظت بالایی از لکوسیت‌ها دارند، وضعیت پلاکت‌ها تا روز ۵ ذخیره‌سازی نیز به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار می‌گیرد که با دفع بالای β-TG، از دست دادن نوکلئوتیدهای پلاکتی، کاهش توانایی ترکیب آدنوزین ۳ فسفات و مورفولوژی ضعیف پلاکت‌ها نشان داده می‌شود (۱۹).

در مطالعه تورا و همکاران میزان pH در فرآورده‌های آفرزیس در روز ۵ نگهداری ۰/۱۶ ± ۶/۸۹ گزارش شده بود و در مطالعه ما نیز pH در روز ۵ ، ۰/۴۶ ± ۶/۸۹ به دست آمد. آن‌ها بر روی ۶۶۹ فرآورده پلاکتی آفرزیس مطالعه کردند که از این تعداد ۴۶۰ واحد آفرزیس تحت بررسی آزمایشگاهی و کنترل کیفیت قرار گرفت. نتایج حاصل از pH در مطالعه آن‌ها نشان داد که بر اساس جنس کیسه‌ها و شرایط نگهداری، میزان pH کاهش می‌یابد که این کاهش متأثر از شرایط نامناسب فیزیولوژیک در اثر افزایش ذخیره‌سازی برای پلاکت‌های تهیه شده در هر سه روش رندوم دنور، آفرزیس و بافی‌کوت بود (۱۹).

محدودیت‌های مطالعه حاضر، عدم بررسی تمامی موارد کنترل کیفی و بررسی روش‌های پیشرفته‌تر ارزیابی کیفیت پلاکت، آزمایش‌هایی از قبیل اندازه‌گیری فعالیت آن‌ها به وسیله بیان مارکرهای CD ۶۲p و CD۶۳ با روش فلوسیتومتری واگریگومتری، بهینه‌سازی دقیق شرایط سنجش MTT بر روی فرآورده پلاکت آفرزیس حاصل از دستگاه Fresenius COM.TEC است و بهتر بود سایر موارد کنترل کیفی همانند حجم واحد آفرزیس، تعداد WBC، تعداد RBC و استریلیتی، هم بررسی و هم‌چنین مقایسه‌ای بین دستگاه‌های مختلف آفرزیس با هم انجام می‌شد.

نتیجه‌گیری

بررسی‌های آزمایشگاهی برروی فرآورده‌های حاصل از دستگاه آفرزیس Fresesnius COM.TEC در روزهای ذخیره‌سازی نشان داد که می‌توان از این دستگاه تهیه پلاکت نیز استفاده کرد. برای تفسیر نتایج MTT محدودیت‌های آن را بایستی در نظر گرفت و از کنترل‌های مناسب دیگر نیز بهره برد.

حمایت مالی

این پروژه توسط مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ایران تأمین مالی شده است.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-09]

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر دارای کد اخلاق IR.TMI.REC.1402.009 از کمیته اخلاق مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون تهران ، ایران است.

عدم تعارض منافع

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

نقش نویسندگان

اله آشوری کفشگر: انجام مراحل عملی، تجزیه و تحلیل و تفسیر نتایج، تهیه پیش‌نویس مقاله

دکتر آزیتا چگینی: مدیریت و طراحی مطالعه، تفسیر نتایج و بازبینی، تهیه و اصلاح پیش‌نویس مقاله

شهرام سمیعی: طراحی مطالعه، انجام مراحل عملی و تهیه پیش‌نویس مطالعه

دکتر مریم زادسر: تجزیه و تحلیل، تفسیر نتایج، تهیه پیش‌نویس مقاله

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه پایان‌نامه دانشجویی کارشناسی ارشد رشته زیست فناوری پزشکی مرکز تحقیقات مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون می‌باشد. تهیه فرآورده از پایگاه انتقال خون تهران و مراحل پروژه در آزمایشگاه مرکز تحقیقات انجام گردید. بدین وسیله از پرسنل زحمتکش اداره کل انتقال خون تهران و مرکز تحقیقات تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References:

1- Rinder HM, Tomer A. Platelet production, kinetics , and hemostasis. In: Simon TL, Snyder EL, Solheim BG, Stowell ChP, Strauss RG, Petrides M. Rossi's Principles of Transfusion Medicine. 4th ed. USA: Blackwell Publishing; 2009. p. 149-67.
2- Rinder HM, Tomer A. Platelet production, kinetics, and hemostasis. Rossi's Principles of Transfusion Medicine. 2009 Jan 9:149-67.
3- Ribatti D, Crivellato E. Giulio Bizzozero and the discovery of platelets. Leuk Res 2007; 31(10): 1339-41.
4- Javadzadeh Shahshahani H, Akhavan Tafti F, Amini Kafi-abad S. An overview of three methods used to prepare the platelet components from whole blood and apheresis method. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2023; 20(3): 236-54. [Article in Farsi]
5- Hillyer CD, Silberstein LE, Ness PM, Anderson KC, Roback JD. Blood Banking and Transfusion Medicine: Basic Principle and Practice. 2nd ed. USA: Churchill Livingstone; 2007. p.735-6.
6- McLeod BC, Weinstein R, Winters JL, Szczepiorkowski ZM. Apheresis: Principles and Practice. 3rd ed. USA: AABB; 2010. p. 2-23.
7- Smith J, Burgstaler E. Blood component collection by apheresis. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer ChD. Technical Manual. 17th ed. USA: AABB; 2008. p. 227-38.
8- Chegini A, Mirrezaie M, Poorreza M, Rezaie A, Anbardan A. Assessment of plateletphersis donation in Tehran Blood Center. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2013; 10(2): 140-6. [Article in Farsi]
9- Sadeghi Neysiyani S , Amini-Kafiabad S. The effect of different types of plateletpheresis devices on the quality parameters of the produced platelet units. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2024; 21(2): 169-84. [Article in Farsi]
10- Singh RP, Marwaha N, Malhotra P, Dash S. Quality assessment of platelet concentrates prepared by platelet rich plasma-platelet concentrate, buffy coat poor-platelet concentrate (BC-PC) and apheresis-PC methods. Asian J Transfus Sci 2009; 3(2): 86-94
11- Bertolini F, Rebulla P, Riccardi D, Cortellaro M, Ranzi ML, Sirchia G. Evaluation of platelet concentrates prepared from buffy coats and stored in a glucose-free crystalloid medium. Transfusion 1989; 29(7): 605-9.
12- Sadeghi Neysiyani S, Amini Kafi-Abad S. The effect of different types of plateletpheresis devices on the quality parameters of the produced platelet units. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2024; 21(2): 169-84. [Article in Farsi]
13- Procházková R, Andrýs C, Hubáčková L, Krejsek J. Markers of platelet activation and apoptosis in platelet concentrates collected by apheresis. Transfus Apher Sci 2007; 37(2): 115-23.
14- Macher S, Sipurzynski-Budrass S, Rosskopf K, Rohde E, Griesbacher A, Groselj-Strele A, et al. Function and activation state of platelets in vitro depend on apheresis modality. Vox Sang 2010; 99(4): 332-40.
15- Xia Y, Li J, Bertino A, Kuter D. Thrombopoietin and the TPO receptorduring platelet storage. Transfusion 2000; 40(8): 976-87.
16- Ghasemi M, Turnbull T, Sebastian S, Kempson I. The MTT assay: utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. Int J Mol Sci 2021; 22(23): 12827.
17- Hussein E. Clinical and quality evaluation of apheresis vs random-donor platelet concentrates stored for 7 days. Transfus Med 2015; 25(1): 20-6.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-09]

18- Tynngård N, Lindahl TL, Trinks M, Studer M, Berlin G. The quality of platelet concentrates produced by COBE Spectra and Trima Accel cell separators during storage for 7 days as assessed by in vitro methods. Transfusion 2008; 48(4): 715-22.
19- Toora E, Kulkarni RG, Manivannan P, Sastry AS, Basavarajegowda A, Sahoo D. Quality assessment of platelet concentrates prepared by platelet-rich plasma, buffy-coat, and apheresis methods in a tertiary care hospital in South India: A cross-sectional study. Asian J Transfus Sci 2023; 17(2): 239-45.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-09]