خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۰ شماره ۴ زمستان ۹۲ (۳۲۵-۳۱۹)

مقاله پژوهشی

تاثیر مهارگر کاسپاز ۳ بر بقای پلاکت کنسانتره در طول زمان ذخیره

رضا شیری[۱]، فاطمه یاری[۲]، ناصر امیری‌زاده[۳]، احمد قره‌باغیان[۴]، مینو احمدی‌نژاد[۵]، محمدرضا طباطبایی[۶]

چکیده

سابقه و هدف

زمان نگهداری فرآورده کنسانتره پلاکتی به ۵-۳ روز محدود می‌شود. یکی ازعلل آن، پدیده آسیب‌های زمان ذخیره(storage lesion)، آسیب به سلول‌های پلاکتی و نهایتاً آپوپتوز است که در طول مدت نگهداری در این سلول‌ها القا می‌شود. مطالعه‌ها نشان داده است که آپوپتوز در بعضی سلول‌های بدون هسته و از جمله پلاکت‌ها نیز رخ می‌دهد. در این مطالعه، به کارگیری مهارگرآنزیم کاسپاز۳ در زمان ذخیره پلاکت کنسانتره در دستیابی به پلاکتی با طول عمر بیشتر مورد ارزیابی قرار گرفت .

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع بنیادی ـ کاربردی بود. بعد از تهیه و آماده کردن نمونه‌های پلاکتی، پپتید مهارگر کاسپاز۳ به کیسه‌های کنسانتره پلاکتی تزریق شد. این کیسه ها به همراه کیسه‌های کنترل که فاقد مهارگر بودند، به مدت ۷ روز در شیکر انکوباتور ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در طول مدت نگهداری از کیسه های اصلی و کنترل نمونه‌برداری شده، فعالیت کاسپازی وبقای پلاکت‌ها در آن‌ها ارزیابی شد.

یافته‌ها

در پلاکت‌های دریافت‌کننده پپتید مهارگر، کاهش معنادار فعالیت کاسپازی در مقایسه با گروه کنترل ملاحظه شد($p< ۰/۰۵$). از طرفی مطالعه نشان داد در حالی که میزان بقای سلول‌های پلاکتی در طول مدت نگهداری آن‌ها با گذشت زمان کاهش می‌یابد، کیسه‌های دریافت‌کننده پپتید مهارگر کاسپاز نسبت به کیسه‌های کنترل که فاقد داروی مهارگر بودند، به طور معناداری میزان بقای بالاتری را نشان دادند($p< ۰/۰۵$).

نتیجه گیری

تزریق پپتید مهارگر کاسپاز ۳ در زمان مناسب از ذخیره پلاکتی و در دوز مناسب می‌تواند باعث کاهش فرآیند آپوپتوز و افزایش بقا در پلاکت‌های ذخیره شده به مدت ۷ روز شود.

کلمات کلیدی: پلاکت‌ها، کاسپاز ۳، مهارگرهای کاسپاز

تاریخ دریافت : ۹۱/۵/۲۸
تاریخ پذیرش : ۹۲/۵/۲۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد هماتولوژی و بانک خون ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۲- مؤلف مسؤول: PhD ایمنی‌شناسی پزشکی ـ دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵
۳- PhD هماتولوژی و بانک خون ـ استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۴- PhD ایمونوهماتولوژی بالینی ـ دانشیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ـ مرکز تحقیقات بیماری‌های مادرزادی خونی کودکان دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ـ تهران ـ ایران
۵- متخصص آسیب‌شناسی ـ استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۶- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

مقدمه

با این که آپوپتوز در سلول‌های هسته‌دار اتفاق می‌افتد، مشخص شده است که علاوه بر سلول‌های هسته‌دار، سلول‌های فاقد هسته مانند پلاکت‌ها هم دچار فرآیند آپوپتوز می‌شوند. مهم‌ترین اندامک دخیل در آپوپتوز پلاکت‌ها، میتوکندری است. پلاکت‌ها با وجود این که فاقد هسته و DNA درون هسته هستند، قابلیت ساخت پروتئین‌های درگیر در آپوپتوز را دارا می‌باشند(۲، ۱). در پلاکت‌ها میتوکندری‌ها نقش مهمی در بقا و نیز تنظیم مرگ سلولی ایفا می‌کنند. آن‌ها از طرفی عامل تنفس سلولی و ایجاد انرژی بوده و از طرف دیگر، در آپوپتوز سلول نقش دارند.

یونوفور کلسیم و نیز آگونیست‌های فعال‌کننده پلاکتی مثل ترومبین، کلاژن و ترومبوکسان A2 می‌توانند سبب القای آپوپتوز در پلاکت‌ها شوند، هم چنین در پلاکت‌هایی که به مدت طولانی در دمای اتاق در بانک خون نگهداری می‌شوند، آپوپتوز رخ می‌دهد. نگهداری پلاکت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد باعث القای آپوپتوز می‌شود(۶-۳).

با توجه به این که مدت زمان نگهداری فرآورده پلاکت در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد محدود به ۳ الی ۵ روز می‌باشد، لذا به منظور حفظ پایداری بیشتر پلاکت و افزایش زمان نگهداری این فرآورده، تلاش‌های فراوانی در دست انجام است. طبق مطالعه‌های انجام شده علت محدود بودن زمان نگهداری این فرآورده آن است که در طی زمان ذخیره‌سازی پلاکت‌ها، پدیده آسیب در زمان ذخیره (storage lesion) در آن‌ها رخ می‌دهد که طی آن ساختار، بیوشیمی و عملکرد پلاکت‌ها دچار تغییر شده و در نهایت مرگ برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) در آن‌ها القا می‌شود(۷).

کاسپازها جزو خانواده سیستئین پروتئازها هستند که نقش محوری در شروع و فاز اجرایی آپوپتوز ایفا می‌نمایند. به دنبال فعال شدن، این آنزیم‌ها روی سوبستراهای خود عمل نموده و تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیک در سلول آپوپتوتیک ایجاد می‌نمایند. بنابراین ارزیابی فعالیت آنزیم‌های کاسپاز به عنوان یک شاخص بیوشیمیایی آپوپتوز مطرح می‌باشد که در این بین نقش کاسپاز ۳ بسیار مهم است(۹، ۸).

مطالعه میزان بقای پلاکت‌ها در حضور یا فقدان حضور یک پپتید مهارکننده کاسپاز ۳ ، هدف این تحقیق می‌باشد. در رابطه با به کارگیری این پپتیدها در فرآورده پلاکت انسانی به صورت کنسانتره، مطالعه‌های محدودی وجود دارد. از جمله در مطالعه‌ای در رابطه با پلاکت تهیه شده به روش آفرزیس، تاثیر مهارکننده‌های کاسپاز در رابطه با بهینه کردن کیفیت پلاکت کنسانتره به دلیل این که در پلاکت‌ها، فعال شدن کاسپازها یک واقعه تاخیری محسوب می‌شود، نفی می‌گردد(۱۰). در حالی که مطالعه‌های دیگر در لوله آزمایش و یا در حیوانات انجام شده و اثبات کننده این تاثیر می‌باشند(۱۲، ۱۱). در پاسخ به تاثیرگذاری و یا عدم تاثیرگذاری پپتیدهای مهارگر در رابطه با حفظ بهتر کیفیت پلاکت کنسانتره، این مطالعه صورت گرفته و امید است یافته‌های حاصل از این پژوهش بتواند به شناخت روش‌های مناسب و کاربردی جهت ایجاد تاخیر در آپوپتوز در طول زمان ذخیره پلاکت کنسانتره کمک نماید.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه بنیادی ـ کاربردی، واحدهای کنسانتره پلاکتی از اهداکنندگان خون مراجعه‌کننده به پایگاه انتقال خون تهران به شکل تصادفی تهیه گردید. با توجه به این که جهت تکمیل آزمایش‌های غربالگری ویروسی(HIV، HCV و HBV) روی کنسانتره‌های پلاکتی، زمان لازم بود، لذا کنسانتره پلاکتی ۱۲ تا ۲۴ ساعت پس از زمان خونگیری تحویل گرفته شدند.

برای تقسیم هر کیسه کنسانتره پلاکتی در سیستم بسته، لازم بود از کیسه‌های جمع‌آوری خون که حاوی ۲ الی ۳ کیسه اقماری و ۱ کیسه حاوی ماده ضد انعقاده/نگهدارنده (CPDA) بود، استفاده شود. کیسه‌های اقماری دوتایی با کوردهای مناسب و استریل برای اتصال به هر کدام از کنسانتره‌های پلاکتی استفاده شد. اتصال کیسه‌های اقماری به کیسه‌های حاوی کنسانتره پلاکتی باید به شکل استریل و در یک سیستم بسته انجام می‌شد، برای نیل به این هدف، از دستگاه متصل کننده(connecting device) استفاده شد که به صورت استریل امکان اتصال کوردهای کیسه را بدون باز

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

کردن کیسه‌ها فراهم می‌نماید.

جهت مهار آپوپتوز سلولی، از یک پپتید سنتتیک به نام Z-DEVD-FMK (بیوویژن) استفاده شد که به طور برگشت‌ناپذیری فعالیت کاسپاز ۳ را مهار می‌کند. به منظور تسهیل نفوذ این مهارگر به داخل سلول و مهار کاسپاز که درون سلول حضور دارند، این مهارگر حاوی متیل استراز می‌باشد. پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی و استفاده از غلظت‌های متفاوت پپتید مهارگر کاسپاز(غلظت ۸ میکرومول تا ۳۲ میکرومول)، در نهایت غلظت ۱۶ میکرومول آن جهت کیسه‌های پلاکتی انتخاب گردید. تزریق پپتید مهارگر کاسپاز ۳ به کیسه‌های پلاکت در روز سوم ذخیره کیسه و در غلظت ۱۶ میکرومول انجام و مجدداً کیسه‌ها به شیکر انکوباتور ۲۲ درجه سانتی‌گراد بازگردانده شدند تا در روزهای چهارم و هفتم نمونه‌برداری شوند. لازم به ذکر است در مجموع ۳۰ کنسانتره پلاکتی شامل ۱۵ نمونه آزمایش و ۱۵ نمونه کنترل استفاده شد.

جهت بررسی فعالیت کاسپاز ۳ پلاکتی در روزهای ۴ و ۷ نگهداری کنسانتره پلاکتی، از کیت Caspase assay (بیوویژن) استفاده شد(۱۳). برای انجام این آزمایش ابتدا ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌ها را با ۸۰ میکرولیتر از بافر PBS رقیق کرده، جهت لیز به آن‌ها ۱۰۰ میکرولیتر بافر Cell Lyse اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از ۳۰ دقیقه نمونه‌ها با دور ۳۳۰۰ g به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند تا لاشه پلاکت‌ها جدا شوند. سپس عصاره‌رویی حاصل از این سانتریفیوژ به میکروتیوب‌های دیگر منتقل شده و غلظت پروتئینی آن‌ها در حضور نمونه‌های استاندارد و به روش Bradford سنجیده شد. غلظت نهایی عصاره پلاکتی برای سنجش فعالیت کاسپازی ۲۰۰ µg/mL انتخاب گردید که رقیق‌سازی آن توسط بافر Dilution و درحجم نهایی ۵۰ میکرولیتر انجام شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از بافر 2x reaction/DTT به نمونه‌ها اضافه گردیده و در ادامه ۵ میکرولیتر از سوبسترای(Ac-DEVD-pNA) -acetyl-Asp-Glu-Val-Asp p-nitroanilide افزوده شد. بعد از انکوباسیون به مدت ۲ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، جذب نوری آن‌ها در طول موج ۴۰۵ nm قرائت گردید. در این آزمایش میزان فعالیت کاسپاز با سنجش میزان تجزیه سوبسترا و آزاد شدن PNA (p-nitroanilide) مشخص می‌شود که هر چه فعالیت آن بیشتر باشد PNA بیشتری تولید شده وجذب نوری بالاتر است.

جهت بررسی بقای سلول‌های پلاکتی در کیسه‌های اصلی حاوی مهارگر و کیسه‌های کنترل، از آزمایش MTT استفاده شد. در این روش، شاخص بقای سلول، حضور میتوکندری فعال و عملکرد آنزیم‌های دهیدروژناز آن‌ها در سلول می‌باشد(۱۴). برای انجام این آزمایش به ۱۰۰ میکرولیتر سلول، ۱۰ میکرولیتر از رنگ MTT اضافه کرده و ماده حاصل به مدت ۴ ساعت در انکوباتور CO_2 دار، انکوبه گردید. بعد از ۴ ساعت به هر کدام از نمونه‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر محلول حل‌کننده افزوده و بعد از ۲۴ ساعت انکوبه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، جذب نوری آن‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۷۵ نانومتر قرائت می‌شد. در این روش، میزان جذب نوری مورد انتظار در نمونه‌های تحت آپوپتوز کمتر می‌باشد. در آزمایش یاد شده رنگ زرد MTT توسط آنزیم‌های میتوکندریایی سلول‌های زنده شکسته شده و با تولید نمک رنگی فورمازان، میزان بقای سلول‌ها به واسطه جذب نوری مشخص گردید. داده‌های به دست آمده به وسیله آزمون Paired Samples T-Test مورد مقایسه قرار گرفت.

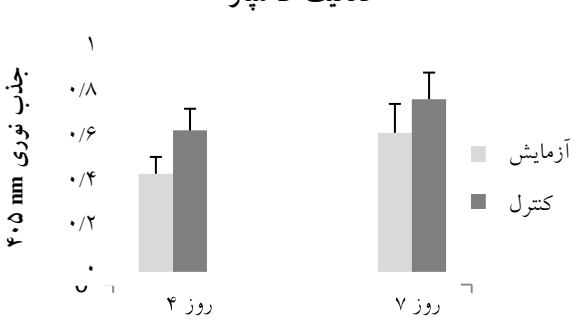
یافته‌ها

نتایج آزمایش‌های سنجش فعالیت کاسپازی در نمونه‌های روز ۴ و ۷ نشان‌دهنده کاهش فعالیت کاسپازی در پلاکت‌های دریافت‌کننده دارو در مقایسه با کنترل بود. در این غلظت از دارو، نتایج نشان داد که بین شرایط دریافت دارو و کنترل در روز چهارم و هفتم به ترتیب با p معادل ۰۰۱ /۰ و ۰/۰۱ ، اختلاف معنادار مشاهده می‌شود (شکل ۱).

از طرف دیگر نتایج این بررسی نشان داد که میزان بقای سلول‌های پلاکتی که با فعالیت متابولیکی آنزیم‌های دهیدروژناز میتوکندری در سلول متناسب می‌باشد، در زمان نگهداری با گذشت زمان کاهش می‌یابد به طوری که میزان بقای پلاکت‌ها در روز ۷ در مقایسه با روز ۴ پایین‌تر است.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

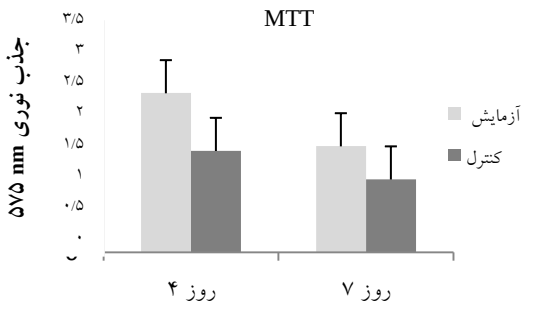
این در حالی است که میانگین بقا در نمونه‌های روز ۴ و روز ۷ ذخیره در دوز ۱۶ میکرومول از دارو، نشان‌دهنده بقای بیشتر پلاکت‌ها در کیسه‌های اصلی دریافت‌کننده مهارگر در مقایسه با کنترل می‌باشد. با توجه به p به دست آمده برای روزهای ۴ و ۷ که به ترتیب ۰/۰۰۱ و ۰/۰۵ بود، این اختلاف به نفع به کارگیری داروی مهارگر معنادار بود(جدول ۱).



نمودار ۱: نمایش میانگین فعالیت کاسپازی به صورت جذب نوری درکیسه‌های پلاکتی مربوط به روزهای ۴ و ۷ ذخیره به دست آمده از کیسه آزمایش(دریافت‌کننده پپتید مهارگر) با غلظت ۱۶ میکرومول در روز سوم نگهداری و کیسه کنترل(بدون دریافت پپتید مهارگر). بین شرایط دریافت دارو و کنترل در روز چهارم و هفتم به ترتیب با p-value معادل ۰۰۱ /۰ و ۰/۰۱ اختلاف معنادار مشاهده می‌شود. لازم به ذکر است فعالیت کاسپازی به صورت جذب نوری در طول موج nm ۴۰۵ منظور شده است.

جدول ۱: میانگین نتایج OD در آزمایش MTT در نمونه‌های کیسه پلاکتی مربوط به روزهای ۴ و ۷ ذخیره به دست آمده از کیسه اصلی(دریافت‌کننده پپتید مهارگر با غلظت ۱۶ میکرومول در روز سوم نگهداری) و کیسه کنترل(بدون دریافت پپتید مهارگر)

روز نمونه‌گیری / نمونه	میانگین نتایج OD در آزمایش MTT در روز چهارم	میانگین نتایج OD در آزمایش MTT در روز هفتم
کیسه اصلی	۲/۴۴ ± ۰/۶۱	۱/۶۱ ± ۰/۸
کیسه کنترل	۱/۸۵ ± ۰/۷۰	۱/۰۹ ± ۰/۵۶
p-value	۰/۰۰۱	۰/۰۵



نمودار ۲: نمایش میانگین نتایج آزمایشMTT در نمونه‌های کیسه پلاکتی مربوط به روزهای ۴ و ۷ ذخیره به دست آمده از کیسه اصلی Test (دریافت‌کننده پپتید مهارگر با غلظت ۱۶ میکرومول در روز سوم نگهداری) و کیسه کنترل(بدون دریافت پپتید مهارگر)

بحث

در پلاکت‌های دریافت‌کننده پپتید مهارگر، کاهش معنادار فعالیت کاسپازی در مقایسه با گروه کنترل ملاحظه شد. از طرفی مطالعه نشان داد میزان بقای سلول‌های پلاکتی در طول مدت نگهداری آن‌ها در کیسه‌های دریافت‌کننده پپتید مهارگر کاسپاز نسبت به کیسه‌های کنترل که فاقد داروی مهارگر بودند، به طور معناداری میزان بقای بالاتری را نشان دادند.

زمان کوتاه نگهداری فرآورده پلاکت، موجب کاهش ذخیره پلاکتی شده و بانک خون را ملزم به تولید روزانه آن می‌کند، لذا به منظور حفظ پایداری بیشتر پلاکت و افزایش زمان نگهداری این فرآورده، تلاش‌هایی در دست انجام است(۱۵).

طبق مطالعه‌های انجام شده با توجه به این که در طی ذخیره‌سازی پلاکت‌ها، پدیده آسیب‌های زمان ذخیره در آن‌ها رخ می‌دهد که طی آن مرگ برنامه‌ریزی شده(آپوپتوز) در آن‌ها القا می‌شود، چنانچه بتوان با مهار یا کاهش میزان آپوپتوز، زمان پایداری پلاکت را افزایش داد، از هدر رفتن واحدهای پلاکتی جلوگیری خواهد شد. با توجه به این امر در مطالعه‌ای که انجام شد از مهارگر اختصاصی کاسپاز ۳ استفاده شد تا بقای مطلوب‌تر پلاکتی با مهار آپوپتوز صورت گیرد.

حاصل این مطالعه نشان داد به کارگیری این داروی مهارگر در مقدار مناسب، می‌تواند سبب مهار فعالیت

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

آنزیم‌های کاسپاز و افزایش در میزان بقای پلاکت کنسانتره در طول زمان نگهداری شود(آزمایش‌ها در غلظت‌های ۸ میکرومول دارو شروع و تا غلظت ۳۲ میکرومول آن ادامه یافته و در نهایت غلظت ۱۶ میکرومول به دلیل نتیجه بهتر انتخاب شد). این غلظت شبیه غلظت به کار گرفته شده توسط کهن و همکارانش است که از مهارکننده عمومی کاسپاز(Z-VAD-FMK) ، با غلظت ۲۰ میکرومول جهت پلاکت به دست آمده از خون Rat در لوله آزمایش استفاده نمودند(۱۲). مطالعه‌هایی صورت گرفته که نشان می‌دهند آپوپتوز، علاوه بر سلول‌های هسته‌دار، در پلاکت‌های فاقد هسته نیز روی می‌دهد(۲۰-۱۶). به عنوان مثال در مطالعه‌های اولیه در سال ۱۹۹۹، شربینا نقش کاسپازها را در پلاکت‌ها بیان نمود(۸). در زمینه روش‌های مؤثر در مهار آپوپتوز در پلاکت‌ها، استفاده از پپتید مهارگر کاسپاز، در مطالعه‌های معدودی صورت گرفته که غالباً در ارتباط با فرآورده کنسانتره پلاکتی نبوده‌اند.

پیگوئت و همکارانش در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۲ انجام دادند، نشان دادند که استفاده از نوع دیگری از مهارگر کاسپاز به نام Z-VAD-FMK می‌تواند سبب کاهش فعال‌سازی کاسپاز در پلاکت‌ها در یک مدل حیوانی مبتلا به مالاریا شود(۱۱). هر چند مطالعه ما در شرایط *in vitro* و در کیسه‌های کنسانتره پلاکتی صورت گرفت، ولی نتایجی مشابه با نتایج پیگوئت نشان داد به طوری که در هر دو، استفاده از پپتید مهارگر با کاهش فعال شدن آنزیم‌های کاسپاز در پلاکت‌ها همراه بود.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۴ توسط کوهن و همکارانش انجام شد، از مهارکننده عمومی کاسپاز-Z-VAD-FMK، با غلظت ۲۰ میکرومول جهت پلاکت به دست آمده از خون Rat در لوله آزمایش استفاده شد. نتیجه نشان داد در پلاکت‌هایی که به مدت ۴۵ دقیقه با Z-VAD-FMK مواجه شده‌اند، میزان بیان فسفاتیدیل سرین به طور مشهود کاهش پیدا می‌کند(۱۲). این مطالعه علی‌رغم بررسی اندکس‌های متفاوت، با کار ما ایده مشابه داشته و نقش یک پپتید مهارگر فعالیت کاسپازی را بر روی پلاکت بررسی می‌نماید. مطالعه کوهن هر چند مواجهه کوتاه مدت با پپتید مهارگر را در لوله آزمایش بررسی می‌نماید در مقایسه با مطالعه حاضر که در طول ۷ روز نگهداری پلاکت کنسانتره انجام شده است، می‌تواند بیانگر تاثیرگذاری سریع داروی استفاده شده در زمان کوتاه پس از افزودن آن باشد.

در سال ۲۰۰۸، کوهن و همکاران در حیوان رت مبتلا به دیابت نوع II نشان دادند که استفاده از Z-VAD-FMK که یک مهارگر عمومی کاسپازها می‌باشد، می‌تواند در فعالیت پلاکت‌ها و بیان فسفاتیدیل سرین بر سطح آن‌ها تاثیر گذارد(۲۱). لازم به ذکر است تظاهر فسفاتیدیل سرین در لایه خارجی‌تر غشای پلاسمایی، علاوه بر این که می‌تواند تا حدودی مبین فعالیت آپوپتوزی در پلاکت‌ها باشد، بلکه مرتبط با فعالیت پلاکتی و شرایط متابولیکی آن‌ها نیز می‌باشد(۲۲).

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌ها و داده‌های به دست آمده از این تحقیق و نیز استناد بر یافته‌های سایر مطالعه‌ها، می‌توان نتیجه گرفت که اگر مهارگر کاسپاز ۳ در زمان مناسب از ذخیره پلاکت کنسانتره و در غلظت مناسب به کیسه پلاکت تزریق شود، می‌تواند در میزان فعالیت میتوکندریایی و بقای پلاکت کنسانتره تاثیر مثبت داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد هماتولوژی مصوب مرکز تحقیقات مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را به خاطر حمایت مالی و معنوی مؤسسه ابراز می‌دارند.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

References:

1- Leytin V, Freedman J. Platelet apoptosis in stored platelet concentrates and other models. Transfus Apher Sci 2003; 28(3): 285-95.
2- Brown SB, Clarke MC, Magowan L, Sanderson H, Savill J. Constitutive death of platelets leading to scavenger receptor-mediated phagocytosis. A caspase-independent cell clearance program. J Biol Chem 2000; 275(8): 5987-96.
3- Bertino AM, Qi XQ, Li J, Xia Y, Kuter DJ. Apoptotic markers are increased in platelets stored at 37 degrees C. Transfusion 2003; 43(7): 857-66.
4- Leytin V, Allen DJ, Mykhaylov S, Mis L, Lyubimov EV, Garvey B, *et al*. Pathologic high shear stress induces apoptosis events in human platelets. Biochem Biophys Res Commun 2004; 320(2): 303-10.
5- Köhler C, Orrenius S, Zhivotovsky B. Evaluation of caspase activity in apoptotic cells. J Immunol Methods 2002; 265(1-2): 97-110.
6- Salvioli S, Ardizzoni A, Franceschi C, Cossarizza A. JC-1, but not DiOC6(3) or rhodamine 123, is a reliable fluorescent probe to assess delta psi changes in intact cells: implications for studies on mitochondrial functionality during apoptosis. FEBS Lett 1997; 411(1): 77-82.
7- Shrivastava M. The platelet storage lesion. Transfus Apher Sci 2009; 41(2): 105-13.
8- Shcherbina A, Remold-O'Donnell E. Role of caspase in a subset of human platelet activation responses. Blood 1999; 93(12): 4222-31.
9- 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.
10- Plenchette S, Moutet M, Benguella M, N'Gondara JP, Guigner F, Coffe C, *et al*. Early increase in DcR2 expression and late activation of caspases in the platelet storage lesion. Leukemia 2001; 15(10): 1572-81.
11- Piguet PF, Kan CD, Vesin C. Thrombocytopenia in an animal model of malaria is associated with an increased caspase-mediated death of thrombocytes. Apoptosis 2002; 7(2): 91-8.
12- Cohen Z, Wilson J, Ritter L, McDonagh P. Caspase inhibition decreases both platelet phosphatidylserine exposure and aggregation: caspase inhibition of platelets. Thromb Res 2004; 113(6): 387-93.
13- Cohen Z, Gonzales RF, Davis-Gorman GF, Copeland JG, McDonagh PF. Thrombin activity and platelet microparticle formation are increased in type 2 diabetic platelets: a potential correlation with caspase activation. Thromb Res 2002; 107(5): 217-21.
14- Maekawa Y, Yagi K, Nonomura A, Kuraoku R, Nishiura E, Uchibori E, *et al*. A tetrazolium-based colorimetric assay for metabolic activity of stored blood platelets. Thromb Res 2003; 109(5-6): 307-14.
15- Ohto H, Nollet KE. Overview on platelet preservation: better controls over storage lesion. Transfus Apher Sci 2011; 44(3): 321-5.
16- Piguet PF, Vesin C, Da Kan C. Activation of platelet caspases by TNF and its consequences for kinetics. Cytokine 2002; 18(4): 222-30.
17- Wadhawan V, Karim ZA, Mukhopadhyay S, Gupta R, Dikshit M, Dash D. Platelet storage under *in vitro* condition is associated with calcium-dependent apoptosis-like lesions and novel reorganization in platelet cytoskeleton. Arch Biochem Biophys 2004; 422(2): 183-90.
18- Perrotta PL, Perrotta CL, Snyder EL. Apoptotic activity in stored human platelets. Transfusion 2003; 43(4): 526-35.
19- Skripchenko A, Myrup A, Thompson-Montgomery D, Awatefe H, Moroff G, Wagner SJ. Periods without agitation diminish platelet mitochondrial function during storage. Transfusion 2010; 50(2): 390-9.
20- Leytin V. Apoptosis in the anucleate platelet. Blood Rev 2012; 26(2): 51-63.
21- Cohen Z, Davis-Gorman G, McDonagh PF, Ritter L. Caspase inhibition of platelet activation. Blood Coagul Fibrinolysis 2008; 19(4): 305-9.
22- Lai M, Rumi C, D'Onofrio G, Puggioni PL, Menichella G, Candido A, *et al*. Phosphatidylserine exposure in platelet concentrates during the storage period: differences between the platelets collected with different cell separators. Transfus Apher Sci 2002; 27(3): 239-45.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2014; 10(4): 319-325

Original Article

Effects of caspase 3 inhibitor on the survival of platelet concentrate during storage

Shiri R.[1], Yari F.[1], Amirizadeh N.[1], Gharehbaghian A.[2,3], Ahmadinejad M.[1], Tabatabaie M.R.[1]

[1]Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran
[2]Paramedical Faculty, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3]Pediatric Congenital Hematologic Disorders Research Center of Shahid Beheshti University of Medical Sciences,Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

The time for platelet concentrate storage is 3 to 5 days. One of the limitations for platelet storage was storage lesion in which they lose their viability and undergo apoptosis. Studies show that apoptosis occurs in some anucleated cells such as platelets. In this study, the caspase 3 inhibitor was employed in platelet concentrates to obtain platelets with higher survival.

Materials and Methods

After preparation of platelet concentrates, caspase3 inhibitor (16 μM) was injected to the test bags. These bags along with control bags which lacked the inhibitor were stored at 22°C in shaker incubator for 7 days. Samples from these bags were obtained and the activity of caspase3 and the survival levels of platelets were analyzed.

Results

In the presence of caspase3 inhibitor, the activity of caspase3 in platelets decreased compared to the control group. Additionally, this study showed that the survival of platelets decreased during storage but in the presence of caspase3 inhibitor the survival of platelet concentrate was significantly higher than that of the control group ($p<0.05$).

Conclusions

Injection of caspase3 inhibitor to the platelet concentrate can reduce apoptosis and therefore increase their survival.

Key words: Platelets, Caspase 3, Caspase Inhibitors

Received: 18 Aug 2012
Accepted: 14 Aug 2013

Correspondence: Yari F., PhD of Immunology. Associate Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82052237; Fax: (+9821) 88601555
E-mail: *f.yari@ibto.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]