خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۳ شماره ۲ تابستان ۸۵ (۱۶۹-۱۶۱)

اثر زمان نگهداری بر قابلیت فیلتراسیون پلاکت‌های متراکم، قبل و بعد از نگهداری

دکتر محمود محمودیان شوشتری[۱]، علی‌اصغر دوات‌گر[۲]،دکتر مهناز آقایی‌پور[۳]

چکیده

سابقه و هدف

گلبول‌های سفید موجود در فرآورده‌های خونی، یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد واکنش‌های زیان‌بخش بیولوژیک مانند واکنش‌های تب‌زای غیر همولیتیک، واکنش‌های ایمونیزاسیون در برابر آنتی‌ژن‌های HLA و انتقال عفونت سیتومگالوویروس می‌باشند. در این تحقیق اثر زمان نگهداری، بر قابلیت فیلتراسیون پلاکت‌های متراکم جهت حذف گلبول‌های سفید، مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد وروش‌ها

در این بررسی نوع مطالعه تجربی آزمایشگاهی بود. خون کامل از اهداکنندگان داوطلب درون کیسه‌های سه‌تایی گرفته شد. در روز انجام آزمایش، پنج واحد پلاکت تازه از ۵ اهداکننده به طور تصادفی تهیه شد. پلاکت‌های متراکم مشتق شده از پلاسمای غنی از پلاکت توسط ست انتقال پلاسما به یک کیسه نگهداری UPX-80 منتقل شدند و به این صورت پلاکت‌های متراکم به شکل پولد پلاکتی ۵ تایی آماده گردیدند. پولدهای پلاکتی ۵تایی به صورت تازه و یا به صورت نگهداری شده (پنج روز پس از تهیه) فیلتراسیون شدند. تعداد کل گلبول‌های سفید و زیر گروه‌های گلبول‌های سفید در واحدهای فیلتر شده قبل و بعد از نگهداری با هم مقایسه گردیدند. برای شمارش سلول‌ها و تعیین درصد آن‌ها از روش‌های شمارش سلولی و فلوسیتومتری استفاده شد. در این بررسی از فیلترها و کیسه‌های نسل سوم استفاده گردید. نرم‌افزار آماری استفاده شده در این بررسی برنامه SPSS نسخه ۱۰ بود. محاسبات آماری در ابتدا شامل سنجش و اندازه‌گیری آمار توصیفی و مرحله بعد شامل تجزیه و تحلیل آماری بود که برای مقایسه میانه‌ها در دو گروه از آزمون Wilcoxon استفاده‌شد.

یافته‌ها

نتایج نشان می‌دهد که تعداد کل گلبول‌های سفید قبل از فیلتراسیون به طور معنی‌داری در واحدهای تازه بالاتر از واحدهای نگهداری شده می‌باشد در حالی‌که در نمونه‌های بعد از فیلتراسیون تعداد گلبول سفید به طور معنی‌داری در واحدهای تازه کمتر از واحدهای نگهداری شده است. به علاوه اگر چه شمارش مطلق گلبول سفید به شکل معنی‌داری کاهش فراوان می‌یابد، فیلتراسیون، یک سری تغییراتی را به طور نسبی بر زیر گروه‌های گلبول‌های سفید به وجود می‌آورد. در حالی‌که درصد سلول‌های T کاهش می‌یابد، درصد سلول‌های منوسیت و لنفوسیت B به طور نسبی افزایش می‌یابد.

نتیجه گیری

در نهایت این که فیلتراسیون قبل از نگهداری (Pre-Storage) و فیلتراسیون بعد از نگهداری (Post-Storage) محصول نهایی، در کاهش گلبول‌های سفید مؤثر هستند ولی فیلتراسیون واحدهای تازه از قابلیت بالاتری در کاهش گلبول‌های سفید خون برخوردار است.

کلمات کلیدی: گلبول‌های سفید، پلاکت‌های متراکم، فیلتراسیون، خون

تاریخ دریافت : ۸۴/ ۱/۲۴
تاریخ پذیرش : ۸۴/۱۲/ ۲

۱ ـ مؤلف مسؤول: PhD ویروس شناسی بالینی ـ استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران ـ صندوق پستی ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵
۲ ـ کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون ـ بیمارستان جندی شاپور ـ دانشگاه علوم پزشکی اهواز
۳ ـ متخصص آسیب شناسی بالینی و تشریحی ـ استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-17]

مقدمه

گلبول‌های سفید موجود در خون و فرآورده‌های خونی یکی از عوامل عمده در ایجاد واکنش‌های مضر بیولوژیک مانند واکنش‌های تب‌زای غیر همولیتیک، واکنش‌های ایمونیزاسیون در برابر آنتی‌ژن‌های HLA، انتقال عفونت‌های سیتومگالو ویروس (CMV)، ویروس ابشتن ـ بار (EBV) و گونه‌های یرسینیا می‌باشند.

به خوبی روشن شده است که زیر گروه‌های مختلف گلبول‌های سفید می‌توانند به طور انتخابی بعضی از عوامل عفونی مانند ویروس‌های سیتومگال، ابشتن بار و باکتری یرسینیا را در خود نگه دارند و بدین ترتیب قادرند عفونت را از طریق خون منتقل نمایند و در میزان سرایت عفونت اثرگذار باشند. همچنین ثابت شده است که زیر گروه‌های مختلف گلبول‌های سفید ممکن است واکنش‌های مختلف زیان‌باری را سبب شوند که این خود علاوه بر این‌که به نوع زیر گروه‌های مختلف گلبول سفید باقی‌مانده وابسته است، به مقدار مطلق گلبول‌های سفید نیز بستگی دارد(۱).

فیلتراسیون یا پالایش اکنون مدت‌ها است که به عنوان یکی از سودمندترین و مؤثرترین روش‌های حذف گلبول‌های سفید از فرآورده‌های پلاکتی مطرح است. اگر چه فیلتراسیون هزینه نسبتاً بالایی را طلب می‌کند ولی نسبت به روش‌های دیگر از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه‌تر می‌باشد. به منظور مؤثر واقع شدن اثر فیلتراسیون در حذف گلبول‌های سفید، استانداردهایی برای شمارش گلبول‌های سفید بعد از فیلتراسیون تعریف شده‌است، به طور مثال استاندارد اروپایی، تعداد گلبول‌های سفید زیر ۱×۱۰^{۶} در واحد خون و استاندارد آمریکایی، زیر ۵ میلیون را برای یک واحد فیلتر شده لازم می‌داند تا از بروز عوارض ناخواسته جلوگیری شود(۲). گلبول‌های سفید بنا به نوع آن‌ها از ویژگی‌های مختلفی برخوردار هستند به طور مثال منوسیت‌ها ترجیحاً به سطوح جامد خصوصاً پلاستیک می‌چسبند، در صورتی که گرانولوسیت‌ها سریعاً متلاشی شده و از بین می‌روند(۵-۳). سلول‌های T و B گرچه چسبنده نیستند ولی بروز شاخص‌های سطح سلولی خود را در محیط خارج (*In vitro*) از دست می‌دهند. تمام این خصوصیات باعث ایجاد واکنش‌های متقابل بین سلول‌ها با رشته‌های فیلتر می‌شود و ممکن است روی خصوصیات فیلتراسیون جمعیت‌های مختلف سلولی اثر بگذارد(۵-۳).

مطالعه‌های زیادی درخصوص قابلیت فیلتراسیون پلاکت‌های متراکم مشتق شده از بافی کوت جهت حذف زیر گروه‌های گلبول سفید انجام شده است. اکثر این مطالعه‌ها، وجود زیر گروه‌های اصلی گلبول‌های سفید بعد از فیلتراسیون را شناسایی کرده‌اند. تری‌اولزی و همکاران نشان دادند که فیلتراسیون به طور معنی‌داری تعداد گلبول‌های سفید در پلاکت‌های متراکم را کاهش می‌دهد(۵). ولی بعد از فیلتراسیون در جمعیت گلبول‌های سفید باقی‌مانده، سلول‌های T و B و منوسیت‌ها هنوز قابل شناسایی بودند(۶).

در مطالعه دیگری که توسط سومیمو و همکاران صورت گرفت، زیر گروه‌های گلبول سفید در فرآورده‌های پلاکتی که از راه آفرزیس و اهداکنندگان تصادفی به دست آمده بود پس از فیلتراسیون با هم مقایسه گردید(۷). این محققین گزارش کرده بودند که فیلتراسیون می‌تواند تمامی سلول‌های CD14 مثبت را حذف کند و تا حدودی نیز درصد نسبی سلول‌های CD19 را کاهش دهد.

آیه و همکاران نشان دادند که فیلتراسیون واحدهای پلاکتی می‌تواند از اقتباس و تجمع سیتوکین‌های ناخواسته در طول زمان نگهداری فرآورده و نهایتاً از بروز عوارض مضر در گیرنده جلوگیری به عمل آورد(۸). زیک و همکاران نشان دادند که کاهش لکوسیت‌ها از طریق فیلتراسیون، تاثیری بر کیفیت و کمیت پلاکت‌ها، ساختمان، عملکرد و بقای پلاکت به صورت *In vivo* و *In vitro* ندارد.

در مطالعه حاضر اثر زمان نگهداری بر قابلیت فیلتراسیون پلاکت‌های متراکم مشتق شده از پلاسمای غنی از پلاکت جهت حذف گلبول سفید مورد بررسی قرار گرفت. پلاکت‌های متراکم مشتق شده از پلاسمای غنی از پلاکت به صورت تازه (Fresh) (پولدهای ۵ تایی) و یا به صورت نگهداری شده (Stored) (۵ روز پس از نگهداری) فیلتراسیون شدند و تعداد گلبول سفید و زیر گروه‌های گلبول سفید در واحدهای فیلتر شده قبل و بعد از نگهداری

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-17]

با هم مقایسه گردیدند.

مواد و روش ها

۱- خونگیری و تهیه فرآورده پلاکتی

در این بررسی نوع مطالعه تجربی آزمایشگاهی بود. خون کامل از اهداکنندگان داوطلب در پایگاه انتقال خون تهران در کیسه‌های خونگیری ۳ تایی جمع‌آوری شد(۴۵۰ میلی‌لیتر). برای تهیه پلاکت از خون‌های تازه که چند ساعت از گرفتن آن‌ها بیشتر نگذشته بود، استفاده شد. کیسه حاوی خون کامل برای مدت ۶ دقیقه و با دور ۱۱۰۰g سانتریفوژ شد. خون به ۳ بخش گلبول قرمز در بخش تحتانی کیسه، لایه بافی کوت در بخش میانی و لایه پلاسمایی که از نظر پلاکت غنی است و در بالاترین قسمت کیسه قرار می‌گیرد، تقسیم گردید. با استفاده از دستگاه جداکننده، لایه پلاسمای غنی از پلاکت از بخش گلبول قرمز جدا شده و درون یکی از کیسه‌های جانبی رانده شد. کیسه حاوی پلاسمای غنی از پلاکت مجدداً سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ، کیسه حاوی پلاسما به دو بخش رسوب ته کیسه که غنی از پلاکت است و بخش رویی که پلاسمای کم پلاکت است تقسیم گردید. پلاسمای غنی از پلاکت متراکم (۵۰ میلی‌لیتر) در درون کیسه سوم جمع‌آوری شد. کیسه‌ها برای چند ساعت در حرارت اتاق قرار گرفت تا به تدریج توده پلاکتی فشرده شده به آرامی درون پلاسمای باقی‌مانده باز شده و به حالت سیال و سوسپانسیون درآید. سپس کیسه‌های پلاکتی روی دستگاه آژیتاتور دورانی در دمای آزمایشگاه برای یک شب قرار گرفت. در مجموع ۸۰ واحد پلاکت مورد بررسی قرار گرفت.

۲- تهیه پولدهای پلاکتی و فیلتراسیون واحدهای پلاکتی

برای انجام این طرح از پولدهای ۵ تایی پلاکتی استفاده شد. برای این منظور با رعایت کامل شرایط استریل، تک تک واحدهای پلاکتی توسط ست انتقال پلاسما که از شرکت سوپا تهیه شده بود به یک کیسه نگهداری UPX-80 که از شرکت JMS تهیه شده بود منتقل شدند (پولد ۵ تایی پلاکت به طور تقریبی ۳۵۰ تا ۳۶۰ میلی‌لیتر حجم دارد).

پلاکت‌ها را می‌توان برای مدت ۵ روز با حفظ تمام کیفیت در کیسه نگهداری UPX-80 نگهداری نمود. پولد ۵ تایی به خوبی مخلوط شده و برای نمونه‌برداری قبل از فیلتراسیون آماده گردید. سپس با استفاده از سرنگ ۱۰ میلی‌لیتری یک نمونه جهت انجام شمارش لکوسیت‌ها و تعیین زیر گروه‌های آنان از پلاکت‌های پولد شده تازه برداشت شد. ۵ روز پس از تهیه، با سرنگ دیگر حدود ۱۰ میلی‌لیتر نمونه نیز جهت انجام آزمایش‌ها از پلاکت‌های نگهداری شده تهیه شد.

برای انجام فیلتراسیون از فیلترهای مدل LRPIOSE استفاده شد. این فیلترها تهیه شده از شرکت پال، از انواع بانک خونی ودر مرحله قبل از نگهداری بود. فیلترها توانایی فیلتراسیون ۱۰ واحد پلاکت و گلبول‌های سفید را تا ۹۹/۹۹٪ یا log ۴ کاهش می‌دهد، به علاوه قابلیت بازیافت پلاکتی را در میزان بالای ۹۰ درصد دارا می‌باشد.

۳- شمارش گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها قبل و بعد از فیلتراسیون

قبل از فیلتراسیون شمارش گلبول‌های سفید و پلاکت در پولدهای فیلتر نشده توسط دستگاه کولترسیس‌مکس صورت گرفت. بعد از فیلتراسیون برای شمارش گلبول‌های سفید از یک روش شمارش توسط نوعی لام مخصوص به نام لام نژت (Nageotte) استفاده شد. این لام از حساسیت و ویژگی فوق‌العاده بالایی برخوردار است و به عنوان یک روش رفرانس قابل قبول برای شمارش پایین گلبول‌های سفید پیشنهاد شده است. شمارش پلاکت‌ها نیز بعد از فیلتراسیون توسط سیس مکس انجام گرفت.

۴- بررسی شمارش و تعیین درصد زیر گروه‌های گلبول‌های سفید با استفاده از فلوسیتومتری

برای این منظور از روش فلوسیتومتری استفاده شد. دستگاه فلوسیتومتر موجود مدل Partec III بوده که در بخش فلوسیتومتری سازمان انتقال خون موجود می‌باشد. با این روش علاوه بر تعیین درصد سلولی زیر گروه‌ها، شمارش مطلق لکوسیت‌ها نیز قابل اندازه‌گیری است. برای نشان‌دار کردن زیر گروه‌های گلبول‌های سفید از

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-17]

آنتی‌بادی‌های منوکلونال فلورسان (شرکت IQ هلند) استفاده گردید. FITC-Anti-CD3 جهت بررسی سلول‌های T، FITC-Anti-CD45 جهت بررسی جمعیت کل لکوسیت‌ها، PE-Anti-CD19 جهت بررسی سلول‌های B، PE-Anti-CD14 جهت بررسی سلول‌های منوسیت و PE-Anti-CD56 جهت بررسی سلول‌های NK مورد استفاده قرار گرفت.

به طور خلاصه پس از شماره‌گذاری لوله‌ها، به هر کدام از آن‌ها ۵ میکرولیتر از آنتی‌بادی‌های منوکلونال مربوطه اضافه شد. سپس ۲۰۰ لاندا از نمونه آزمایش به هر کدام از لوله‌ها اضافه، به خوبی مخلوط گردید و برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، پس از این مدت لوله‌ها برداشته شد و سپس با استفاده از دستگاه Q-Prep دو بار از محلول B (۲۶۵×۲ میکرولیتر) و دو بار از محلول C (۱۰۰×۲ میکرولیتر) به لوله‌ها اضافه گردید و به خوبی مخلوط شد. بعد از این مرحله ۱ میلی‌لیتر از محلول ایزوتون به هر کدام از لوله‌ها اضافه گردید، لوله‌ها را به خوبی مخلوط کرده و سپس وقایع فلورسان سلولی با استفاده از دستگاه فلوسیتومتر Partec III مشخص گردید.

۵- *روش‌های آماری*

نرم افزار آماری استفاده شده در این بررسی برنامه SPSS نسخه ۱۰ بود. محاسبات آماری در ابتدا شامل سنجش و اندازه‌گیری آمار توصیفی شامل میانه و دامنه بود. مرحله بعد شامل تجزیه و تحلیل آماری بود که برای مقایسه میانه‌ها در دو گروه از آزمون Wilcoxon استفاده شد. مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

جدول ۱ اثر نگهداری بر قابلیت فیلتراسیون گلبول‌های سفید در واحدهای تازه و نگهداری شده را نشان می‌دهد. شمارش مطلق گلبول‌های سفید قبل از فیلتراسیون به طور معنی‌داری در نمونه‌های تازه بالاتر از نمونه‌های نگهداری شده می‌باشد(شمارش $۱۳۰-۵۵۰\times۱۰^{۶}$ (p=۰/۰۱۲)).

هم‌چنین در نمونه‌های فیلتر شده، شمارش مطلق گلبول‌های سفید به طور معنی‌داری در نمونه‌های تازه کمتر از نمونه‌های نگهداری شده (۵ روزه) بود (شمارش $۰/۳۱\times۱۰^{۶}$ در مقابل $۰/۵\times۱۰^{۶}$ و دامنه $۰/۲۵-۰/۴۸\times۱۰^{۶}$ در مقابل $۰/۳۷-۰/۸\times۱۰^{۶}$ (p=۰/۰۱۳)).

جدول ۱: مقایسه اثر نگهداری بر قابلیت فیلتراسیون گلبول‌های سفید در واحدهای تازه (Fresh) و نگهداری شده (Stored) مقادیر داخل پرانتز شمارش‌ها بر حسب دامنه می‌باشد که از ۸ پولد پلاکتی به دست آمده‌است.

پلاکت‌های متراکم	Unit/ $\times۱۰^{۶}$ گلبول سفید	
	تازه	نگهداری شده
قبل از فیلتراسیون لکوسیت	۳۵۶(۱۵۵-۶۴۰)	۳۰۷(۱۳۰-۵۵۰)
بعد از فیلتراسیون لکوسیت	۰/۳۱(۰/۲۵-۰/۴۸)	۰/۵۰(۰/۳۷-۰/۸۰)

در جدول ۲ شمارش زیر گروه‌های گلبول‌های سفید بین واحدهای تازه و نگهداری شده قبل و بعد از فیلتراسیون نشان داده شده است. قابلیت فیلتراسیون در حذف گلبول‌های سفید از نمونه‌های تازه (Fresh) بالاتر از نمونه‌های نگهداری شده ۵ روزه می‌باشد. کاهش لگاریتمی با اهمیتی برای تمامی زیر گروه‌های گلبول‌های سفید در واحدهای پلاکتی تازه در مقایسه با واحدهای ۵ روز نگهداری شده وجود دارد.

جدول ۲: مقایسه کلی شمارش زیر گروه‌های گلبول‌های سفید بین واحدهای تازه (Fresh) و نگهداری شده (Stored) قبل (الف) و بعد (ب) از فیلتراسیون (CD3) سلول‌های T-cell، (CD۱۹) سلول‌های B-Cell، (CD۱۴) سلول‌های منوسیت و (CD۵۶) سلول‌های NK-Cell بر حسب میلیون ($\times۱۰^{۶}$)

الف: قبل از فیلتراسیون

شاخص	تازه		نگهداری شده	
	میانه	دامنه	میانه	دامنه
CD3	۰/۰۴۲	(۰/۰۲-۰/۰۷)	۰/۰۹	(۰/۰۴-۰/۰۱۹)
CD19	۰/۰۲۵	(۰/۰۲-۰/۰۳۴)	۰/۰۵	(۰/۰۴۴-۰/۰۷)
CD14	<۰/۰۲	(۰/۰۲-۰/۰۲۱)	<۰/۰۲	(<۰/۰۲-۰/۰۲)
CD56	۰/۰۲	(۰/۰۲-<۰/۰۲)	۰/۰۲	(<۰/۰۲-<۰/۰۲)

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-17]

ب: بعد از فیلتراسیون

شاخص	تازه		نگهداری شده	
	میانه	دامنه	میانه	دامنه
CD3	۱۰۰	(۳۶-۹۹)	۱۰۴	(۳۷-۲۰۵)
CD19	۷۵	(۴۳-۱۰۰)	۶۷	(۴۶-۹۲)
CD14	۲۸	(۱۱-۶۰)	۹	(۳-۱۹)
CD56	۱۱	(۳/۶-۲۸)	۶	(۲-۱۶)

***اعداد خارج پرانتز شمارش‌ها بر حسب میانه می‌باشد که از میانه کل ۸ پولد پلاکتی به دست آمده است.**

**** اعداد داخل پرانتز شمارش‌ها بر حسب دامنه می‌باشد که از دامنه کل ۸ پولد پلاکتی به دست آمده است.**

بحث

انتقال عوامل عفونی مانند عفونت‌های CMV، EBV و گونه‌های یرسینیا، آلوایمونیزاسیون در برابر آنتی‌ژن‌های HLA، واکنش‌های تب‌زای غیر همولیتیک بعد از انتقال خون، دوباره فعال شدن ویروس‌هایی که به لکوسیت‌ها تمایل دارند، سرکوب ایمنی متعاقب انتقال خون یا فرآورده‌های پلاکتی و ایجاد مقاومت در برابر تزریق پلاکت در بیمارانی که اصطلاحاً وضعیت رفرکتوری پیدا کرده‌اند از جمله عوارض مهمی است که توسط لکوسیت‌ها در گیرنده خون به وجود می‌آید(۱).

یکی از مؤثرترین روش‌های حذف سلول‌های سفید مزاحم (لکوسیت‌ها) از فرآورده‌های پلاکتی، فیلتراسیون یا پالایش گلبول‌های سفید است که امروزه در بیشتر مراکز انتقال خون مطرح است. به منظور مؤثر واقع شدن اثر فیلتراسیون در حذف گلبول‌های سفید، یک سری استانداردها برای شمارش گلبول‌های سفید بعد از فیلتراسیون تعریف شده است به طور مثال؛ استاندارد اروپایی، گلبول سفید زیر یک میلیون و استاندارد آمریکایی، زیر ۵ میلیون را برای یک واحد فیلتر شده لازم می‌دانند تا از بروز عوارض ناخواسته جلوگیری شود. از نقطه نظر علمی انتقال خون، فیلتراسیون گلبول سفید به کاهش تعداد گلبول‌های سفید اطلاق می‌شود و کمتر به نوع و زیر گروه‌های گلبول‌های سفید توجه و اشاره می‌شود اگر چه ممکن است بعضی از زیرگروه‌های گلبول‌های سفید مسؤول بروز نوعی خاص از واکنش‌های پیچیده و ناخواسته در گیرنده خون باشند. مانند انتقال CMV توسط منوسیت‌های آلوده، بنابراین شاید اهمیت زیر گروه‌های مختلف گلبول‌های سفید بعد از فیلتراسیون از اهمیت شمارش آن‌ها کمتر نباشد(۲).

جدول شماره ۱ اثر نگهداری بر قابلیت فیلتراسیون گلبول‌های سفید در واحدهای تازه ونگهداری شده را نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول مشخص است، فیلتراسیون به عنوان شیوه‌ای جهت کاهش گلبول‌های سفید در فرآورده‌های پلاکتی بهترین انتخاب است و گلبول‌های سفید را به طور باورنکردنی کاهش داده و به مقادیر قابل قبول استاندارد جهت تزریق پلاکت کم لکوسیت نزدیک می‌کند. هم‌چنین فیلتراسیون واحدهای پلاکتی به صورت تازه، قابلیت فیلتراسیون را در حذف لکوسیت‌ها افزایش می‌دهد و از انهدام لکوسیت‌ها در طول نگهداری ۵ روزه جلوگیری می‌کند. بنابراین کاملاً واضح است که فیلتراسیون قبل از نگهداری در مقایسه با فیلتراسیون بعد از نگهداری، از ارجحیت فراوانی برخوردار است زیرا پاسخ فیلتراسیون در حذف لکوسیت‌ها بعد از مدت نگهداری کاهش می‌یابد.

فیلتراسیون اثر کاهشی قابل توجهی بر شمارش پلاکت‌ها ندارد و کاهش پلاکت‌ها بعد از فیلتراسیون بسیار ناچیز است که از لحاظ استانداردهای بانک خون قابل قبول می‌باشد. همچنین بازیاب پلاکت بعد از فیلتراسیون در واحدهای تازه از مقادیر بالاتری نسبت به واحدهای نگهداری شده برخوردار است بنابراین بهترین روش برای حفظ پلاکت‌ها در یک محیط سالم، مغذی و عاری از مواد سمی و سیتوکین‌های مزاحم تا ۵ روز، حذف گلبول‌های سفید توسط فیلتراسیون به صورت تازه (Pre-Storage) است. اگر پلاکت‌ها به صورت واحدهای تازه در روز آماده‌سازی بلافاصله فیلتر شوند و برای مدت ۵ روز در کیسه‌های مخصوص نگهداری(UPX-۸۰) پولد شوند و در دمای اتاق به طور مطلوبی حرکت داده شوند، به خوبی حفظ شده و از کیفیت و کمیت لازم و کافی برخوردار خواهند بود. این امر به دلیل ساختمان خاص پلاستیکی کیسه‌ها می‌باشد که گازهای اکسیژن و دی‌اکسیدکربن را به

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-17]

خوبی از خود عبور داده و یک محیط گازی متعادل با تهویه مناسب را برای تنفس پلاکت‌ها به وجود می‌آورد.

در جدول شماره ۲ شمارش زیر گروه‌های گلبول‌های سفید بین واحدهای تازه و نگهداری شده قبل و بعد از فیلتراسیون مقایسه شده است. قبل از فیلتراسیون در طول مدت نگهداری مشخص شد که تغییراتی در بعضی از زیر گروه‌های گلبول‌های سفید از لحاظ درصد شمارش مطلق سلولی به وجود می‌آید به طوری که شمارش مطلق سلول‌های CD3 به طور با اهمیتی در نمونه‌های نگهداری شده بالاتر از نمونه‌های تازه می‌باشد. در نمونه‌های تازه، شمارش سلول‌های CD3، $۱۰^{۶}$×۱۰۰ و در مقابل در نمونه‌های نگهداری شده، شمارش سلول‌ها $۱۰^{۶}$×۱۰۴ می‌باشد (p=۰/۰۱۲).

شمارش مطلق سلول‌هایی با شاخص CD19، CD14 و CD56 به طور با اهمیتی در نمونه‌های نگهداری شده کمتر از نمونه‌های تازه می‌باشد.

بعد از فیلتراسیون زمانی که نمونه‌های تازه و نگهداری شده را با هم مقایسه می‌کنیم، اختلاف با اهمیتی را برای بعضی از زیرگروه‌ها می‌بینیم و بعضی هم از اهمیتی برخوردار نیستند. به طور مثال شمارش مطلق سلول‌های CD3، CD19 وCD56 در نمونه‌های نگهداری شده، بالاتر از نمونه‌های تازه می‌باشد که اختلاف معنی‌دار است. برای سلول‌های CD3، p=۰/۰۱۲، برای سلول‌های CD19، p=۰/۰۱۴ ، برای سلول‌های CD56، p=۰/۰۱۲ می‌باشد. برای سلول‌های CD14 تفاوت معنی‌داری به دست نیامد. توجیه یافته اخیر را می‌توان بر اساس وجود شاخص‌های سلولی نشان داد شاید نگهداری واحدهای پلاکت و به دنبال آن تغییرات غشاء گلبول‌های سفید و از دست دادن تعدادی از شاخص‌های سطحی، آن‌ها را در شرایط خاصی قرار می‌دهد تا با محیط و سطح فیلتر به خوبی اتصال برقرار نکنند و بدین وسیله از دست فیلتراسیون تا حدی بگریزند. برعکس فیلتراسیون واحدهای تازه پلاکت با این که از تعداد بالاتری از گلبول‌های سفید نسبت به واحدهای کهنه و ۵ روزه برخوردار است، پاسخ پالایش بسیار مناسب‌تری داشته است. شاید علت داشتن گلبول‌های سفیدی است که از لحاظ ساختمان غشایی و شاخص‌های سطحی در وضعیت بهتری از نقطه نظر فیلتراسیون قرار دارند.

تری اولزی و همکاران گزارش کرده‌اند که فیلتراسیون به شکل با اهمیتی قادر است تعداد گلبول‌های سفید را در فرآورده‌های پلاکتی به زیر یک میلیون کاهش دهد اما بعد از فیلتراسیون در جمعیت باقیمانده گلبول سفید می‌توان سلول‌های T و B و منوسیت را به تعداد بسیار کم ردیابی کرد(۶). نتایج ما در این تحقیق از لحاظ کمی بسیار نزدیک به نتایج تری اولزی بود.

در مطالعه دیگری که توسط سومیمو و همکاران صورت گرفت، زیر گروه‌های گلبول سفید در فرآورده‌های پلاکتی که از راه آفرزیس و اهداکنندگان تصادفی به دست آمده بود پس از فیلتراسیون با هم مقایسه گردید. این محققین گزارش کرده بودند که فیلتراسیون می‌تواند تمامی سلول‌های CD14 مثبت را حذف کند وتا حدودی نیز درصد نسبی سلول‌های CD19 را کاهش دهد، در مطالعه ما در فرآورده‌های فیلتر شده چه به صورت تازه یا نگهداری شده، تعداد معدودی سلول CD14 و CD19 را توانستیم ردیابی کنیم. البته شمارش مطلق گلبول‌های سفید قبل و بعد از فیلتراسیون در مطالعه ما بسیار شبیه به نتایج سومیمو بوده است زیرا در مطالعه آن‌ها نیز از منبع پلاسمایی به عنوان منبع پلاکتی استفاده شده بود(۷).

نتایج به دست آمده در مطالعه آیه و همکاران نشان داد که فیلتراسیون واحدهای پلاکتی می‌تواند از اقتباس و تجمع سیتوکین‌های ناخواسته در طول زمان نگهداری فرآورده و نهایتاً از بروز عوارض مضر درگیرنده جلوگیری به عمل آورد(۸). اینتر لوکین ۱، اینتر لوکین ۶، اینتر لوکین ۸ و TNF-α در طی روزهای سوم تا پنجم در فرآورده‌های فیلتر نشده به طور چشمگیری افزایش داشته در حالی که فرآورده‌های فیلتر شده، مقادیر بسیار کم سیتوکین (نزدیک به صفر) داشتند. همچنین این مطالعه نشان داد که حذف لکوسیت‌ها باعث بقا و استحکام فاکتور فون ویل براند خواهد شد و در نتیجه اشکال مختلف آن با وزن مولکولی بالا در فرآورده‌های پلاکتی به خوبی حفظ خواهد شد و فعالیت هموستازی از خود نشان خواهد داد.

در مطالعه‌ای که توسط لندنت و همکاران صورت

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-17]

گرفت، بررسی شمارش و زیر گروه‌های گلبول‌های سفید با شاخص‌های CD3، CD19، CD14 و CD56 بر واحدهای پلاکتی مشتق از بافی‌کوت، قبل و بعد از فیلتراسیون روی واحدهای تازه و نگهداری شده انجام شد(۹). نتایج به دست آمده توسط این گروه از محققین از لحاظ کیفی در بسیاری از جهات شبیه نتایج مطالعه ما بود ولی از لحاظ کمی تفاوت‌هایی به چشم می‌خورد. علت این اختلاف، استفاده این گروه از پلاکتی بوده است که از منشاء بافی‌کوت استخراج شده بود.

همین مساله باعث شده بود که نتایج کمی آنان با مطالعه ما تفاوت داشته باشد. از طرفی این گروه همچنین برای نگهداری پلاکت خود برای مدت ۵ روز، از یک محیط نگهدارنده پلاکت به نام باکستر، T-sol که یک محیط مایع است استفاده کرده‌اند و این در حالی است که در مطالعه ما پلاکت‌ها در محیط پلاسمای اتولوگ برای ۵ روز نگهداری شده‌اند. بنابراین وجود نتایج کمی متفاوت قابل انتظار است.

در مطالعه زیک و همکاران، فیلتراسیون پلاکت‌ها قبل از نگهداری باعث شد تا pH در غلظت بالاتری قرار گیرد و PO_2 افزایش یابد در حالی که PCO_2 کاهش یافت(۱۰). این حالت در پلاکت غنی شده از لکوسیت دیده نشد. در نهایت نشان دادند که کاهش لکوسیت‌ها از طریق فیلتراسیون، تاثیری بر کیفیت و کمیت پلاکت‌ها، ساختمان، عملکرد و بقای پلاکت چه به صورت *In vivo* و *In vitro* ندارد.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه نتایج این بررسی نشان می‌دهد که فیلتراسیون قبل از نگهداری نسبت به فیلتراسیون بعد از نگهداری از ارجحیت بالاتری برخوردار است و به نحو چشمگیری در کاهش تعداد مطلق گلبول‌های سفید اثر می‌گذارد. فیلتراسیون می‌تواند درصد نسبی زیر گروه‌های گلبول سفید را در واحدهای تازه و نگهداری شده ۵ روزه تغییر دهد. اهمیت بالینی فیلتراسیون در جلوگیری از اثرات سیتوکین‌ها، لنفوکین‌ها و دیگر مواد توکسیک و سیتولیتیک نیز بسیار مهم است چه این فاکتورها نه تنها بر روی پلاکت‌ها اثر تخریبی شدید دارند بلکه باعث القای یک‌سری واکنش‌های ناخواسته درگیرنده پلاکت می‌شوند. از آن‌جایی‌که فیلتراسیون هزینه نسبتاً بالایی را طلب می‌کند و شاید نتوان به زودی تشکیلاتی را در مراکز انتقال خون و یا حتی در بانک خون بیمارستان‌ها به وجود آورد که به طور گسترده و فراگیر فرآورده‌های خونی و خصوصاً پلاکت را فیلتر نموده و به بیماران تزریق نماید، لااقل می‌توان فرآورده فیلتر شده و کم لکوسیت را برای آن دسته از بیماران که از لحاظ وضعیت پاتولوژیک در گروه پرخطر قرار می‌گیرند، تهیه کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از خانم دکتر عطارچی مدیر کل پایگاه منطقه‌ای و آموزشی انتقال خون تهران که در زمینه تهیه فرآورده‌های پلاکتی کمک و همراهی نموده‌اند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-17]

References :

1- Dzik WH, Szczepiorkowski ZM. Leukocyte Reduced Product. In: Hillyer CD, *et al*, editors. Blood banking and transfusion basic, principle and practice. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2003: 219-237.
2- Guide to the Preparation, use and quality assurance of blood components, Strasbourg, Council of Europe, 1998.
3- Classer L, Fiederlein R, Heustis D. Liquid preservation of human neutrophils stored in synthetic media at 22°C. Controled observations on storage variables. Blood 1985; 66: 267-272.
4- Lane T, Lam kin G. The effect of storage on degranulation by human neutrophils. Transfusion 1985; 25: 155-161.
5- Sprogoe-Jakobsen U, Saetre AM, Georgsen J. Preparation of white cell-reduced red cells by filtration: Comparison of a bedside filter and two blood filter system. Transfusion 1995; 35(5): 13-19.
6- Triulzi DJ, Meyer EM, Donnenberg AD. WBC subset analysis of WBC reduced platelet components. Transfusion 2000; 40: 771-780.
7- Sowemimo- Coker SO, Kim A, Tribble E. White cell subsets in apheresis and filtered platelet concentrations. Transfusion 1998; 38: 650-657.
8- Aye MT, Palmer DS, Giuivi A. Effect of filtration of platelet concentrates on the accumulation of cytokines and platelet release factors during storage. Transfusion 1995; 35: 117-124.
9- Ledent EW, Semple J, Berlin G. White blood cell subsets in Buffy coat drived platelet concentrates. The effect of pre and post storage filteration. Vox 2000; 79: 235-241.
10- Dzik WH, Cusack WF, Sherburne B. The effect of prestorge white cell reduction on the function and viability of stored platelet concentrates. Transfusion 1992; 32: 334-339.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-17]

The effect of pre- and post-storage filtration on platelet rich plasma-derived platelet concentrates

Mahmoodian Shooshtari M.[1](PhD), Davatgar A.[2](MSc), Aghaipour M.[1](MD)

[1]Iranian Blood Transfusion Organization-Research Center
[2]Joundi Shapour Hospital, Ahwaz Medical Sciences University

Abstract

Background and Objectives

White blood cells (WBCs) in blood products are the major stimulus for a number of detrirmental biological reactions including febrile nonhemolytic transfusion reactions, alloimmunization against HLA antigens, and cytomegalovirus transmission. In this study, our objective was to study the effect of storage time on the filtration of platelet concentrates (PCs). The total number of white blood cells as well as the distribution of WBC subsets in PC units filtered before and after storage was compared.

Materials and Methods

In this experimental study, platelet-rich plasma-derived PCs (5 pooled units) were filtered both fresh and after 5 days of storage; then, the total number of WBCs was calculated by flow cytometry and cell counting. WBC subsets were analyzed by flow cytometry with three-color fluorescence. In this study, the third genaration bags and filters were used.

Results

Before filtration, the total number of WBC was significantly higher in fresh units compared with stored units, whereas in postfiltration samples the number of white blood cells was significantly lower in the fresh compared with the stored units. Although the absolute number of WBCs significantly reduced, filtration induced significant changes in proportion in subsets in both fresh and stored units; the percentage of B cells and monocytes increased after filtration.

Conclusions

Both pre- and post-storage WBC filtration affect the proportions of WBCs in the final product but pre-storage WBC filtration of platelet concentrates is superior than post-storage WBC filtration.

Key words: White blood cells, Platelet concentrates, Blood, Filtration
SJIBTO 2006; 3(2): 161-169

Received: 13 Apr 2005
Accepted:21 Feb 2006

Correspondence: Mahmoodian Shooshtari M., PhD of Clinical Virology. IBTO- Research Center
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (09821)88601599; Fax : (09821)88601559
E-mail: *shooshtari@ibto.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-17]