

## تغییرات استرس اکسیداتیو در کیسه‌های خون در هفته‌های متوالی پس از اهدا

سعید برزگر<sup>۱</sup>، فاطمه نادعلی<sup>۲</sup>، علی اکبر پورفتح‌اله<sup>۳</sup>، علیرضا عباسپور<sup>۴</sup>، سمیه فرخی‌نیا<sup>۵</sup>، یاور شیراوند<sup>۱</sup>

### چکیده

#### سابقه و هدف

اهدای خون و جداسازی فرآورده‌های آن سالانه زندگی بسیاری از افراد را نجات می‌دهد. یکی از عوارض ذخیره‌سازی کیسه‌های اهدایی، افزایش تدریجی استرس اکسیداتیو است که سبب تخریب گلبول‌های قرمز در طی نگهداری می‌شود. در این راستا، بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو در کیسه‌های خون دارای اهمیت می‌باشد. بنابراین بر آن شدیم تا میزان بالانس اکسیدان - آنتی‌اکسیدان (PAB) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) را در هفته‌های متوالی بعد از اهدای خون بررسی نماییم.

#### مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی، تعداد ۱۰۰ کیسه خون از افراد ۱۸ تا ۵۷ سال با میانگین سنی ۳۵/۵ سال مراجعه کننده به پایگاه انتقال خون شهر بجنورد دریافت گردید. کیسه‌ها برای مدت ۶ هفته در شرایط استاندارد بانک خون قرار گرفتند. طی هفته‌های متوالی از کیسه‌ها نمونه‌گیری به عمل آمد. آزمایش‌های PAB، SOD و GPX بر روی نمونه‌های هر هفته انجام و توسط آزمون‌های آماری Repeated major و SPSS ۱۶ اندازه‌های تکراری بررسی شد.

#### یافته‌ها

میزان بالانس اکسیدان - آنتی‌اکسیدان طی هفته‌های متوالی افزایش معناداری را نشان داد در حالی که میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و گلوکاتیون پراکسیداز طی هفته‌های متوالی به تدریج کاهش معناداری را نشان داد ( $p < 0/001$ ).

#### نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که بیشترین کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش استرس اکسیداتیو در دو هفته اول بعد از اهدا بوده است. بنابراین به نظر می‌رسد در بیماران مرتبط با استرس اکسیداتیو نظیر بیماران قلبی - عروقی، تجویز خون‌هایی با زمان نگهداری کمتر از دو هفته اثر بخشی بیشتری داشته باشد.

**کلمات کلیدی:** سوپر اکسید دیسموتاز، گلوکاتیون پراکسیداز، اهدای خون

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۶

۱- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون - دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران - تهران - ایران

۲- مؤلف مسئول: PhD خون‌شناسی و بانک خون - دانشیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران - بلوار کشاورز - خیابان قدس - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۴۱۷۷-۴۴۳۶۱

۳- PhD ایمونولوژی - استاد مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس - تهران - ایران

۴- PhD بیوشیمی بالینی - استادیار گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی - بجنورد - ایران

۵- کارشناس علوم آزمایشگاهی - دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی - بیمارستان امام علی (ع) - بجنورد - ایران

**مقدمه**

در حالت کلی زندگی کردن با رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌تواند خطراتی را به همراه داشته باشد. برهم خوردن تعادل بین پرواکسیدان - آنتی‌اکسیدان در جهت افزایش پرواکسیدان‌ها، به عنوان استرس اکسیداتیو مطرح است (۱). به این ترتیب استرس اکسیداتیو می‌تواند نتیجه افزایش اکسیدان‌ها و یا کاهش محافظت در برابر آن‌ها باشد (۲). سلامت خون‌های تزریقی یکی از اهداف اصلی انتقال خون است. گلبول‌های قرمز فاقد پراکسیزوم برای حذف رادیکال‌های پراکسید بوده و از طرفی مسئول حمل و نقل اکسیژن هستند و به این ترتیب در معرض آسیب توسط این اکسیدان قوی می‌باشند. بنابراین گلبول‌های قرمز مجهز به سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی دیگر از جمله دو آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز شده‌اند که به ترتیب مراحل ابتدایی حذف رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید را بر عهده دارند (۳، ۴). بر اساس مطالعه‌های گسترده‌ای که در رابطه با استرس اکسیداتیو صورت گرفته، مشخص شده است که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز دچار تغییرات معناداری می‌شوند (۵، ۶).

سوپر اکسید دیسموتازها خانواده‌ای از آنزیم‌ها هستند که نقش خنثی‌سازی آنیون‌های سوپر اکسید را بر عهده دارند. در پستانداران سه نوع سوپر اکسید دیسموتاز وجود دارد که از نظر مولکولی و بیوشیمیایی طبقه‌بندی شده‌اند. نوع اول یا Cu-Zn SOD اولین آنزیمی بود که شناخته شد و بیشتر در فضای داخلی سیتوپلاسم وجود دارد. نوع دوم یا Mn SOD تترامر است و به علت داشتن یک توالی رهبر به میتوکندری منتقل می‌شود و نوع سوم یا SOD3 اخیراً کشف شده و تترامر است. آنزیم نوع سوم همانند نوع اول شامل مس و روی است و به علت داشتن توالی نشانه، به فضای خارج سلولی هدایت می‌شود (۷). در گلبول قرمز، آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز از نوع یک است (۸).

گلوتاتیون پراکسیداز نیز از آنزیم‌های مهم در خنثی‌سازی واسطه‌های فعال اکسیژنی است و شامل ۵ نوع می‌باشد (۹). GPX1 تترامر است و آب اکسیژنه و هیدروپراکسیدهای ارگانیک را خنثی می‌کند و در دفاع ضد

واسطه‌های فعال اکسیژنی نقش مهمی دارد. GPX2 در کبد بیان می‌شود و در دفاع آنتی‌اکسیدانی دستگاه گوارش نقش دارد. GPX3 نوع پلاسمایی گلوتاتیون پراکسیداز است و هیدروپراکسیدهای فسفولیپیدی را خنثی می‌کند. GPX4 نوع فسفولیپیدی آنزیم و از نوع منومر است و در سیتوزول، هیدروپراکسیدهای فسفولیپیدی را خنثی می‌کند و GPX5 که ابتدا در موش یافت شد و در سلول‌های اپی‌دیدیم وجود دارد، در فرآیند تولید مثل مؤثر است (۱۰). گلوتاتیون پراکسیداز نوع یک و چهار که سیتوزولی هستند، بیشتر در گلبول قرمز یافت می‌شوند (۱۱). در گلبول‌های قرمز طبیعی، یون سوپر اکسید تولید شده توسط آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود و بدین وسیله از سمیت آن کاسته می‌شود و مجدداً این پراکسید هیدروژن تولید شده توسط آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به آب تبدیل می‌گردد.

با توجه به این که انتقال خون، یکی از انواع پیوند بافت است، امروزه به طور وسیعی برای نجات جان افراد نیازمند مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۲). با پیشرفت‌های اخیر علم و فناوری و افزایش آگاهی از فرآیند متابولیسم گلبول‌های قرمز، شرایط نگهداری آن‌ها در خارج از بدن فراهم شده است. امروزه استفاده از ضد انعقادها و سایر ترکیبات سبب افزایش زمان و بهبود شرایط نگهداری گلبول‌های قرمز شده است. با این وجود هنوز اختلالاتی در روند ذخیره گلبول قرمز ایجاد می‌شود که تحت عنوان "عوارض ذخیره‌سازی" از آن‌ها یاد می‌شود و در مواردی سبب ایجاد اختلالات شدید در بیماران نیازمند خون می‌گردد (۱۳). از جمله عوارض ذخیره‌سازی می‌توان به استرس اکسیداتیو اشاره کرد که سبب ناکارآمد شدن کیسه‌های خون اهدایی می‌شود. یکی از روش‌های تخمین استرس اکسیداتیو، استفاده از روش بالانس اکسیدان - آنتی‌اکسیدان است که در آن به طور هم زمان اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها در یک روش آنزیمی - شیمیایی بررسی می‌شوند. بنابراین تخمین بالانس اکسیدان - آنتی‌اکسیدان و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در کیسه‌های خون ارزشمند بوده و می‌تواند تا حدی ایجاد استرس اکسیداتیو

و آزمایش‌های هماتولوژی با دستگاه آنالیزور سیس مکس Kx21N (Sysmax) انجام شد. نتایج با کمک نرم‌افزار SPSS Version ۲۰ و با آزمون آماری Repeated Measure برای بررسی تغییرات پارامترها در هفته‌های متوالی انجام شد.

#### یافته‌ها

بررسی بر روی ۱۰۰ کیسه خون اهدایی در افراد ۱۸ تا ۵۷ ساله با میانگین سنی ۳۵/۵ سال که به پایگاه اهدای خون شهرستان بجنورد مراجعه کرده بودند، انجام شد. آزمایش‌ها نشان داد میزان هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول قرمز، قند و اسیداوریک طی هفته‌های متوالی بعد از اهدا کاهش معناداری دارد ( $p < ۰/۰۰۱$ ) (جدول ۱ و ۲).

در طی نگهداری خون، میزان لیز گلبول‌های قرمز افزایش و سبب تخریب هموگلوبین و آزاد شدن محتویات آن‌ها در کیسه خون خواهد شد که می‌تواند خود به عنوان عاملی برای افزایش استرس اکسیداتیو باشد. این یافته در کاهش میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز نیز دیده شد. اسید اوریک موجود در کیسه‌های خون نیز به عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدانی کاهش پیدا می‌کند. وجود مقدار بالای قند در کیسه‌ها نیز می‌تواند یکی از دلایل افزایش استرس اکسیداتیو باشد که هم از طریق افزایش اکسیداسیون و هم از طریق افزایش متابولیسم و تولید مواد اکسیدانی بیشتر در افزایش استرس اکسیداتیو نقش دارد. از طرفی کاهش فعالیت‌ها را در آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز شاهد هستیم.

آزمایش‌های انجام شده نشان داد طی هفته‌های متوالی پس از اهدای خون، میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز تغییرات معناداری را در جهت کاهش نشان داد (جدول ۳).

هم چنین میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD و GPX در هفته‌های متوالی بعد از اهدای خون به تدریج کاهش معناداری را نشان داد ( $p < ۰/۰۰۱$ ) (جدول ۳). آزمایش بالانس اکسیدان - آنتی‌اکسیدان (PAB) نیز طی هفته‌های متوالی افزایش معناداری را نشان داد ( $p < ۰/۰۰۱$ ) (جدول ۲).

در کیسه‌های خون را مشخص نماید. از این رهگذر می‌توان توصیه‌هایی در رابطه با بهترین زمان تزریق خون در بیماران نیازمند به دست آورد.

#### مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی، از افراد مراجعه‌کننده برای اهدای خون در شهرستان بجنورد تعداد ۱۰۰ نفر به صورت تصادفی انتخاب شده و پس از تکمیل فرم رضایت آگاهانه، کیسه خون‌های اهدایی آنان برای انجام پژوهش مورد استفاده قرار گرفت. پس از غربالگری و تایید عدم وجود بیماری‌های هپاتیت، ایدز و سیفلیس، نمونه‌ها وارد مطالعه شدند. محدوده سنی افراد مورد مطالعه ۱۸ تا ۵۵ سال با میانگین سنی ۳۵/۵ سال بود. کلیه کیسه‌های خون از جنس پلی‌وینیل کلراید و از نوع گلبول قرمز متراکم بودند.

با احتساب روز اول اهدا از هر کیسه خون ۶ بار نمونه‌گیری طی ۵ هفته متوالی انجام شد. کیسه‌های خون پس از هر بار نمونه‌گیری مجدداً در شرایط نگهداری در دمای بانک خون (۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. آزمایش‌های هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز در تمام نمونه‌های گرفته شده انجام شد. سپس نمونه‌های جمع‌آوری شده در هر مرحله به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۵۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. در نهایت پلاسما از گلبول‌های قرمز جدا و آزمایش‌های قند، اسید اوریک و PAB در پلاسما و آزمایش‌های SOD و GPX بر روی گلبول قرمز انجام شد.

روش انجام آزمایش SOD و GPX: آزمایش SOD و GPX با استفاده از کیت‌های شرکت رندوکس و با اصول گفته شده در آن انجام شد.

روش انجام آزمایش PAB: آزمایش PAB از طریق استفاده از پودر تترامیل بنزیدین و انجام دو واکنش آنزیمی و شیمیایی قابل اجراست. در واکنش آنزیمی کروموزن تترامیل بنزیدین توسط پراکسید هیدروژن (اکسیدان) به تترامیل بنزیدین کاتیون‌دار اکسید می‌شود و در واکنش شیمیایی تترامیل بنزیدین کاتیون‌دار توسط اسید اوریک (آنتی‌اکسیدان) احیا می‌شود (۱۴).

آزمایش‌های بیوشیمیایی توسط آنالیزور Peremium 24i

## بحث

مهم‌ترین یافته مطالعه حاضر، تغییر معنادار بالانس اکسیدان - آنتی اکسیدان و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپر اکسید دیسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز طی هفته‌های متوالی بعد از اهدای خون بود ( $p < 0/001$ ). بیشترین تغییرات در هفته دوم پس از اهدای خون دیده شد. نگهداری کیسه‌های خون می‌تواند سبب ایجاد تغییراتی در آن شود. گلبول قرمز طبیعی دارای آنزیم‌های مهمی مانند سوپر اکسید دیسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز می‌باشد که واسطه‌های فعال اکسیژنی تولید شده از منابع مختلف را خنثی می‌کند و در نهایت سبب حفظ تعادل بین اکسیدان‌ها و دفاع آنتی‌اکسیدانی در گلبول قرمز می‌شود. جداسازی گلبول قرمز از شرایط داخل بدن و پلاسما در کیسه‌های گلبول قرمز متراکم به عنوان منابع عوامل ضد اکسیدان می‌تواند سبب افزایش استرس اکسیداتیو در گلبول‌های قرمز گردد. بنابراین به تدریج با افزایش زمان نگهداری کیسه‌ها علاوه بر کاهش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز، عوارض ناشی از تزریق خون نیز می‌تواند بیشتر شود. آگاهی از زمان این کاهش می‌تواند خون‌های سالم‌تری را برای افراد نیازمند مهیا کند. از روش‌های مفید برای بررسی استرس اکسیداتیو اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی اکسیدان و تغییرات بالانس اکسیدان - آنتی اکسیدان در گلبول قرمز است.

بر اساس نتایج حاصل از آزمایش‌های حاضر، میزان بالانس اکسیدان - آنتی اکسیدان در طی هفته‌های متوالی بعد از اهدا به تدریج افزایش می‌یابد ( $p < 0/001$ ). این یافته با نتایج بسیاری از مطالعه‌ها همسو بود از جمله جزویک و همکارانش در بررسی‌هایی که در ۸ کیسه خون اهدایی در لهستان انجام دادند، بیان کردند میزان آنتی‌اکسیدان کل در طی نگهداری کیسه‌های خون کاهش می‌یابد (۱۵). هم چنین کرباردیس و همکارانش در مطالعه‌ای که در ۵ کیسه خون اهدایی انجام دادند، عنوان کردند که در طی نگهداری خون میزان استرس اکسیداتیو در آن افزایش پیدا می‌کند که یکی از مارکرهای این افزایش میزان کربونیل‌شدن پروتئین‌های غشایی گلبول قرمز در کیسه خون است (۱۶). در مطالعه‌ای که شازیا و همکارانش در مالزی انجام دادند،

جدول ۱: نتایج آزمایش‌های هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد

گلبول‌های قرمز در هفته‌های متوالی

| آزمایش هفته | Hb (g/dL)<br>Mean $\pm$ SD | HCT (%)<br>Mean $\pm$ SD | RBC ( $10^6$ )<br>Mean $\pm$ SD |
|-------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| اول         | ۲۵/۶۱ $\pm$ ۰/۷۹           | ۸۰/۲۳ $\pm$ ۴/۱۵         | ۸/۵۳ $\pm$ ۳۵/۰                 |
| دوم         | ۲۴/۰۶ $\pm$ ۱              | ۷۸/۷۳ $\pm$ ۴            | ۸/۴۹ $\pm$ ۰/۳۵                 |
| سوم         | ۲۳/۳۵ $\pm$ ۱/۲            | ۷۱/۱۵ $\pm$ ۴/۳۸         | ۷/۸۹ $\pm$ ۰/۵۱                 |
| چهارم       | ۲۲/۹۷ $\pm$ ۱/۱۴           | ۷۰/۷۳ $\pm$ ۴/۲۹         | ۷/۹۱ $\pm$ ۰/۵۶                 |
| پنجم        | ۲۲/۷۳ $\pm$ ۱/۱۱           | ۷۰/۷۱ $\pm$ ۴/۳۴         | ۷/۹۰ $\pm$ ۰/۵۳                 |
| ششم         | ۲۲/۱۳ $\pm$ ۱/۱۸           | ۷۰/۲۳ $\pm$ ۴/۱۱         | ۷/۸۵ $\pm$ ۰/۵۲                 |

جدول ۲: نتایج آزمایش‌های قند و اسید اوریک در هفته‌های متوالی

پس از اهدای خون

| آزمایش هفته | BS (mg/dL)         | Uric Acid (mg/dL) |
|-------------|--------------------|-------------------|
| اول         | ۲۸۷/۵۴ $\pm$ ۱۵/۷۸ | ۳/۲۷ $\pm$ ۰/۵۵   |
| دوم         | ۲۶۱/۰۶ $\pm$ ۲۲/۵۵ | ۳/۱۲ $\pm$ ۰/۷۵   |
| سوم         | ۲۱۷/۱۴ $\pm$ ۴۰/۱۵ | ۲/۷۸ $\pm$ ۰/۸۱   |
| چهارم       | ۱۹۵/۶۶ $\pm$ ۳۸/۸۴ | ۲/۹۲ $\pm$ ۰/۷۰   |
| پنجم        | ۱۶۷/۰۴ $\pm$ ۳۶/۹۷ | ۲/۶۹ $\pm$ ۰/۶۰   |
| ششم         | ۱۵۴/۲۶ $\pm$ ۳۷/۳۴ | ۲/۲۸ $\pm$ ۰/۶۱   |

جدول ۳: نتایج آزمایش‌های استرس اکسیداتیو در هفته‌های متوالی

| آزمایش هفته | PAB<br>Mean $\pm$ SD | SOD (IU/gHb)<br>Mean $\pm$ SD | GPX (IU/gHb)<br>Mean $\pm$ SD |
|-------------|----------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| اول         | ۴۴۴ $\pm$ ۶۰/۱۸      | ۳۹/۴۳ $\pm$ ۱۶/۱۴             | ۵۹۶/۹۵ $\pm$ ۱۹/۳۳            |
| دوم         | ۴۷۱/۴۰ $\pm$ ۵۹/۵۳   | ۲۸/۱۷ $\pm$ ۱۶                | ۵۵۰/۹۵ $\pm$ ۱۸/۳۳            |
| سوم         | ۴۹۷/۷۰ $\pm$ ۵۵/۳۳   | ۱۸/۶۰ $\pm$ ۷/۹۹              | ۴۴۴/۳۲ $\pm$ ۱۳/۱۶            |
| چهارم       | ۵۲۰/۱۰ $\pm$ ۵۹/۵۰   | ۱۶/۴۱ $\pm$ ۶/۶۴              | ۳۹۵/۳۸ $\pm$ ۱۴/۷۴۵           |
| پنجم        | ۵۳۵ $\pm$ ۶۲/۱۰      | ۱۲/۴ $\pm$ ۵/۵۴               | ۳۸۹/۲۲ $\pm$ ۱۰/۸۲            |
| ششم         | ۵۵۲/۷ $\pm$ ۵۵/۴۸    | ۱۲/۰۳ $\pm$ ۴/۸۳              | ۳۳۸/۷۶ $\pm$ ۵۲/۰۹            |

در ترکیه در سال ۲۰۰۰ بر روی کیسه‌های خون اهدایی انجام دادند، اعلام کردند میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به تدریج با نگهداری خون کاهش می‌یابد (۲۲). در مطالعه‌ای مشابه در ترکیه که توسط اصلان و همکارانش بر روی ۶ کیسه خون اهدایی در مردان انجام شد، کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در روزهای ۱۳ تا ۲۷ بعد از اهدای خون گزارش شد (۲۳). جزویک و همکارانش نیز در سال ۱۹۹۷ کاهش ۱۰ درصدی میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز را پس از اهدای خون گزارش کرده بودند (۱۵). بارتوز و همکارانش نیز کاهش ۶۵ درصدی میزان سوپر اکسید دیسموتاز را در گلبول‌های قرمز مانده شده نسبت به گلبول‌های قرمز جوان گزارش کردند (۲۴). در یافته‌های ما نیز میزان سوپر اکسید دیسموتاز کاهش پیدا کرد و بیشترین میزان کاهش نیز در دو هفته اول پس از خونگیری اتفاق افتاد که با مطالعه اصلان و همکارانش مشابه می‌باشد. البته لپیا و همکارانش در ایتالیا بهترین زمان تزریق خون را با توجه به کاهش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز تا ۲۱ روز بعد از اهدای خون اعلام کردند (۲۵). اوگونرو و همکارانش در سال ۲۰۱۰ در نیجریه با مطالعه ۱۵ کیسه خون، کاهش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از جمله سوپر اکسید دیسموتاز را گزارش کردند (۶). با توجه به کاهش میزان آنتی اکسیدان سوپر اکسید دیسموتاز و نتایج آزمایش‌های ما و گزارش اصلان و همکارانش در ترکیه، به نظر می‌رسد تزریق خون تا دو هفته اول بعد از اهدای خون مناسب‌تر باشد. کاهش در میزان آنزیم با افزایش میزان استرس اکسیداتیو نیز هم‌خوانی دارد. به طوری که با کاهش آنتی اکسیدان (سوپر اکسید دیسموتاز)، افزایش در میزان اکسیدان‌ها را شاهد بودیم.

هم چنین فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز طی مدت نگهداری کیسه خون به تدریج کاهش پیدا کرد (جدول ۳). اصلان و همکارانش با بررسی کیسه خون‌های اهدایی کاهش فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز را در روز نهم پس از اهدای خون گزارش کردند (۲۳). کورگان و همکارانش نیز در ترکیه کاهش گلوکاتایون پراکسیداز را در مردان اهداکننده خون اعلام کردند (۲۲). هم چنین جزویک کاهش ۳۰

اعلام کردند که استرس اکسیداتیو در بیماران تالاسمی در اثر تزریق خون افزایش می‌یابد و این افزایش ناشی از وجود آهن اضافی موجود در کیسه‌های خون می‌باشد که سبب استرس اکسیداتیو در کیسه‌های خون می‌شود (۱۷). سارا رینالدوسی و همکارانش در سال ۲۰۱۲ در ایتالیا با بررسی ۴ کیسه خون، افزایش استرس اکسیداتیو و در نتیجه تخریب گلبول قرمز در اثر این افزایش را گزارش کردند (۱۸). چوداری و همکارانش نیز در سال ۲۰۱۲ با بررسی ۳ کیسه خون، اکسیداسیون هموگلوبین را دلیلی برای استرس اکسیداتیو و تخریب غشای گلبول قرمز در داخل کیسه‌های خون اعلام کردند (۱۹). در مطالعه ما نیز میزان استرس اکسیداتیو در آزمایش PAB تغییرات بالانس اکسیدان - آنتی اکسیدان به سمت افزایش مواد اکسیدان را نشان داد. با کمک این آزمایش می‌توان تخمین بالانس اکسیدان - آنتی اکسیدان را انجام داد. تاکنون چندین مطالعه در رابطه با ارزیابی استرس اکسیداتیو با استفاده از این روش انجام شده است. اولین بار این روش تخمین بالانس اکسیدان - آنتی اکسیدان جهت ارزیابی استرس اکسیداتیو در ایران توسط علمداری و همکارانش در سال ۲۰۰۸ در بیماران قلبی و عروقی آنژیوگرافی شده به کار رفت و نتایج آن تفاوت معناداری را در گروه‌های مطالعه نشان داد ( $p < 0.001$ ) (۱۴). هم چنین غیور و همکارانش در سال ۲۰۰۹ جهت سنجش استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به سندروم حاد کرونری از این روش استفاده کردند (۲۰). پریزاده و همکارانش نیز در سال ۲۰۱۱ مطالعه‌ای در ارتباط با تاثیر استاتین‌ها بر بالانس اکسیدان - آنتی اکسیدان در بیماران دیس لیپیدمی انجام دادند که از این روش استفاده کردند (۲۱).

در مطالعه‌ای که جزویک و همکارانش بر روی کیسه‌های خون انجام دادند، اعلام کردند که میزان آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز ۳۰٪ و سوپر اکسید دیسموتاز ۱۰٪ کاهش پیدا می‌کند (۱۵). در نتایج آزمایش‌های ما نیز میزان هر دو آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز کاهش معناداری را نشان داد.

در بسیاری از مطالعه‌های انجام شده نیز چنین نتیجه‌ای حاصل شده است. در مطالعه‌ای که کورگان و همکارانش

اکسیداتیو در کیسه‌های خون باشد. با توجه به این که میزان این کاهش در دو هفته اول بعد از اهدا کاهش چشمگیری دارد، احتمالاً زمان مناسب‌تر برای تزریق خون مشابه با مطالعه مرجانی و همکارانش تا ۱۴ روز اول بعد از اهدای خون است.

### نتیجه‌گیری

با کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپر اکسید دیسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز، میزان استرس اکسیداتیو افزایش پیدا می‌کند. در نتیجه تغییرات بالانس اکسیدان - آنتی‌اکسیدان به سمت اکسیدان‌ها افزایش می‌یابد. با توجه به این که تغییرات چشمگیر آنتی‌اکسیدان‌ها و استرس اکسیداتیو در دو هفته اول بعد از اهدا صورت می‌گیرد، بنابراین پیشنهاد می‌گردد در بیماران مستعد استرس اکسیداتیو نظیر بیماران دیابتی، سرطان‌ها و افراد مبتلا به بیماری قلبی - عروقی، از کیسه‌های خون با زمان اهدای کمتر از دو هفته استفاده شود.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه پرسنل سازمان انتقال خون و همکاران و مدیریت پایگاه انتقال خون بجنورد (دکتر احسان روشن روان) تشکر و قدردانی صمیمانه می‌گردد. کد تصویب طرح به شماره ۹۲۴۳۸۵-۹۲/۳/۳۱ و متولی مالی آن دانشگاه علوم پزشکی تهران می‌باشد.

درصدی میزان گلووتاتیون پراکسیداز را در خون‌های اهدایی گزارش کرد (۱۵). مرجانی و همکارانش نیز با بررسی ۶۷ کیسه خون اهدایی در سال ۲۰۰۷، کاهش گلووتاتیون پراکسیداز را گزارش کردند. آن‌ها هم چنین بهترین زمان برای تزریق خون را تا روز ۱۴ بعد از خونگیری اعلام کردند (۲۶). اوگونرو و همکارانش در سال ۲۰۱۰ با بررسی نمونه ۱۵ فرد اهدا کننده خون متوجه شدند میزان آنزیم گلووتاتیون پراکسیداز در مدت دو هفته بعد از اهدا، ۱۷/۱٪ کاهش دارد (۶). گلاتکن و همکارانش در سال ۲۰۰۰ کاهش گلووتاتیون پراکسیداز را در مدت ۷ تا ۱۴ روز گزارش کردند (۲۷). احتمال آن می‌رود که ادامه روند متابولیسم گلبول‌های قرمز و تولید مواد زائد توسط آن‌ها، بر روی شرایط کیسه خون تأثیرگذار باشد به طوری که از یک سو سبب تولید مواد اکسیدانی در گلبول قرمز و مصرف آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گردد و از سویی دیگر با کاهش pH کیسه خون، سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های مذکور شود. هم چنین به تدریج با افزایش لیز گلبول‌های قرمز و آزاد شده، آهن موجود در هموگلوبین و ایجاد شرایط افزایش استرس اکسیداتیو، توانایی سلول‌ها برای دفاع بر ضد اکسیدان‌ها کاهش می‌یابد و سبب افت میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد. بنابراین ممکن است علاوه بر افزایش مواد اکسیدان در کیسه خون، کاهش در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هم دلیلی برای افزایش استرس

### References :

- 1- Sies H. What is oxidative stress? Oxidative stress and vascular disease. Volume 224 of the series Developments in Cardiovascular Medicine. Philadelphia: Springer; 2000. p. 1-8.
- 2- Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. Am J Med 1991; 91(3C): 31S-38S.
- 3- de Groot H. Reactive oxygen species in tissue injury. Hepatogastroenterology 1994; 41(4): 328-32.
- 4- Scandalios JG. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. Braz J Med Biol Res 2005; 38(7): 995-1014.
- 5- Sailaja Y, Baskar R, Saralakumari D. The antioxidant status during maturation of reticulocytes to erythrocytes in type 2 diabetics. Free Radic Biol Med 2003; 35(2): 133-9.
- 6- Ogunro P, Ogungbamigbe T, Muhibi M. 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.
- 7- Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. Free Radic Biol Med 2002; 33(3): 337-49.
- 8- Zoroglu SS, Armutcu F, Ozen S, Gurel A, Sivasli E, Yetkin O, et al. Increased oxidative stress and altered activities of erythrocyte free radical scavenging enzymes in autism. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 2004; 254(3): 143-7.
- 9- Levander OA. A global view of human selenium nutrition. Annu Rev Nutr 1987; 7(1): 227-50.
- 10- Williams K, Frayne J, Hall L. Expression of extracellular glutathione peroxidase type 5 (GPX5) in

- the rat male reproductive tract. *Mol Hum Reprod* 1998; 4(9): 841-8.
- 11- Roxborough HE, Mercer C, McMaster D, Maxwell AP, Young IS. Plasma glutathione peroxidase activity is reduced in haemodialysis patients. *Nephron* 1999; 81(3): 278-83.
  - 12- Slabber P. Perioperative Transfusion Triggers; 2013. Available from: [http://anaesthetics.ukzn.ac.za/Libraries/Documents2011/P\\_Slabber\\_Periooperative\\_20RBC\\_transfusion\\_practice\\_1.sflb.ashx](http://anaesthetics.ukzn.ac.za/Libraries/Documents2011/P_Slabber_Periooperative_20RBC_transfusion_practice_1.sflb.ashx).
  - 13- Bode AP. Platelet activation may explain the storage lesion in platelet concentrates. *Blood Cells* 1989; 16(1): 109-25; discussion 125-6.
  - 14- Alamdari DH, Ghayour-Mobarhan M, Tavallaie S, Parizadeh MR, Moohebat M, Ghafoori F, *et al*. Prooxidant-antioxidant balance as a new risk factor in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Clin Biochem* 2008; 41(6): 375-80.
  - 15- Jóźwik M, Jóźwik M, Jóźwik M, Szczyпка M, Gajewska J, Laskowska-Klita T. Antioxidant defence of red blood cells and plasma in stored human blood. *Clin Chim Acta* 1997; 267(2): 129-42.
  - 16- Kriebardis AG, Antonelou MH, Stamoulis KE, Economou-Petersen E, Margaritis LH, Papassideri IS. Membrane protein carbonylation in non-leukodepleted CPDA-preserved red blood cells. *Blood Cells Mol Dis* 2006; 36(2): 279-82.
  - 17- Shazia Q, Mohammad Z, Rahman T, Shekhar HU. Correlation of oxidative stress with serum trace element levels and antioxidant enzyme status in Beta thalassemia major patients: a review of the literature. *Anemia* 2012; 2012: 270923.
  - 18- Rinalducci S, Ferru E, Blasi B, Turrini F, Zolla L. Oxidative stress and caspase-mediated fragmentation of cytoplasmic domain of erythrocyte band 3 during blood storage. *Blood Transfus* 2012; 10 Suppl 2: s55-62.
  - 19- Chaudhary R, Likidlilid A, Peerapatdit T, Tresukosol D, Srisuma S, Ratanamaneechat S, *et al*. Apolipoprotein E gene polymorphism: effects on plasma lipids and risk of type 2 diabetes and coronary artery disease. *Cardiovasc Diabetol* 2012; 11: 36.
  - 20- Ghayour-Mobarhan M, Alamdari D, Moohebat M, Sahebkar A, Nematy M, Safarian M, *et al*. Determination of pro-oxidant-antioxidant balance after acute coronary syndrome using a rapid assay: a pilot study. *Angiology* 2009; 60(6): 657-62.
  - 21- Parizadeh SM, Azarpazhooh MR, Moohebat M, Nematy M, Ghayour-Mobarhan M, Tavallaie S, *et al*. Simvastatin therapy reduces prooxidant-antioxidant balance: results of a placebo-controlled cross-over trial. *Lipids* 2011; 46(4): 333-40.
  - 22- Korgun DK, Bilmen S, Yesilkaya A. Alterations in the erythrocyte antioxidant system of blood stored in blood bags. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2000; 109(5-6): 357-63.
  - 23- Aslan R, Sekeroğlu M, Tarakçioğlu M, Köylü H. Investigation of malondialdehyde formation and antioxidant enzyme activity in stored blood. *Haematologia (Budap)* 1996; 28(4): 233-7.
  - 24- Bartosz G, Tannert C, Fried R, Leyko W. Superoxide dismutase activity decreases during erythrocyte aging. *Experientia* 1978; 34(11): 1464.
  - 25- Lippa S, Forni F, Candido A, Aureli V, Mango G. Oxidative stress of red blood cells stored for transfusion use. *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch* 1989; 117(1): 105-10.
  - 26- Marjani A, Mansoorian A, Joshaghani H, Heydari K, Sarikhani A. The Alterations of Plasma Lipid Peroxidation and erythrocyte Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Enzyme Activities During Storage of Blood. *Medical Laboratory Journal* 2007; 1(1): 5-11. [Article in Farsi]
  - 27- Gultekin F, Akdogan M, Altuntas I, Delibas N, Kaptanagasi M. Changes in erythrocyte lipid peroxidation and antioxidant potential during storage of blood and protective effect of melatonin. *J Biochem* 2000; 25: 83-91.

**Original Article**

## **Oxidative stress changes in blood bags in consecutive weeks after donation**

**Barzegar S.<sup>1</sup>, Nadali F.<sup>1</sup>, Pourfathollah A.A.<sup>2,3</sup>, Abbaspour A.R.<sup>4</sup>, Farokhinia S.<sup>5</sup>, Shiravand Y.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Department of Immunology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

<sup>4</sup>School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

<sup>5</sup>Emam Ali Hospital, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnourd, Iran

### **Abstract**

#### **Background and Objectives**

The oxidative stress destroys the red blood cells during preservation. The awareness about the stress oxidative process is important for the safety of blood bags and patients. The aim of the study was to evaluate the pro-oxidant-antioxidant balance (PAB) and superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX) enzymes in blood bags in the weeks after donation.

#### **Materials and Methods**

In a descriptive study, a number of 100 blood bags were used for the blood donors between 18 to 57 years of age (the mean age of 35.5) in Bojnourd Blood Center. The blood bags were kept in standard conditions for 6 weeks and the adequate samples were taken for test. The test included PAB, SOD, and GPX and the repeated measures analysis was performed.

#### **Results**

The pro-oxidant-antioxidant balance had a significant increase ( $p < 0.000$ ). Enzymes like SOD and GPX had a significant decrease ( $p < 0.000$ ).

#### **Conclusions**

Results showed that pro-oxidant-antioxidant balance and antioxidant enzyme activities changed particularly in the first two weeks. Therefore, it is suggested that for the diseases related with oxidative stress such as cardiovascular diseases, diabetes, and cancers, patients receive blood stored less than two weeks.

**Key words:** Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase, Blood Donation

Received: 3 Mar 2015

Accepted: 28 Oct 2015

Correspondence: Nadali F., PhD in Hematology & Blood Banking. Associate Professor of School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences.  
P.O.Box: 14177-44361, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88982815; Fax: (+9821) 88983037  
E-mail: Nadalifa@yahoo.com