

استرس اکسیداتیو وابسته به ذخیره سازی در فرآورده های پلاکتی اشعه دیده با پرتو گاما

فاطمه کیانی نوده^۱، مهران قاسم زاده^۲، احترام السادات حسینی^۳

چکیده

سابقه و هدف

پروتو تابی فرآورده های پلاکتی یک اقدام درمانی مناسب جهت پیشگیری از بروز بیماری پیوند علیه میزبان ناشی از تزریق خون در گیرندگان مستعد می باشد. با این وجود، برخی از مطالعه ها حاکی از کاهش بازیابی پلاکت پس از تزریق و تشدید آسیب های دوران نگهداری متعاقب تابش اشعه گاما هستند. علاوه بر این، القای شرایط اکسیدان به ویژه افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن متعاقب تیمار فرآورده های پلاکتی با اشعه گاما در برخی مطالعه ها مشاهده شده است. نظر به تاثیر گونه های فعال اکسیژن بر القای فرآیند آسیب دوران نگهداری پلاکت، مقاله مروری حاضر، ضمن معرفی منابع تولید گونه های فعال اکسیژن و نقش آن ها در پلاکت ها، به بحث در رابطه با نحوه بروز و اهمیت استرس اکسیداتیو وابسته به دوران ذخیره سازی در فرآورده های پلاکتی اشعه دیده با گاما پرداخته است. بدین منظور واژه های کلیدی در پایگاه های اطلاعاتی PubMed، MEDLINE و Google scholar جستجو شد و در نهایت ۶۶ مقاله مورد استناد قرار گرفت.

کلمات کلیدی: انتقال خون، پلاسمای غنی از پلاکت (PRP)، اشعه گاما

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۹

۱- PhD هماتولوژی آزمایشگاهی و علوم انتقال خون - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

۲- PhD بیوشیمی - فلوشیپ پلاکت و هموستاز - استاد مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

۳- مؤلف مسئول: PhD هماتولوژی - دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵

مقدمه

پلاکت ها به عنوان کوچکترین قطعات سلولی خونی نقش مهمی در هموستاز و ترومبوز دارند و اغلب به منظور پیشگیری یا درمان خونریزی در بیماران مبتلا به ترومبوسیتوپنی یا نقص در عملکرد پلاکت تزریق می شوند (۲، ۱).

فرآورده های پلاکتی معمولاً به روش آفرزیس و یا از خون کامل اهدایی به صورت کنسانتره پلاکتی حاصله از پلاسما غنی از پلاکت (PRP-PC، Platelet-rich plasma، platelet concentrate)، بافی کت (BC-PC، Buffycoat، platelet concentrate) و پلاکت اهداکننده رندوم (RDP، Random donor platelet) تهیه می شوند و به مدت ۵ روز در دمای ۲۰-۲۴ درجه سانتی گراد همراه با تکان یا آزیتاسیون ملایم نگهداری می شوند (۵-۳). تولید و نگهداری فرآورده های پلاکتی در محیط آزمایشگاه می تواند با تغییرات مخربی در ساختار و عملکرد پلاکت ها همراه باشد که تحت عنوان آسیب دوران نگهداری (PSL: Platelet Storage Lesion) نامیده می شود (۸-۶). PSL، معمولاً به واسطه تغییراتی در مورفولوژی، متابولیک (کاهش غلظت گلوکز و افزایش تولید اسید لاکتیک)، اختلال در عملکرد میتوکندری، ریزش گیرنده های سطحی پلاکت (GPIb و GPIIb/IIIa)، اختلال در پاسخ به آگونیست های مختلف پلاکتی، ترشح محتویات گرانول ها، افزایش بیان شاخص های فعالیت (افزایش بیان CD62P و تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS)) و آپوپتوز (افزایش بیان فسفاتیدیل سرین، افزایش سطح پروتئین های پرو آپوپتوتیک مانند BAX) پلاکتی شناسایی می شود (۹). به طور کلی، عملکرد پلاکت ها حین نگهداری ممکن است به واسطه فعال شدن پلاکت ها در طی فرآیند تهیه و نگهداری و همچنین تغییر pH فعالیت آنزیم های پلاسمایی رخ دهد. استرس اکسیداتیو یکی دیگر از علل کاهش کارایی و نیمه عمر پلاکت های نگهداری شده است. علاوه بر این، مطالعه ها نشان داده اند که تولید ROS در فرآورده های پلاکتی ممکن است باعث فعال شدن پلاکت ها شده و فرآیند

PSL را تشدید کند (۱۱، ۱۰). تزریق فرآورده های پلاکتی با تغییرات PSL موجب پاکسازی سریع پلاکت های تزریقی از گردش خون بیمار و به موجب آن عدم افزایش مورد انتظار تعداد پلاکت (CCI) و عدم بهبود عوارض ترومبوسیتوپنی می شود (۹، ۱).

از سوی دیگر، تزریق فرآورده های پلاکتی با بروز برخی عوارض ناخواسته از قبیل عفونت باکتریایی، مقاومت پلاکتی و بیماری پیوند علیه میزبان (TA-GVHD) همراه است (۵). TA-GVHD، یک واکنش ایمنی نادر اما به شدت کشنده است که به واسطه حمله ایمنولوژیک لنفوسیت T زنده آلورژیک متعاقب تزریق پلاکت در افراد با نقص سیستم ایمنی رخ می دهد (۱۲). این بیماری با استفاده از فرآورده های اشعه دیده با اشعه گاما قابل پیشگیری است (۱۳). در طی فرآیند پرتوتابی، اشعه گاما می تواند موجب آسیب DNA (شکست زنجیره های DNA) شده و یا به صورت غیرمستقیم موجب تولید یون ها و رادیکال های آزاد شود. از نظر متابولیکی رادیکال های آزاد باعث تغییر ماکرومولکول های سلولی مانند DNA، لیپیدها و پروتئین ها شده و منجر به آسیب و مرگ سلول می شوند (۱۴).

مطالعه های موجود حاکی از عدم تاثیر اشعه گاما بر شاخص های کنترل کیفی فرآورده پلاکتی (شامل شمارش پلاکت، تغییرات pH و مشاهده حرکت گردابی یا سوارلینگ) حین نگهداری می باشند. با این وجود، برخی از مطالعه ها نشان داده اند که تیمار فرآورده های پلاکتی با اشعه های گاما با افزایش مارکرهای اکسیدان و شرایط اکسیداتیو سلولی مانند افزایش گلووتاتیون اکسید (GSSH) و کاهش فرم احیای گلووتاتیون (GSH) همراه است (۱۶، ۱۵). لذا با توجه به این که افزایش وضعیت استرس اکسیداتیو می تواند با تولید ترکیبات گونه های آزاد اکسیژن (ROS) و در نتیجه افزایش فعالیت پلاکت موجب افزایش فرآیند PSL و کاهش اثربخشی فرآورده های پلاکتی شود، این مطالعه مروری به تاثیر تابش اشعه گاما بر تولید گونه های فعال اکسیژن در فرآورده های پلاکتی پرداخته است.

پرتوتابی گاما در فرآورده‌های پلاکتی:

هدف از پرتوتابی فرآورده‌های پلاکتی، مهار تکثیر لنفوسیت‌های T است بدون این که آسیبی به این سلول‌ها یا سایر عناصر سلولی وارد شود (۱۷). لنفوسیت T موجود در فرآورده سلولی حاصله از اهداکننده قادر است در گیرندگان با نقص سیستم ایمنی تکثیر یافته و با تهاجم به ارگان‌های بیمار منجر به بروز تب، علایم پوستی (درماتیت با راش‌های اریتروماتوز ماکوپاولار)، هیپاتیت (افزایش آنزیم‌های کبدی)، علایم گوارشی (گاستروانتریت و اسهال) و پانسیتوپنی شدید در ۲-۳۰ روز اول پس از پیوند شود. به ساز و کار فوق، واکنش پیوند علیه میزبان ناشی از تزریق خون (TA-GVHD) گفته می‌شود.

درمان مؤثری برای این بیماری وجود ندارد و اغلب با بیش از ۹۰ درصد مرگ و میر همراه است؛ بنابراین پیشگیری از بروز TA-GVHD بسیار مهم است. تنها راه مطمئن جلوگیری از بروز چنین واکنشی، پرتوتابی فرآورده‌های سلولی خون (پلاکت، گلبول قرمز و گرانولوسیت) با اشعه گاما است (۱۸).

اشعه گاما از طریق دو روش مستقیم و غیرمستقیم می‌تواند از TA-GVHD پیشگیری کند. در روش مستقیم اشعه گاما به درون هسته سلول‌های هسته‌دار نفوذ کرده و به صورت برگشت‌ناپذیر با مواد ژنتیکی سلول هدف اتصال متقاطع ایجاد می‌کند و منجر به آسیب به DNA می‌شود در حالی که در روش غیر مستقیم، اشعه گاما به واسطه تجزیه آب و تولید یون‌ها و رادیکال‌های آزاد با پروتئین‌ها یا اسیدهای نوکلئیک (DNA و RNA) سلول هدف واکنش داده و منجر به مهار تکثیر لنفوسیت‌ها می‌شود و از بروز بیماری TA-GVHD جلوگیری می‌کند (۲۰، ۱۹، ۱۴). بر اساس دستورالعمل‌های پرتوتابی فرآورده‌های خونی با اشعه گاما، فرآورده‌های پلاکتی را می‌توان در هر مرحله از دوران نگهداری اشعه داد و تا نیمه عمر طبیعی‌شان پس از جمع‌آوری نگهداری و تزریق کرد (۲۱). دوز مناسب اشعه گاما به منظور پرتوتابی فرآورده‌های سلولی برای پیشگیری از TA-GVHD بین Gy

۵۰-۲۵ (به مدت تقریباً ۶ دقیقه) است. بدین منظور نیاز به تابش حداقل ۲۵ Gy به نقطه مرکزی و ۱۵ Gy به سایر نقاط کیسه حاوی فرآورده خونی است. هیچ نقطه از فرآورده خونی نباید تحت تابش بیش از ۵۰ Gy اشعه گاما قرار بگیرد (۲۳، ۲۲، ۱۸).

فرآورده اشعه‌دیده اغلب جهت تزریق در بیماران نوزاد و جنین (در صورت نیاز به تزریق داخل رحمی یا تعویض خون)، بیماران با نقص مادرزادی سیستم ایمنی، برخی از بدخیمی‌های خونی و بیمارانی که فرآورده خونی از بستگان نزدیک خود دریافت می‌کنند و غیره استفاده می‌شود (۲۵، ۲۴) (جدول ۱).

گونه‌های فعال اکسیژن و نقش آن‌ها در پلاکت‌ها:

گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و گونه‌های فعال نیتروژن (RNS)، مولکول‌های شیمیایی بسیار فعال و ناپایدار هستند که در پاسخ به محرک‌های اندوژن (درونی) و اگزوژن (بیرونی) تولید شده و به سرعت با سایر مولکول‌ها واکنش داده و موجب اکسیداسیون آن‌ها می‌شود (۲۶). مهم‌ترین ROS/RNS سلولی شامل مولکول‌های رادیکال و غیر رادیکال اکسیژن مانند آنیون سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل ($OH^{\cdot}$)، یون هیدروکسیل (OH) و همچنین مولکول‌های مبتنی بر نیتروژن شامل اکسید نیتریک اکسید ($NO^{\cdot}$)، رادیکال دی اکسید نیتروژن ($NO_2^{\cdot}$) و پراکسی نیتريت ($ONOO^-$) است. این ترکیبات اغلب طی فرآیند زنجیره انتقال الکترون در میتوکندری و یا متعاقب تحریک با آگونیست‌های طبیعی مانند ترومبین، کلاژن و ترومبوکسان A_2 (TXA₂) توسط آنزیمی به نام نیکوتین دآدنین دی نوکلئوتید فسفات اکسیداز یا NADPH اکسیداز (NOX) تولید می‌شوند.

آنزیم NOX یک کمپلکس آنزیمی غشایی متشکل از دو زیر واحد غشایی $gp91^{phox}$ و $gp22^{phox}$ و چندین زیر واحد سیتوزولی شامل $gp47^{phox}$ ، $gp67^{phox}$ ، $gp40^{phox}$ و GTPase Rac1/2 است.

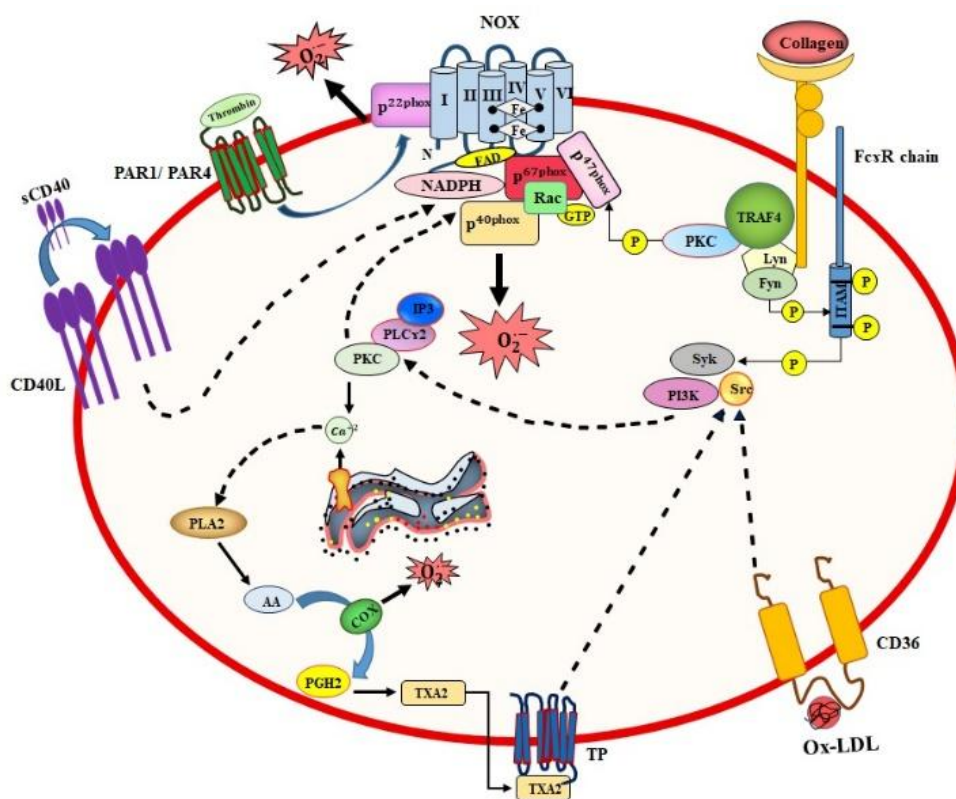
جدول ۱: اندیکاسیون های تزریق فرآورده های سلولی اشعه دیده

۱- بیماران با کاهش ارثی ایمنی سلولار
• نقص ایمنی مرکب شدید (SCID)
• سندروم دی جرج (DGS)
• سندروم ویسکوت آلدريج (WAS)
• دیس ژنریس رتیکولار (DR)
• کمبود پورین نوکلئوتید فسفوریلاز (PNP)
۲- بیمار پیوند شده با سلول های مادر خونساز (HSC)
۳- تزریق داخل رحمی خون به جنین
۴- تزریق خون یا فرآورده های سلولی به نوزاد نارس
۵- برخی از بدخیمی های خونی مانند لنفوم هوچکین
۶- شیمی درمانی سنگین
• آنالوگ های پورین (فلو دارابین، کلادریبین و دزوکسی کوفامایسین)
• آنتاگونیست های شبه پورین (بنداموستین و کلوفارابین)
• مهارکننده های قوی سلول T (Anti-CD52)
• آنتی تیموسیت گلوبولین برای درمان آنمی آپلاستیک
۷- دریافت کنندگان خون یا فرآورده های سلولی از نزدیکان با قرابت ژنتیکی حتی بدون نقص ایمنی
ممکن است نوزادان تازه متولد شده با وزن کمتر از ۱۲۰۰ گرم و بیماران مبتلا به ایدز که مستعد عفونت های فرصت طلب هستند، نیاز به فرآورده های سلولی اشعه دیده داشته باشند.

واحد سیتوزولی gp47phox فسفریله شده و با زیر واحد gp22phox در غشا واکنش می دهد (شکل ۱). سپس زیر واحدهای سیتوزولی gp67phox و gp40phox توسط P47phox فسفریله به غشا فرا خوانده شده و با زیر واحد غشایی gp91phox واکنش می دهند. در نهایت، زیر واحد GTPase Rac1 به غشا افزوده شده و کمپلکس آنزیمی NOX فعال شده و منجر به تولید آنیون O_2^- می شود (۲۹). آنیون O_2^- که ترکیب اصلی و مهم ROS است، می تواند به عنوان پیامبر ثانویه موجب تقویت مسیرهای انتقال پیام PLC γ /RKC/MAPKp38 و فعالیت آنزیم PLA2 شود. PLA2 به نوبه خود موجب هیدرولیز فسفولیپید آسیل-sn2 موجود در غشا و رهایی AA به سیتوپلاسم می شود.

در ادامه، AA می تواند تحت تاثیر آنزیم سیکلوآکسیژناز یک (COX1) به پروستاگلندین G2 (PGG2) و در نهایت به ترومبوکسان A2 تبدیل شود و یا توسط آنزیم پراکسیداز به ایزوپروستان فرم F2 (F2-IsoP) اکسید شود. TXA2 و F2-IsoP هر دو می توانند به گیرنده TP متصل شوند و منجر به حرکت درآوردن Ca^{2+} و در نتیجه تشکیل توده های پلاکتی شوند (۳۰). هم چنین آنیون O_2^- می تواند به واسطه آنزیم سوپراکسید دیس موتاز (SOD) به مولکول پراکسید هیدروژن (H_2O_2) که ترکیبی پایدارتر است، تبدیل شود. H_2O_2 نیز نقش مهمی به عنوان پیامبر ثانویه در انواع مسیرهای انتقال پیام بازی می کند و منجر به افزایش Ca^{2+} سیتوزولی و افزایش میل ترکیبی گیرنده های سطحی GPIIb/IIIa به فیبرینوژن و در نتیجه تشکیل ترومبوز می شود. علاوه بر این، آنیون O_2^- ممکن است با نیتريت اکسید واکنش داده و منجر به تولید یک گونه فعال نیتروژن (RNS) به نام پراکسی نیتريت ($ONOO^-$) شود. به عبارت دیگر، ترکیبات ROS در پلاکت قادرند به واسطه کاهش تولید NO، به حرکت درآوردن Ca^{2+} و واکنش با AA جهت تولید ایزوپروستان ها، موجب فعال شدن پلاکت شوند. ترکیبات ROS هم چنین در پاسخ به هیپوکسی و رویایی با اشعه فرابنفش (UV) یا اشعه های یونیزاسیون (اشعه X و گاما) تولید می شوند (۳۲، ۳۱).

تاکنون، ۷ ایزوفرم این آنزیم در پستانداران شناسایی شده است که عبارتند از: NOX1-NOX5 و Duox1-Duox2. پلاکت های انسانی ایزوفرم های NOX1 و NOX2 را بیان می کنند. گزانتین اکسیداز، میلوپراکسیداز و نیتريك اکسید سنتتاز (NOS) از دیگر منابع مهم تولید ترکیبات ROS در پلاکت به شمار می روند (۲۸-۲۶). به طور خلاصه متعاقب تحریک با یک آگونیست، زیر



شکل ۱: تولید ROS ناشی از فعالیت پلاکت: ROS در پلاکت‌ها متعاقب تحریک با آگونیست‌هایی مانند ترومبین (به واسطه اتصال به PAR1/PAR4)، کلاژن (اتصال به GPVI) و ترومبوکسان A2 (TP) تولید می‌شود. کلاژن از طریق دو مسیر وابسته به Syk و مستقل از Syk موجب تولید ROS می‌شود. در مسیر وابسته به Syk، TRAF4 و کینازهای خانواده Src مانند Lyn در کنار دم سیتوپلاسمی GPVI، توالی ITAM را فسفریله کرده و موجب فعال شدن Syk و PI3K شده که به نوبه خود منجر به فعالیت PLCγ2/IP3/PKC می‌شود و در نهایت موجب تولید ROS با واسطه NOX و رهاسازی Ca^{2+} می‌شود. افزایش Ca^{2+} داخل سلولی موجب فعال شدن PLA2 و تولید ROS به وسیله COX1 در طی تبدیل اسیدآراشیدونیک به ترومبوکسان A2 می‌شود. میانکشن CD36/ox-LDL، CD40/CD40L و TXA2/TP باعث فعال شدن مسیرهای انتقال پیام می‌شود که منجر به تولید ROS با واسطه NOX می‌شوند.

به نام استرس اکسیداتیو می‌شود. استرس اکسیداتیو می‌تواند موجب آسیب به ماکرومولکول‌های بزرگ مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شده و در ارتباط با پاتوژن بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان، آترواسکلروزیس، نورودژنراتیو (تخریب کننده عصب)، دیابت، پیری و التهاب - است (۳۳، ۳۴).

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر اشعه گاما بر تولید گونه‌های فعال اکسیژن و شرایط استرس اکسیداتیو ناشی از آن طی

اخیراً در مطالعه‌ای افزایش تولید مقادیر ROS بلافاصله متعاقب تابش اشعه گاما در فرآورده‌های پلاکتی گزارش شده است و موضوع مهم مورد اشاره در این مقاله مروری است. در شرایط فیزیولوژیک و طبیعی، ترکیبات ROS نقش مهمی در مکانیسم‌های دفاعی بدن، تنظیم سیستم اکسیداسیون-احیا (ردوکس) و کنترل انواع مسیرهای انتقال پیام از جمله بیان ژن، تکثیر و آپوپتوز ایفا می‌کنند (۲۷).

در بدن، تولید این مولکول‌ها توسط مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان طبیعی کنترل می‌شود؛ اما چنانچه تولید ROS بر فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدان غلبه کند، منجر به ایجاد وضعیتی

نگهداری، مطالعه های منتشر شده بین ۱۹۸۷ و ۲۰۲۲ مورد جستجو قرار گرفت. بدین منظور واژه های کلیدی مطابق با MeSH تهیه و از پایگاه اطلاعاتی MEDLINE، PubMed و Google scholar استفاده شد. از ۶۶ مطالعه منتشر شده در پایگاه های اطلاعاتی برای این مقاله استفاده شد.

یافته ها

آسیب میتوکندریایی ناشی از تابش اشعه گاما :

میتوکندری به واسطه تولید ATP از طریق فسفریلاسیون اکسیداتیو و گلیکولیز، نقش مهمی در حفظ یکپارچگی و عملکرد پلاکت در *in vivo* و طی نگهداری ایفا می کند (۳۶، ۳۵). در شرایط طبیعی، طی فرآیند فسفریلاسیون اکسیداتیو در زنجیره انتقال الکترون میتوکندری (ETC)، مقداری آنیون سوپراکسید (O_2^-) در اثر نشت الکترون و انتقال به اکسیژن مولکولی (O_2) تولید می شود که به سرعت توسط آنزیم سوپراکسید دیس مواتاز (SOD) به پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تبدیل می شود. ROS تولیدی در اثر فعالیت سیستم احیا کننده از بین می رود اما در شرایط مرتبط با استرس اکسیداتیو می تواند منجر به پراکسیداسیون کاردیولپین و فسفولیپیدهای غشای داخلی میتوکندری شود و یا باعث آسیب DNA میتوکندری و حذف بخشی از آن گردد که منجر به نقص عملکرد ETC و کاهش عملکرد میتوکندری می شود. اختلال عملکرد ETC باعث نشت الکترون و تولید مقادیر بیشتری ترکیبات ROS می شود (۲۰، ۱۹). افزایش ترکیبات ROS ممکن است باعث باز شدن کانال های پتاسیم حساس به ATP میتوکندری و در نتیجه تولید بیشتر ROS و به موجب آن افزایش فعالیت، چسبندگی و فراخوانی پلاکت در یک حلقه خودتکثیری (vicious cycle) شود. این چرخه منجر به فنوتیپ پیش انعقادی و آپوپتوز می شود که ریسک فاکتور (عامل خطر) ترومبوز در بیماری های مرتبط با استرس اکسیداتیو هستند (۳۷، ۳۶). هم چنین، افزایش ROS میتوکندریایی یک محرک کلیدی برای فعالیت چندین مسیر انتقال پیام و القای تولید ROS توسط آنزیم NADPH اکسیداز سیتوزولی (NOX) تولید مقادیر بیشتر ROS است (۳۸).

در طی نگهداری، کاهش فشار اکسیژن در کیسه های پلاکتی می تواند باعث افزایش تولید ROS میتوکندریایی شود. افزایش اولیه ROS مانند H_2O_2 باعث افزایش پتانسیل غشای میتوکندری (هیپرپولاریزاسیون) و فعال شدن پلاکت و در نتیجه تولید مقادیر بیشتر ROS می شود. افزایش ترکیبات ROS مانند H_2O_2 و آنیون سوپراکسید به واسطه اکسیداسیون گروه های تیول (CYS160 و CYS556) کانال انتقال دهنده آدنین نوکلئوتید (ANT) و دیگر اجزای کمپلکس منفذ نفوذپذیر میتوکندری (MPTP) شامل کانال آنیونی وابسته به ولتاژ (VDAC) و سیکلوفیلین D، باعث باز شدن این منافذ و در نتیجه عبور مولکول های با وزن مولکولی کمتر از ۱/۵ کیلودالتون از غشا و ایجاد فشار کلوتیدی در میتوکندری و متورم شدن آن شوند. در اثر تورم، غشای خارجی میتوکندری پاره شده و سیتوکروم c و سایر فاکتورهای دخیل در آپوپتوز به سیتوزول رها شده و مرگ سلولی رخ می دهد (۴۰، ۳۹). رهایی قابل توجه سیتوکروم c از میتوکندری باعث افزایش بیشتر تولید ROS به دلیل اختلال در زنجیره انتقال الکترون می شود (۴۱). پتانسیل غشای میتوکندری ($\Delta\psi M$) یکی از پارامترهای اساسی در تنظیم عملکرد میتوکندری است و در سنتز ATP، تولید ROS، احتباس کلسیم در میتوکندری، ورود پروتئین های میتوکندریایی و دینامیک غشای میتوکندری نقش دارد. تغییرات میتوکندریایی مانند دیپولاریزاسیون غشای میتوکندری به روش فلوسیتومتری با استفاده از دو پروپ فلورسنت DiOC6 یا JC-1 بررسی می شود (۴۲). JC-1 یک رنگ کاتیونی و چربی دوست با خاصیت فلورسنت سبز است که به راحتی وارد سلول های نرمال می شود. در سلول های سالم، JC-1 وارد میتوکندری شده و توده های رنگی را تشکیل می دهند که خاصیت فلورسنت رنگ JC-1 را به قرمز تغییر می دهد در حالی که در سلول های آسیب دیده یا آپوپتوتیک به دلیل از دادن پتانسیل الکتروشیمیایی به صورت منومر باقی مانده و فلورسنت سبز تولید می کند (۴۴، ۴۳). مطالعه های کمی به طور مستقیم به بررسی اثر اشعه گاما

بر عملکرد میتوکندریایی پرداخته‌اند. با این وجود نتایج آزمایش JC-1 در مطالعه‌ای نشان داد که مواجهه (تیمار) فرآورده‌های پلاکتی با روش‌های فتوشیمیایی (مانند میراسول + UVB) باعث افزایش دیپولاریزاسیون غشای میتوکندری می‌شود در حالی که تغییری در دیپولاریزاسیون غشای میتوکندری پلاکت‌های تیمار شده با اشعه گاما و فرآورده کنترل رخ نمی‌دهد (۴۵).

افزایش سطح ROS داخل سلولی بلافاصله متعاقب تابش اشعه گاما در سلول‌های هسته‌دار A7r5 به دلیل یونیزاسیون آب به رادیکال $OH^\bullet$ توسط یوشیدا گزارش شده است. افزایش گذرای تولید $OH^\bullet$ بلافاصله متعاقب پرتوتابی ممکن است به واسطه پراکسیداسیون فسفولیپیدهای غشای داخلی میتوکندری (که جهت عملکرد کمپلکس I و III زنجیره انتقال الکترون (ETC) ضروری هستند) موجب آسیب به میتوکندری و کاهش عملکرد میتوکندری در عرض چند ساعت شود. اختلال عملکرد ETC ناشی از $OH^\bullet$ منجر به انتشار الکترون از ETC و در نتیجه تولید آنیون سوپراکسید می‌شود. هم‌چنین، کاهش فعالیت کمپلکس‌های ETC میتوکندری می‌تواند سبب افزایش سطح H_2O_2 داخل سلولی شود. علاوه بر این، کاهش فعالیت سوپراکسید دیس‌موتاز و برخی آنزیم‌های دیگر ممکن است موجب تجمع ROS در میتوکندری شود. این ترکیبات ROS ناشی از پرتوتابی به نوبه خود می‌توانند به واسطه اکسیداسیون DNA میتوکندری باعث ناپایداری ژنومی میتوکندری و متعاقب آن اختلال عملکرد میتوکندریایی گردد که با استرس اکسیداتیو پایدار همراه است. هم‌چنین آسیب میتوکندری ناشی از اشعه گاما ممکن است به واسطه کاهش فعالیت آنزیم NADH دهیدروژناز که مهم‌ترین آنزیم تنظیم رهاسازی ترکیبات ROS از زنجیره انتقال الکترون است، رخ دهد (۲۰).

تاثیر اشعه گاما بر گونه‌های فعال اکسیژن در طی دوران نگهداری پلاکت:

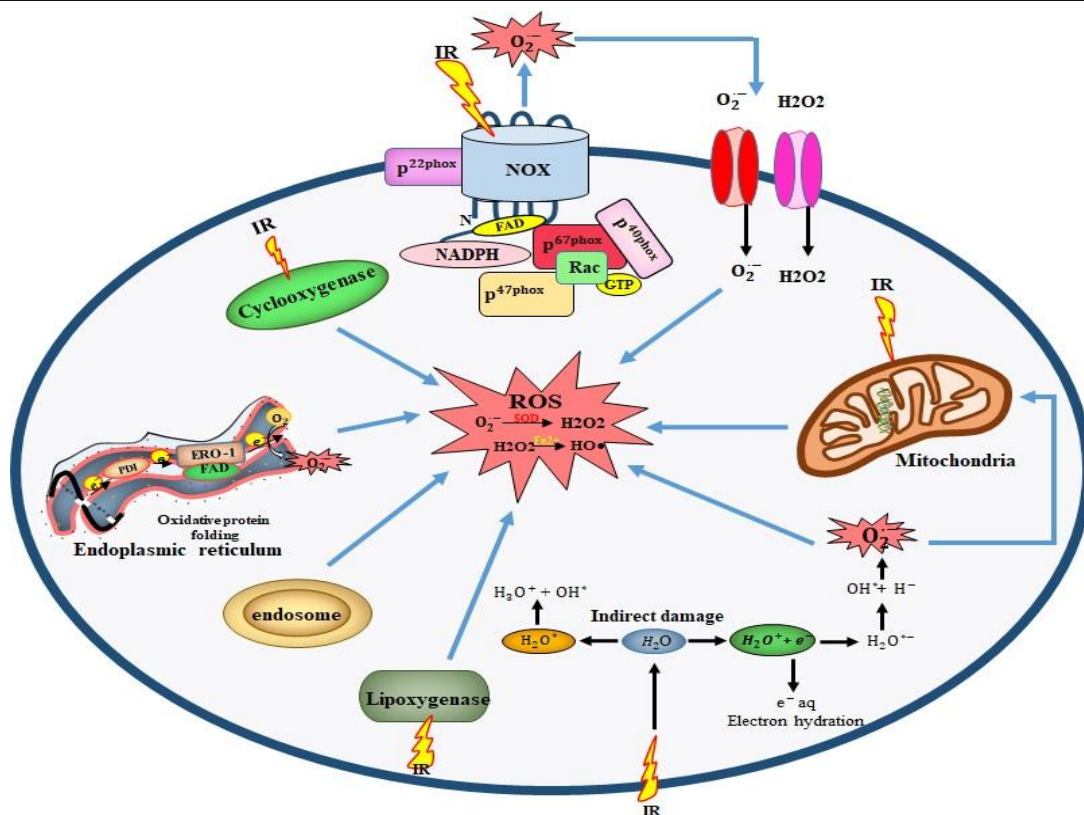
اشعه گاما می‌تواند از طریق مکانیسم‌های مختلف موجب

القای تولید ترکیبات ROS در پلاکت‌ها شود که با استفاده از پروپ‌های مختلف مانند DHE، DCFH و DHR123 در آزمایشگاه قابل ارزیابی و اندازه‌گیری است (۱۶، ۱۱). اشعه گاما به واسطه تجزیه مولکول‌های آب، رادیکال‌های آزاد و الکترون تولید می‌کند که با سایر مولکول‌های آب و اکسیژن واکنش داده و منجر به تولید رادیکال‌های آزاد ثانویه و به شدت فعال مانند رادیکال آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل می‌شوند. رادیکال‌های آزاد ناشی از اشعه گاما ممکن است به DNA میتوکندری حمله کرده و موجب شکست DNA یا حذف بخشی از DNA میتوکندری که جهت کددهی آنزیم‌های ATPase، NADH دهیدروژناز (کمپلکس I زنجیره انتقال الکترون) و سیتوکروم اکسیداز ضروری هستند، شده و باعث کاهش عملکرد میتوکندری گردند. کاهش عملکرد میتوکندری منجر به تولید ROS میتوکندریایی و نشت آن به سیتوزول می‌شود. ROS میتوکندریایی ممکن است موجب افزایش فعالیت آنزیم NOX و در نتیجه افزایش مقادیر تولید ROS شود.

هم‌چنین، رادیکال‌های آزاد ناشی از اشعه گاما ممکن است موجب افزایش فعالیت آنزیم سیکلوآکسیژناز و لیپواکسیژناز و به موجب آن‌ها افزایش تولید ROS شوند (شکل ۲) (۵۰-۴۶، ۲۰، ۱۹).

ویلا روتل و همکارانش در مطالعه‌ای افزایش چشمگیر مقادیر تولید ROS میتوکندریایی را در روزهای سوم و پنجم نگهداری در مقایسه با روز صفر نشان داده‌اند (۳۶). علاوه بر این در مطالعه‌ای دیگر، اسکرپ‌چنکو و همکارانش افزایش مقادیر تولید ROS داخل سلولی در فرآورده‌های پلاکتی حاصله از PRP حین نگهداری را گزارش کرده‌اند (۵۱).

افزایش فعالیت سوپراکسید دیس‌موتاز و به موجب آن افزایش چشمگیر تولید ترکیبات ROS در پلاکت‌های جدا شده از Rat که به مدت بیش از ۶ روز نگهداری شده‌اند نیز سال‌ها قبل نشان داده شده است (۵۲).



شکل ۲: مکانیسم متفاوت تولید ترکیبات ROS ناشی از اشعه گاما: متعاقب رویایی با اشعه گاما، مولکول‌های اب تجزیه شده و رادیکال‌های آزاد تولید می‌شوند. رادیکال‌های آزاد با حمله به DNA میتوکندری و پروتئین‌ها و آسیب به آن باعث کاهش عملکرد میتوکندری و به موجب آن نشت مداوم ROS میتوکندریایی به درون سلول و متعاقب آن آسیب بیشتر میتوکندری می‌شود. علاوه بر این، رادیکال‌های آزاد ناشی از اشعه می‌تواند موجب افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند NOX، سیکلواکسیژناز و لیپواکسیژناز شود. ROS ناشی از فعالیت NOX می‌تواند باعث کاهش پتانسیل غشای میتوکندری شده و منجر به تولید ROS میتوکندریایی و در نهایت فعالیت NOX شود.

مقادیر H_2O_2 بلافاصله متعاقب پرتوتابی و همچنین در روزهای اول و هفتم نگهداری در فرآورده‌های پلاکتی اشعه دیده در مقایسه با فرآورده اشعه ندیده به صورت معنادار افزایش یافته است ($p < 0.05$). به نظر می‌رسد افزایش اولیه مقادیر ROS داخل سلولی به دلیل اثر مستقیم تابش اشعه گاما باشد که تا زمان شروع فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدان در پلاکت‌ها تداوم دارد اما با شروع فعالیت آنتی‌اکسیدان مقادیر آن کاهش یافته و مجدداً با افزایش زمان نگهداری مقادیر آن تا روز هفتم افزایش می‌یابد (۱۶).

گلوکاتایون، یک سیستم دفاعی مهم علیه وضعیت اکسیداتیو در پلاکت‌ها محسوب می‌شود که حدود ۹۵ درصد آن به فرم گلوکاتایون احیا مشاهده می‌شود. مکانیسم‌های وابسته به گلوکاتایون، پروتئین‌های ضروری را در وضعیت ردوکس حفظ

افزایش سطح آنیون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن متعاقب تیمار با اشعه گاما اولین بار توسط ما گزارش شد. در آن مطالعه، علی‌رغم افزایش معنادار سطح آنیون سوپراکسید در روز صفر نگهداری و افزایش در روزهای اول و دوم، مقادیر آن در روز سوم کاهش یافت اما سطح آن در مقایسه با روز صفر نگهداری در هر دو فرآورده پلاکتی اشعه دیده و اشعه ندیده بیشتر بود. پس از روز سوم مقادیر تولید سوپراکسید تا روز هفتم نگهداری افزایش نشان داد. افزایش مقادیر آنیون سوپراکسید در روز صفر و هفتم نگهداری در فرآورده‌های پلاکتی اشعه دیده در مقایسه با فرآورده پلاکتی اشعه ندیده معنادار بود ($p < 0.05$). علاوه بر این، مقادیر H_2O_2 نیز حین نگهداری در هر دو گروه اشعه دیده و اشعه ندیده در آن مطالعه نشان داده شد. ما مشاهده کردیم که

مطالعه های پروتئومیکس می باشد که حاکی از افزایش بیان DJ-1 و کاهش چشمگیر پروتئاز ER-60 تحت تاثیر اشعه گاما به عنوان نشانه هایی از استرس اکسیدان القا شده در پلاکت ها حین نگهداری است (۱۵). DJ-1 پروتئین استرس اکسیداتیو می باشد که نقش مهمی در پاسخ به استرس های آنتی اکسیدان دارد در حالی که پروتئاز ER-60 موجب کاتالیز و شروع تغییرات باندهای دی سولفیدی پروتئین ها برپایه ردوکس شده و عملکرد پلاکت را تنظیم می کنند (۱۵).

افزایش مقادیر ROS در فاز اولیه نگهداری پلاکت ها ممکن است موجب تشدید PSL شده و پلاکت ها را فعال کند. در پلاکت های فعال، گرانول های سیتوپلاسمی لیز شده و بر سطح خود P-selectin یا CD62P بیان می کنند که در آزمایشگاه به وسیله روش فلوسیتومتری قابل شناسایی است (۲۳). افزایش درصد بیان CD62P در پلاکت های با مقادیر بیشتر ROS در روزهای سوم و پنجم نگهداری توسط قاسم زاده و همکارانش گزارش شده است (۵۹). افزایش همزمان CD62P و مقادیر ROS در مراحل اولیه نگهداری پلاکت تحت تابش اشعه گاما در مطالعه اخیر اولین بار توسط ما مشاهده شد. افزایش فعالیت پلاکت ها در مراحل اولیه نگهداری فرآورده های پلاکتی اشعه دیده ممکن است در اثر استرس ناشی از تغییرات بیوشیمیایی به دنبال تابش اشعه گاما رخ داده باشد. علاوه بر این افزایش اولیه CD62P ممکن است به دلیل افزایش مقادیر ROS ناشی از اشعه گاما در روزهای اول بوده باشد (۱۶). مطالعه های متعددی نیز در ارتباط با افزایش بیان CD62P حین نگهداری و تحت تابش اشعه گاما وجود دارد که حاکی از افزایش بیان CD62P فرآورده اشعه دیده در مقایسه با فرآورده های اشعه ندیده است (۲۳).

تاثیر اشعه گاما بر نتایج بالینی و عوارض جانبی آن:

به طور کلی مطالعه هایی نشان داده اند اشعه گاما در مقایسه با فرآورده های تیمار شده با روش های فتوشیمیایی (آموتوسال⁺ UVA، میراسول⁺ UVB و UVC به

کرده و موجب سم زدایی ترکیبات بالقوه مضر سلول یا محیط اطراف آن می شود. تغییر در سطوح گلو تاتیون احیا (GSH) و گلو تاتیون فرم اکسید (GSSG) در پلاکت ها حین نگهداری ممکن است مسئول تغییرات وابسته به نگهداری در *In vitro* باشد و ممکن است هم چنین بر عملکرد پلاکت ها پس از تزریق تاثیر بگذارد. بورج و همکارانش در مطالعه ای کاهش فوری و تدریجی GSH و GSSG را در فرآورده های پلاکتی حین نگهداری نشان دادند. در مطالعه آن ها، سطح گلو تاتیون توتال حین دو روز اول نگهداری به میزان ۵۰ درصد کاهش یافت. سطح GSSG طی دو روز اول نگهداری پایدار یا افزایش یافته اما پس از آن به تدریج با سرعتی کمتر از گلو تاتیون توتال کاهش یافت و طی ۲ تا ۳ روز تقریباً ۵۰٪ آن کاهش نشان داد (۵۴، ۵۳). کاهش سطح GSH داخل سلولی در مطالعه های بسیاری گزارش شده است (۵۶، ۵۵، ۵۳). ماروکو و همکارانش سطح GSH را در مایع رویی (سوپرناتانت) فرآورده های پلاکتی حین نگهداری و متعاقب پرتوتابی با اشعه گاما و هم چنین تحت تیمار با میراسول ارزیابی کردند. نتایج آن ها حاکی از کاهش چشمگیر و معنادار سطح GSH بلافاصله متعاقب پرتوتابی و روز پنجم نگهداری در مقایسه با کنترل بود (۱۵). کاهش سطح GSH حین نگهداری و تحت تیمار با آموتوسال و اشعه UVA (Intercept) گزارش شده است. Intercept موجب کاهش بیشتری از مقادیر GSH می شود (۵۷). کاهش سطح GSH داخل سلولی حین نگهداری در فرآورده پلاکتی اشعه دیده با گاما و اشعه ندیده توسط حسینی و همکاران در مطالعه ای گزارش شد. کاهش سطح GSH داخل سلولی در هر دو فرآورده پلاکتی در روزهای ۳، ۵ و ۷ نگهداری در مقایسه با روز صفر معنادار بود ($p < 0.05$). مطالعه ما هم چنین نشان داد که اشعه گاما موجب کاهش بیشتر مقادیر GSH می شود. کاهش سطح GSH داخل سلولی در فرآورده های اشعه دیده در مقایسه با پلاکت های اشعه ندیده بلافاصله پس از پرتوتابی با اشعه گاما در روز صفر و هم چنین در روزهای ۱ و ۳ نگهداری معنادار بود (۵۸). این مشاهدات در راستای

تزریق و میزان APC CCI1hهایی که قبل از روز تزریق تحت تابش اشعه گاما قرار گرفته بودند به طور معناداری کمتر از APCهایی بود که در روز تزریق پرتوتابی شده بودند (میانگین PPR1h: ۲۷/۷ در برابر ۰/۳۵، $p=0/007$). این یافته در آنالیز چندمتغیری نیز تأیید شد ($p=0/030$). آن‌ها مشاهده کردند که CCI1h در APCهای اشعه دیده در روز تزریق تفاوت معناداری با APCهای اشعه ندیده (کنترل) ندارد ($p=0/092$)، $CI = 0/5-6/1\%$ ؛ 95% ؛ $2/8-2\%$ در حالی که CCI1h APCهای اشعه دیده در روزهای قبل از تزریق در مقایسه با فرآورده اشعه ندیده به وضوح کمتر بود ($p<0/001$)، $CI = 12/2-4\%$ ؛ 95% ؛ $1-8\%$ ($p<0/001$).

نتیجه‌گیری

اشعه گاما می‌تواند به واسطه القای تولید ROS موجب افزایش فعالیت پلاکت‌ها و تشدید PSL شود که ممکن است بر بقای پلاکت‌ها و عملکرد آن‌ها تأثیر گذاشته و باعث کاهش کارایی و اثربخشی فرآورده‌های پلاکتی پس از تزریق شود. بنابراین، با توجه به مطالعه‌های انجام شده مبنی بر کاهش CCI و نتایج مطالعه اخیر ما، پیشنهاد می‌شود به منظور پیشگیری از بروز TA-GVHD و اثر بخشی تزریق، فرآورده‌های پلاکتی در روز صفر نگهداری تحت پرتوتابی با اشعه گاما قرار گرفته و ظرف ۲۴ ساعت از پرتوتابی تزریق شوند.

تنهایی) تأثیری بر کیفیت پلاکت (SDP کم لکوسیت) ندارد (۶۳-۶۰). در برخی از این مطالعه‌ها تأثیر اشعه گاما بر کیفیت پلاکت‌ها با کنترل مقایسه شده بود و برخی دیگر فرآورده اشعه دیده همراه با کنترل با پلاکت‌های تیمار شده با روش‌های فتوشیمیایی مقایسه شده بود. سیجل نشان داد که CCI یک ساعته در فرآورده‌های پلاکت آفرزین (APC: Apheresis platelet concentration) اشعه دیده با اشعه گاما و آموتوسالن و کنترل تفاوت معناداری ندارند در حالی که CCI24h به طور معناداری در فرآورده‌های تیمار شده با آموتوسالن در مقایسه با سلول‌های اشعه دیده با گاما و کنترل کمتر است بدون این که تأثیری بر افزایش عوارض خونریزی داشته باشد (۶۴). اما کرخوف و همکارانش، CCI کمتر و افزایش خطر خونریزی جزیی را در فرآورده‌های پلاکتی تیمار شده با روش‌های فتوشیمیایی نشان دادند (۶۵).

جولمی در مطالعه‌ای به بررسی اثر اشعه گاما بر میزان درصد بهبودی پلاکت یک ساعت پس از تزریق (PPR1h) در فرآورده‌های اشعه دیده در روز صفر و فرآورده‌هایی که به مدت یک روز قبل از تزریق تحت تابش اشعه گاما قرار گرفته بودند، پرداخت. در این مطالعه ۱۰۰۰ واحد APC اشعه دیده به ۱۴۴ کودک تزریق و PPR1h در APCهای اشعه دیده در روز تزریق خون و APCهایی که از قبل پرتوتابی شده بودند مقایسه شد. در تجزیه و تحلیل تک متغیری، اثربخشی

References:

- Schubert P, Devine DV. Towards targeting platelet storage lesion-related signaling pathways. *Blood Transfus* 2010; 8(Suppl 3): s69.
- Smethurst PA. Aging of platelets stored for transfusion. *Platelets* 2016; 27(6): 526-34.
- Albany AM, Harrison P, Murphy MF. Markers of platelet activation and apoptosis during storage of apheresis-and buffy coat-derived platelet concentrates for 7 days. *Transfusion* 2009; 49(1): 108-17.
- McCullough J. Overview of platelet transfusion. *Semin Hematol* 2010; 47(3): 235-42.
- Garraud O, Cognasse F, Tissot JD, Chavarin P, Laperche S, Morel P, et al. Improving platelet transfusion safety: biomedical and technical considerations. *Blood Transfus* 2016; 14(2): 109-22.
- Hosseini E, Mohtashami M, Ghasemzadeh M. Down-regulation of platelet adhesion receptors is a controlling mechanism of thrombosis, while also affecting post-transfusion efficacy of stored platelets. *Thromb J* 2019; 17(1): 1-11.
- Hosseini E, Ghasemzadeh M, Atashibarg M, Haghshenas M. ROS scavenger, N-acetyl-L-cysteine and NOX specific inhibitor, VAS2870 reduce platelets apoptosis while enhancing their viability during storage. *Transfusion* 2019; 59(4): 1333-43.
- Mehrpoori M, Hosseini E, Amini Kafi-Abad S, Ghasemzadeh M. The effect of pre-storage leukoreduction on the levels of expression and shedding of the pro-inflammatory molecule P-Selectin in random PRP platelets. *Sci J Iran Blood Transfus*

- Organ 2015; 12(2): 153-62. [Article in Farsi]
- 9- Shrivastava M. The platelet storage lesion. *Transfus Apher Sci* 2009; 41(2): 105-13.
 - 10- 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.
 - 11- 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.
 - 12- Agarwal P, Ray V, Choudhury N, Chaudhary R. Effect of pre-storage gamma irradiation on red blood cells. *Indian J Med Res* 2005; 122(5): 385-7.
 - 13- Anderson KC, Goodnough LT, Sayers M, Pisciotto PT, Kurtz SR, Lane TA, *et al.* Variation in blood component irradiation practice: implications for prevention of transfusion-associated graft-versus-host disease. *Blood* 1991; 77(10): 2096-102.
 - 14- Moroff G, Luban N. The irradiation of blood and blood components to prevent graft-versus-host disease: technical issues and guidelines. *Transfus Med Rev* 1997; 11(1): 15-26.
 - 15- Marrocco C, D'alessandro A, Girelli G, Zolla L. Proteomic analysis of platelets treated with gamma irradiation versus a commercial photochemical pathogen reduction technology. *Transfusion* 2013; 53(8): 1808-20.
 - 16- Nodeh FK, Hosseini E, Ghasemzadeh M. The effect of gamma irradiation on platelet redox state during storage. *Transfusion* 2021; 61(2): 579-93.
 - 17- Bashir S, Naik F, Cardigan R, Thomas S. Effect of X-irradiation on the quality of red cell concentrates. *Vox Sang* 2011; 101(3): 200-7.
 - 18- Przepiorka D, Leparic GF, Stovall MA, Werch J, Lichtiger B. Use of irradiated blood components: practice parameter. *Am J Clin Pathol* 1996; 106(1): 6-11.
 - 19- Saenko Y, Cieslar-Pobuda A, Skonieczna M, Rzeszowska-Wolny J. Changes of reactive oxygen and nitrogen species and mitochondrial functioning in human K562 and HL60 cells exposed to ionizing radiation. *Radiat Res* 2013; 180(4): 360-6.
 - 20- Yoshida T, Goto S, Kawakatsu M, Urata Y, Li TS. Mitochondrial dysfunction, a probable cause of persistent oxidative stress after exposure to ionizing radiation. *Free Radic Res* 2012; 46(2): 147-53.
 - 21- Williamson L. UK guidelines for the irradiation of blood components. *Transfus Sci* 1995; 16(2): 135-7.
 - 22- Saglam S. Blood Irradiation. *Modern Approaches To Quality Control* [Internet]. 2011 Nov 9; Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/20578>.
 - 23- Mallhi R, Biswas A, Philip J, Chatterjee T. To study the effects of gamma irradiation on single donor apheresis platelet units by measurement of cellular counts, functional indicators and a panel of biochemical parameters, in order to assess pre-transfusion platelet quantity and quality during the shelf life of the product. *Med J Armed Forces India* 2016; 72(1): 19-26.
 - 24- Clarke G, Chargé S. *Clinical Guide to Transfusion*. Chapter; 2013. Available from: <https://professionaleducation.blood.ca/en/transfusion/clinical-guide-transfusion>.
 - 25- Jacobs GP. A review on the effects of ionizing radiation on blood and blood components. *Radiation Physics and Chemistry* 1998; 53(5): 511-23.
 - 26- Violi F, Pignatelli P. Platelet NOX, a novel target for anti-thrombotic treatment. *Thromb Haemost* 2014; 112(05): 817-23.
 - 27- Begonja AJ, Gambaryan S, Geiger Jr, Aktas B, Pozgajova M, Nieswandt B, *et al.* Platelet NAD (P) H-oxidase-generated ROS production regulates $\alpha\text{IIb}\beta 3$ -integrin activation independent of the NO/cGMP pathway. *Blood* 2005; 106(8): 2757-60.
 - 28- Augsburger F, Filippova A, Rasti D, Seredenina T, Lam M, Maghzal G, *et al.* Pharmacological characterization of the seven human NOX isoforms and their inhibitors. *Redox Biol* 2019; 26: 101272.
 - 29- Vlădăreanu A, Popov V, Radeși S, Onisăi M, Bumbea H. Role of reactive oxygen species in platelet function in normal states and chronic myeloproliferative disorders. *Rom J Biochem* 2008; 45: 221-32.
 - 30- Sonego G, Abonnenc M, Tissot JD, Prudent M, Lion N. Redox Proteomics and Platelet Activation: Understanding the Redox Proteome to Improve Platelet Quality for Transfusion. *Int J Mol Sci* 2017; 18(2): 387.
 - 31- Husain N, Kumar A, RADICALS F. Reactive oxygen species and natural antioxidants: a review. *Advances in Bioresearch* 2012; 3(4): 164-75.
 - 32- Abonnenc M, Sonego G, Crettaz D, Aliotta A, Prudent M, Tissot JD, *et al.* *In vitro* study of platelet function confirms the contribution of the ultraviolet B (UVB) radiation in the lesions observed in riboflavin/UVB-treated platelet concentrates. *Transfusion* 2015; 55(9): 2219-30.
 - 33- Violi F, Pignatelli P. Platelet oxidative stress and thrombosis. *Thromb Res* 2012; 129(3): 378-81.
 - 34- Qiao J, Arthur JF, Gardiner EE, Andrews RK, Zeng L, Xu K. Regulation of platelet activation and thrombus formation by reactive oxygen species. *Redox Biol* 2018; 14: 126-30.
 - 35- Zharikov S, Shiva S. Platelet mitochondrial function: from regulation of thrombosis to biomarker of disease. *Biochem Soc Trans* 2013; 41(1): 118-23.
 - 36- Villarreal JPP, Figueredo R, Guan Y, Tomaiuolo M, Karamercan MA, Welsh J, *et al.* Increased platelet storage time is associated with mitochondrial dysfunction and impaired platelet function. *J Surg Res* 2013; 184(1): 422-9.
 - 37- 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.
 - 38- Ehteramolsadat H, Amin S, Oushyani RZ, Faranak K, Mehran G. Reducing state attenuates ectodomain shedding of GPVI while restoring adhesion capacities of stored platelets: Evidence addressing the controversy around the effects of redox condition on

- thrombosis. *J Thromb Thrombolysis* 2020; 50(1): 123-34.
- 39- Vianello A, Casolo V, Petrusa E, Peresson C, Patui S, Bertolini A, *et al.* The mitochondrial permeability transition pore (PTP)--an example of multiple molecular exaptation? *Biochim Biophys Acta* 2012; 1817(11): 2072-86.
 - 40- Jackson SP, Schoenwaelder SM. Procoagulant platelets: are they necrotic? *Blood* 2010; 116 (12): 2011-8.
 - 41- Redza-Dutordoir M, Averill-Bates DA. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1863(12): 2977-92.
 - 42- Gyulkhandanyan AV, Mutlu A, Freedman J, Leytin V. Markers of platelet apoptosis: methodology and applications. *J Thromb Thrombolysis* 2012; 33(4): 397-411.
 - 43- Sivandzade F, Bhalerao A, Cucullo L. Analysis of the mitochondrial membrane potential using the cationic JC-1 dye as a sensitive fluorescent probe. *Bio Protoc* 2019; 9(1): e3128-e.
 - 44- Elefantova K, Lakatos B, Kubickova J, Sulova Z, Breier AJIjoms. Detection of the mitochondrial membrane potential by the cationic dye JC-1 in L1210 cells with massive overexpression of the plasma membrane ABCB1 drug transporter. *Int J Mol Sci* 2018; 19(7): 1985.
 - 45- Picker SM, Steisel A, Gathof BSJT. Effects of Mirasol PRT treatment on storage lesion development in plasma-stored apheresis-derived platelets compared to untreated and irradiated units. *Transfusion* 2008; 48(8): 1685-92.
 - 46- Kawamura K, Qi F, Kobayashi J. Potential relationship between the biological effects of low-dose irradiation and mitochondrial ROS production. *J Radiat Res* 2018; 59(suppl_2): ii91-ii7.
 - 47- Collins-Underwood JR, Zhao W, Sharpe JG, Robbins ME. NADPH oxidase mediates radiation-induced oxidative stress in rat brain microvascular endothelial cells. *Free Radic Biol Med* 2008; 45(6): 929-38.
 - 48- Steinauer KK, Gibbs I, Ning S, French JN, Armstrong J, Knox SJ. Radiation induces upregulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) protein in PC-3 cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 48(2): 325-8.
 - 49- Barrera G. Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. *ISRN Oncol* 2012; 2012: 137289.
 - 50- Kim E, Kim W, Lee S, Chun J, Kang J, Park G, *et al.* TRAF4 promotes lung cancer aggressiveness by modulating tumor microenvironment in normal fibroblasts. *Sci Rep* 2017; 7(1): 1-14.
 - 51- Skripchenko A, Myrup A, Thompson-Montgomery D, Awatefe H, Wagner SJ. Mitochondrial dysfunction of platelets stored in first-and second-generation containers is, in part, associated with elevated carbon dioxide levels. *Transfusion* 2011; 51(2): 371-9.
 - 52- Manasa K, Vani R. Influence of oxidative stress on stored platelets. *Adv Hematol* 2016; 2016: 4091461.
 - 53- Burch P, Burch JW. Alterations in glutathione during storage of human platelet concentrates. *Transfusion* 1987; 27(4): 342-6.
 - 54- Hervig T, Mansoor M, Farstad M. Endogenous glutathione and platelet function in platelet concentrates stored in plasma or platelet additive solution. *Transfus Med* 2001; 11(2): 97-104.
 - 55- Burch P, Aman M, Burch J. Modification of glutathione content in platelet concentrates by the use of acivicin. *Transfusion* 1994; 34(5): 421-6.
 - 56- Göker B, Özşavcı D, Şener A, Aksoy H, Bağışgil V, Demirel GY, *et al.* Oxidative alterations during human platelet storage. *Marmara Pharmaceutical J* 2011; 15(1): 38-42.
 - 57- Abonnenc M, Crettaz D, Marvin L, Grund B, Sonogo G, Bardyn M, *et al.* Metabolomic profiling highlights oxidative damages in platelet concentrates treated for pathogen inactivation and shows protective role of urate. *Metabolomics* 2016; 12(12): 188.
 - 58- Nodeh FK, Hosseini E, Ghasemzadeh M. The effect of gamma irradiation on platelet redox state during storage. *Transfusion* 2021; 61(2): 579-93.
 - 59- 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.
 - 60- Zimmermann R, Schmidt S, Zingsem J, Glaser A, Weisbach V, Ruf A, *et al.* Effect of gamma radiation on the *in vitro* aggregability of WBC-reduced apheresis platelets. *Transfusion* 2001; 41(2): 236-42.
 - 61- Tynngård N, Studer M, Lindahl TL, Trinks M, Berlin GJT. The effect of gamma irradiation on the quality of apheresis platelets during storage for 7 days. *Transfusion* 2008; 48(8): 1669-75.
 - 62- Van Aelst B, Devloo R, Vandekerckhove P, Compennolle V, Feys HBJT. Ultraviolet C light pathogen inactivation treatment of platelet concentrates preserves integrin activation but affects thrombus formation kinetics on collagen *in vitro*. *Transfusion* 2015; 55(10): 2404-14.
 - 63- Read E, Kodis C, Carter C, Leitman SJJ. Viability of platelets following storage in the irradiated state. A pair-controlled study. *Transfusion* 1988; 28(5): 446-50.
 - 64- Sigle JP, Infanti L, Studt JD, Martinez M, Stern M, Gratwohl A, *et al.* Comparison of transfusion efficacy of amotosalen-based pathogen-reduced platelet components and gamma-irradiated platelet components. *Transfusion* 2013; 53(8): 1788-97.
 - 65- Infanti L, Stebler C, Job S, Ruesch M, Gratwohl A, Irsch J, *et al.* Pathogen-inactivation of platelet components with the INTERCEPT Blood System™: a cohort study. *Transfusion* 2011; 45(2): 175-81.
 - 66- Julmy F, Ammann RA, Fontana S, Taleghani BM, Hirt A, Leibundgut K. Transfusion efficacy of apheresis platelet concentrates irradiated at the day of transfusion is significantly superior compared to platelets irradiated in advance. *Transfus Med Hemother* 2014; 41(3): 176-81.

Review Article

Storage-dependent oxidative damage in gamma irradiated platelet products

Kiani Nodeh F.¹, Ghasemzadeh M.¹, Hosseini E.¹

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

Abstract

Background and Objectives

Gamma irradiation (GI) to platelet products is a usual therapeutic procedure for preventing the transfusion associated graft versus host disease (TA-GVHD) in susceptible recipients. Nevertheless, some studies indicate a decrease in platelet recovery after transfusion, associated with higher levels of platelet storage lesion (PSL) in gamma irradiated platelets. In addition, the induction of oxidant stress, especially the increase in the production of reactive oxygen species (ROS) following the treatment of platelet products with gamma rays, has been reported in some studies. Therefore, given the known effects of ROS on PSL induction, the review presented here, while introducing different sources of ROS production during storage, also discusses the importance of storage-dependent oxidative stress in platelet products exposed to gamma radiation. For this purpose, studies published in MEDLINE, PubMed and Google scholar were searched for relevant keywords, among which 66 studies were cited in this review.

Key words: Blood Transfusion, Platelet-Rich Plasma, Gamma Rays

Received: 13 Nov 2022

Accepted: 8 Feb 2023

Correspondence: Hosseini E., PhD in Hematology. 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) 88699531; Fax: (+9821) 88699531
E-mail: e.hosseini10@yahoo.com.au