

Original Article

Investigating the effect of antioxidant compounds of L-carnitine, Resveratrol, and Vitamin C during the storage time of platelet concentrate

Shafiei dar Afshani M.^{1,2,3}, Shahanipour K.³, Shamsfar R.^{1,2}, Jamshidian H.^{1,2}

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

²Isfahan Blood Transfusion Center, Isfahan, Iran

³Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Abstract

Background and Objectives

The storage time of platelet concentrate is limited to 3-5 days due to various factors, including bacterial contamination and platelet storage lesions. Antioxidant agents have been found to significantly improve the survival and function of platelets. The purpose of this study was to investigate the effect of the antioxidant compounds L-carnitine, Resveratrol, and Vitamin C on platelet oxidative stress during storage.

Materials and Methods

This experimental study utilized six platelet concentrate bags to evaluate the antioxidant effect of L-carnitine, Resveratrol, and Vitamin C at concentrations of 50 and 100 mM. The effects of these antioxidants on malondialdehyde (MDA) levels, lactate dehydrogenase (LDH) enzyme activity, H₂O₂, and pH levels were measured on days 0, 3, and 5 of platelet storage. The data was analyzed using GraphPad Prism version 8 software and one-way ANOVA tests.

Results

The concentration of 100 mM antioxidant compounds had a stronger protective effect compared to 50 mM. These effects were significant on the fifth day of platelet storage. The impact of these antioxidants resulted in improving platelet quality, including a decrease in MDA levels, and LDH activity.

Conclusions

The results showed that the antioxidant compounds can affect oxidative conditions created during five days of storage and reduce platelet destruction during this time through a specific biochemical mechanism.

Key words: Blood Platelets, Antioxidants, Malondialdehyde, L-Lactate Dehydrogenase, Hydrogen Peroxide

Received: 11 Nov 2023

Accepted: 20 Feb 2024

Correspondence: Shafiei dar Afshani M., MSc of Biology. Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine and Isfahan Blood Transfusion Center and Falavarjan Branch, Islamic Azad University.

Postal Code: 8158184435, Isfahan, Iran. Tel: (+9831) 37812413; Fax: (+9831) 37812413

E-mail: marziyehshafie656192@gmail.com

تأثیر ترکیبات آنتی اکسیدانی ال-کارنیتین، فنل گیاهی رسوراترول و ویتامین C بر آسیب اکسیداتیو در طول مدت زمان ذخیره سازی پلاکت کنسانتره

مرضیه شفیعی دارافشانی^۱، کهین شاهانی پور^۲، ریحانه شمس فر^۳، حسن جمشیدیان^۴

چکیده

سابقه و هدف

عوامل متعددی از جمله آلودگی باکتریایی و ضایعه ذخیره پلاکت، مدت زمان ذخیره و ماندگاری پلاکت‌های جمع‌آوری شده را به ۳ تا ۵ روز محدود می‌کند. مواد آنتی اکسیدان اثر چشمگیری در بهبود شرایط ذخیره‌سازی و عملکرد پلاکت‌ها دارند. هدف این مطالعه، بررسی تأثیر ترکیبات آنتی اکسیدانی ال-کارنیتین، رسوراترول و ویتامین C بر مدت زمان نگهداری پلاکت‌ها بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، ۶ کیسه کنسانتره پلاکت تهیه شده در سازمان انتقال خون استان اصفهان انتخاب گردید. هر کیسه به دو گروه کنترل و گروه آزمایش تقسیم شد و اثر آنتی اکسیدانی ترکیبات فوق‌الذکر در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار بر میزان مالون دی‌آلدئید (MDA)، فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH)، میزان هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و تغییرات pH در روزهای ۰، ۳ و ۵ بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۸ و آزمون‌های واریانس یک‌طرفه استفاده شد.

یافته‌ها

غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نسبت به غلظت ۵۰ میلی‌مولار ترکیبات آنتی اکسیدانی، اثر محافظتی بیشتری داشت. همچنین این اثرات در روز پنجم معنادار بود و کاهش میزان مالون دی‌آلدئید و لاکتات دهیدروژناز تحت تأثیر این غلظت از آنتی اکسیدان‌ها در جهت بهبود کیفیت پلاکت‌ها بود.

نتیجه‌گیری

اثر آنتی اکسیدان‌های فوق‌الذکر نشان داد که این ترکیبات آنتی اکسیدانی، با مکانیسم بیوشیمیایی خاص می‌توانند بر شرایط اکسیداتیو ایجاد شده پس از گذشت حتی ۵ روز اثر گذارند و تخریب پلاکت‌ها را در این بازه زمانی کاهش دهند.

کلمات کلیدی: پلاکت‌های خون، آنتی اکسیدان‌ها، مالون دی‌آلدئید، لاکتات دهیدروژناز، هیدروژن پراکسید

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۱

۱- مؤلف مسئول: کارشناس ارشد زیست شناسی - بیوشیمی - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و اداره کل انتقال خون - اصفهان - دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان - اصفهان - ایران - صندوق پستی: ۸۱۵۸۱۸۴۴۳۵

۲- دکترای بیوشیمی - استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان - فلاورجان - ایران

۳- کارشناس علوم آزمایشگاهی - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و اداره کل انتقال خون اصفهان - اصفهان - ایران

۴- کارشناس ارشد ژنتیک - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و اداره کل انتقال خون اصفهان - اصفهان - ایران

مقدمه

پلاکت‌ها یا ترومبوسیت‌ها یکی از سه نوع سلول خونی هستند که نقش مهمی در فرآیند ترمیم و نگهداری بافت‌های بدن، ظهور و عود بسیاری از بیماری‌های خونی و عروقی دارند. کنسانتره پلاکتی یکی از فرآورده‌های مهم خون است که در بیماران مبتلا به ترومبوسیتوپنی، لوسمی، شیمی درمانی، درمان بسیاری از بیماری‌های داخل دهانی به کار می‌رود (۱-۶). با این وجود، از آن جایی که دمای نگهداری پلاکت‌ها ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) دمای مطلوبی برای رشد باکتری‌ها است، مدت زمان نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی محدود به ۳ تا ۵ روز می‌باشد (۷). از طرفی پلاکت‌ها مجموعه‌ای از تغییرات ساختاری و عملکردی به نام ضایعه ذخیره پلاکت (Platelet storage lesion) را در طول ذخیره‌سازی متحمل می‌شوند که می‌تواند منجر به کاهش عملکرد و بقای آن‌ها شود (۸، ۹). ضایعه ذخیره‌سازی می‌تواند ناشی از فعال شدن مسیرهای آپوپتوز پلاکتی، تغییر در pH، فعال‌سازی آنزیم محیط پلاسما و هم‌چنین افزایش آسیب و استرس اکسیداتیو در طی مراحل آماده‌سازی و ذخیره‌سازی باشد (۱۰، ۱۱، ۱۲).

استرس اکسیداتیو عدم تعادل بین اکسیدان‌های مضر و آنتی‌اکسیدان‌های محافظ و تغییر وضعیت اکسیداسیون سلولی است (۱۲). استرس اکسیداتیو منجر به کاهش نیتریک اکسید و در نهایت افزایش فعال شدن مسیرهای آپوپتوز پلاکت‌ها و تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌گردد (۹). گونه‌های اکسیژن فعال شامل آنیون سوپراکسید (O_2^-)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) است که همه آن‌ها دارای خواص شیمیایی اکسیداتیو ذاتی هستند (۱۳). تحقیقات نشان داده است که رادیکال‌های آزاد موجب افزایش فعال‌سازی پلاکت‌ها، افزایش آسیب ذخیره پلاکتی و در نهایت منجر به کاهش عملکرد و زمان نگهداری پلاکت‌ها می‌گردد (۱۴، ۱۵، ۱۶).

مالون دی‌آلدئید (MDA) ترکیبی است که از پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه به دست می‌آید. استرس اکسیداتیو می‌تواند سبب پراکسیداسیون آراشیدونیک اسید که یک منبع اتم هیدروژن برای

رادیکال‌های آزاد به شمار می‌آید گردد و در نهایت، مواد آلدئیدیک فعال و ناپایدار مانند مالون دی‌آلدئید را که به عنوان یک شاخص قوی برای ارزیابی سطح استرس اکسیداتیو به کار می‌رود، افزایش دهد (۱۷، ۱۸).

لاکتات دهیدروژناز یکی از فاکتورهایی است که می‌تواند به عنوان شاخص مهمی برای حفظ و سلامتی غشای سلول و نشان دادن لیز سلولی مطرح باشد که در هنگام آسیب به غشاء، این آنزیم سیتوزولی به فضای خارج سلولی منتقل می‌شود و می‌توانیم افزایش آن را در محیط پلاسمایی شاهد باشیم (۱۸، ۱۹).

هیدروژن پراکسید یکی از پایدارترین گونه‌های اکسیژن فعال است که به راحتی به غشای سلولی نفوذ می‌کند، به اشکال فعال‌تر تبدیل می‌شود و می‌تواند به طور مستقل باعث تجمع پلاکتی یا تشدید آن شود (۱۹).

در کنسانتره‌های پلاکتی، مقادیر pH کمتر از ۶/۴ و بیشتر از ۷/۶ با کاهش حیات سلولی همراه است. نتایج حاصل از مطالعه‌ها نشان داده است که در pH کمتر از ۶/۴، مورفولوژی پلاکت تغییر کرده و می‌تواند سبب کاهش بقای پلاکت گردد (۲۰).

یک آنتی‌اکسیدان، مولکولی است که توانایی جلوگیری یا کند کردن اکسیداسیون ماکرومولکول‌ها را دارد. نقش آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش یا پایان دادن به این واکنش‌های زنجیره‌ای با حذف رادیکال‌های آزاد یا مهار سایر واکنش‌های اکسیداسیون از طریق اکسید شدن خودشان است (۲۱، ۲۲).

مطالعه‌های مختلف نشان داده است که مواد آنتی‌اکسیدانی اثر چشمگیری در بهبود شرایط ذخیره‌سازی و عملکرد پلاکت‌ها دارند.

ال-کارنیتین (۲-تری متیل آمینو-β-هیدروکسی بوتیریک اسید) یک ترکیب محلول در آب است که توسط دو اسید آمینه لیزین و متیونین سنتز می‌شود (۲۳). ال-کارنیتین ترکیبی است که باعث اکسیداسیون اسیدهای چرب و دفع گلوکز غیر اکسیداتیو می‌گردد (۲۴). این آنتی‌اکسیدان از طریق مهار رادیکال‌های آزاد و شلاته کردن یون‌های فلزی عمل می‌کند (۲۵).

رسوراترول یک ترکیب پلی‌فنولی طبیعی است که در

کاهش اکسیداسیون لیپید با دانسیته کم (LDL) و اکسیداسیون و مهار تجمع پلاکت نقش مهمی دارد (۲۶). مطالعه‌ها نشان داده است که این آنتی اکسیدان از طریق مهار فرآیندهای اتوکسیداسیون که منجر به تولید مولکول اکسیژن (O_2)، هیدروژن پراکسید و سمیت سلولی می‌شوند، عمل می‌کند (۲۷).

ویتامین C یک آنتی اکسیدان قوی است که از آسیب رادیکال آزاد به سلول‌ها و بافت‌های بدن جلوگیری می‌کند. این ویتامین هم‌چنین توسط عوامل اکسیدکننده از اکسید شدن اسیدهای چرب موجود در غشاء سلولی جلوگیری می‌کند.

از آن جایی که ترکیبات آنتی اکسیدانی نظیر ال-کارنیتین، رسوراترول و ویتامین C قادر هستند با مهار رادیکال‌های آزاد فعال، مسیرهای اکسیداسیون را کند کرده و محصولات حاصل از این مکانیسم‌ها را به حداقل رسانند، ممکن است بر آسیب اکسیداتیو در مدت زمان نگهداری پلاکت‌ها نیز مؤثر باشند که همین امر دلیل انتخاب آنتی اکسیدان‌های این مطالعه بود. هدف این مطالعه بررسی تاثیر ترکیبات آنتی اکسیدانی فوق‌الذکر بر آسیب اکسیداتیو در طول مدت زمان ذخیره‌سازی پلاکت کنسانتره بود.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی و نگهداری پلاکت‌های کنسانتره:

در مطالعه حاضر که از نوع تجربی بود ۶ کنسانتره پلاکتی، بر اساس جدول کوکران، تهیه شده در سازمان انتقال خون استان اصفهان، به روش نمونه‌گیری تصادفی بدون در نظر گرفتن گروه خونی، سن، جنس و وزن اهداکننده انتخاب گردید.

تهیه کنسانتره‌های پلاکتی با روش پلاسمای غنی از پلاکت (Platelat Rich Plasma (PRP)

برای تهیه کنسانتره‌های پلاکتی با استفاده از روش پلاسمای غنی از پلاکت، خون در داخل کیسه‌های نگهداری که از جنس پلی‌وینیل کلراید (PVC) و دارای محلول ضد انعقاد سترات بافر- دکستروز- آدنین (CPDA) بود جمع‌آوری شد. کیسه‌های خون همراه با کیسه‌های جانبی در ظرف مخصوص سانتریفیوژ (LINER) قرار داده

شد. لایتر حاوی کیسه‌های خون و کیسه‌های جانبی به صورت دو تا دو تا با استفاده از ترازوی دیجیتال وزنی- حجمی وزن شد و برای ایجاد توازن بین دو لایتر از بالشتک‌های پلاستیکی استفاده شد. لایترهای حاوی خون که با یکدیگر بالانس شده‌اند در باکت‌های سانتریفیوژ به صورت ضربدری قرار داده شد. بعد از قرار دادن لایترها در سانتریفیوژ یخچال‌دار، دور ۴۱۰۰ rpm (دور سبک) و زمان ۸ دقیقه انتخاب شد.

پس از اتمام کار دستگاه سانتریفیوژ، لایترهای حاوی کیسه‌های خون به آرامی از باکت‌ها خارج شد. پس از خارج کردن کیسه‌ها از لایترها، درون اکستراکتور قرار داده شدند و پلاسمای غنی از پلاکت و گلبول قرمز به آرامی از هم جدا شد. به نحوی که پلاسمای باقی‌مانده وارد کیسه جانبی شد. قبل از تقسیم کیسه اصلی به دو کیسه کنترل و مورد، آزمایش‌های مربوط به کشت میکروبی؛ شمارش پلاکت، بررسی pH، بررسی swirling، غلظت مالون دی‌آلدئید، فعالیت لاکتات دهیدروژناز و میزان هیدروژن پروکساید اندازه‌گیری شد. هر کیسه که شامل ۶۰ میلی‌لیتر پلاکت کنسانتره بود، برای تقسیم به گروه‌های کنترل و شاهد، با استفاده از دستگاه متصل کننده (Connection II-TSCD، device، ژاپن) و هم‌چنین ترازوی دیجیتال (Sartorius، آلمان) با حجم‌های مساوی از پلاکت تقسیم گردید.

تهیه غلظت‌های آنتی اکسیدانی:

پس از تهیه محلول استوک هر کدام از محلول‌های آنتی اکسیدانی رسوراترول، ال-کارنیتین، و ویتامین C (۱۰۰۰ میلی‌مولار) و فیلتر کردن آن توسط فیلتر ۰/۲۲، آنتی اکسیدان‌ها با غلظت نهایی ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌مولار تهیه شدند.

پس از تزریق آنتی اکسیدان‌ها به کیسه‌ها با استفاده از سرنگ فیلتردار، هم حجم آن، سرم فیزیولوژی به کیسه‌های کنترل اضافه گردید و کیسه‌های کنترل و آزمایش در داخل انکوباتور شیکر پلاکتی قرار داده شد. غلظت‌های مورد استفاده در این تحقیق با استناد به مطالعه‌های مشابه قبلی و با هدف بررسی تأثیر یک غلظت خاص، بررسی تأثیر بالاتر

خاصیت آنتی اکسیدان و هم چنین تعیین صرفه اقتصادی تعیین شد. جهت جلوگیری از آلودگی باکتریال، کلیه مراحل تزریق در زیر هود لومینار انجام گرفت.

کشت میکروبی پلاکت و شمارش تعداد پلاکت‌ها:

به منظور شمارش تعداد پلاکت‌ها، نمونه پلاکت کنسانتره به نسبت یک به پنج با بافر ایزوتون رقیق شد و با استفاده از دستگاه شمارشگر سلولی (KX-21N، سیس مکس، ژاپن)، تعداد پلاکت‌ها در روز اول در کیسه‌های تیمار و کنترل اندازه‌گیری گردید. ضمناً در این مطالعه برای اطمینان از عدم آلودگی باکتریایی، نمونه پلاکت گرفته شده از کیسه، در روزهای صفر (تهیه پلاکت) و روز پنجم نگهداری، بر روی محیط‌های کشت باکتریایی تایو گلیکولات (مرک، آلمان) و بلاد آگار (مرک، آلمان) کشت داده شد. تعداد پلاکت شمارش شده با دستگاه شمارشگر سلولی اندازه‌گیری و محاسبه شد. میانگین پلاکت کیسه‌های اندازه‌گیری شده مطابق با فرمول ذیل، به شرح زیر می‌باشد:

$$\text{تعداد پلاکت شمارش شده با دستگاه شمارشگر سلولی} \times \text{عکس ضریب رقت} \times \text{حجم کیسه بر حسب میلی لیتر} = \text{Plt/mL}$$

بر اساس فرمول بالا میزان پلاکت‌ها 28×10^6 به دست آمد.

بررسی swirling در پلاکت:

برای بررسی swirling در پلاکت در روز تهیه پلاکت‌ها جهت اطمینان از عملکرد و کیفیت پلاکت‌ها قبل از تیمار با آنتی اکسیدان‌ها، کیسه پلاکتی در راستای نور در مقابل حوزه دید قرار گرفت، سپس به کیسه‌ها چند ضربه به صورت مکانیکی وارد شد تا جابه‌جایی پلاکت‌ها اتفاق افتد. نمای حرکت و چرخش ویژه در کیسه رؤیت شد.

بررسی میزان مالون دی‌آلدئید:

برای آماده‌سازی نمونه، ۴ میلی لیتر PRP برداشته داخل لوله فالتون ریخته شد و با دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد، سپس محلول رویی را برداشته و به

رسوب پلاکتی ۱ میلی لیتر بافر PBS اضافه شد. محلول پلاکتی را به مدت ۲۵ دقیقه در فریزر قرار داده و بعد از تکمیل روند انجماد از فریزر خارج و در دمای محیط قرار داده تا ذوب شود. این فرآیند ۴ بار تکرار شد. استانداردهای ۰ تا ۶ و محلول استاندارد WORK مطابق با بروشور کیت تهیه شد. میزان مالون دی‌آلدئید با استفاده از روش رنگ‌سنجی با کیت زلیبو (Zellbio GmbH، Deutschland، آلمان) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده کیت اندازه‌گیری شد. در این روش تمام معرف‌ها ابتدا به دمای اتاق رسید. ۵۰ میکرولیتر استاندارد/نمونه به لوله آزمایش اضافه شد. ۵۰ میکرولیتر معرف R4 اضافه شد. ۱ میلی لیتر محلول کروموژن آماده اضافه شد. مخلوط به مدت ۱ ساعت در حمام آب جوش قرار داده شد (شکل‌گیری رنگ صورتی). لوله‌های آزمایش فوق را در حمام یخ خنک کرده و سپس ۱۰ دقیقه در دور ۳۸۰۰ (rpm) سانتریفیوژ شد. به ترتیب ۲۰۰ میکرولیتر از استانداردها و سپس نمونه درون میکروپلیت با استفاده از سمپلر پیست شد. جذب نمونه‌ها در ۵۴۵ نانومتر در دستگاه الیزا ریدر خوانده شد.

بررسی فعالیت لاکتات دهیدروژناز:

فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در هر نمونه با استفاده از اتوانالایزر بیوشیمی (Alpha Classic، AT Plus، ژاپن) اندازه‌گیری شد. روش اندازه‌گیری فعالیت لاکتات دهیدروژناز به این صورت است که پیرووات تحت عمل لاکتات دهیدروژناز به لاکتات تبدیل می‌گردد. در این واکنش آنزیمی، میزان تبدیل NADH به NAD متناسب با میزان فعالیت لاکتات دهیدروژناز است.

ابتدا دمای معرف‌های مورد استفاده در آزمایش را به دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رسانده و دستگاه با بلانک آب مقطر صفر شد. در این روش معرف شماره ۱ شامل بافر تریس به میزان ۱۰۰ (میلی‌مول/لیتر)، سدیم کلراید به میزان ۲۵۵ (میلی‌مول/لیتر) و پیرووات به میزان ۲ (میلی‌مول/لیتر) را با معرف شماره ۲ که شامل NADH با میزان ۱/۳ (میلی‌مول/لیتر) بود به نسبت ۴ بر ۱ با هم مخلوط کرده و ۶ میکرولیتر از نمونه با ۳۰۰ میکرولیتر از معرف کاری (مجموع معرف ۱ و ۲) مخلوط شد. محلول‌ها

یافته‌ها

نتایج آزمون آماری شاپیرو ویلک نشان داد که کلیه داده‌ها دارای توزیع طبیعی هستند. هم‌چنین نتایج حاصل از آزمون‌های واریانس یک‌طرفه به صورت نمودار و جدول ارائه شد.

بررسی میزان هیدروژن پراکسید:

بررسی میزان هیدروژن پراکسید از روش رنگ‌سنجی با کیت زلبیو (Zellbio GmbH، آلمان) انجام شد، بعد از سانتیفریوژ ۱ میلی‌لیتر پلاکت به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ و محلول رویی (Supernatant) با دقت برداشته شد. محلول‌های استاندارد ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میکرومولار H_2O_2 مطابق با بروشور کیت تهیه شد سپس جهت انجام آزمایش ترتیب ۱۰۰ میکرولیتر محلول استاندارد و ۱۰۰ میکرولیتر نمونه به چاهک‌های میکروپلیت اضافه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول هیدروژن پراکسید به هر چاهک اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. جذب چاهک‌ها در طول موج ۵۴۵ نانومتر توسط دستگاه الیزا خوانده شد. کلیه مراحل آزمایش در روزهای سوم و پنجم تکرار شد.

بررسی pH:

به منظور بررسی pH ابتدا pH متر (Crison, BASIC20، اسپانیا)، با استفاده از محلول استاندارد کنترل pH، ۴ و ۷، (شرکت شیمی صنعت واهب) کالیبره شد. پس از شستن الکترودها در آب دیونیزه، الکترودها در ظرف حاوی ۳ میلی‌لیتر نمونه منتقل شدند. ۱۵ ثانیه زمان داده شد و pH محلول یادداشت شد.

آنالیز آماری:

تمام آزمایش‌ها ۲ بار تکرار شد و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۸ استفاده شد. طبیعی بودن توزیع متغیرها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک بررسی شد. برای توصیف داده‌ها از آزمون‌های واریانس یک‌طرفه (one-way Anova) استفاده شد. در این مطالعه، اختلاف‌ها با مقادیر $p < 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد.

تأثیر آنتی اکسیدان‌های مختلف بر میزان مالون دی‌آلدئید:

میزان مالون دی‌آلدئید در حضور ال-کارنیتین نسبت به گروه کنترل در روزهای سوم و پنجم کاهش پیدا کرد (نمودار ۱). با این وجود، تنها غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار ال-کارنیتین به صورت معناداری باعث کاهش میزان مالون دی‌آلدئید در روز پنجم شد ($p < 0.05$). طبق نتایج، اگر چه میزان مالون دی‌آلدئید در حضور رسوراترول در روزهای سوم و پنجم نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرد، این کاهش از لحاظ آماری معنادار نبود. هم‌چنین طبق نمودار، ویتامین C باعث کاهش میزان مالون دی‌آلدئید در روزهای سوم و پنجم نسبت به گروه کنترل شد ولی این کاهش در روز سوم از لحاظ آماری معنادار نبود. در روز پنجم ویتامین C در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار به طور معناداری باعث کاهش میزان مالون دی‌آلدئید شد ($p < 0.05$).

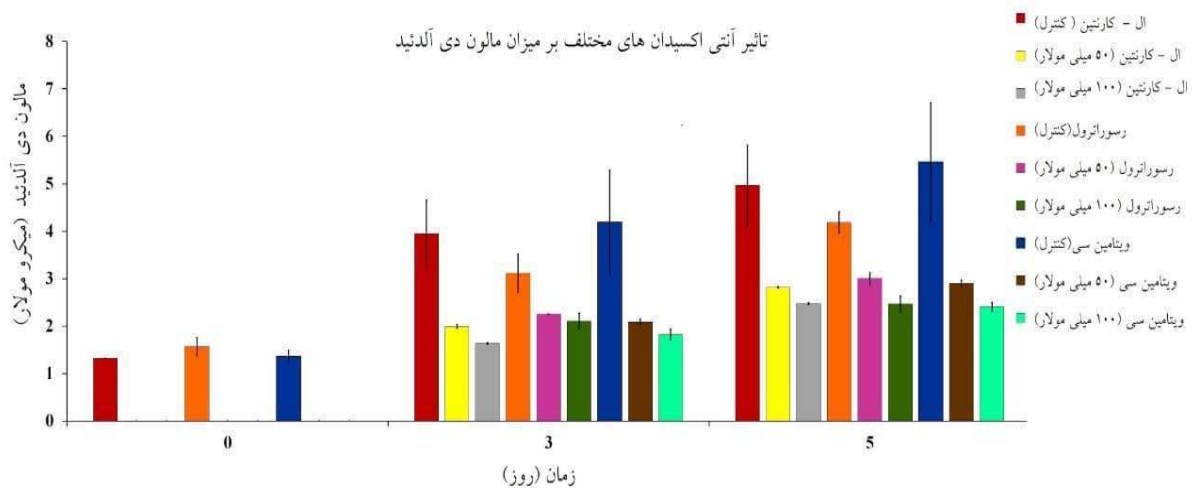
تأثیر آنتی اکسیدان‌های مختلف بر فعالیت لاکتات دهیدروژناز:

با وجود کاهش فعالیت لاکتات دهیدروژناز در گروه تیمار با ال-کارنیتین نسبت به گروه کنترل در روزهای سوم و پنجم، این کاهش از لحاظ آماری معنادار نبود. طبق نمودار ۲، فعالیت لاکتات دهیدروژناز در حضور رسوراترول و ویتامین C در روزهای سوم و پنجم کاهش پیدا کرد. با این حال تنها غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار رسوراترول و ویتامین C در روز پنجم کاهش معناداری در فعالیت لاکتات دهیدروژناز ایجاد کردند (نمودار ۲).

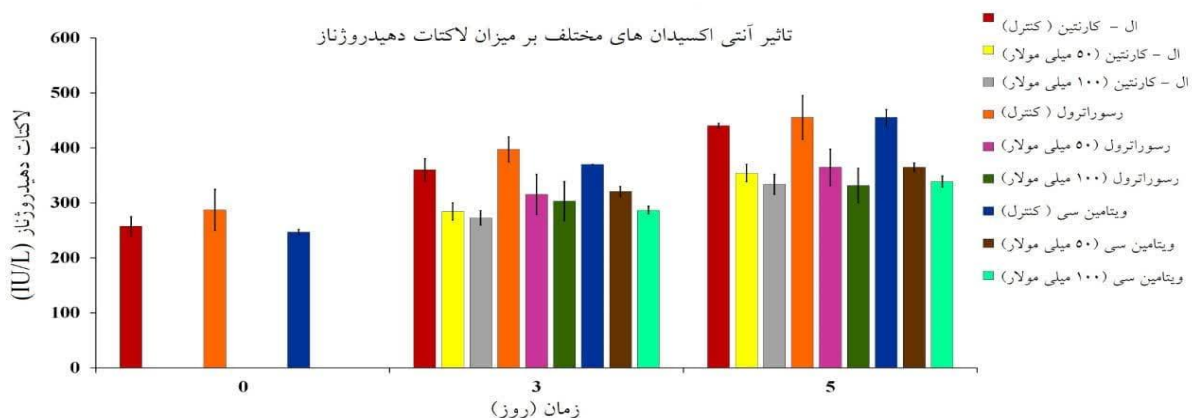
تأثیر آنتی اکسیدان‌های مختلف بر میزان هیدروژن پراکسید:

میانگین نتایج به دست آمده حاصل از تأثیر آنتی اکسیدان‌های مختلف بر میزان هیدروژن پراکسید در

جدول آمده است (جدول ۱). اگر چه در گروه‌های تیمار با آنتی‌اکسیدان‌های ال-کارنیتین، رسوراترول و ویتامین C نسبت به گروه کنترل، میزان هیدروژن پراکسید در روزهای سوم و پنجم کاهش پیدا کرد، این کاهش از لحاظ آماری معنادار نبود.



نمودار ۱. تأثیر آنتی‌اکسیدان‌های مختلف بر میزان مالون دی‌آلدئید. سطح مالون دی‌آلدئید تحت تأثیر غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار آنتی‌اکسیدان‌های ال-کارنیتین و هم‌چنین غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار ویتامین C نسبت به گروه کنترل در روز پنجم به صورت معناداری کاهش یافت.



نمودار ۲: تأثیر آنتی‌اکسیدان‌های مختلف بر میزان لاکتات دهیدروژناز. سطح لاکتات دهیدروژناز تحت تأثیر غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار آنتی‌اکسیدان‌های رسوراترول و ویتامین C نسبت به گروه کنترل در روز پنجم به صورت معناداری کاهش یافت.

جدول ۱: تأثیر آنتی اکسیدان‌های مختلف بر میزان هیدروژن پراکسید. کاهش سطح هیدروژن پراکسید تحت تأثیر آنتی اکسیدان‌های مختلف نسبت به گروه کنترل در روزهای سوم و پنجم معنادار نبود

هیدروژن پراکسید (میکرومولار)				
گروه‌ها		روز صفر	روز سوم	روز پنجم
ال- کارنیتین (میلی مولار)	۰	$125/26 \pm 14/623$	$131/495 \pm 15/776$	$150/090 \pm 14/411$
	۵۰		$128/170 \pm 13/534$	$138/295 \pm 15/054$
	۱۰۰		$126/225 \pm 14/008$	$129/585 \pm 14/376$
رسوراترول (میلی مولار)	۰	$115/465 \pm 35/688$	$120/475 \pm 38/106$	$129/200 \pm 33/900$
	۵۰		$117/24 \pm 35/214$	$122/255 \pm 34/415$
	۱۰۰		$116/870 \pm 35/525$	$120/505 \pm 35/872$
ویتامین C (میلی مولار)	۰	$119/885 \pm 30/243$	$123/635 \pm 30/328$	$129/845 \pm 29/536$
	۵۰		$123/095 \pm 30/257$	$126/365 \pm 30/229$
	۱۰۰		$120/800 \pm 30/321$	$124/375 \pm 30/186$

تأثیر آنتی اکسیدان‌های مختلف بر میزان pH:

در مجاورت آنتی اکسیدان‌های مختلف در روز سوم، تغییر معناداری در میزان pH ایجاد نشد. با این وجود در روز پنجم، در حضور غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار ال- کارنیتین نسبت به گروه کنترل، نزول میزان pH به طور معناداری کاهش پیدا کرد ($p < 0/05$ و $p < 0/01$). همچنین در روز پنجم، رسوراترول و ویتامین C در غلظت ۱۰۰ میلی مولار کاهش معناداری در افت میزان pH ایجاد کردند ($p < 0/05$).

بحث

علی‌رغم مزایای زیادی که آنتی اکسیدان‌ها دارند، استفاده از آن‌ها می‌تواند محدودیت‌هایی داشته باشد. برخی از مطالعه‌ها اثرات نامطلوب مکمل ال کارنیتین، مانند افزایش فشار خون، تهوع، استفراغ، اسهال، و تشنج را گزارش کرده‌اند. علاوه بر این، ال کارنیتین ممکن است با برخی از داروها، مانند داروهای ضد انعقاد، هورمون‌های تیروئید و آنتی بیوتیک‌ها تداخل داشته باشد (۲۹). ویتامین C ممکن است دارای معایبی مانند افزایش خطر ابتلا به سنگ کلیه، اسهال، حالت تهوع، گرفتگی عضلات شکمی و اضافه بار آهن و ویتامین C باشد (۳۰). رسوراترول بر تجمع پلاکتی به صورت وابسته به دوز تأثیر می‌گذارد.

علاوه بر این، رسوراترول به عنوان شمشیر دو لبه در کنترل وضعیت اکسیداتیو سلول‌ها عمل می‌کند. غلظت‌های بالای رسوراترول می‌تواند سبب مهار برگشت ناپذیر فعالیت پلاکتی گردد و برای سلول سمیت داشته باشد (۳۱). به همین دلیل هنگام استفاده از آنتی اکسیدان‌ها، در نظر گرفتن شرایط و غلظت بهینه از اهمیت بسیاری برخوردار است.

در این مطالعه در راستای افزایش زمان ذخیره‌سازی پلاکت‌ها بدون کاهش کیفیت آن‌ها، اثر ترکیبات آنتی اکسیدانی نظیر ال-کارنیتین، رسوراترول و ویتامین C، بر آسیب اکسیداتیو در طول مدت زمان ذخیره‌سازی پلاکت کنسانتره بررسی شد. مطابق نتایج این مطالعه، غلظت ۱۰۰ میلی مولار نسبت به غلظت ۵۰ میلی مولار ترکیبات آنتی اکسیدانی، اثر محافظتی بیشتری داشت. همچنین این اثرات در روز پنجم معنادار بود و کاهش میزان دی‌آلدئید و فعالیت لاکتات دهیدروژناز و کاهش میزان افزایش pH، تحت تأثیر این غلظت از آنتی اکسیدان‌ها در جهت بهبود کیفیت پلاکت‌ها بود. اثر آنتی اکسیدان‌های فوق‌الذکر نشان داد که این ترکیبات آنتی اکسیدانی، با مکانیسم بیوشیمیایی خاص می‌توانند بر شرایط اکسیداتیو ایجاد شده پس از گذشت ۵ روز اثر گذارند. در تفسیر این موضوع که چرا اثر آنتی اکسیدان‌ها در روز سوم هیچ کدام

شده است (۱۷). نتایج تحقیق حاضر هم راستا با مطالعه‌های ذکر شده نشان‌دهنده کاهش سطح مالون دی‌آلدئید در فرآورده پلاکتی در طول زمان ذخیره می‌باشد. اولایاکی و همکاران که در مطالعه‌ای اثر ویتامین C را بر میزان مالون دی‌آلدئید در زنان باردار بررسی کردند، نشان دادند که ویتامین C باعث کاهش معناداری در تولید میزان مالون دی‌آلدئید پس از ۶ روز شده است (۳۳). از آن جایی که ویتامین C به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده، می‌تواند با اهدای یک الکترون به رادیکال‌های آزاد مانند هیدروژن پراکسید (O_2^-) و رادیکال هیدروکسیل ($OH^\cdot$)، پراکسیداسیون لیپید را کاهش دهد و مانع آسیب زدن به لیپیدها گردد. ویتامین C می‌تواند ویتامین E را نیز که یک آنتی‌اکسیدان مهم است، بازسازی کرده و از افت فعالیت آنتی‌اکسیدانی ویتامین E جلوگیری نماید (۳۴). نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه اولایاکی و همکاران از توافق بالایی برخوردار بود. طبق مطالعه گریسا و همکاران، رسوراترول مانع از افزایش مالون دی‌آلدئید تولید شده توسط اتانول در موش‌ها می‌شود (۳۵). اگر چه نتایج اثر رسوراترول بر کاهش سطح مالون دی‌آلدئید، با مطالعه‌های سایر محققان در یک راستا نبود، اما احتمال می‌رود رسوراترول در غلظت‌های بالاتر، تاثیر آنتی‌اکسیدانی بیشتری بر کاهش سطح مالون دی‌آلدئید داشته باشد.

لاکتات دهیدروژناز یکی از شاخص‌های آسیب و لیز سلولی است که افزایش فعالیت این آنزیم معمولاً در کنسانتره‌های پلاکتی در طول مدت نگهداری مشاهده می‌شود (۲۳، ۱۶، ۹). دیهیم و همکاران در پژوهش خود نشان دادند که کاهش آزاد شدن آنزیم لاکتات دهیدروژناز از سیتوپلاسم و تامین اکسیژن کافی برای متابولیسم پلاکت، هر دو از عوامل مهم برای حفظ بقاء و کیفیت پلاکت کنسانتره در طول مدت نگهداری هستند. کنترل فعالیت لاکتات دهیدروژناز در طول زمان ذخیره‌سازی پلاکت‌ها، به‌عنوان نشانگری از کیفیت و عملکرد پلاکت‌های ذخیره‌شده، اهمیت بسیاری دارد (۲۳). مطالعه حاضر نشان داد که پس از گذشت ۵ روز در گروه کنترل آنزیم لاکتات دهیدروژناز فعالیت بالایی نشان داد. این درحالی است که به دلیل مقابله با استرس اکسیداتیو در گروه‌های تحت

بر پارامترهای تحقیق مؤثر نبوده است، می‌توان این گونه استنباط کرد که ممکن است زمان لازم برای جذب و بهره‌برداری از آنتی‌اکسیدان‌ها تا رسیدن به سطح معنادار برای تأثیرگذاری بر پارامترهای تحقیق متفاوت باشد. در برخی موارد، اثرات آنتی‌اکسیدانی نیاز به زمان بیشتری دارند تا به طور کامل عمل کنند. هم‌چنین برخی از آنتی‌اکسیدان‌ها نیاز به تجمع در سلول‌ها یا بافت‌ها دارند تا بتوانند به صورت معنادار اثر کنند. این تجمع ممکن است در مدت زمان بیشتری صورت بگیرد و به همین دلیل در روز سوم اثر قابل ملاحظه‌ای نداشته باشد.

افزایش پراکسیداسیون لیپیدها می‌تواند بر سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی غلبه کرده و موجب آپوپتوز و افزایش سطح مالون دی‌آلدئید در سرم شود (۱۹، ۱۷). نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار ال-کارنیتین و هم‌چنین غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار ویتامین C تأثیر آنتی‌اکسیدانی بیشتری بر کاهش سطح مالون دی‌آلدئید طی گذشت ۵ روز در پلاکت‌ها دارند. ال-کارنیتین نقش مهمی در حمل اسیدهای چرب به داخل میتوکندری دارد. این اسیدها سوخت مهم برای تولید انرژی در میتوکندری هستند. با افزایش نقل و انتقال اسیدهای چرب به میتوکندری، احتمال پراکسیداسیون لیپیدی کاهش می‌یابد. ال-کارنیتین به دلیل کمک به حفظ یک‌پارچگی میتوکندری و پایین آوردن احتمال تولید گونه‌های اکسیژن فعال، از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کند و با کاهش تولید مالون دی‌آلدئید که از محصولات ثانویه پراکسیداسیون لیپیدها است و هم‌چنین حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاکت‌ها، می‌تواند سبب کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از پراکسیداسیون پلاکت‌ها در طول مدت نگهداری گردد (۱۶). جوس زاک و همکاران در مطالعه خود دریافتند که ال-کارنیتین باعث کاهش تولید میزان مالون دی‌آلدئید در پلاکت‌های تحریک شده با ترومبین شده است (۳۲). در مطالعه محمدی و همکاران، اثرات ال-کارنیتین بر استرس اکسیداتیو و آپوپتوز پلاکت در طول زمان ذخیره‌سازی بررسی و میزان مالون دی‌آلدئید در ۱، ۳، ۵ و ۷ روز اندازه‌گیری شد. طبق مطالعه آن‌ها، ال-کارنیتین منجر به کاهش میزان مالون دی‌آلدئید در روزهای ۵ و ۷

تیمار با آنتی اکسیدان‌های رسوراترول و ویتامین C با غلظت ۱۰۰ میلی مولار، فعالیت آنزیمی لاکتات دهیدروژناز کاهش پیدا کرد. فراهانا و همکاران با بررسی گزارش کرده‌اند که ویتامین C، باعث کاهش فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز می‌شود (۳۶). حائری و همکاران که در سال ۲۰۲۳، اثر رسوراترول را بر پلاکت بررسی کردند، دریافتند که رسوراترول باعث کاهش فعالیت لاکتات دهیدروژناز که نشانگر کیفیت پلاکت‌ها است، شد (۳۷). ولاشجردی و همکاران که اثر ال-کارنیتین را بر کاهش آلودگی پلاکتی در مدت زمان نگهداری ۵ روز بررسی کرده بودند، دریافتند که در گروه‌های تیمار با ال-کارنیتین نسبت به گروه کنترل، لاکتات دهیدروژناز کمتری در محیط پلاکتی پس از ۵ روز تولید شده است (۳۸). محمدی و همکاران در مطالعه خود دریافتند که در صورت آسیب غشای سلولی، فعالیت لاکتات دهیدروژناز از سیتوپلاسم به پلاسما آزاد می‌شود و افزودن ال-کارنیتین به پلاکت‌های ذخیره شده، باعث بهبود آسیب غشای پلاکت در هنگام ذخیره سازی می‌شود (۱۷). اگر چه در مطالعه حاضر اثر ال-کارنیتین بر فعالیت لاکتات دهیدروژناز از لحاظ آماری معنادار نبود، شبیه مطالعه‌های قبلی، کاهش فعالیت لاکتات دهیدروژناز در گروه تحت درمان با ال-کارنیتین در روز پنجم مشاهده شد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر در ارتباط با اثر محافظتی آنتی اکسیدان‌ها در برابر میزان فعالیت لاکتات دهیدروژناز در پلاکت‌ها با نتایج مطالعه‌های سایر محققان در یک راستا بود (۳۹، ۳۸، ۱۷).

طبق مطالعه لوور و همکاران، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد سبب ایجاد تغییراتی در نفوذپذیری غشای سلول می‌شود که باعث دپلاریزاسیون غشای میتوکندری و در نهایت آپوپتوز و مرگ سلولی می‌گردد (۴۰). هیدروژن پراکسید به غشای پلاسمایی پلاکت‌ها و گیرنده‌های مرتبط آسیب می‌رساند (۱۹). اولاس و همکاران اثر رسوراترول و ویتامین C را بر میزان هیدروژن پراکسید بررسی کردند و دریافتند که اثر مهار رسوراترول بر میزان هیدروژن پراکسید در غلظت‌های فیزیولوژیکی پلاسما، نسبت به ویتامین C کمتر است (۴۱). در پژوهش حاضر، پس از بررسی اثر آنتی اکسیدان‌های ال-کارنیتین، رسوراترول و

ویتامین C بر میزان هیدروژن پراکسید تولید شده در نمونه‌های پلاکتی تحت تیمار، مشخص شد که آنتی اکسیدان‌ها پس از دوره‌ی ۳ و ۵ روزه، اثر معناداری در کاهش تولید هیدروژن پراکسید نداشتند. اگر چه این نتایج، رضایت‌بخش نبود، اما احتمال می‌رود بتوان از این ترکیبات آنتی اکسیدانی با غلظت بالاتر، به عنوان یک ترکیب حفاظتی در جهت افزایش طول عمر و کاهش آسیب پلاکت‌ها استفاده کرد. تفاوت در تأثیرات آنتی اکسیدان‌ها بر روی H_2O_2 و پراکسیداسیون لیپیدی ممکن است به عوامل متعددی بستگی داشته باشد که شامل شرایط محیطی، نوع بافت یا سلول، و ویژگی‌های شیمیایی و بیولوژیکی آنتی اکسیدان‌ها می‌شود. آنتی اکسیدان‌های متفاوت اثرات متفاوتی نیز بر مسیر پراکسیداسیون لیپیدی دارند و این تفاوت به نحوه عملکرد آن‌ها مربوط می‌شود. ممکن است آنتی اکسیدان‌ها بیشتر از یک مکانیسم عملیاتی برای کاهش پراکسیداسیون لیپیدی داشته باشند، در حالی که با H_2O_2 به صورت مستقیم واکنش نشان ندهند. در این تحقیق، پس از بررسی تغییرات pH در نمونه‌های پلاکتی تحت تیمار با آنتی اکسیدان‌های ال-کارنیتین، رسوراترول و ویتامین C، مشخص شد که همه این آنتی اکسیدان‌ها در غلظت ۱۰۰ میلی مولار، تقریباً به یک نسبت پس از گذشت ۵ روز از دوره تیمار، بیشترین تأثیر را بر مهار شرایط اسیدی و بهبود کیفیت پلاکت‌ها در زمان نگهداری داشتند و احتمالاً از این ترکیبات بتوان به عنوان محافظ آنتی اکسیدانی پلاکت‌ها برای افزایش طول مدت نگهداری استفاده کرد. از مقایسه‌ی تأثیر آنتی اکسیدان‌های مورد ارزیابی در پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد ال-کارنیتین اثر محافظتی بیشتری نسبت به رسوراترول و ویتامین C، بر مهار شرایط اسیدی ناشی از افزایش مولکول اکسیژن در محیط پلاکتی داشته است به طوری که غلظت ۵۰ میلی مولار ال-کارنیتین نیز مانع کاهش و اسیدی شدن pH شده است.

دهیم و همکاران نشان دادند که حفظ pH پلاکت و ممانعت از کاهش این پارامتر توسط ال-کارنیتین می‌تواند در ارتباط با تأثیر این آنتی اکسیدان بر متابولیسم پلاکت‌ها از طریق کاهش گلیکولیز باشد که از این طریق می‌تواند بر حفظ کیفیت پلاکت در طول مدت نگهداری موثر باشد

استفاده قرار گیرد.

حمایت مالی

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

ملاحظات اخلاقی

مقاله حاصل نتایج پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی می باشد که در شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان با کد اخلاق IR.IAU.NAJAFABAD.REC.1400.050 به تصویب رسیده است.

عدم تعارض منافع

نویسندگان اظهار کردند که در انتشار این اثر هیچ گونه تعارض منافی وجود نداشته است.

نقش نویسندگان

مرضیه شفیعی دارافشانی: انجام مراحل عملی، تجزیه و تحلیل و تفسیر نتایج، تهیه پیش نویس مقاله
ریحانه شمس فر: انجام مراحل عملی آزمایش ها
حسن جمشیدیان: تجزیه و تحلیل و تفسیر نتایج
دکتر کهن شاهانی پور: مدیریت و طراحی مطالعه، بازبینی و اصلاح پیش نویس مقاله

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از سازمان انتقال خون استان اصفهان که همکاری لازم را برای اجرای این پروژه داشته اند نهایت تشکر و قدردانی به عمل می آید.

(۲۳). طبق مطالعه ولاشجردی و همکاران، ال-کارنیتین می تواند pH محیط را تا روز پنجم حفظ نماید (۳۸). محمد و همکاران گزارش کرده اند که دوزهای بالای ویتامین C تأثیر مثبت بر تغییرات pH پلاکت ها در طول ۵ روز نگهداری دارد (۴۲).

با توجه به دانش ما، هنوز مطالعه ای در زمینه اثر رسوراترول بر pH پلاکت صورت نگرفته است. نتایج حاصل از مطالعه حاضر در ارتباط با اثر آنتی اکسیدان ها بر تغییرات pH پلاکت ها، با نتایج سایر مطالعه ها در یک راستا بود.

نتیجه گیری

تاکنون روش های مختلفی برای مهار فعال سازی برگشت پذیر پلاکتی در حین ذخیره سازی مورد بررسی قرار گرفته است. در این تحقیق روش حفاظت آنتی اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گرفت. اثر آنتی اکسیدان های ال-کارنیتین، رسوراترول و ویتامین C، نشان داد که این ترکیبات آنتی اکسیدانی، با مکانیسم بیوشیمیایی مختص خود که وابسته به ساختار شیمیایی هر ترکیب است، می توانند بر شرایط اکسیداتیو ایجاد شده پس از گذشت ۵ روز از دوره نگهداری پلاکت ها اثر گذارند و باعث کاهش استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در این بازه زمانی گردند.

امید است نتایج این مطالعه بتواند پایه و اساس روش های ذخیره سازی فرآورده های خونی آینده را تقویت نموده و آنتی اکسیدان های مختلف به عنوان مواد افزودنی در محلول های ذخیره سازی برای کاهش اثرات سیستم اکسیداتیو، پایداری و کارایی پلاکت های ذخیره شده مورد

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- Manasa K, Vani R. Influence of Oxidative Stress on Stored Platelets. *Adv Hematol* 2016; 2016: 4091461.
- 3- Al-Hamed FS, Hijazi A, Gao Q, Badran Z, Tamimi F. Platelet Concentrate Treatments for Temporomandibular Disorders: A Systematic Review and Meta-analysis. *JDR Clin Trans Res* 2020; 6(2): 174-83.
- 4- Badran Z, Abdallah MN, Torres J, Tamimi F. Platelet concentrates for bone regeneration: current evidence and future challenges. *Platelets* 2018; 29(2): 105-12.
- 5- Yung YL, Fu SC, Cheuk YC, Qin L, Ong MTY, Chan KM, et al. Optimisation of platelet concentrates therapy: Composition, localisation, and duration of action. *Asia Pac J Sports Med Arthrosc Rehabil Technol* 2017; 7: 27-36.
- 6- Del Fabbro M, Bortolin M, Taschieri S, Weinstein R. Is platelet concentrate advantageous for the surgical treatment of periodontal diseases? A systematic review

- and meta- analysis. J Periodontol 2011; 82(8): 1100-11.
- 7- Vit G, Klüter H, Wuchter P. Platelet storage and functional integrity. J Lab Med 2020; 44(5): 285-93.
 - 8- Vani R, Soumya R, Manasa K, Carl H. Storage lesions in blood components. Oxid Antioxid Med Sci 2015; 4(3): 125-31.
 - 9- Mittal K, Kaur R. Platelet storage lesion: An update. Asian J Transfus Sci 2015; 9(1): 1-3.
 - 10- Ghasemzadeh M, Hosseini E, Roudsari ZO, Zadkhak P. Intraplatelet reactive oxygen species (ROS) correlate with the shedding of adhesive receptors, microvesiculation and platelet adhesion to collagen during storage: Does endogenous ROS generation downregulate platelet adhesive function? Thromb Res 2018; 163: 153-61.
 - 11- Ghasemzadeh M, Hosseini E. Platelet granule release is associated with reactive oxygen species generation during platelet storage: A direct link between platelet pro-inflammatory and oxidation states. Thromb Res 2017; 156: 101-4.
 - 12- Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. Nutr Rev 2012; 70(5): 257-65.
 - 13- Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species. J Cell Biol 2011; 194(1): 7-15.
 - 14- Göker B, ÖZSAVCI D, Şener A, Aksoy H, BAĞIŞGİL V, DEMİREL GY, *et al.* Oxidative alterations during human platelet storage. Marmara Pharm J 2011; 15(1): 38-42.
 - 15- Masselli E, Pozzi G, Vaccarezza M, Mirandola P, Galli D, Vitale M, *et al.* ROS in Platelet Biology: Functional Aspects and Methodological Insights. Int J Mol Sci 2020; 21(14): 4866.
 - 16- Helmi Siasi N, Deyhim MR, Amiri F, Amini Kafiabad S. The antioxidant impact of the L-carnitine (LC) in platelet concentrates during storage. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2017; 14(3): 175-87. [Article in Farsi]
 - 17- Mohammadi Dahj M, Amiri F, Deyhim MR, Nikoogoftar zarif M. The evaluation of oxidative stress in platelet during storage of platelet concentrate. Pejouhesh Dar Pezeshki 2020; 44(4): 587-93. [Article in Farsi]
 - 18- Feng Y, Xiong Y, Qiao T, Li X, Jia L, Han Y. Lactate dehydrogenase A: A key player in carcinogenesis and potential target in cancer therapy. Cancer Med 2018; 7(12): 6124-36.
 - 19- Vavaev AV, Buryachkovskaya LI, Uchitel IA, Tishchenko EG, Maksimenko AV. Effect of Hydrogen Peroxide and Catalase Derivatives on Functional Activity of Platelets. Bull Exp Biol Med 2012; 152(3): 307-12.
 - 20- Scharbert G, Franta G, Wetzell L, Kozek-Langenecker S. Effect of pH levels on platelet aggregation and coagulation: a whole blood *in vitro* study. Crit Care 2011; 15(Suppl 1): P446.
 - 21- Azab AE, Albasha MO, Elsayed ASI. Prevention of Nephropathy by Some Natural Sources of Antioxidants. Yangtze Medicine 2017; 1(04): 235.
 - 22- Adwas AA, Elsayed A, Azab A, Quwaydir F. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. J Appl Biotechnol Bioeng 2019; 6(1): 43-7.
 - 23- Deyhim MR, Mesbah-Namin SA, Yari F, Taghikhani M, Amirizadeh N. L-carnitine effectively improves the metabolism and quality of platelet concentrates during storage. Ann Hematol 2015; 94(4): 671-80.
 - 24- Adeva-Andany MM, Calvo-Castro I, Fernández-Fernández C, Donapetry-García C, Pedre-Piñeiro AM. Significance of l-carnitine for human health. IUBMB Life 2017; 69(8): 578-94.
 - 25- Surai P. Antioxidant Action of Carnitine: Molecular Mechanisms and Practical Applications. EC Vet Sci 2015; 2: 66-84.
 - 26- Maier-Salamon A, Böhmendorfer M, Thalhammer T, Szekeres T, Jaeger W. Hepatic Glucuronidation of Resveratrol: Interspecies Comparison of Enzyme Kinetic Profiles in Human, Mouse, Rat, and Dog. Drug Metab Pharmacokinet 2011; 26(4): 364-73.
 - 27- Klaus V, Hartmann T, Gambini J, Graf P, Stahl W, Hartwig A, *et al.* 1,4-Naphthoquinones as inducers of oxidative damage and stress signaling in HaCaT human keratinocytes. Arch Biochem Biophys 2010; 496(2): 93-100.
 - 28- Yadav H, Kor DJ. Platelets in the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2015; 309(9): L915-23.
 - 29- Pekala J, Patkowska-Sokola B, Bodkowski R, Jamroz D, Nowakowski P, Lochynski S, *et al.* L-carnitine-metabolic functions and meaning in humans life. Curr Drug Metab 2011; 12(7): 667-78.
 - 30- Castellano E, Downward J. RAS Interaction with PI3K: More Than Just Another Effector Pathway. Genes Cancer 2011; 2(3): 261-74.
 - 31- Khosravi A, Deyhim MR, Yari F, Nikoogoftar Zarif M. Resveratrol; a Double-Edged Sword Antioxidant Agent for Preserving Platelet Cell Functions During Storage; Molecular Insights. Rep Biochem Mol Biol. 2023; 11(4): 553-64.
 - 32- 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.
 - 33- Olayaki L, Ajao M, Jimoh A, Aremu IT, Soladoye A. Effect of vitamin c on malondialdehyde (MDA) In Pregnant Nigerian Women. J Basic Appl Sci 2008; 4: 105-8.
 - 34- Pehlivan F. Vitamin C: An Antioxidant Agent. In: Hamza AH, editor. Vitamin C. Rijeka: IntechOpen; 2017. p. 23-35.
 - 35- Kasdallah-Grissa A, Mornagui B, Aouani E, Hammami M, Gharbi N, Kamoun A, *et al.* Protective effect of resveratrol on ethanol-induced lipid peroxidation in rats. Alcohol Alcohol 2006; 41(3): 236-9.
 - 36- Farhana A, Lappin SL. Biochemistry, Lactate Dehydrogenase. StatPearls. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Sarah Lappin declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing 2023
 - 37- Haeri K, Samiee S, Hajati S, Deyhim M. Resveratrol reduces platelet storage lesion by preventing free mitochondrial DNA (mtDNA) accumulation in platelet concentrates during storage. J Thromb Thrombolysis 2023; 56(1): 82-90.
 - 38- Velashjerdi Z, Deyhim MR, Razjou F, Eydi A. Effect of L-carnitine on platelet bacterial contamination and platelet metabolism during 5 days of storage of platelet concentrates. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2018; 15(1): 1-11. [Article in Farsi]

- 39- Piraki P, Hemmatfar A, Samavati Sharif MA, Behpour N. Evaluating the Effect of Vitamin C on Myocardial Angiogenesis Under Oxidative Stress Induced by Exhaustive Exercise in Rat. *Pharm Sci* 2018; 24(4): 273-9.
- 40- Loor G, Kondapalli J, Iwase H, Chandel NS, Waypa GB, Guzy RD, *et al.* Mitochondrial oxidant stress triggers cell death in simulated ischemia-reperfusion. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1813(7): 1382-94.
- 41- Olas B, Wachowicz B. Resveratrol and vitamin C as antioxidants in blood platelets. *Thromb Res* 2002; 106(2): 143-8.
- 42- Mohammed BM, Sanford KW, Fisher BJ, Martin EJ, Contaifer D, Jr., Warncke UO, *et al.* Impact of high dose vitamin C on platelet function. *World J Crit Care Med* 2017; 6(1): 37-47.