

## ارزیابی شاخص‌های متابولیک در پلاکت‌های پولد نگهداری شده به مدت ۵ روز

دکتر محمود محمودیان شوشتری<sup>۱</sup>، علی اصغر دوات‌گر<sup>۲</sup>، دکتر مهناز آقایی پور<sup>۳</sup>، دکتر زهره شریفی<sup>۴</sup>

### چکیده

#### سابقه و هدف

پلاکت‌ها یکی از اجزای مهم خون هستند که در روند فعالیت‌های هموستاز نقش به‌سزایی دارند. در این مطالعه شاخص‌های متابولیک پلاکت‌های متراکم پولد شده که به مدت ۵ روز نگهداری شده بودند مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

پلاکت‌های متراکم با عمل سانتریفوژ در دو مرحله تهیه شدند و تا زمان آزمایش در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد روی دستگاه روتاتور قرار گرفتند. ۴ پولد پلاکتی که هر کدام شامل ۵ واحد پلاکت متراکم بود، آماده گردید. شمارش پلاکت، لاکتات دهیدروژناز، غلظت گلوکز، غلظت لاکتات، pH، فشار اکسیژن ( $PO_2$ )، فشار دی‌اکسید کربن ( $PCO_2$ )، درصد اشباع اکسیژن ( $O_2 \text{ sat}$ ) نسبت گاز اکسیژن به دی‌اکسید کربن ( $O_2:CO_2$ )، در روز اول (پلاکت‌های تازه) و روز پنجم (پلاکت‌های نگهداری شده) مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات از نرم‌افزار SPSS ۱۰ و آزمون ویل کوکسون (Wilcoxon) استفاده شد.

#### یافته‌ها

مطالعه انجام شده از نوع تجربی بود. میانگین شمارش پلاکت در ۴ پولد پنج‌تایی در روز اول حدود  $2/7 \times 10^{11}$  بود در صورتی که میانگین شمارش پلاکت در ۴ پولد پنج‌تایی نگهداری شده به مدت ۵ روز،  $2/1 \times 10^{11}$  بود. واحدهای پولد پلاکتی نگهداری شده کاهش در حدود ۱۰٪-۵٪ را در مقایسه با واحدهای پولد پلاکتی تازه نشان دادند که حکایت از نابودی پلاکت‌ها در طول مدت نگهداری بود. تمام پوله‌های پلاکتی در حدود ثابتی باقی ماند، اختلاف pH نمونه‌های روز اول و روز پنجم بسیار اندک بود و همگی در حدود pH فیزیولوژیک قرار داشتند. کاهش فشار اکسیژن نسبت به فشار دی‌اکسید کربن فوق‌العاده کمتر بود. نسبت گاز اکسیژن به دی‌اکسید کربن در روز اول برابر با ۲/۷ و این نسبت در روز پنجم برابر ۳/۶ بود. غلظت آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و لاکتات در روز پنجم مقدار کمی افزایش پیدا کردند و سطح گلوکز به‌طور تدریجی از ۲۴/۸ تا ۲۱/۵ میلی‌مول در لیتر کاهش پیدا کرد.

#### نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که با انتخاب یک کیسه مناسب جهت نگهداری پلاکت، می‌توان غلظت لاکتات دهیدروژناز و لاکتات را به حداقل رساند و درصد اکسیژن به دی‌اکسید کربن را حتی بعد از مدت زمان ۵ روز، در مقدار بالاتری نسبت به روز اول نگه داشت. این خود یکی از عوامل مهم در حفظ و نگهداری پلاکت با کیفیت مناسب است.

**کلمات کلیدی:** پلاکت، pH، لاکتات دهیدروژناز

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۲/۲۳

تاریخ پذیرش: ۸۶/ ۸/۲۸

۱- مؤلف مسئول: PhD و بیوسنسای - استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران - صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵

۲- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون - بیمارستان امام خمینی - دانشگاه علوم پزشکی اهواز

۳- متخصص آسیب‌شناسی بالینی و تشریحی - استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

۴- PhD و بیوسنسای - استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

**مقدمه**

پلاکت‌ها یکی از اجزای مهم خون هستند که در روند هموستاز نقش به‌سزایی دارند. استانداردهای کنترل کیفی و تضمین کیفیت به منظور کنترل و بررسی بقای پلاکت‌ها در بیشتر بانک خون‌های دنیا به خوبی تدوین و طراحی شده‌اند تا از تغییراتی که ممکن است برای محصول نهایی اتفاق افتد جلوگیری کنند. این تغییرات می‌تواند در طول زمان نگهداری و یا در پایان مرحله تهیه پلاکت اثرات مخرب داشته باشد. استانداردهای کنترل کیفی پلاکت‌ها، بر حسب روش تهیه آن در کشورهای مختلف با هم اختلاف دارند. اکثر این استانداردها شامل شمارش پلاکت، اندازه‌گیری pH، تعداد گلبول‌های سفید موجود در پلاکت‌های متراکم و حجم محصول پلاکتی (پلاسمای باقیمانده در پلاکت متراکم) است که در بانک خون مورد ارزیابی قرار می‌گیرند (۱).

شمارش پلاکت در هر واحد پلاکت متراکم طبق استاندارد آمریکا بزرگتر یا مساوی  $10^{11} \times 5/5$  و طبق استاندارد اروپا بزرگتر یا مساوی  $10^{11} \times 6$  می‌باشد. در حال حاضر در مراکز انتقال خون ایران پلاکت‌های متراکم از طریق سانتریفوژ کردن واحدهای اهدایی خون کامل به صورت منفرد تهیه می‌شوند و باید حاوی حداقل  $10^{11} \times 5/5$  پلاکت در میزان کافی پلاسمای (معمولاً ۷۰-۵۰ میلی‌لیتر) به منظور حفظ pH طبیعی در طول دوره نگهداری باشند (۲، ۳). پلاکت‌های حاصل از آفرزیز از یک اهداکننده منفرد که در طی ۳-۱ ساعت سیتافریز به دست می‌آید، باید حاوی دست کم  $10^{11} \times 3$  پلاکت در ۴۰۰-۲۰۰ میلی‌لیتر حجم پلاسمای نهایی باشد. این تعداد معادل ۵-۶ واحد پلاکتی است (۴).

صدمات وارده بر پلاکت شامل تمام آسیب‌هایی است که مورفولوژی، ساختمان و عملکرد پلاکت را در طول زمان نگهداری تهدید می‌کند. این اثرات مخرب می‌تواند در زمان جمع‌آوری خون و یا در حین تهیه و آماده‌سازی پلاکت به وقوع بپیوندد، بنابراین عوامل مختلفی مثل روش‌های جمع‌آوری خون و شرایط نگهداری پلاکت‌ها می‌تواند بر ساختمان پلاکت اثرات مخربی داشته باشد. برای مثال سانتریفوژ کردن نامناسب می‌تواند بر عملکرد

پلاکت تاثیر منفی داشته باشد. بدین صورت که فشاری حساب نشده بر ساختمان پلاکت وارد می‌آید که این امر می‌تواند باعث خارج شدن آنزیم LDH بشود و علاوه بر آن باعث تحریک واکنش آزاد شدن (Release Reaction) در پلاکت‌ها می‌شود. هم‌چنین رها شدن بتاترومبوگلوبولین به داخل پلاسمای و ظاهر شدن P-selectin بر روی سطح غشای پلاکت در حین آماده‌سازی همگی نشان از رها شدن محتویات گرانول‌های پلاکتی دارد (۴).

در طول نگهداری، بر اثر فعالیت متابولیک پلاکت‌ها و گلبول‌های سفید در فرآورده، مواد مغذی کیسه مصرف شده و به دنبال آن یک سری متابولیت‌های مضر به وجود می‌آید، این مواد به همراه لاشه سلول‌های تخریب شده و آنزیم‌های پروتئولیتیک موجود در کیسه همگی باعث اثرات ناخواسته و مهلک بر روی پلاکت‌ها می‌شوند. بقای کم پلاکت‌ها بعد از تزریق و هم‌چنین بازیافت کم پلاکت‌ها بعد از انتقال به بیمار همگی با تغییرات متابولیک پلاکت‌ها در طول نگهداری ارتباط دارد (۵، ۲).

در این مطالعه برای ارزیابی شاخص‌های متابولیک از پولد پلاکتی استفاده شد. شاخص‌های متابولیک پولد پلاکت‌های متراکم، روز اول و پنجم مورد ارزیابی قرار گرفتند. شمارش پولد پلاکت با استفاده از دستگاه کولتر (سیس‌مکس)، pH، فشار اکسیژن  $PO_2$ ، فشار دی‌اکسید کربن ( $PCO_2$ )، درصد اشباع اکسیژن ( $sat O_2$ ) و نسبت گاز اکسیژن به دی‌اکسید کربن ( $O_2:CO_2$ ) در دستگاه آنالیز گازهای خون، اندازه‌گیری غلظت گلوکز به روش آنزیماتیک (endpoint)، آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) به روش DGKC بر اساس تبدیل پیرووات به لاکتات و غلظت لاکتات به روش آنزیماتیک مورد آزمایش قرار گرفتند.

**مواد و روش‌ها**

تهیه پلاکت متراکم:

۲۰ واحد خون کامل از اهداکنندگان داوطلب به صورت منفرد در فاصله یک ماه در کیسه‌های سه تایی جمع‌آوری شد. کیسه‌ها در فاصله زمان چند ساعت بعد از خون‌گیری (کمتر از ۶ ساعت) بلافاصله با دور ۲۰۰۰ g و

دیگر ست انتقال که سوزن است وارد کیسه‌های پلاکت می‌گردد. پلاکت‌ها بعد از به هم خوردن کامل به درون کیسه UPX-80 منتقل می‌شوند. این کیسه‌ها در حجم‌های ۶۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌لیتری قابل تهیه است، در این بررسی از حجم یک لیتری استفاده شده است. طبق دستورالعمل شرکت JMS، کیسه‌های ۱۰۰۰ میلی‌لیتری برای پولد کردن حجم پلاکت تا ۴۰۰ میلی‌لیتر مناسب می‌باشد و باید محتوی پلاکت بین  $10^{11} \times 3$  تا  $10^{11} \times 6$  باشد. ۴ پولد پلاکتی تهیه شد که هر پولد پلاکتی شامل ۵ واحد پلاکت اهدایی منفرد تصادفی بود. پولدها به خوبی مخلوط شدند و در حرارت آزمایشگاه (۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد) روی دستگاه روتاتور قرار گرفتند. در روز اول ۱۰ میلی‌لیتر نمونه جهت انجام شمارش پلاکت، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، غلظت گلوکز، غلظت لاکتات،  $PO_2$ ،  $PCO_2$ ، pH،  $O_2$  sat و نسبت  $O_2$  به  $CO_2$  برداشت شد. همین مقدار نمونه پنج روز بعد نیز تهیه شد. برای هر دو نوبت، شمارش پلاکت‌ها با استفاده از دستگاه کولتر (سیس‌مکس) و انجام آزمایش‌های گازهای خون در دستگاه آنالیز گازهای خون مورد آزمایش قرار گرفتند. غلظت گلوکز به روش آنزیماتیکی (endpoint)، فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) به روش DGKC بر اساس تبدیل پیرووات به لاکتات و غلظت لاکتات به روش آنزیماتیکی مورد بررسی قرار گرفت. جهت محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS ۱۰ استفاده گردید. برای مقایسه دو گروه از آزمون ویل کوکسون استفاده شد.

#### یافته‌ها

جدول شماره ۱: شمارش پلاکت در ۴ پولد پنج‌تایی روز اول و شمارش پلاکت در ۴ پولد پنج‌تایی نگهداری شده (۵ روز). هر نمونه بیانگر یک پولد پلاکتی شامل ۵ واحد پلاکت اهدایی تصادفی می‌باشد.

نمونه پولد پلاکتی	شمارش پلاکت $\times 10^{11}$	
	روز پنجم	روز اول
۱	۲/۳	۲/۹
۲	۱/۸	۲/۴
۳	۲	۲/۵
۴	۲/۴	۳
میانگین (SD)	( $\pm 0/27$ )۲/۱	( $\pm 0/29$ )۲/۷

به مدت ۳ دقیقه سانتریفوژ (سانتریفوژ یخچال‌دار ژوئن KR 422 که قبلاً کالیبره شده بود) شدند. پس از سانتریفوژ، خون به سه بخش گلوبول قرمز در بخش تحتانی کیسه، لایه بافی‌کوت در بخش میانی و لایه پلاسما غنی از پلاکت در بالا تقسیم گردید. با استفاده از دستگاه جداکننده (اکستراکتور Fenwal)، لایه پلاسما غنی از پلاکت از بخش گلوبول قرمز جدا شده و درون یکی از کیسه‌های جانبی رانده شد. کیسه حاوی پلاسما غنی از پلاکت مجدداً با دور ۵۰۰۰ g و به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد (۶). کیسه حاوی پلاسما پس از سانتریفوژ به دو بخش رسوب ته کیسه که غنی از پلاکت است و بخش رویی که پلاسما کم پلاکت است، تقسیم گردید. پلاسما غنی از پلاکت متراکم (۵۰ میلی‌لیتر) در درون کیسه سوم جمع‌آوری گردید. کیسه‌ها برای چند ساعت در حرارت آزمایشگاه (۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند تا به تدریج توده پلاکتی فشرده شده و به آرامی درون پلاسما باقی‌مانده باز شود و به حالت سیال در آید. قبل از انجام آزمایش، کیسه‌های پلاکت متراکم در حرارت آزمایشگاه روی دستگاه روتاتور قرار گرفتند (۶).

#### آماده کردن پولدهای پلاکتی:

برای پولد کردن واحدهای پلاکتی، از هود کلاس II (بعثت HBB2448) موجود در بخش ایمونولوژی حوزه معاونت فنی سازمان انتقال خون استفاده شد. برای این کار با استفاده از الکل، سطح داخلی هود کاملاً ضد عفونی گردید و سپس برای مدت نیم ساعت تهویه هود به همراه نور UV روشن شد تا فضای زیر هود به خوبی استریل شود و جرم‌های مختلف آن از بین برود.

بعد از آن تحت رعایت شرایط کامل ضد عفونی و با استفاده از دستکش استریل، تک تک واحدهای پلاکت متراکم توسط ست انتقال پلاسما که از شرکت سوپا تهیه شده بود به یک کیسه نگهدارنده UPX-80 (تهیه شده از شرکت JMS) منتقل شدند. ست انتقال پلاسما از یک سمت دارای یک زایده خار مانند (spike) و از سر دیگر دارای سوزن مخصوص است. زایده خار مانند وارد یکی از ورودی‌های کیسه مخصوص UPX-80 می‌شود و طرف

جدول ۲: مقایسه مقادیر pH، PO<sub>2</sub>، PCO<sub>2</sub>، O<sub>2</sub> sat، CO<sub>2</sub>، O<sub>2</sub>، غلظت گلوکز (میلی مول در لیتر)، غلظت لاکتات (میلی مول در لیتر) و فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) (واحد بین المللی در لیتر) در ۴ نمونه پولد پلاکتی. الف: تازه روز اول) و ب: نگهداری شده (روز پنجم) (فشار گازها بر حسب میلی متر جیوه می باشد). هر نمونه بیانگر یک پولد پلاکتی شامل ۵ واحد پلاکت اهدایی تصادفی می باشد.

## الف: پولد پلاکتی تازه (روز اول)

تازه (روز اول)								
نمونه	O <sub>2</sub> : CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub> sat	PCO <sub>2</sub>	PO <sub>2</sub>	pH	LDH	غلظت لاکتات	غلظت گلوکز
۱	۲/۹	۹۸/۶	۵۸	۱۶۸	۷/۴	۱۳۰/۵	۲/۵	۲۵/۶
۲	۲/۵	۹۸	۵۷	۱۴۵	۷/۱	۱۴۵	۳/۲	۲۷/۵
۳	۲/۵	۹۸	۵۸	۱۴۷	۷/۱	۱۴۷	۲/۱	۲۲/۸
۴	۲/۹	۹۷	۵۴	۱۵۷	۷/۲	۱۲۹	۱/۹	۲۳/۵
میانگین (SD)	۲/۷ (±۰/۲۳)	۹۷ (±۰/۶۶)	۵۶/۷ (±۱/۸۹)	۱۵۴/۳ (±۱۰/۵۶)	۷/۲ (±۰/۱۴)	۱۳۸ (±۹/۴۳)	۲/۴ (±۰/۵۷)	۲۴/۸ (±۲/۱۱)

## ب: پولد پلاکتی نگهداری شده (روز پنجم)

نگهداری شده (روز پنجم)								
نمونه	O <sub>2</sub> : CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub> sat	PCO <sub>2</sub>	PO <sub>2</sub>	pH	LDH	غلظت لاکتات	غلظت گلوکز
۱	۴/۲	۹۶/۹	۳۰	۱۲۶	۷/۲	۱۶۵/۵	۳/۲	۲۲/۵
۲	۳/۳	۹۸	۴۷	۱۵۷	۷/۲	۲۰۰	۳/۶	۲۴/۳
۳	۳/۴	۹۷	۴۰	۱۳۶	۷	۱۹۵/۵	۳/۲	۱۹/۴
۴	۳/۴	۹۸	۴۳	۱۴۸	۷/۱	۲۰۵	۳	۲۰
میانگین (SD)	۳/۶ (±۰/۴۱)	۹۷ (±۰/۶)	۴۰ (±۷/۲۵)	۱۴۱/۷ (±۱۳/۵۷)	۷/۱ (±۰/۰۹)	۱۹۱/۵ (±۱۷/۷)	۳/۲۵ (±۰/۲۵)	۲۱/۵ (±۲/۲۷)

آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) در ۴ پولد پلاکتی در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

p-value برای pH، فشار گاز اکسیژن، فشار گازی دی اکسید کربن، درصد اشباع گاز اکسیژن، نسبت گاز اکسیژن به دی اکسید کربن، غلظت گلوکز، غلظت لاکتات و فعالیت لاکتات دهیدروژناز به ترتیب ۰/۴۶۵، ۰/۰۶۸، ۰/۴۱۴، ۰/۰۶۸، ۰/۰۶۷، ۰/۰۴۵ و ۰/۰۵۵ می باشد.

**بحث**

کیسه های پلاستیکی نسل جدید Polyvinyl chloride (PVC) جهت نگهداری گلبول قرمز متراکم و یا پلاکت متراکم نسبت به کیسه های نسل قدیم از کارایی و کیفیت

میانگین شمارش پلاکت در ۴ پولد پنج تایی روز اول و هم چنین میانگین شمارش پلاکت در ۴ پولد پنج تایی نگهداری شده (۵ روزه) در جدول ۱ آورده شده است. میانگین شمارش پلاکت در ۴ پولد پنج تایی روز اول حدود  $10^{11} \times 2/7$  است در صورتی که میانگین شمارش پلاکت در ۴ پولد پنج تایی نگهداری شده (۵ روزه) حدود  $10^{11} \times 2/1$  می باشد (جدول ۱). واحدهای پولد پلاکتی نگهداری شده، کاهش در حدود ۱۰٪-۵٪ را در مقایسه با واحدهای پولد پلاکتی تازه نشان می دهند که حکایت از نابودی پلاکت ها در طول مدت نگهداری می کند.

مقایسه مقادیر PO<sub>2</sub>، PCO<sub>2</sub>، pH، O<sub>2</sub> sat، نسبت O<sub>2</sub> به CO<sub>2</sub>، غلظت گلوکز، غلظت لاکتات و فعالیت

کیسه‌های نسل سوم UPX-80 استفاده شده بود، pH تمام پولدهای پلاکتی در حدود ثابتی باقی ماند، اختلاف pH نمونه‌های روز اول و روز پنجم بسیار اندک بود و همگی در حدود pH فیزیولوژیک قرار داشتند. کاهش فشار اکسیژن نسبت به فشار دی‌اکسیدکربن فوق‌العاده کمتر بود. به طور متوسط کاهش فشار اکسیژن برای ۴ پولد در روز پنجم معادل ۱۲/۴ میلی‌متر جیوه و متوسط کاهش فشار دی‌اکسید کربن برابر با ۱۶/۸ میلی‌متر جیوه بود. نسبت گاز اکسیژن به دی‌اکسید کربن (CO<sub>2</sub>: O<sub>2</sub>) به طور متوسط در روز اول برابر با ۲/۷ و این نسبت در روز پنجم برابر ۳/۶ بود. این بدان معنی است که به طور متوسط نسبت اکسیژن به دی‌اکسید کربن در روز پنجم ۱/۳۳ درصد افزایش نشان می‌دهد، در واقع فشار اکسیژن بالاتر از فشار دی‌اکسید کربن بوده، و این عوامل باعث شده‌اند که به طور چشم‌گیری pH در حد ثابت نگه داشته شود. کیسه‌های نسل سوم مانند UPX-80 به دلیل ساختمان خاص پلاستیکی خود قادرند که گازهای اکسیژن و دی‌اکسید کربن را به خوبی از خود عبور داده و یک محیط گازی متعادل با تهویه مناسب را برای تنفس پلاکت‌ها به وجود آورند. غلظت لاکتات دهیدروژناز در روز پنجم افزایش پیدا کرده بود که نشان دهنده لیز مقداری از پلاکت‌ها و در نتیجه ترشح لاکتات دهیدروژناز به داخل پلاسما بوده است. این امر شاید به دلیل تکان‌های شدیدی باشد که به پلاکت‌ها وارد شده است. در مطالعات کریشان و همکارانش که پلاکت‌های متراکم در کیسه‌های PVC هندی نگهداری شده بود، ترشح لاکتات دهیدروژناز پس از سه روز مشاهده نگردید (۹). افزایش لاکتات سبب کاهش pH در پلاکت‌های متراکم می‌شود که این خود می‌تواند سبب صدمات مورفولوژیکی پلاکت‌ها شود، در نهایت این پدیده باعث کاهش قدرت زنده بودن *viability* پلاکت‌ها در *in vivo* می‌گردد (۱۰). در مطالعه ما افزایش مختصری در میزان لاکتات بعد از ۵ روز وجود داشت که نشان از کیفیت مطلوب کیسه نگهدارنده UPX-80 (تهیه شده از شرکت JMS) دارد. در حال حاضر جهت نگهداری پلاکت‌ها به طور منفرد از کیسه‌های ترانسفر استفاده می‌کنند که بعد از گذشت دو

بالایی برخوردار هستند. در کیسه‌های نسل جدید دیواره گلبول‌های قرمز ثابت مانده، گلبول‌ها کمتر همولیز شده و در نتیجه بیشتر زنده می‌مانند.

هم چنین در کیسه‌های نسل جدید تجمع پلاکتی کمتر صورت می‌گیرد و در نتیجه عملکرد پلاکت‌ها در حد طبیعی حفظ می‌شود (۳). پلاستیک کیسه‌های نسل جدید معمولاً از جنس بوتیریل تری‌هگزایل سیترات (= BTHC Butyryl Trihexyl citrate) است که اثرات سمی روی محصولات داخل کیسه ندارد و به گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها آسیبی نمی‌رساند (۳).

در طول نگهداری فرآورده‌های پلاکتی، به طور طبیعی تعدادی از پلاکت‌ها به طور خود به خودی و طی شرایطی که اصطلاحاً صدمات نگهداری (Storage Lesion) گفته می‌شود کاهش می‌یابند. این شرایط تا حد زیادی از طرف لکوسیت‌هایی (گلبول‌های سفید) به وجود می‌آید که در فرآورده‌های پلاکتی وجود دارند. متابولیت‌های سمی و مواد سیتولیتیک که از لکوسیت‌های فعال یا منهدم شده رها می‌شود همگی دست به دست هم داده و یک محیط نامناسب و آلوده را برای بقای پلاکت به وجود می‌آورند. بنابراین بهترین شیوه برای نگهداری و حفظ پلاکت‌ها تا ۵ روز و در یک محیط سالم و مغذی، حذف لکوسیت‌ها (گلبول‌های سفید) با روش فیلتراسیون است (۷، ۳). در مطالعه ما نیز شمارش پلاکت‌ها در واحدهای پلاکتی نگهداری شده کاهش در حدود ۱۰٪-۵٪ در مقایسه با واحدهای پلاکتی تازه نشان داد که حکایت از نابودی طبیعی پلاکت‌ها در طول مدت نگهداری داشت. شمارش پلاکت در بعضی از نمونه‌ها (پولد پلاکتی) در ابتدای کار (روز اول) مقدار کمی از حد استاندارد کمتر بود، این امر شاید به دلیل عدم رعایت زنجیره دمایی مناسب از زمان خونگیری تا تهیه فرآورده باشد. دمای حمل فرآورده در این مدت باید بین ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد باشد.

پلاکت‌ها اگر به صورت واحدهای تازه (حداکثر ۶ ساعت بعد از خون‌گیری) بلافاصله فیلتر شوند و در کیسه‌های مخصوص پولد شوند، به خوبی حفظ شده و تا ۵ روز در آزمایشگاه (۲۲ درجه سانتی‌گراد) از کیفیت و کمیت لازم برخوردار خواهند بود (۸). در این مطالعه که از

پلاکت‌های تازه (قبل از نگهداری) در جهت کاهش تعداد مطلق گلبول‌های سفید نیز از اهمیت ویژه برخوردار است. اهمیت آن بیشتر در جهت جلوگیری از ترشح سیتوکین‌ها، لنفوکین‌ها و دیگر مواد توکسیک و سیتولیتیک می‌باشد. چون این فاکتورها نه تنها بر روی پلاکت‌ها اثر تخریبی شدید دارند بلکه باعث القای یک سری واکنش‌های ناخواسته در گیرنده پلاکت می‌شوند.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از کارمندان بخش ایمونولوژی سازمان انتقال خون ایران خصوصاً دکتر مژگان شایگان که در این مطالعه راهنمایی‌های ارزنده‌ای را انجام داده‌اند تشکر و قدردانی می‌نماید. هم چنین از کلیه کارمندان بخش خونگیری، بخش تهیه و فرآورده در پایگاه انتقال خون تهران صمیمانه تشکر و سپاسگزاری می‌گردد.

روز، پلاکت‌ها دستخوش تغییرات pH شده و شدیداً اسیدی می‌گردند و پلاکت تزریق شده نمی‌تواند از کیفیت مطلوب برخوردار باشد.

در پایان پیشنهاد می‌گردد در مطالعات بعدی از روش بسته جهت پولد کردن پلاکت‌ها استفاده گردد و تهیه پلاکت به روش بافی کوت انجام گیرد.

### نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که با انتخاب یک کیسه مناسب جهت نگهداری پلاکت، می‌توان غلظت لاکتات دهیدروژناز و لاکتات را به حداقل رساند. هم چنین درصد اکسیژن به دی‌اکسید کربن را حتی بعد از مدت زمان ۵ روز در مقدار بالاتری نسبت به روز اول نگه داشت و این خود یکی از عوامل مهم در حفظ و نگهداری پلاکت با کیفیت مناسب است. فیلتراسیون

### References :

- 1- Singh H, Chaudhary R, Ray V. Evaluation of platelet storage lesions in platelet concentrates stored for 7 days. *Indian J Med Res* 2003 118: 243-45.
- 2- Kocazeybek B, Arabaci U, Akdur H, Sezgiç M, Erentuk S. Prospective evaluation of platelets prepared by single and random methods during 5 days of storage: aspects related to quality and quantity. *Transfus Apher Sci* 2002; 26(1): 29-34.
- 3- Ledent E, Semple W, Berlin J. White blood cell subsets in buffy coat derived platelet concentrates. The effect of pre-and post storage filtration. *Vox Sang* 2000;79:234-41.
- 4- Perrotta PL, Pisciotto PT, Snyder EL. Platelets and related products. In: Hillyer CD, Silberstein LE, Ness PM, editors. *Blood Banking and Transfusion Medicine: basic, principle and practice*. Philadelphia:Churchill Livingstone; 2003: 181-99.
- 5- Vucetic D, Balint B, Tasesk J, Mandie-Radic S, Regovic V. Biochemical changes in thrombocyte concentrates stored for 5 days. *Vojnosanit Pregl* 2000;57(5) : 29-36.
- 6- Brecher ME, Chapel Hill NC, editors. *Technical Manual*. 15<sup>th</sup> ed. USA: American Association of Blood Banks; 2005:815- 7.
- 7- Eriksson L, Eriksson G, Hogman CF. Storage of buffy coat preparations at 22 degrees C in plastic containers with different gas permeability. *Vox Sang* 1997;73(2): 74-80.
- 8- Turner VS, Mitchell SG, Kang SK, Hawker RJ. A comparative study of platelets stored in polyvinyl chloride containers plasticized with butyryl trihexyl citrate or triethylhexyl trimellitate. *Vox Sang* 1995; 69(3): 195-200.
- 9- Krishnan LK, Mathai J, Sulochana PV, Jacob J, Sivakumar N. Biochemical lesions of platelets stored as concentrates in PVC bags. *Indian J Med Res* 1997;105:85-92.
- 10- Bertolini F, Porretti L, Lauri E, Rebutta P, Sirechia G. Role of lactate in platelet storage lesion. *Vox Sang* 1993;65(3):194-8.

## Evaluation of metabolic parameters in pooled platelet stored for 5 days

Mahmoodian Shooshtari M.<sup>1</sup>(PhD), Dawatgar A.A.<sup>2,3</sup>(MS), Aghaipour M.<sup>1</sup>(MD), Sharifi Z.<sup>1</sup>(PhD)

<sup>1</sup>Iranian Blood Transfusion Organization – Research Center

<sup>2</sup>Ahwaz University of Medical Sciences

<sup>3</sup>Imam Khomeini Hospital

### Abstract

#### Background and Objectives

Platelets prepared by random donor method were studied to measure metabolic parameters during 5 days of storage.

#### Materials and Methods

The random donor platelets were obtained by two-phase centrifugation; during the first phase the derived component was platelet-rich plasma from which platelet concentrate was obtained. They were then stored at 22°C on an agitator. Four pooled platelets (each pool containing 5 platelet concentrates from random blood donors) were examined. Platelet count, LDH (Lactate Dehydrogenase), changes in pH value, PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> sat, O<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub>, glucose and lactate concentrations were compared on the first and fifth day.

#### Results

The average of pooled- platelet count in fresh units (day 1) was  $2.7 \times 10^{11}$  and in stored units (day 5)  $2.1 \times 10^{11}$ . In stored units, platelet counts were lower as compared with fresh units. This indicates of platelet elimination during platelet storage. The pH values for all random pooled platelets were almost stable and no significant changes were observed. Changes between pH values of samples from the first day of collection and those of the fifth day of collection were very small. In fact, all pH values fell within the range of 7.4. Reduction in PO<sub>2</sub> level in comparison to PCO<sub>2</sub> level was sharply lower. In average, PO<sub>2</sub> reduction in random pooled platelets on the fifth day was 12.4 ml Hg and it was 16.8 ml Hg for PCO<sub>2</sub>. The average O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> ratio on the first day was 2.7 and this ratio on the fifth day was 3.6 which shows an increase of 1.33% in the O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> ratio on the fifth day. In fact, PO<sub>2</sub> level was higher than PCO<sub>2</sub> thus contributing to pH stability. The concentration of Lactate dehydrogenase (LDH) and Lactate considerably increased on the fifth day. The level of glucose decreased gradually from 24.8 to 21.5 m mol/l.

#### Conclusions

The results indicate that the selection of suitable bags for platelets collection and storage can keep O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> ratio significantly higher even after the fifth day of collection ; it can contribute to the preservation and storage of platelets with acceptable quality.

**Key words:** Platelet, pH, LDH

*SJIBTO 2007; 4(3): 223-229*

Received: 14 Mar 2007

Accepted: 19 Nov 2007

Correspondence: Mahmoodian Shooshtari M., PhD of Virology. IBTO-Research Center.  
P.O.Box:14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821)88601559; Fax : (+9821)88601559  
E-mail: shooshtari@ibto.ir