

تأثیر آنتی اکسیدانی ال - کارنیتین در پلاکت کنسانتره در طول مدت نگهداری

نوشین حلمی سیاسی^۱، محمدرضا دیهیم^۲، فاطمه امیری^۳، صدیقه امینی کافی آباد^۴

چکیده

سابقه و هدف

آسیب اکسیداتیو، یکی از عوامل مهم در تشکیل آسیب ذخیره پلاکت می باشد که منجر به کاهش کیفیت فرآورده پلاکت و کاهش بازده تزریق پلاکت می شود. به همین دلیل در این مطالعه به تاثیر خواص آنتی اکسیدانی ال - کارنیتین بر آسیب اکسیداتیو در پلاکت ها در طول مدت نگهداری پرداخته شد.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، ۱۰ کیسه کنسانتره پلاکتی تهیه شده در پایگاه انتقال خون تهران، به روش تصادفی ساده انتخاب گردید و با ۱۰۰ میلی مول ال - کارنیتین تیمار شد. سپس ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) و غلظت مالون دآلدئید (MDA) در پلاکت های تیمار با ال - کارنیتین در مقایسه با پلاکت های گروه کنترل (گروه فاقد ال - کارنیتین) در طول مدت زمان نگهداری پلاکت ها تحت شرایط آزیتاسیون ملایم در دمای 20 ± 2 درجه سانتی گراد تا ۵ روز اندازه گیری شد.

یافته ها

نتایج به دست آمده نشان می دهد که ظرفیت آنتی اکسیدانی تام در گروه تیمار با ال - کارنیتین نسبت به گروه کنترل تا روز پنجم نگهداری بهتر حفظ شده بود و اختلاف معناداری بین دو گروه از نظر آماری وجود داشت ($p = 0/005$ روز پنجم و $p = 0/007$ روز سوم). غلظت مالون دآلدئید نیز در گروه تیمار با ال - کارنیتین نسبت به گروه کنترل کمتر افزایش یافته بود ($p = 0/005$ روز پنجم و $p = 0/008$ روز سوم).

نتیجه گیری

به نظر می رسد ال - کارنیتین با ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدها و حفظ ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاکت ها، بتواند سبب کاهش آسیب اکسیداتیو در پلاکت ها در طول مدت نگهداری گردد و در آینده ممکن است بتوان از ال - کارنیتین به عنوان ماده افزودنی جهت ارتقای کیفیت پلاکت ها و کاهش آسیب ذخیره پلاکتی استفاده کرد.

کلمات کلیدی: پلاکت ها، استرس اکسیداتیو، ال - کارنیتین

تاریخ دریافت: ۹۶/ ۲/ ۴

تاریخ پذیرش: ۹۶/ ۴/ ۱۳

۱- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

۲- مؤلف مسئول: PhD بیوشیمی بالینی - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۴۶۶۵-۱۱۵۷

۳- PhD هماتولوژی آزمایشگاهی و بانک خون - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

۴- متخصص آسیب شناسی بالینی و تشریحی - دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

مقدمه

کنسانتره پلاکتی یکی از مهمترین فرآورده‌های درمانی مشتق از خون بوده که جهت بیماران مبتلا به ترومبوسیتوپنی به کار می‌رود. با این وجود نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی تحت شرایط استاندارد در بانک خون (22 ± 2 درجه سانتی گراد همرا با آزیتاسیون ملایم) در بیشتر کشورها محدود به ۵-۷ روز می‌باشد (۱). این محدودیت زمانی اساساً مربوط به افزایش خطر آلودگی باکتریایی در واحدهای پلاکتی است به دلیل این که دمای نگهداری پلاکت دمای مطلوبی برای رشد باکتری‌ها می‌باشد از طرفی نیز تغییرات بیوشیمیایی که در طی فرآیند تولید و نگهداری فرآورده پلاکت رخ می‌دهد، می‌تواند سبب تغییرات مورفولوژیک، ساختاری و عملکردی در پلاکت‌ها شده که در نهایت منجر به کاهش بقا و کیفیت پلاکت‌ها پس از تزریق پلاکت گردد که به مجموع این تغییرات، آسیب ذخیره‌ای پلاکت (PSL یا Platelet Storage Lesion) گفته می‌شود (۲).

پلاکت‌ها به دلیل دارا بودن میتوکندری قادر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) در طی فرآیند متابولیسم سلولی می‌باشند. ROS توسط دو مسیر تولید می‌شود. مسیر اول مربوط به فرآیندهای تنفس سلولی است که منجر به تولید ROSهای اندوژن می‌شوند و مسیر بعدی نیز فرآیندهای آنزیمی است که به واسطه آن آنزیم‌هایی نظیر NADPH اکسیداز و گزانتین اکسیداز می‌توانند سبب تولید ROS در پلاکت‌ها گردند (۳).

اولین بار توسط مارکوس در سال ۱۹۷۷ این نظریه به اثبات رسید که پلاکت‌ها می‌توانند رادیکال آزاد اکسیژن (O_2^-) تولید نمایند (۴). در مطالعه‌های متعددی گزارش شده است که O_2^- موجب تحریک‌پذیری بیشتر پلاکت در برخورد با ترومبین، کلاژن و ADP شده که می‌تواند سبب آگریگاسیون پلاکت گردد (۵، ۶). رادیکال‌های آزاد اکسیژن به وسیله غیرفعال کردن نیتریک اکسید (NO)، آزادسازی آگونیست‌هایی نظیر ADP و تولید ایزوپروستان‌ها می‌توانند موجب افزایش فعالسازی پلاکت گردند (۷). بنابراین هرگونه عدم تعادل بین میزان تولید ROS و مکانیسم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی سلول که موجب

استرس اکسیداتیو شود، به واسطه افزایش فعالسازی پلاکت‌ها موجب پیشبرد آسیب ذخیره در پلاکت‌ها می‌گردد. در واقع استرس اکسیداتیو یکی از فاکتورهای مهمی است که منجر به کاهش کیفیت و کاهش طول عمر فرآورده پلاکتی می‌گردد (۸).

در بین بیومولکول‌ها، لیپیدها در معرض بیشترین آسیب اکسیداتیو می‌باشند (۹). به دنبال پراکسیداسیون لیپیدها، تعداد زیادی محصولات ثانویه تولید می‌شوند که بیشتر آلدئید هستند (۱۰). این محصولات ثانویه با بیومولکول‌های دیگر نظیر پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک وارد واکنش شده و می‌تواند به صورت غیر قابل برگشت، موجب آسیب به فرآیندهای دخیل در عملکرد سلول شوند. مالون‌دآلدئید (MDA)، مهم‌ترین محصول ثانویه پراکسیداسیون لیپیدها است که از سال ۱۹۶۰ به بعد به عنوان مارکر مهمی جهت ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه جهت ارزیابی میزان آسیب اکسیداتیو به کار می‌رود (۹).

ال-کارنیتین (۷-تری‌متیل آمینو-β-هیدروکسی بوتیریک اسید) مولکول کوچکی است که اولین بار در سال ۱۹۰۵ به وسیله گول‌ویچ و کریمرگ کشف شد (۱۰). این مولکول که مشتقی از دو اسید آمینه لیزین و متیونین می‌باشد به صورت معمول در اکثر سلول‌ها در بدن یافت می‌شود. این مولکول به صورت سنتتیک نیز موجود می‌باشد که پودری سفید رنگ و غیر سمی است (۱۱). مطالعه‌های مختلفی به تاثیر مثبت ال-کارنیتین بر پارامترهای مختلف فیزیولوژیکی اشاره داشته است. اگر چه مکانیسم مولکولی آن هنوز مشخص نیست، اما عملکرد آنتی اکسیدانی آن در مقالات مختلف به عنوان مسئول تاثیر مثبت این مولکول معرفی شده است (۱۲). اثر آنتی اکسیدانی ال-کارنیتین مربوط به جمع‌آوری مستقیم رادیکال‌های آزاد و شلاته کردن یون‌های فلزی می‌باشد (۱۳). از طرفی نیز ال-کارنیتین با حفظ تمامیت و یکپارچگی دیواره میتوکندری می‌تواند سبب بهبود عملکرد میتوکندری در شرایط استرس شود (۱۴-۱۶).

بنابراین به نظر می‌رسد ال-کارنیتین بتواند با خواص آنتی اکسیدانی خود سبب ارتقاء کیفیت پلاکت‌ها در طول

مدت نگهداری گردد. اگر چه اطلاعات کافی از تاثیر این ماده بر افزایش کیفیت فرآورده پلاکتی در طی دوره ذخیره سازی وجود ندارد. هدف این مطالعه، کاهش آسیب اکسیداتیو توسط ال-کارنیتین می باشد. با این فرض که این مولکول قادر به کاهش تولید MDA و حفظ ظرفیت آنتی اکسیدانی در پلاکت ها خواهد بود.

مواد و روش ها

تعیین غلظت بهینه ال-کارنیتین (Optimum dose):

برای این منظور ۵ کیسه کنسانتره پلاکتی به صورت تصادفی ساده انتخاب شد و هر کیسه پلاکت، به چند قسمت برای تیمار با غلظت های مختلف ال-کارنیتین تقسیم شد. پس از تیمار پلاکت ها با غلظت های ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۱۰۰ میلی مول ال-کارنیتین، کلیه کیسه ها همراه با گروه شاهد خود (گروه فاقد ال-کارنیتین) در دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی گراد در شیکر انکوباتور پلاکتی به مدت ۵ روز نگهداری شدند. در روزهای اول، سوم و پنجم نگهداری، متغیرهای مالون دآلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی اکسیدان تام (TAC) در پلاکت های گروه تیمار با ال-کارنیتین و گروه شاهد (گروه فاقد ال-کارنیتین) اندازه گیری شد و غلظت بهینه و مؤثر ال-کارنیتین بر آسیب اکسیداتیو از این طریق به دست آمد.

آماده سازی و نگهداری پلاکت های کنسانتره:

مطالعه حاضر از نوع تجربی (Experimental) بود که به روش نمونه گیری تصادفی ساده انجام شد. بدین منظور ۱۰ کیسه پلاکت کنسانتره به طور تصادفی بدون در نظر گرفتن گروه خونی، سن و جنس اهدا کننده انتخاب شد. کنسانتره های پلاکتی به وسیله روش پلاسما غنی از پلاکت (Platelet rich plasma (PRP)) در پایگاه انتقال خون استان تهران تهیه شدند. همه کیسه ها در شیکر انکوباتور در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ روز با آرتاسیون ملایم نگهداری گردید. هر کیسه کنسانتره پلاکت، شامل ۴۰-۶۰ میلی لیتر پلاکت کنسانتره با تعداد پلاکت بیشتر از 1×10^9 PLT/mL همراه بود. نحوه تقسیم کیسه ها به دو گروه A (گروه کنترل) و گروه B (گروه آزمایش) در ادامه

آمده است: ابتدا هر کیسه به وسیله دستگاه متصل کننده (ژاپن، TSCD-II، Connection device) به کیسه اقماری B (ژاپن، JMS) که از جنس کیسه های گروه کنترل بود متصل شد و با استفاده از ترازوی دیجیتال (آلمان، سارتوریوس)، دقیقاً هر دو کیسه کنترل و شاهد به حجم های مساوی از پلاکت تقسیم گردیدند. در روز اول نگهداری پلاکت (روز تهیه پلاکت)، قبل از تقسیم کیسه اصلی به دو کیسه کنترل و مورد، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، غلظت مالون دآلدئید، شمارش تعداد پلاکت و جهت اطمینان از عملکرد پلاکت، میزان آگریگاسیون پلاکت ها در پاسخ به آگونیست اندازه گیری شد. پس از تهیه استوک ال-کارنیتین (۱۰۰۰ میلی مول) و فیلتر کردن آن توسط فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر (آمریکا، GVS)، ال-کارنیتین با غلظت نهایی ۱۰۰ میلی مول (غلظت بهینه به دست آمده از مطالعه پایه)، به کیسه گروه آزمایش (B) تزریق گردید و به مقدار مساوی نیز، نرمال سالین به کیسه گروه کنترل (A) تزریق شد. کلیه مراحل تزریق جهت جلوگیری از آلودگی باکتریال در زیر هود کلاس II انجام گرفت. کلیه کیسه های آزمایش و کنترل به مدت ۵ روز در دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی گراد در شیکر انکوباتور تحت آرتاسیون ملایم نگهداری شدند.

کشت پلاکتی و شمارش تعداد پلاکت ها:

به منظور شمارش تعداد پلاکت ها، نمونه پلاکت کنسانتره به نسبت یک به پنج با بافر فسفات (PBS) رقیق شد و با استفاده از دستگاه شمارشگر سلولی (ژاپن، Kobe، K-۱۰۰۰، سیس مکس) شمارش پلاکت ها در روز اول در کیسه های تست و کنترل اندازه گیری گردید. ضمناً در این مطالعه برای اطمینان از عدم آلودگی باکتریایی، نمونه پلاکت گرفته شده از کیسه در روزهای اول و پنجم نگهداری بر روی محیط های کشت باکتریایی تایوگلیکولات (آلمان، مرک) و محیط (Tryptic Soy Broth) (هند، HiMedia) کشت داده شدند.

اندازه گیری میزان آگریگاسیون پلاکتی:

در روز ۱ نگهداری پلاکت ها جهت اطمینان از عملکرد

و کیفیت پلاکت‌های کنسانتره قبل از تیمار با ال- کارنیتین، میزان اگریگاسیون پلاکتی در پاسخ به آگونیست‌های ریسستوستین ($1/5 \text{ mg/mL}$) (فرانسه، هلنا) و آراشیدونیک اسید ($0/5$ میلی‌مول) (فرانسه، هلنا) توسط دستگاه اگریگومتر (Pack-4) اندازه‌گیری شد.

آماده‌سازی پلاکت‌ها جهت انجام آزمایش MDA و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام:

ابتدا مقدار ۴ میلی‌لیتر پلاکت کنسانتره به لوله فالتون انتقال داده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و به رسوب پلاکتی ۱ میلی‌لیتر بافر تیرود اضافه گردید. پس از آن محلول حاوی پلاکت به مدت ۲۰ دقیقه داخل فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از اتمام فرآیند انجماد نمونه‌ها در دمای محیط قرار داده شدند تا ذوب شوند. این پروسه (freeze and Thaw) سه بار متوالی انجام شد. سپس هم حجم نمونه‌ها بافر لیز به آن‌ها اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت روی یخ قرار داده شدند. بعد از یک ساعت به منظور تکمیل فرآیند لیز سلولی تمام نمونه‌ها توسط دستگاه سونیکاتور به مدت ۴۰ ثانیه با فاصله زمانی ۵ ثانیه و دامنه ۵۰٪ همگن شدند. برای تهیه کنترل مثبت از نمونه پلاکتی استفاده شد که به منظور القاء آسیب اکسیداتیو، تحت تیمار با ۲ میلی‌مولار H_2O_2 قرار گرفته شد.

اندازه‌گیری غلظت مالون دآلدئید (MDA):

در این روش که اصطلاحاً به روش Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها که مالون دآلدئید (MDA) می‌باشد، با باربیتوریک اسید وارد واکنش شده که نهایتاً منجر به ایجاد کمپلکس صورتی رنگ می‌شود و جذب نوری آن را می‌توان در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت نمود (۳).

در این آزمایش، ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های همگن شده و ۵۰۰ میکرولیتر از هر کدام از محلول‌های استاندارد به لوله‌های شیشه‌ای انتقال داده شد. به هر کدام از لوله‌ها ۷۵۰ میکرولیتر تیوباربیتوریک اسید $0/8 \text{ } \mu\text{L}$ ، ۷۵۰

میکرولیتر تری کلرواستیک اسید $20 \text{ } \mu\text{L}$ و ۱۰۰ میکرولیتر SDS $1/8 \text{ } \mu\text{L}$ اضافه شد. سپس ۴۰۰ میکرولیتر آب مقطر به هر کدام از لوله‌ها افزوده شد تا حجم کل هر لوله به ۲/۵ میلی‌لیتر برسد. سپس همه لوله‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از سرد کردن نمونه‌ها بر روی یخ به مدت ۱۵ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵ میلی‌لیتر مخلوط ان- بوتانول و پیریدین (با نسبت ۱:۱۵) به هر کدام از لوله‌ها اضافه شد. بعد از این که نمونه‌ها به شدت توسط شیکر میکس شدند، همه لوله‌ها برای ۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند.

در نهایت لایه شفاف ارگانیک در هر لوله جدا شد و جذب آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر در مقابل بلانک نمونه قرائت شد و از روی منحنی استاندارد طبق معادله خطی به دست آمده، غلظت MDA بر حسب nmol/PLT به دست آمد. در این روش به عنوان استاندارد از محلول استوک ۱-۳-۱-۳ تترامتوکسی پروپان با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌مول استفاده شد و با محاسبه میانگین جذب برای هر استاندارد، نمودار استاندارد بر مبنای غلظت استاندارد به جذب رسم شد. کلیه سنجش‌ها به صورت دوتایی انجام گرفت.

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام (TAC):

برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در پلاکت‌ها از کیت شرکت سیگما (anti oxidant assay kit- Sigma Aldrich) استفاده شد که بر اساس واکنش اکسیداسیون 2,2-azino-bis(3-ethylbenzylthiazoline-6 sulfonic acid (ABTS) می‌باشد. در این روش ابتدا ABTS توسط رادیکال‌های فریل میوگلوبین اکسیده شده که منجر به تشکیل رادیکال کاتیون ABTS^+ می‌شود، در نهایت جذب نوری کمپلکس ایجاد شده که به رنگ سبز می‌باشد در طول موج ۴۰۵ نانومتر توسط الیزا ریدر قرائت گردید. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه، اثر مهار بر این واکنش داشته و هر چه میزان آن‌ها در نمونه بیشتر باشد، میزان کمتری رادیکال کاتیون ABTS^+ تشکیل می‌شود که سبب کاهش جذب نوری می‌گردد یعنی هر چه قدر جذب

نوری کمتر باشد، میزان آنتی اکسیدان موجود در نمونه بیشتر خواهد بود. در این روش به عنوان استاندارد از آنالوگ محلول در آب ویتامین E (Torolox) به عنوان آنتی اکسیدان استفاده شد. آزمایش در پلیت ۹۶ خانهای و به صورت دوتایی انجام شد. در هر چاهک مربوط به استانداردهای ترولکس، ۱۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف استاندارد به چاهک‌های ۱ تا ۶ انتقال داده شد.

در چاهک‌های مربوط به نمونه‌ها ۱۰ میکرولیتر از پلاکت‌هایی که آماده شده بودند و در یک چاهک نیز ۱۰ میکرولیتر از نمونه کنترل مثبت ریخته شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از محلول کاری میوگلوبین به همه چاهک‌ها افزوده شد. در مرحله بعد ۱۵۰ میکرولیتر از محلول کاری پیش‌ماده ABTS به تمام چاهک‌ها اضافه شد. پلیت به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد، در صورت نیاز، زمان انکوباسیون قابل تغییر است. در انتهای زمان انکوباسیون، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول متوقف‌کننده واکنش به هر چاهک اضافه شد. در نهایت جذب نمونه‌ها و استانداردها در طول موج ۴۰۵ نانومتر با استفاده از دستگاه الیزاریدر خوانده شد. با محاسبه میانگین جذب برای هر استاندارد ترولکس، نمودار استاندارد بر مبنای غلظت ترولکس به جذب آن رسم شد.

نحوه جمع‌آوری اطلاعات و تجزیه و تحلیل داده‌ها:

تمامی داده‌ها وارد نرم‌افزار SPSS نمایه ۱۸ گردید. جهت آنالیز آماری، کلیه داده‌ها با استفاده از آزمون آماری کولموگروف اسمیرنوف دارای توزیع طبیعی بود. برای توصیف داده‌ها از میانه و دامنه (حداقل - حداکثر داده‌ها) استفاده شد. جهت مقایسه تفاوت مقادیر MDA و TAC در طول زمان در هر گروه و نیز اختلاف بین دو گروه در هر مقطع زمانی از آزمون ویلکاکسون استفاده شد. سطح معناداری تمام آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج مربوط به مطالعه پایه جهت تعیین غلظت بهینه ال-کارنیتین:

میانگین نتایج به دست آمده از پلاکت‌هایی که با

غلظت‌های مختلف از ال-کارنیتین تیمار شده است در مقایسه با گروه شاهد (گروه فاقد ال-کارنیتین) در جدول آمده است (جدول ۱). همان طور که در جدول نیز مشاهده می‌گردد، غلظت ۱۰۰ میلی‌مول ال-کارنیتین بر آسیب اکسیداتیو نسبت به غلظت‌های دیگر از این ماده به صورت معناداری با $p < 0/05$ تاثیر بیشتری بر حفظ ظرفیت آنتی اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپید در پلاکت‌ها در طول مدت نگهداری داشته و به همین علت، به عنوان موثرترین غلظت از ال-کارنیتین در این مطالعه انتخاب گردید. هم چنین غلظت‌های مختلف از ال-کارنیتین و تاثیر آن بر دو مارکر مهم آسیب اکسیداتیو نیز در جدول ۱ آمده است. نتایج آماری به دست آمده نشانگر این است که موثرترین غلظت از ال-کارنیتین، غلظت ۱۰۰ میلی‌مول می‌باشد که می‌تواند بیشترین تاثیر را بر حفظ ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاکت‌ها و هم چنین مهار پراکسیداسیون لیپیدها در پلاکت در طول مدت نگهداری داشته باشد. برای اطمینان از عملکرد پلاکت‌ها و کیفیت آن‌ها، آزمایش آگریگاسیون پلاکتی انجام شد (جدول ۲).

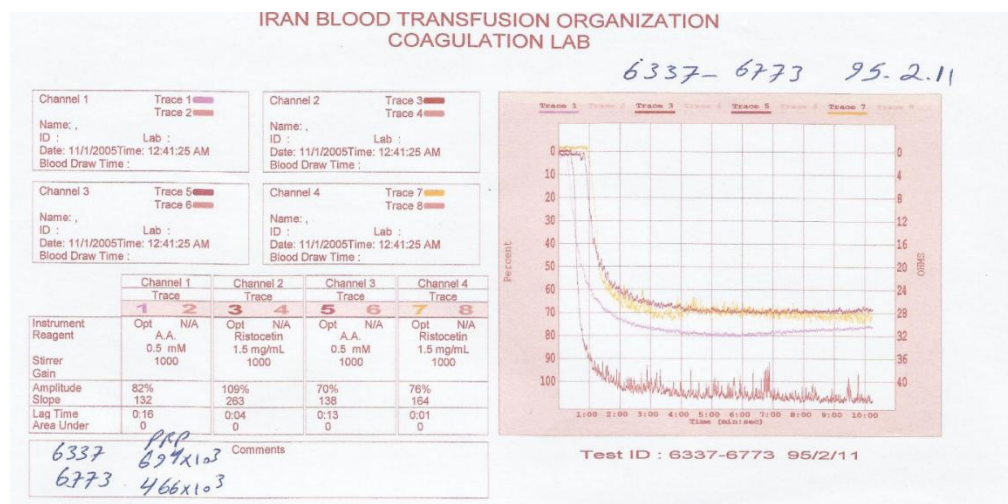
همان طور که در این جدول مشاهده می‌شود، میانگین نتایج آگریگاسیون پلاکتی در پاسخ به آگونیست‌های آراشیدونات و ریستوستین در روز تهیه پلاکت‌ها به میزان مطلوب و قابل قبول بوده و نشان‌دهنده این است که پلاکت‌ها از عملکرد و کیفیت خوبی برخوردار بودند. از طرف دیگر میانگین شمارش تعداد پلاکت‌ها در واحد میکرولیتر نیز در روز تهیه (روز ۱) در این جدول نشان داده شده و مشاهده می‌شود که تعداد پلاکت‌ها نیز در حد مطلوب و مورد انتظار می‌باشند. میانگین نتایج MDA و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) پلاکت‌های تیمار شده با ال-کارنیتین با گروه فاقد ال-کارنیتین (گروه کنترل) مقایسه شد (جدول ۳). با توجه به نتایج به دست آمده، مشخص گردید که میزان پراکسیداسیون لیپیدها با استفاده از شاخص MDA در پلاکت‌هایی که با ال-کارنیتین تیمار شده بودند در طول مدت نگهداری به مراتب پایین‌تر از پلاکت‌های گروه شاهد بود و این اختلاف در روزهای ۳ و ۵ نگهداری پلاکت از نظر آماری معنادار بود ($p = 0/005$ و روز پنجم و $p = 0/008$ روز سوم).

جدول ۱: میانگین نتایج غلظت مالون دآلدئید و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام در نمونه های تیمار شده با غلظت های ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۱۰۰ میلی مول ال-کارنیتین در مقایسه با گروه کنترل (گروه فاقد ال-کارنیتین)

روزهای نگهداری	MDA(nmol/PLT)	p value	TAC (mM/ PLT)	p vlaue
روز سوم گروه کنترل	$3/86 \pm 2/55$	$0/31$	$0/364 \pm 0/024$	$0/91$
روز سوم پلاکت تیمار با ۱۰ میلی مول ال-کارنیتین	$2/41 \pm 1/61$		$0/365 \pm 0/024$	
روز پنجم گروه کنترل	$4/18 \pm 3/38$	$0/57$	$0/347 \pm 0/029$	$0/08$
روز پنجم پلاکت تیمار با ۱۰ میلی مول ال-کارنیتین	$3/66 \pm 2/41$		$0/285 \pm 0/082$	
روز سوم گروه کنترل	$3/86 \pm 2/55$	$0/23$	$0/364 \pm 0/024$	$0/16$
روز سوم پلاکت تیمار با ۱۵ میلی مول ال-کارنیتین	$2/49 \pm 1/92$		$0/278 \pm 0/132$	
روز پنجم گروه کنترل	$4/18 \pm 3/38$	$0/14$	$0/347 \pm 0/029$	$0/08$
روز پنجم پلاکت تیمار با ۱۵ میلی مول ال-کارنیتین	$2/35 \pm 1/35$		$0/294 \pm 0/063$	
روز سوم گروه کنترل	$3/86 \pm 2/55$	$0/16$	$0/364 \pm 0/024$	$0/08$
روز سوم پلاکت تیمار با ۲۰ میلی مول ال-کارنیتین	$2/45 \pm 0/92$		$3/86 \pm 2/55$	
روز پنجم گروه کنترل	$4/18 \pm 3/38$	$0/1$	$0/347 \pm 0/029$	$0/06$
روز پنجم پلاکت تیمار با ۲۰ میلی مول ال-کارنیتین	$2/39 \pm 1/57$		$0/294 \pm 0/068$	
روز سوم گروه کنترل	$3/09 \pm 0/63$	$0/013$	$0/325 \pm 0/003$	$0/006$
روز سوم پلاکت تیمار با ۱۰۰ میلی مول ال-کارنیتین	$1/26 \pm 0/29$		$0/333 \pm 0/002$	
روز پنجم گروه کنترل	$4/1 \pm 0/44$	$0/001$	$0/261 \pm 0/009$	$0/014$
روز پنجم پلاکت تیمار با ۱۰۰ میلی مول ال-کارنیتین	$2/53 \pm 0/38$		$0/316 \pm 0/003$	

جدول ۲: میانگین نتایج نهایی آگریگاسیون پلاکت ها و شمارش پلاکت ها در روز تهیه (روز ۱)

آراشیدونیک پلاکت ها با اسید (میانگین $\pm$ انحراف معیار) n= ۱۰	آگریگاسیون پلاکت ها با ریسستوستین (%) (میانگین $\pm$ انحراف معیار) n= ۱۰	تعداد پلاکت ($\times 10^3/\mu L$) (میانگین $\pm$ انحراف معیار) n= ۱۰
$100/6 \pm 18/47$	$71/5 \pm 8/2$	1460 ± 364



نمودار ۱: نمودار آگریگاسیون پلاکت ها در پاسخ به آراشیدونیک اسید و ریسستوستین در روز ۱ نگهداری

جدول ۳: میانه و دامنه متغیرهای لیپید پراکسیداسیون و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پلاکت‌ها در روزهای ۱، ۳ و ۵ نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی بعد از تزریق ال - کارنیتین با غلظت ۱۰۰ میلی مول در مقایسه با گروه شاهد (گروه فاقد ال - کارنیتین)

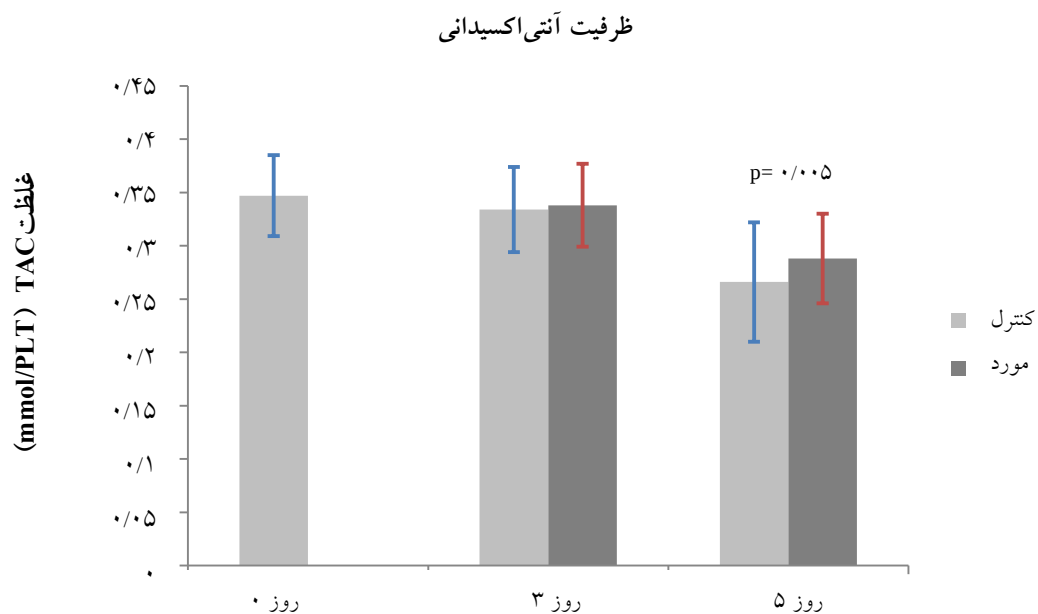
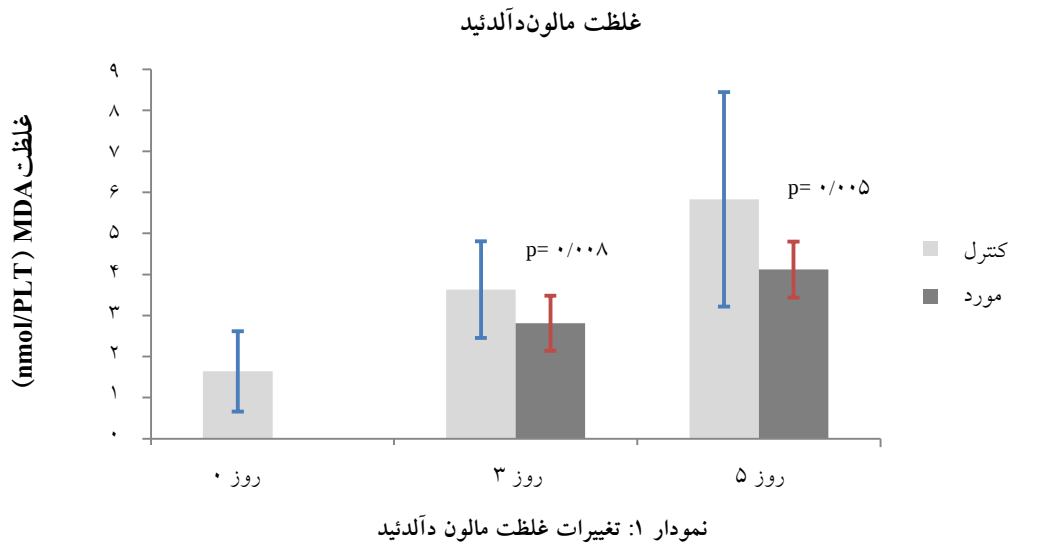
p value*		مورد		کنترل		
		میانۀ	محدوده اعداد	میانۀ	محدوده اعداد	
						MDA (nmol/PLT) ، n = ۱۰
	—	—	۰/۱۹-۳/۴۵	۱/۵۲	۰	
۰/۰۰۸	۱/۷۵-۳/۷۷	۲/۹۹	۱/۹۸-۵/۷۴	۳/۴۵	۳	
۰/۰۰۵	۲/۹۹-۴/۸۷	۴/۳۲	۳/۰۸-۱۲/۱۲	۵/۳۱	۵	
p value*	۰/۰۰۵		۰/۰۰۵			
						MDA (mM/PLT) ، n = ۱۰
	—	—	۰/۳۹۸-۰/۲۹۵	۰/۳۴۰	۰	
۰/۰۰۷	۰/۳۹۳-۰/۲۹۲	۰/۳۲۵	۰/۳۹۱-۰/۲۸۸	۰/۳۱۷	۳	
۰/۰۰۵	۰/۳۳۱-۰/۲۱۹	۰/۳۱۲	۰/۳۱۳-۰/۱۴۶	۰/۲۹۵	۵	
p value*	۰/۰۰۵		۰/۰۲۱			

* p value با استفاده از آزمون آماری ویلکاکسون برای مقایسه بین گروه‌ها در روزهای نگهداری پلاکت (۳-۵ روز) محاسبه شده است و $p < ۰/۰۵$ از نظر آماری معنادار می باشد.

نتایج کشت میکروبی پلاکت‌ها در دو محیط *Thio* و *TSB*:
بر طبق نتایج بدست آمده از کشت میکروبی، هیچ گونه آلودگی باکتریایی در کیسه‌های پلاکت کنسانتره در روزهای اول و پنجم نگهداری پلاکت مشاهده نشد (نمودار ۱). همان طور که در این نمودار مشاهده می شود، غلظت MDA که شاخص اصلی پراکسیداسیون لیپیدها می باشد در طول مدت نگهداری به صورت معناداری در هر دو گروه پلاکت‌های تیمار شده با ال - کارنیتین و گروه شاهد (گروه فاقد ال - کارنیتین) افزایش می یابد. در گروه تیمار با ال - کارنیتین، این افزایش به مراتب کمتر از گروه کنترل می باشد و این خود نشان دهنده اثر مهاري ال - کارنیتین بر پراکسیداسیون لیپیدها در پلاکت‌ها در طول مدت نگهداری است. ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاکت‌ها که شاخص مهمی در آسیب اکسیداتیو می باشد، در طول مدت نگهداری به صورت معناداری در هر دو گروه پلاکت‌های تیمار با ال - کارنیتین و گروه شاهد (گروه فاقد ال - کارنیتین) کاهش می یابد (نمودار ۲). در گروه تیمار با ال - کارنیتین، این کاهش به مراتب کمتر از گروه کنترل در روز سوم و پنجم نگهداری پلاکت می باشد و این خود نشان می دهد که ال -

هم چنین میانگین MDA در طول زمان پس از مداخله نیز تفاوت معناداری نشان می دهد، به طوری که در هر دو گروه میانگین MDA در طول زمان به طور معناداری افزایش یافته است ($p = ۰/۰۰۵$ مورد و $p = ۰/۰۰۵$ کنترل). اما در مورد ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (Total antioxidant capacity (TAC)، میانگین نتایج بین دو گروه در روز سوم و پنجم نگهداری پلاکت تفاوت معناداری را نشان می دهد ($p = ۰/۰۰۵$ روز پنجم و $p = ۰/۰۰۷$ روز سوم). از سویی دیگر، در مجموع در طول زمان (پس از مداخله) میانگین TAC تفاوت معناداری نشان می دهد به طوری که در هر دو گروه مقدار TAC در طول زمان به طور معناداری کاهش یافته است ($p = ۰/۰۲۱$ مورد و $p = ۰/۰۰۵$ کنترل).
در تمام مقاطع زمانی به طور معناداری مقادیر MDA برای گروه کنترل بالاتر از گروه مورد و نیز در تمام مقاطع زمانی به طور معناداری مقادیر TAC برای گروه کنترل پایین تر از گروه مورد می باشد. هم چنین روند افزایش MDA و کاهش TAC از روز ۳ ام تا روز ۵ ام، برای هر دو گروه، معنادار بوده است (جدول ۳).

کارنیتین می‌تواند با استفاده از خواص آنتی‌اکسیدانی خود، زمان نگهداری شود. سبب حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاکت‌ها در طول مدت



بحث

غلظت مالون دآلدئید نیز در گروه تیمار با ال-کارنیتین نسبت به گروه کنترل کمتر افزایش یافته بود آسیب ذخیره پلاکت، فرآیند بسیار پیچیده‌ای است و مکانیسم‌های احتمالی ایجاد آن هنوز به خوبی مشخص

نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در گروه تیمار با ال-کارنیتین نسبت به گروه کنترل تا روز پنجم نگهداری بهتر حفظ شده بود

نمی‌باشند. بعضی از این مکانیزم‌ها در ارتباط با فعال شدن پلاکت‌ها در طول مدت ذخیره‌سازی می‌باشد که می‌تواند در ایجاد PSL نقش داشته باشد (۱۷). تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه آسیب اکسیداتیو، یکی از عواملی است که می‌تواند سبب فعال شدن پلاکت‌ها گردد (۱۸). در واقع افزایش آسیب و استرس اکسیداتیو در طول مدت نگهداری پلاکت، یکی از دلایل مهم در پیشبرد پروسه PSL است و در نتیجه آن سبب کاهش بقا و کاهش کیفیت در پلاکت‌ها در طول مدت زمان نگهداری به شمار می‌آید (۸). بهبود شرایط ذخیره‌سازی و فرایندهای تولید فرآورده همیشه یکی از اهداف اصلی در طب انتقال خون بوده است (۱۹). استفاده از ترکیبات دارای خواص آنتی اکسیدانی مانند ال-کارنیتین در بانک خون می‌تواند در جهت کاهش آسیب اکسیداتیو و به منظور بهبود کیفیت فرآورده پلاکتی مؤثر باشد (۲۰-۲۲، ۱۱). با توجه به خواص آنتی اکسیدانی که به این مولکول نسبت داده می‌شود و مطالعه‌هایی که بیانگر تاثیر مثبت آنتی اکسیدان‌ها بر تنظیم فعالیت پلاکت‌ها می‌باشند، این مولکول می‌تواند موجب کاهش پیشرفت آسیب ذخیره‌ای در کنسانتره‌های پلاکتی شود. علاوه بر خواص آنتی اکسیدانی این ماده، ال-کارنیتین مولکولی غیر سمی و غیر آلرژیک است (۲۳). با توجه به این که تاکنون هیچ مطالعه جامعی در ارتباط با اثر ال-کارنیتین بر آسیب اکسیداتیو در پلاکت‌ها در طول مدت نگهداری انجام نشده است، در این مطالعه به اثر ال-کارنیتین بر آسیب اکسیداتیو پلاکت‌ها در طول مدت نگهداری تا ۵ روز پرداخته شده که از جنبه‌های نوآوری این مطالعه محسوب می‌شود.

در این تحقیق، بعد از انجام مطالعه پایه که در آن پلاکت‌ها با غلظت‌های مختلف ال-کارنیتین تیمار شدند، غلظت ۱۰۰ میلی مول ال-کارنیتین به عنوان مؤثرترین غلظت در کاهش آسیب اکسیداتیو انتخاب شد. در مطالعه قبلی، فقط به اثر ال-کارنیتین بر متابولیسم، عملکرد و بقای پلاکت‌ها در طول مدت نگهداری پرداخته شده بود (۱۱) و اثر این ماده بر آسیب اکسیداتیو در پلاکت‌ها در طول مدت نگهداری مطالعه نشده بود. نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان‌دهنده این است که غلظت ۱۰۰ میلی مول ال-

کارنیتین نسبت به غلظت‌های دیگر از این ماده اثر بهتری را جهت حفظ ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاکت و هم چنین مهار پراکسیداسیون لیپیدها نشان می‌داد، اگر چه غلظت ۱۵ میلی مول ال-کارنیتین که در مطالعه قبلی توانسته بود بر حفظ عملکرد و بقای پلاکت‌ها در طول مدت زمان نگهداری مؤثر باشد (۱۱)، در این مطالعه نیز توانست سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در روز سوم نگهداری باشد ولی برای حفظ ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاکت‌ها در طول مدت نگهداری این غلظت کافی نبود.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان تولید MDA در پلاکت‌های تیمار شده با ال-کارنیتین در روزهای سوم و پنجم نگهداری به مراتب کمتر از پلاکت‌های فاقد ال-کارنیتین (گروه کنترل) بود ($p=0/005$ روز پنجم، $p=0/008$ روز سوم)، که این نشان‌دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در پلاکت‌هایی بود که با ال-کارنیتین تیمار شده بودند. این نتایج با نتایجی که توسط جوس زاک و همکارانش به دست آمده بود مطابقت داشت. در مطالعه این گروه، میزان پراکسیداسیون لیپیدها در پلاکت‌های تحریک شده با ترومبین بعد از انکوبه شدن با ال-کارنیتین کاهش می‌یافت (۲۱). نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر و نتایج به دست آمده از سایر تحقیقات بیانگر این حقیقت است که ال-کارنیتین می‌تواند به طور مؤثری سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها شود. احتمالاً ال-کارنیتین به واسطه جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد و شلاته کردن فلزهای کاتالیتیکی نظیر Fe و Cu که پیش‌برنده تولید ROS می‌باشند، می‌تواند ممانعت از آسیب اکسیداتیو نماید (۲۴). از طرف دیگر، ال-کارنیتین به دلیل کمک به حفظ یکپارچگی میتوکندری و بنابراین پایین آوردن شانس تولید ROS، مانع پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود و بنابراین تولید MDA که از محصولات ثانویه پراکسیداسیون لیپیدها است را کاهش می‌دهد (۲۶، ۲۵، ۱۴).

در این مطالعه برای اولین بار، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام کنسانتره‌های پلاکتی در مواجهه با ال-کارنیتین در طول مدت نگهداری بررسی شد. بر طبق نتایج به دست آمده از پلاکت‌های تیمار با ال-کارنیتین در مقایسه با گروه فاقد ال-کارنیتین (کنترل)، به نظر می‌رسد ال-کارنیتین تا روز

پنجم نگهداری پلاکت به خوبی قادر به حفظ ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پلاکت‌ها می‌باشد ($p=0/05$) روز پنجم و $p=0/07$ روز سوم).

در سال ۱۹۹۷ آردوینی و همکارانش از ال-کارنیتین با غلظت ۵ میلی-مولار در کیسه‌های خون کامل استفاده کردند. نتایج به دست آمده توسط این گروه حکایت از تفاوت آشکار در غلظت ATP و میزان همولیز بین دو گروه خون‌های تیمار شده با ال-کارنیتین و گروه فاقد ال-کارنیتین می‌کرد. خون‌های تیمار شده با ال-کارنیتین به مراتب دارای همولیز کمتر و غلظت بالاتری از ATP نسبت به گروه فاقد ال-کارنیتین بودند (۲۲). در سال‌های بعد دانشمندان اثر این مولکول را بر پلاکت‌ها نیز بررسی کردند. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۰ توسط سویینی و همکارانش در ایتالیا بر روی پلاکت‌های کنسانتره انجام شد، میزان کاهش گلیکولیز بعد از تیمار پلاکت‌ها با ال-کارنیتین بررسی شد. بنا به نتایج به دست آمده توسط این گروه، ال-کارنیتین با غلظت ۵ میلی-مولار می‌توانست مانع کاهش pH، موجب کاهش مصرف گلوکز و مانع افزایش لاکتات در فرآورده پلاکتی شود و بر طبق آن، تاثیر مثبت ال-کارنیتین در صورت افزایش زمان ذخیره سازی تا ۱۰ روز آشکارتر می‌شد. بنابراین در صورت داشتن توانایی غیرفعالسازی پاتوژن‌ها به منظور ذخیره سازی پلاکت‌ها برای مدت طولانی‌تر، کنترل متابولیسم پلاکت‌ها به کمک ال-کارنیتین می‌تواند گزینه مناسبی برای حفظ کیفیت فرآورده پلاکتی باشد که از طرف این گروه بیان شد (۲۷).

در سال ۲۰۰۹ جوس‌زاک و همکارانش اثر آنتی اکسیدانی ال-کارنیتین را بر استرس اکسیداتیو در پلاکت‌ها بررسی کردند. در این مطالعه تمرکز بر استرس ایجاد شده در بدن به خاطر فعالیت‌های سنگین ورزشی بود. در این مطالعه اثر استرس اکسیداتیو بر فعال شدن پلاکت‌ها با بررسی تأثیر ال-کارنیتین به عنوان یکی از مکمل‌های محبوب بین ورزشکاران بر عملکرد پلاکت‌ها انجام شد و ال-کارنیتین در غلظت ۱۰۰ میلی-مولار توانست میزان تجمع پلاکت‌ها را تا ۱۰٪ کاهش دهد (۲۱).

در سال ۲۰۱۵ مطالعه‌ای که توسط دیهیم و همکارانش در سازمان انتقال خون ایران انجام گرفت با

هدف بررسی تأثیر ال-کارنیتین بر بهبود متابولیسم و کیفیت پلاکت‌های کنسانتره در طول مدت نگهداری بود و بر طبق نتایج حاصل از این تحقیق، به نظر می‌رسید که به علت افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب در پلاکت‌های تیمار شده با ال-کارنیتین، میزان مصرف اکسیژن افزایش می‌یافت و این امر می‌توانست یکی از فواید استفاده از ال-کارنیتین برای بهبود فرآیندهای متابولیک در کنسانتره‌های پلاکتی باشد. بر اساس نتایج به دست آمده میزان آگریگاسیون پلاکت‌ها در گروه تیمار با ال-کارنیتین در پاسخ به آگونیست‌ها بالاتر بود و ال-کارنیتین می‌توانست سبب بهبود در عملکرد پلاکت‌ها شود و در مجموع ال-کارنیتین می‌توانست در حفظ کیفیت فرآورده پلاکتی و کاهش آسیب ذخیره‌ای پلاکت مؤثر باشد (۱۱).

با بررسی دوباره مکانیسم‌های آنتی اکسیدانی ال-کارنیتین، می‌توان این طور نتیجه گرفت که در پلاکت‌ها به دلیل فقدان هسته، مکانیسم آنتی اکسیدانی ال-کارنیتین محدود به (۱) جمع‌آوری مستقیم رادیکال‌های آزاد، (۲) شلاته کردن یون‌های فلزی، (۳) حفظ یکپارچگی میتوکندری و بنابراین مانع از تولید رادیکال‌های آزاد در زنجیره انتقال الکترون و در نهایت (۴) مهار آنزیم‌های تولید کننده ROS می‌باشد، در حالی که در سلول‌های هسته دار این مولکول به واسطه فعال کردن فاکتورهای رونویسی نظیر Nrf2 و PPAR α می‌تواند موجب افزایش تولید آنزیم‌ها و مولکول‌های آنتی اکسیدانی سلول شود (۱۲). پس می‌توان چنین نتیجه گرفت که ال-کارنیتین به واسطه کاهش مقدار ROS به واسطه راه‌هایی که قبلاً توضیح داده شد، موجب حفظ ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاکت‌های کنسانتره تا روز پنجم در این مطالعه شود و قادر به مقابله با رادیکال‌های آزاد بوده و می‌تواند سبب حفظ ظرفیت آنتی اکسیدانی در پلاکت‌ها شود.

یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر وجود مقدار کمی گلبول سفید در فرآورده پلاکتی بود ($10^3 / \mu L \times 1/0$ WBC=). اگر چه این مقدار از گلبول سفید در مقابل تعداد پلاکت‌ها که میانگین آن به بیش از $10^6 / \mu L \times 1/3$ PLT= می‌رسید مقدار ناچیزی است که احتمال تداخل بسیار کم می‌باشد ولی در مطالعه‌های بعدی پیشنهاد می‌گردد جهت

بی خطر بودن و اثرات آنتی اکسیدانی که این ماده دارا می باشد، شاید در آینده بتوان از آن به عنوان ماده افزودنی در پلاکت ها استفاده کرد.

در این مطالعه فقط به دو شاخص پراکسیداسیون لیپیدها و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام کنسانتره های پلاکتی پرداخته شد. اثر آنتی اکسیدانی این مولکول و مکانیزم های مرتبط با آن در کنسانتره های پلاکتی در طول مدت نگهداری در شرایط بانک خون نیاز به مطالعه های بیشتری دارد.

تشکر و قدردانی

این پروژه بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد می باشد که در تاریخ ۹۴/۱۲/۲۴ با کد اخلاق IR.TMI.REC.1394.44 در شورای پژوهشی به تصویب رسیده و با حمایت مالی مؤسسه آموزش عالی طب انتقال خون انجام شده است. از معاونت آموزشی و پژوهشی مؤسسه آموزش عالی طب انتقال خون و ریاست محترم پایگاه انتقال خون تهران که همکاری لازم را جهت اجرای این پروژه داشته اند و هم چنین از همکاران شاغل در آزمایشگاه های مرکز نوآوری، بیوشیمی، هماتولوژی و انعقاد سازمان انتقال خون نهایت تشکر و قدردانی به عمل می آید.

حذف هرگونه تداخل احتمالی، جداسازی گلبول های سفید از فرآورده پلاکتی انجام گردد.

با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه، به نظر می رسد ال-کارنیتین می تواند سبب کاهش آسیب اکسیداتیو به واسطه کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و حفظ ظرفیت آنتی اکسیدانی در پلاکت ها شود و به همین دلیل شاید در آینده بتواند به عنوان ماده افزودنی در پلاکت های ذخیره شده جهت حفظ بقا و کیفیت آن ها مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه گیری

با در نظر گرفتن نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر و مقایسه آن با سایر مطالعه های انجام گرفته در این خصوص، به نظر می رسد که ال-کارنیتین قادر به حفظ ظرفیت آنتی اکسیدانی و هم چنین توانایی مهار نسبی پراکسیداسیون لیپیدها در پلاکت ها در طول مدت نگهداری بوده و بدین ترتیب می تواند سبب کاهش آسیب های اکسیداتیو در پلاکت ها در طول مدت ذخیره سازی گردد و شاید بتواند با کاهش آسیب های اکسیداتیو که یکی از فاکتورهای مهم در بروز آسیب های ذخیره پلاکت (PSL) می باشد، تا حدی سبب حفظ کیفیت و بقا پلاکت ها در طول دوران ذخیره سازی باشد. با توجه به طبیعی بودن،

References:

- 1- Ghoshal K, Bhattacharyya M. Overview of Platelet Physiology: Its Hemostatic and Nonhemostatic Role in Disease Pathogenesis. Scientific World Journal 2014; 2014: 781857.
- 2- Mittal K, Kaur R. Platelet storage lesion: An update. Asian J Transfus Sci 2015; 9(1): 1-3.
- 3- Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. Clin Chim Acta 2001; 306(1-2): 1-17.
- 4- Marcus AJ, Silk ST, Safier LB, Ulman HL. Superoxide Production and Reducing Activity in Human Platelets. J Clin Invest 1977; 59(1): 149-58.
- 5- Handin RI, Karabin R, Boxer GJ. Enhancement of platelet function by superoxide anion. J Clin Invest 1977; 59(5): 959-65.
- 6- De la Cruz JP, García PJ, Sánchez de la Cuesta F. Dipyrindamole inhibits platelet aggregation induced by oxygen-derived free radicals. Thromb Res 1992; 66(4): 277-85.
- 7- Violi F, Pignatelli P. Platelet Oxidative Stress and Thrombosis. Thromb Res 2011; 129(3): 378-81.
- 8- Manasa K, Vani R. Influence of Oxidative Stress on Stored Platelets. Adv Hematol 2016; 2016: 4091461.
- 9- Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2005; 15(4): 316-28.
- 10- Gulewitsch W, Krimberg R. Zur Kenntnis der Extraktivstoffe der Muskeln. Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie 1905; 45: 326-30.
- 11- Deyhim MR, Mesbah-Namin SA, Yari F, Taghikhani M, Amirzadeh N. L-carnitine effectively improves the metabolism and quality of platelet concentrates during storage. Ann Hematol 2015; 94(4): 671-80.
- 12- Surai PF. Antioxidant Action of Carnitine: Molecular Mechanisms and Practical Applications. Veterinary Science 2015; 66-84.

- 13- Gülçin I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sci* 2006; 78(8): 803-11.
- 14- Li J, Yu XY. Effects of exogenous carnitine on function of respiratory chain and antioxidant capacity in mitochondria of myocardium after exhaustive running in rats. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi* 2012; 28(5): 405-9. [Article in Chinese]
- 15- Kumaran S. Age-associated deficit of mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle: role of carnitine and lipoic acid. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2005;83-89.
- 16- Kumaran S, Subathra M, Balu M, Panneerselvam C. Age-associated decreased activities of mitochondrial electron transport chain complexes in heart and skeletal muscle: role of L-carnitine. *Chem Biol Interact* 2004; 148(1-2): 11-8.
- 17- Li J, Xia Y, Bertino AM, Coburn JP, Kuter DJ. The mechanism of apoptosis in human platelets during storage. *Transfusion* 2000; 40(11): 1320-9
- 18- Sobotková A, Mášová-Chrastinová L, Suttara J, Štikarová J, Májeka P, Reicheltová Z, *et al.* Antioxidants change platelet responses to various stimulating events. *Free Radic Biol Med* 2009; 47(12): 1707-14.
- 19- Devine DV, Serrano K. The Platelet Storage Lesion. *Clin Lab Med* 2010; 30(2): 475-87.
- 20- Pignatelli P, Lenti L, Sanguigni V, Frati G, Simeoni I, Gazzaniga PP, *et al.* Carnitine inhibits arachidonic acid turnover, platelet function, and oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284(1): H41-8.
- 21- Saluk-Juszczak J, Olas B, Wachowicz B, Glowacki R, Bald E. L-carnitine modulates blood platelet oxidative stress. *Cell Biol Toxicol* 2010; 26(4): 355-65.
- 22- Arduini A, Holme S, Sweeney JD, Dottori S, Sciarroni AF, Calvani M. Addition of L-carnitine to additive solution-suspended red cells stored at 4 degrees C reduces *in vitro* hemolysis and improves *in vivo* viability. *Transfusion* 1997; 37(2): 166-74.
- 23- Dayanand CD, Krishnamurthy N, Ashakiran S, Shashidhar KN. Carnitine: A novel health factor-An overview. *Int J Pharm Biomed Res* 2011; 78-84.
- 24- Gülçin I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sci* 2006; 78(8): 803-11.
- 25- Kumaran S, Panneerselvam KS, Shila S, Sivarajan K, Panneerselvam C. Age-associated deficit of mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle: role of carnitine and lipoic acid. *Mol Cell Biochem* 2005; 280(1-2): 83-9.
- 26- Kumaran S, Subathra M, Balu M, Panneerselvam C. Age-associated decreased activities of mitochondrial electron transport chain complexes in heart and skeletal muscle: role of L-carnitine. *Chem Biol Interact* 2004; 148(1-2): 11-8.
- 27- Sweeney JD, Blair AJ, Cheves TA, Dottori S, Arduini A. L-carnitine decreases glycolysis in liquid-stored platelets. *Transfusion* 2000; 40(11): 1313-9.

Original Article

The antioxidant impact of the L-carnitine (LC) in platelet concentrates during storage

Helmi Siasi N.¹, Deyhim M.R.¹, Amiri F.¹, Amini Kafi-Abad S.¹

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

Abstract

Background and Objectives

Oxidative stress has a crucial role in formation of platelet storage lesion (PSL) which can lead to decreased platelet viability and quality for transfusion. In this study, we aimed to evaluate the L-carnitine (LC) antioxidant properties on platelet oxidative damage during storage.

Materials and Methods

In this experimental study, we selected ten platelet concentrated (PC) bags from healthy donors prepared from Iranian Blood Transfusion Organization (IBTO) and stored at 22° C with gentle agitation up to 5 days in the presence or absence of a 100 mM L-carnitine. For evaluation of oxidative damage, we measured total antioxidant capacity (TAC) and malondealdehyde concentration (MDA) in L-carnitine treated platelets and untreated platelets (control group); then, the results were compared between the two groups.

Results

According to the results, TAC in LC treated platelets was significantly higher than platelets without LC on day 3 and day 5 of storage ($p_{\text{day3}} = 0.007$, $p_{\text{day5}} = 0.005$). On the other hand, MDA concentration in LC treated platelets was less statistically significant compared with the control group on day 3 and 5 of storage ($p_{\text{day3}} = 0.008$, $p_{\text{day5}} = 0.005$).

Conclusions

According to our results, LC is able to decrease lipid peroxidation in platelets. What is more, the antioxidant effect of LC could modulate oxidative damage in platelets during storage. It seems that LC can be considered as a good additive solution in platelets to maintain platelet quality.

Key words: Platelets, Oxidative Stress, L-Carnitine

Received: 24 Apr 2017

Accepted: 4 Jul 2017

Correspondence: Deyhim MR., PhD of Clinical Biochemistry. Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88601555; Fax: (+9821) 88601555
E-mail: mrdeyhim2017@gmail.com