اثر نگهداری خون بر عملکرد سیستم ایمنی

The Effect of Blood Storage on the Function of Immunity System

ترجمه و گردآوری:

دکتر مژگان شایگان

عضو هیات علمی سازمان انتقال خون ایران

علیرضا گودرزی

دانشجوی کارشناسی ارشد

هماتولوژی و بانک خون

تهیه شده در مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون

صفحه آرایی و امور رایانه: زهرا مقصودی

فروردین ۱۳۸۳

اثر نگهداری خون بر عملکرد سیستم ایمنی

زمان نگهداری یا ذخیره‌سازی[1] فرآورده های خونی احتمالاً نقش مهمی در وساطت اثرات نامطلوب انتقال خون ایفا می‌نماید. واکنش‌های غیر تب‌زای انتقال خون بیشتر بعد از تزریق خون کهنه (aged) دیده می‌شوند و علائم کاهش اکسیژن خون دربیماران مبتلا به عفونت که خون ذخیره شده بیش از ۱۵ روز را دریافت کرده‌اند، گزارش شده است. زمان نگهداری در بروز اثرات سرکوب ایمنی نیز مؤثر است که به نوبه خود در بروز عفونت‌های پس از اعمال جراحی همراه با انتقال خون، و در بقای پیوند کلیه دخالت دارند (۱)، در حالیکه انتقال خون تازه حاوی گلبولهای سفید اهدایی میتواند موجب آلوایمیونیزاسیون گردد. نقش عملکرد و مرگ سلولهای عرضه کننده آنتی‌ژن طی زمان نگهداری خون منجر به کاهش توانایی آنها در ایجاد پاسخ‌هایی سایتوتوکسی‌ک میشود و بر حسب مقدار (dose) انتقال چنین فرآورده‌های از طریق انحراف به سمت پاسخهای Th2، باعث سرکوب پاسخ ایمنی میشود(۲).

۱- عوامل سلولی:

خون تازه حاوی جمعیت نامتجانسی از سلولهای مختلف ایمنی نظیر مونوسیت‌ها، لنفوسیت‌هایB و T، پی‌ش سازهای دندریتیکی و .... می باشد. بعد از انتقال خون در بدن گی‌رند خون، پی‌ش سازهای دندری‌تی‌کی $CD14^+$ اهداکننده از طریق خون وارد بافت‌های غیر لنفاوی شده و در این بافت‌ها بالغ میشوند و پس از مهاجرت به عقده‌ها یا گره‌های لنفاوی میتوانند پاسخ مؤثر سایتوتوکسیک از نوع T_{h1} را ایجاد نمایند.

به عبارتی انتقال سلولهای تک‌هسته آلوژنیک تازه حاوی سلولهای پیش‌ساز دندریتیکی $CD14^+$ از طریق ایجاد اثرات سمیت سلولی و آنتی‌بادیهای تثبی‌ت کننده کمپلمان منجر به آلوایمیونیزاسیون میگردند (۲). از سوی دیگر حضور گلبولهای سفید فرد اهداکننده منجر به تعدیل ایمنی مربوط به انتقال خون

1. storage

Transfusoin-Related Immunomodulation(TRIM) ودر برخی بیماران منجر به شیوع گسترش بیماری پیوند علیه میزبان همراه انتقال خون TA-GVHD (Transfusion-Asociated Graft Versus Host Disease) میگردند انتقال خون آلوژنیک بدون تعیین نوع HLA انجام میشود و تقریباً ۵۰٪ از گیرندگان گلبولهای قرمز و پلاکت‌های فیلتر نشده، دچار آلوایمونیزاسیون میشوند(۲). از دیگر عوارض انتقال خون که به مدت نگهداری خون نسبت داده میشود، عود سرطان توسط عوامل رشد آزاد شده طی نگهداری خون کامل، میباشد(۳).

محلولهای رایج نگهداری خون، متابولیسم گلبولهای سفید را بطرز مناسبی حفظ نمی‌نمایند لذا این سلولها قابلیت زیستی خود را حین نگهداری از دست میدهند و قطعه قطعه میشوند(۲).

مرگ سلولی به دو طریق نکروز[۱] و آپوپتوزیس[۲]یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی روی میدهد. نکروز شکل آسیب‌شناسی مرگ سلولی است که در آن سلولها متورم و پاره میشوند و محتوی داخل سلولی به محیط اطراف میریزد. آپوپتوزیس شکل فیزیولوژیک خودکشی[۳]سلولی است که در آن محتویات سلولی متراکم و غلیظ شده، ژنوم باز شده و شاخص هایی در سطح سلول ظاهر میشوند که برای سلولهای بیگانه خوار، پیام‌های حذف سلولهای مذکور را ارسال می‌نمایند(۲).

نگهداری خون در اتاق قبل از آماده‌سازی فرآورده‌ها منجر به افزایش ظهور لیگاند Fas(FasL یا CD95) بوسیله گلبولهای سفید و آزاد شدن شکل محلول آن در پلاسما، فعال شدن گلبولهای سفید اهدایی و تنظیم افزاینده[۴]ظهورHLA-DR و CD14 می‌گردد.

FASL که از قبل ساخته شده و در داخل سلولهایی چون نوتروفیلها و سلولهای کشنده طبیعی (NKC[۵]) ذخیره میشود، در محیط آزاد میگردد. نگهداری خون کامل بمدت سه ساعت در دمای اتاق باعث افزایش ظهور FasL در غشای گلبولهای سفید میشود اما مقدار آن پس از ۶ ساعت در سطح سلولها به میزان اولیه برمیگردد در حالیکه غلظت پلاسمایی آن سه برابرافزایش می‌یابد.غلظت FasL در پلاسمای تازه اهداکنندگان

1. necrosis
2. apoptosis or Programmed Cell Death
3. suicide
4. upregulation
5. Natural Killer Cell

سالم ng/ml ۰/۳-۷/۱ گزارش شده که فاقد علایم آسیب‌شناسی است(۲). آپوپتوزیس در حین نگهداری فرآورده‌ها در سرما (دمای پایین) نیز ادامه می‌یابد. وجود پلاسما و سرم، آپوپتوزیس گلبولهای سفید اهدایی را در حین نگهداری در سرما به تأخیر می‌اندازد(۲). تغییر در قابلیت زیستی گلبولهای سفید اهدایی حین نگهداری در سرما توانایی آنها در تعدیل ایمنی پس از انتقال خون را تحت تأثیر قرار میدهد. گلبولهای سفیدی که در سرما نگهداری شده‌اند، قادر به تحریک MLC[1] نمی‌باشند. سلولهای آلوژنیکی که به صورت یکسان به آپوپتوزیس مبتلا شده‌اند، پس از تزریق داخل وریدی، علیرغم وجود مولکولهای MHC قادر به ایجاد پاسخ ایمنی نمی‌باشند(۲).

اتصال FasL به پذیرنده خود(FasR) روی سلولهای هدف منجر به آپوپتوزیس آنها میشود و احتمالاً در تنظیم التهاب و تعادل دستگاه ایمنی ضروری است. گرانولوسیت‌ها و مونوسیت‌های خون تازه، مقدار اندکی از FasR را بیان می‌کنند، اما فاقد FasL غشایی میباشند.

اما NK Cell ها در طی جمع‌آوری و نگهداری در دمای اتاق FasL را ظاهر می‌کنند. در پلاسما عاملی با قابلیت اتصال به FasL بنام FLBF[2] وجود دارد که به صورت کووالانت به محض ظهور FasL غشایی، به آن وصل شده، سپس مجموع فوق با وزن مولکولی ۳۵۰۰۰ دالتون در پلاسما آزاد میشود. مجموعه فوق برای سلولهایی که FasL را ظاهر می‌کنند، سیستمی ندارد اما از طریق رقابت با FasR، سلولها را از آپوپتوزیس، حفظ می‌نماید. در غیاب FLBF، FasL محلول بسیار سمی میباشد. سلولهای آپوپتوتیک نفوذپذیری غشا خود را از دست داده و متلاشی میشوند. گلبولهای سفید در حال آپوپتوزیس، پلاکت‌ها و گلبولهای قرمز در حین پیر شدن در خارج از بدن، توزیع متقارن فسفولیپیدهای غشا خود را از دست میدهند و فسفاتیدیل سرین که فسفولیپیدی با فعالیت پیش انعقادی قوی است، در لایهٔ خارجی غشاء قرار میگیرد و در بیمارانی که حجم زیادی از خون دریافت می‌کنند، اغلب اختلالات انعقادی جدی بعد از انتقال خون نظیر آمبولی‌های کوچک و خونریزیهای عروق ریز گسترش می یابند که این عوارض عمدتاً به دنبال انتقال خون ذخیره شده[3] روی می‌دهند و گسترش این عوارض به

1. Mixed Lymphocyte Culture
2. FLBF= Fas Ligand Binding Factor
3. storaged blood

تخریب عوامل لخته کننده در پلاسما طی نگهداری خون نسبت داده می‌شود. طی ذخیره سازی، توانایی تحریک پاسخ های آلوژنیک بوسیله سلولهای عرضه کننده آنتی‌ژن کاهش می‌یابد. سلولهای عرضه کننده آنتی‌ژن (APC)[1] اهدایی،ویژگیهای ایمنی زایی خود را از دست میدهند و فقط تا روز چهاردهم میتوانند سلولهای T آلوژن را تحریک کنند.

دو مکانیسم برای شناسایی آلوآنتی ژنها توسط سلولهای T گیرنده وجود دارد:

۱- سلولهای T گیرنده، بطور مستقیم با پپتیدهای فرد اهداکننده که بر روی سلولهای عرضه کننده اهدایی قرار دارند، تحریک میشوند. این امر بدون مشارکت سلولهای عرضه کننده آنتی ژن در گیرنده انجام میشود. پیامد این نحوهٔ ارایه آلوآنتی ژنها منحصراً به عملکرد سلولهایT گیرنده و سلولهای عرضه کننده آنتی‌ژن در فرد اهداکننده بستگی دارد.

۲- سلولهای عرضه کننده آنتی ژن در گیرنده، آنتی‌ژنهای مرسوم و مولکولهای محلول MHC فرد اهداکننده را به سلولهای T فرد گیرنده عرضه می کنند. پیامد این نحوه عرضه آنتی ژن به میزان آنتی ژن و عملکرد سلول های عرضه کننده آنتی ژن و سلولهای T بستگی دارد (۲).

× لنفوسیت‌های T و B:

در خون تازه که با محلولهای ضد انعقاد استاندارد گرفته میشود، لنفوسیت‌ها از نظر ساختمانی مشخص بوده و از نظر عملکرد فعال میباشند بطوریکه واکنش‌های TA-GVHD با پلاسمای تازه نیز به اثبات رسیده است (۴). طی نگهداری خون، لنفوسیتهای T دچار آپوپتوزیس شده و متلاشی میشوند. لنفوسیت‌های T فعالیت تکثیری خود را در خون ۱۴ روزه در پاسخ به تحریکات خارج از بدن از دست میدهند (۲)، به عبارتی لنفوسیتهای T در خونی که به مدت دو هفته ذخیره شده است، قادر به تکثیر نمی‌باشند، و نگهداری خون منجر به نقص عملکرد[2] لنفوسیتهای T شده و ممکن است نیاز به تابش اشعه به این فرآورده‌ها را مرتفع سازد. در حدود ۶۰٪-۵۰ سلولهای T در خون هفت روزه در محیط حاوی ۱۰٪ سرم هنوز زنده‌اند (۲). در مطالعه‌ای مطرح گردیده در خون ۲۱ روزه در بانک خون اکثر گلبولهای سفید شامل سلولهای تک -

1. Antigen Presenting Cells
2. function

هسته ای میباشند. لنفوسیت‌ها از نظر ساختمانی طبیعی بنظر میرسند اما طی نگهداری تعداد آنها کاهش می‌یابد، گرچه به اندازه فقدان پلی‌مورفونوکلئرها مشخص نمی‌باشد. اما حتی بعد از مدت طولانی نگهداری خون، تعداد کافی لنفوسیت های T وجود دارند که قادر به اعمال اجرایی برنامه‌ریزی شده و بروز TA-GVHD باشند (۴).

لنفوسیت‌های T و B تمایل دارند در خارج از بدن ظهور یا بروز شاخص‌های سطح خود را تغییر دهند، بطوریکه طی نگهداری تغییرات قابل ملاحظه ای در تمام زیر گروهها روی میدهد (۴). در خون افراد سالم ذخیره شده در ماده ضد انعقادی EDTA بمدت ۹۶ ساعت در دمای اتاق، بررسی فلوسایتومتریک بیانگر افزایش سلولهای T و کاهش سلولهای B میباشد (۵).

در مورد زیر گروههای لنفوسیتی گزارشهای متناقضی وجود دارند. طی مطالعه‌ای گزارش گردیده طی هفته اول نگهداری خون درصد سلولهای زنده با شاخص‌هـی T از ۶۶٪ به ۲۹٪ کاهش می‌یابد که زیر گروه T_h کاهش شدیدتری را متحمل میشود و منجر به کاهش نسبت T_h/T_s میگردد.

درصد سلولهای حاوی شاخص های سلول B از ۱۱٪ به ۳۱٪ افزایش می‌یابند و درصد سلولهای $B\ HLA\text{-}DR^+$ طی هفته اول از ۳۸٪ به ۵۹٪ افزایش نشاند داده‌اند (۶).

اما درمطالعه دیگری تعداد مطلق لنفوسیت‌ها طی یک هفته در $۲۲^{\circ}c$ ، دو برابر گزارش شدند که پاسخ آنها به فیتوهماگلوتینین (PHA)، میتوژنpockweed (PW) ، و کونکاوالین A(conA) سریعاً کاهش یافته و در روز ششم از بین میرود و پاسخ بـه لیپوپلی ساکارید در روز چهاردهم ظاهر نشده است. توانایی تشکیل روزت اریتروسیت در روز چهارم و تشکیل گلچه EA-C (اریتروسیت-آنتی بادی-کمپلمان)، که به ترتیب به توانایی لنفوسیتهای Tو B مربوطند در روز ششم از بین رفته‌اند. نتایج در مورد نمونه‌های نگهداری شده در $۴^{\circ}c$ مشابه است جز آنکه این تغییرات با تأخیر از ۷-۱ روز ایجـاد شده‌اند (۷). گزارش شده درصد سلولهای $CD34^+$ و سلولهای $CD19^+$ بطور قابل توجهی در خون نگه‌داری شده بمدت ۵ روز بالاتر از واحدهای خون تازه میباشد؛ احتمالاً اختلاف درصد مشاهده شده مربوط به متلاشی شدن انواع سلولهایی است که شناسایی شده‌اند. بطور مقایسه‌ای درصد سلولهای $CD34^+$ و سلولهای $CD19^+$ بطور قابل توجهی در خون نگه‌داری شده بمدت ۵ روز بالاتر از واحدهای خون تازه میباشد. احتمالاً، اختلاف

درصد مشاهده شده $CD34^+$ و سلولهای $CD16^+$ $CD56^+$ به طور قابل توجهی در واحدهای ذخیره شده در مقایسه با واحدهای تازه کمتر است (۸).

در مطالعه دیگری مطرح شده است که توزیع زیر جمعیت‌های زنده لنفوسیتی در خون ذخیره شده حداقل بمدت دو هفته ثابت است و طی نگهداری خون کامل بمدت ۱۴ روز درصد سلولهای حاوی CD3 (همه سلولهای T)، CD4 (سلولهای T_h)، CD8 (سلولهای T سرکوبگر)، و سلولهای دارای آنتی‌ژنهای HLA-I و HLA-II تقریباً ثابت میباشند (۹).

به عبارتی نتایج گزارشها ارایه شده متناقض میباشند، ضمن وجود گزارشهایی مبنی بر عدم تغییر ظهور یا بروز شاخص‌های زیر گروههای لنفوسیتی گزارشهایی نیز مبنی بر ایجاد تغییر در زیر گروههای لنفوسیتی طی یک شب نگهداری خون کامل در $4^{\circ}c$ نیز وجود دارد (۴).

×***گرانولوسیت‌ها:***

گرانولوسیت‌ها شامل نوتروفیلها (۷۵-۵۴٪ از گلبولهای سفید و تعداد $۳۰۰۰-۷۵۰۰/mm^3$)، بازوفیلها (۱-۰٪ گلبولهای سفید و به تعداد $۲۵-۱۰۰/mm^3$)، ائوزینوفیلها (۴-۱٪ و به تعداد $۵۰-۴۰۰/mm^3$)میباشند. نیمه عمر نوتروفیلها کوتاه و چند ساعت تا چند روز بوده، ائوزینوفیلها ۱۲-۸ روزو بازوفیلها نیز چند روز تا چند ساعت در خون عمر می‌کنند (۱۰).

گرانولوسیت‌های در حال گردش، سلولهای با عمر کوتاه و نیمه عمر عروقی ۶ ساعته و مرحله بافتی ۲ تا ۴ روز میباشند. گرانولوسیت‌ها نظیر سایر سلولهای در مرحلهٔ پایانی حیات خود، دستخوش فرآیند مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی[1] یا آپوپتوزیس می‌شوند که میتواند مسئول همه یا برخی تغییرات ساختاری و عملکردی گرانولوسیت‌ها طی نگهداری (در$۳۷^{\circ}c$) باشد، اما بنظر میرسد که احتمالات دیگری نیز جهت توجیه کاهش عملکرد گرانولوسیت‌ها مطرح میباشند. تصور میگردد تخریب پروتئین که رویداد ثابتی در سلولهای زنده است، نقش محدود کننده‌ای در نگهداری سلولها دارد. تخریب آنزیم‌های گلیکولیتیک بیانگر تولید تغییر یافته ATP میباشد یا تغییر در پروتئین‌های غشایی ممکن است مسئول افزایش چسبندگی سلولی باشد. فعال سازی گرانولوسیت‌ها از دیگر مکانیسم‌های کاهش عملکرد گرانولوسیتی طی ذخیره سازی آنها میباشد.

1. Programmed Cell Death (PCD)

مطالعاتی مؤید سازگاری بین فعال شدن گرانولوسیت‌ها و افزایش چسبندگی آنها پس از نگهداری وجود دارد. طی نگهداری تعداد زیاد سلولی، تغییر غلظت یون هیدروژن ممکن است منجر به، نقص غیر قابل برگشت عملکرد سلولی به صورت مستقل از اثر آنها بر تولید ATP گردد. کارایی گلبولهای سفید پلی مورفونوکلئر (PMN) در خون نگهداری شده در بانک خون تنها بمدت چند ساعت بوده و لنفوسیت‌ها بمدت طولانی‌تری باقی میمانند (۱۱). طی ۲۴ ساعت پس از جمع‌آوری[1] نقص قابل توجهی در عملکرد گرانولوسیت‌ها روی میدهد و با ذخیره‌سازی بیش از ۲۴ ساعت تغییرات فوق افزایش می‌یابند. اولین عملکرد گرانولوسیت‌ها که از بین میرود، فعالیت هدایت شیمیایی جهت دار یا کموتاکسی[2] میباشد. بازیافت گرانولوسیت‌ها، توزیع یا انتشار و مهاجرت به محل های التهابی حداقل یک ساعت پس از ذخیره‌سازی گرانولوسیت‌ها در دمای اتاق پایدار می‌مانند و بعد از ۲۴ ساعت نگهداری بازیافت و مهاجرت به محلهای التهابی کاهش می‌یابد. (۱۱)

از جمع‌بندی بررسی‌های مختلف مشخص میگردد که نمیتوان دلیل واحدی را مسئول این نقص برشمرد. برخی بررسی‌ها بیانگر اختلال در عملکرد و یا تعداد گیرنده‌های FMLP[3] گرانولوسیتی میباشند.

کاهش در میانگین میل ترکیبی گیرنده های فوق بعد از ذخیره‌سازی گزارش شده است که این کاهش ظاهراً با افزایش تعداد گیرنده‌های FMLP با میل ترکیبی پایین ایجاد میشود. جذب یا هدایت شیمیایی به انرژی نیاز دارد، از این‌رو بین نقص کموتاکسی و کاهش ATP در سلولهایی که در ۴°c نگهداری شده‌اند، ارتباط وجود دارد. برخلاف گرانولوسیت‌های ذخیره شده در ۴°c، گرانولوسیت هایی که در ۲۴-۲۲°c و با تعداد کمتر از ۵×۱۰^{۵}/L نگهداری شده‌اند، ATP در حال استراحت و در حین مواجهه با عوامل جاذب شیمیایی را حفظ نموده‌اند. به علت آنکه گرانولوسیت‌ها ATP را از گلیکولیز گلوکز موجود در محیط یا گیلکوژن داخل سلولی کسب می‌نمایند، اختلال در گلیکولیز یا گلیکوژنر مطرح شده است.

پیروات و لاکتات داخل سلولی در حین نگهداری گرانولوسیت‌های در دمای اتاق افزایش می یابند اما این اختلالات به تنهایی آنقدر شدید نمی باشند که علت نقص

1. collection
2. chemotaxis

3. FMLP= Formyl-Methyl- Leucine-Phenylalanine

شی‌می‌ای‌ی گرانولوسی‌ت ها ذخی‌ره شده محسوب گردند. بی‌ن تعداد گرانولوسی‌ت ها در واحدهای ذخی‌ره شده با غلظت ATP داخل سلولی، غلظت خارج سلولی گلوگز، PH محی‌ط و استفاده از گلوکز در سلولهای در حال استراحت، رابطه معکوسی مشاهده شده است. پلاکتها در مصرف گلوکز طی نگهداری گرانولوسی‌ت ها مورد توجه قرار گرفته اند. تعداد گرانولوسیت‌ها در حین نگهداری نسبتاً پایدار است و بعد از ۴۸ ساعت کمتر از ۱۵٪ است. پلاکت‌ها در مصرف گلوکز طی نگهداری گرانولوسیت‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند. کاهش نشان میدهد. بررسی‌ها نشان داده‌اند که تثبیت PH محیط (با افزودن بافر) در گرانولوسیت‌های متراکم، با تعداد سلول زیاد منجر به حفظ عملکرد گرانولوسیت‌های ذخیره شده میگردد و پیشنهاد شده است که نباید در غیاب بافر افزودنی مبادرت به نگهداری گرانولوسیتهای متراکم با تعداد سلول بیش از $۵\times۱۰^{۱۰}/L$ نمود.

لکوترین B_4(LTB_4) به عنوان واسطه اصلی برای تقویت پیام کموتاکسی در نظر گرفته شده و مطرح گشته که به علت اختلال در مسیر آنزیمی مواد LTB_4 که تولید سایر لکوترین‌ها را نیز تحت تأثیر قرار میدهد، تولید این عامل پس از مواجهه با مواد جاذب شیمیایی دچار نقص میباشد(۱۱).

مواجهه پلی‌مورفونوکلئرهای تازه با محتویات داخل سلولی پلی مورفونوکلئرهای تکه‌تکه شده، منجر به کاهش کموتاکسی سلولهای فوق بمیزان ۵±۶۳٪در مقایسه با سلولهای کنترل میشود(۱۲).

خصوصیات چسبندگی گرانولوسیت‌هایی که در ۶°c-۴ ذخیره شده‌اند، افزایش می‌یابد و ممکن است منجر به احتباس ریوی سریع این سلولها گردد که یک دلیل احتمالی آن تغییر ظهور یا بیان گیرنده‌های چسبندگی گرانولوسیتی میباشد. گزارش گردیده گرانولوسیتهایی که در ۲۴°c-۲۲ نگهداری میشوند به تک لایه‌های اندوتلیال، ماتریکس خارج سلولی و سطوح مصنوعی چسبندگی بیشتری دارند. طی مطالعه‌ای در مورد نگهداری گرانولوسیت‌ها در ۴°cدر ظروف پلاستیکی عدم تغییر مولکولهای چسبنده اینتگرینی لکوسیت‌های نظیر CD11c،CD11b و کاهش CD11a(LFA-1) گزارش شد. اما در مطالعه دیگر طی نگهداری گرانولوسیتها در دمای اتاق، افزایش CD11a(Mac-1) گزارش گردید. عواملی که آپوپتوزیس را مهار می‌کنند باعث پایداری و یا افزایش ظهور CD11b میگردند و طی یک بررسی گرانولوسیتها عملکرد چسبندگی خود را حفظ نموده و با تغییرات چسبندگی سلولهایی که در ۶°c نگهداری شده‌اند: تجمع ناشی از عوامل جاذب شیمیایی افزایش یافت. گرانولوسیت‌های تازه و سلولهایی که در ۲۴°c-۲۲ ذخیره

شده‌اند، تجمع خودبخودی اندکی دارند اما تمایل چسبندگی خودبخود گرانولوسیت‌هایی که در ۶°c ذخیره شدند، بسیار قابل ملاحظه است(۱۱).

فعالیت باکتری کشی[1] در گرانولوسیتها شامل: بیگانه خواری[2] یا بلع، فعالیت پروتئین، آزاد شدن محتوای لیزوزومی و تولید رادیکالهای اکسیژن میباشد. بنظر میرسد این فعالیت پس از نگهداری ۲۴ ساعته در یخچال یا در دمای اتاق بدون نقص میباشد. برخی محققین تا ۴۸ ساعت پس از جمع‌آوری حضور ۳۰٪ فعالیت میکروب‌کشی را مطرح نموده‌اند(۱۱).

علیرغم وجود گزارشهایی مبنی بر فعالیت اندک باکتری‌کشی بعد از ۷-۵ روز نگهداری، اصولاً بر این عقیده‌اند که فعالیت باکتری‌کشی پلی مورفونوکلئرها در خون نگهداری شده در بانک خون فقط حدود چند ساعت باقی میماند. Capplan و همکاران نشان دادند که فعالیت باکتری‌کشی پلی مورفونوکلئرها در خون هپارینه حداقل تا ۱۲ ساعت حفظ میشود و فعالیت باکتری‌کشی پلی مورفونوکلئرهای ذخیره شده در ماده ضد انعقاد CPDA تا ۹۶ ساعت از دست نمیرود و پس از این مدت کاهش نشان میدهد. در هنگام نگهداری پلی‌مورفونوکلئرها در ماده ضد انعقاد ACDA بمدت ۲۴ ساعت در ۴°c، این سلولها از نظر ساختمانی طبیعی بنظر میرسند اما در حین نگهداری در ۴°c تغییرات افزاینده‌ای در ساختار آنها به وقوع می‌پیوندد، نظیر: از دست دادن اجزای کروماتین، آزادسازی گرانولها و فقدان سیتوپلاسم.

بعد از ۹۶ ساعت نگهداری که زمان از دست رفتن فعالیت باکتری کشی‌است، علیرغم تغییرات ساختمانی در پلی‌مرفونوکلئرها، این سلولها در برابر رنگ آمیزی باترپیان بلو مقاومت نشان میدهند(۶).

سایر سلولها:

× **سلولهای کشنده طبیعی:**

در مورد فعالیت سلولهای NK یا سلولهای کشنده طبیعی طی نگهداری خون گزارش زیادی در دسترس نمی‌باشد و اغلب بیانگر عدم بروز تغییرات در فعالیت سمیت سلولی[3] توسط این سلولها طی ۲ ساعت نگهداری (۱۳) و حتی یک شب در یک درجه سلسیوس میباشد(۱۴).

1.bactericidal
2. phagocytosis
3. cell cytotocity

در مطالعه‌ای بر سلولهایی که با مواد محافظ سرما در مقابل سرما حفاظت[1] شده‌اند، پس از ۱۴ ماه نگهداری در سرما فعالیت سلولهای NK ثابت میماند و نحوه انجماد[2] بیش از مدت زمان نگهداری در سرما بر فعالیت این سلولها اثر دارد(۱۵).

× *سلولهای مونوسیت:*

در پاسخ به محصولات دیواره سلولی باکتری‌ها، نظیر LPS، مونوسیت‌ها IL-8 تولید می‌نمایند. در غیاب این ماده، در بیماریهای کمپلکس ایمنی، نظیر روماتوی‌یدآرتریت، مقادیر زیادی از IL-8 در فرآورده‌های غنی از مونوسیت وجود دارند. کمپلکس‌های ایمنی حاوی IgG میتوانند از طریق FcR (پذیرنده بخشFc) روی نوتروفیلها این سلولها را فعال نمایند. بررسی‌ها نشان داده‌اند اتصال متقاطع FcγR روی مونوسیت‌ها نیز منجر به القا IL-8 شده که ممکن است در بیماریزایی اختلالات با واسطه کمپلکس ایمنی مشارکت نمایند(۱۶). مونوسیت‌های فعال شده از منابع اصلی سایتوکاین های التهابی هستند، گرچه نقش مونوسیت در تولید سایتوکاین‌ها در فرآورده پلاکت متراکم مشخص نشده است. در مطالعه‌ای نشان داده شد که متعاقب تهیه این فرآورده، فعال شدن مونوسیتی روی میدهد و افزایش غلظت IL-6، IL-Iβ با افزایش شمارش پلاکتی ارتباطی نداشته و شواهد مستقیمی بین میزان فعال شدن مونوسیتی ومیزان آزاد شدن سایتوکاین‌ها مشاهده نگردید(۱۷).

۲- عوامل سرمی:

کمپلمان:

سیستم کمپلمان خون اعمال گسترده‌ای با طیف وسیعی از سازوکارهای دفاعی نظیر اعمال ضد ویروسی و ضد میکروبی را بر عهده دارد. محصولات مشتق از اجزای فعال شده کمپلمان نظیر C3b و C4b و آنافی‌لاتوکسین های چون C3a، C4a و C5a باعث القای پاسخهای متعدد ایمنی سلولی می شوند.

1. cryopreservation
2.freezing

آنافی‌لاتوکسی‌ن ها به عنوان یک عامل التهابی عمل می‌کنند. کمپلمان در ایمونوپاتوژنز بیماریهای خود ایمن متعددی نقش دارد و فعال شدن آن در دفع اعضای پیوندی نیز مطرح شده است. متأسفانه مشکل عمده‌ای در فعال شدن وسیع کمپلمان در آزمایشگاه در نمونه‌های خونی تهیه شده با EDTA روی میدهد. مجموعه کمپلمان یا سازگان متمم[1] حاوی بیش از ۲۰ پروتئین مختلف است که در سه مسیر یا آبشار[2] فعال میگردند.

عدم پایایی‌ی اندازه گیری کمپلمان در روشهای مختلف آزمایشگاهی، قسمتی به ماهیت این آزمایشها مربوط میباشد. تعیین غلظت خونی اجزای دست نخورده کمپلمان بمنظور تعیین غلظت این اجزاء در محدوده‌های طبیعی یا غیر طبیعی، کارایی دارد اما این اطلاعات بیانگر فعال شدن کمپلمان نمیباشند. اندازه‌گیری اجزاء فعال شده مثل C3c، C3d، C4d و مجموعه C5b-9 جهت پایش روند فعال شده کمپلمان بکار رفته‌اند. اما چنانچه در آزمایشگاه (invitro)، کمپلمان فعال شود، تفسیر نتایج به علت اشکالات متعدد مثل مشکلات توزیع و انتشار (نظیر اجزای متصل به سلول در مقایسه با اجزاء آزاد) و کاتابولیسم یا متابولیسم اجزای کوچکتر C3a، C4a کوچکتر پایدارتر از سایر مولکولهای آزاد شده طی فعال شدن کمپلمان میباشند و کاندیدهای اولیه‌ای برای پایش روند فعال شدن کمپلمان هستند. ایندو شاخص‌های قسمتی از نوع و میزان فعال شدن کمپلمان هستند زیرا C4a عمدتاً فقط طی مسیر فعالسازی کلاسیک و یا مسیر lectin تولید میشود و تولید C3a، در غیاب C4a به گردش خون، بوسیله N-کربوکسی پپیتد از سرم به اشکال فاقد آرژینین (des Arg- C4a, des Arg- C3a) تبدیل میشوند که به پذیرنده‌های اختصاصی سطح سلولی وصل نمیشوند. کمپلمان با گذشت زمان در EDTA پایدار نمیباشد. اما با استفاده از مهارکننده‌های کمپلمان نظیر Futhan میتوان باعث تثبی‌ت کمپلمان گردید(۱۸).

طی نگهداری خون کامل با ماده CPDA-1[3] ، آبشار کمپلمان فعال میشود. شواهد این امر افزایش سریع غلظتC3a ، C4a فاقد آرژی‌نی‌ن میباشد(۱۹).

1. complement system
2. cascade
3. CPDA-1= Citrate Phosphate Dextrose Adenine-1

از آنجایی که سیترات به عنوان ضد انعقاد در فرآورده‌های خونی استفـاده میشود، این ماده به کاتیونهای دو ظرفیتی کلسیم و منیزیم متصل میشود، این کاتی‌ونهای
کوفاکتورهای ضروری در آبشار آنزیمی کمپلمان هستند، لذا انتظار میرود کمپلمان در فرآورده‌های خونی سیتراته فعال نشود. با توجه به اثبات حضور آنافیلاتوکیسن‌ها در پلاکت‌های متراکم و خون کامل، هر چند حضور منیزیم و کلسیم تولید این عوامل را تحریم می‌کنند اما ممکن است حضور کایتونها برای تولید آنافیلاتوکسین‌ها ضروری نباشد و حتی در حضور عوامل محصور کننده ی‌ونها[1] در مقادیر اجرایی و عملکردی حضور داشته باشد(۱۳).

پس از ۱۴-۱۰ روز نگهداری خون کامل افزایش غلظت C3a، C4a شدیداً مشخص میباشد، که به صورت موازی با افزایش غلظت پروتی‌یناز الاستاز لیزوزومی از گرانولوسیتهای پلی‌مورفونوکلئرها صورت میگرد. اما پس از سه هفته غلظت C4b2b بدون تغییر باقی میماند. کاهش گلبولهای سفید منجر به حذف افزایش غلظت C4a میشود در حالیکه اثری بر غلظت C3a ندارد. این امر مطرح می‌کند تجزیهٔ C4 طی نگهداری خون کامل، بخشی وابسته به گلبولهای سفید است در حالیکه فعال شدن C3 ناشی از مسیر جنبی کمپلمان و از طریق تماس با سطوح پلاستیکی است(۱۹).

مواد خارجی نظیر سطوح پلاستیکی امکان فعال کردن مسیر آلترناتیو آبشار کمپلمان را دارند. بنابراین وقتی که فرآورده‌های خونی در کیسه‌های پلاستیکی جمع‌آوری میشوند، فعالسازی مسیر آلترناتیو کمپلمان ممکن است روی دهد(۲۰).

در مطالعه‌ای نشان داده است که طی ۱۰ روز نگهداری خون کامل در CPDA-1، C3 و C4 فعال میشوند، مطرح گردید. ترکیباتی که طی تخریب گلبولهای سفید آزاد میشوند و به صورت ذاتی قدرت فعالسازی کمپلمان را دارند، عامل فعال شدن کمپلمان میباشد. ثابت شده است که اجزای کمپلمان طی نگهداری در ۴°c بر روی گلبولهای قرمز رسوب می‌نمایند.

طی ۲۱ روز نگهداری ممکن است C3b، C4d محلول تا ده برابر افزایش یابد. گزارش شده است که محتوای پروتئین‌های مختلف تنظیم کننده کمپلمان (نظیر CD59[2],DAF[3]) در گلبولهای قرمز کاهش می‌یابند(۲۰).

1. chelator
2. CD59 or Membrabne Inhibitor of Reactive Lysis (MIRL)
3. DAF: Decay Accelerating Factor

افزایش غلظت C5a پس از ۷ روز نگهداری و غلظت بالای C3a در پلاسما پس از روز چهاردهم مشاهده شده‌اند. در فرآورده‌های خون کامل کمپلمان فعال میشود اما در فرآورده گلبولهای قرمز چنین حالتی وجود ندارد(۲۱).

کمپلمان فعال شده ممکن است یکی از منابع احتمالی موادی باشد که منجر به فعال شدن پلاکت‌ها میگردد(۱۳و۱۵).

طی نگهداری ممکن است فعال شدن پلاکتی در فقدان عملکرد و حیات پلاکت نقش داشته باشد، این روند را آسیب (lesion) نگهداری پلاکت می نامند. بررسی‌ها نشان داده‌اند غلظت C3a، C4d و SC5b-9 طی زمان ذخیره‌سازی افزایش می‌یابد. با استفاده از فلوسایتومتری حضور C3، C4 در سطح پلاکت‌ها ثابت شده است. حضور پلاکت‌های C3 مثبت در روز سوم نگهداری به حداکثر میرسد و در روز پنجم کاهش می‌یابند. ظهور DAF روی پلاکت‌ها طی نگهداری به موازات ظهور CD3 افزایش می‌یابد. بر اساس میزان C4d، فعال شدن کمپلمان از طریق مسیر کلاسیک بیشتر است. میزان C1INH (مهارکننده C1، جزء اول کمپلمان)، طی نگهداری کیسه‌های حاوی پلاسما به تنهایی کاهش می‌یابد (۷). جزء C3dروی پلاکت‌ها طی سه روز اول نگهداری افزایش می‌یابد و در پایان روز پنجم پلاکت‌ها C3d منفی میشوند که احتمالاً یا ناشی‌از تجزیه قطعات C3d و یا به علت ریزش[1] آن میباشد. این نتایج بیانگر فعال شدن کمپلمان میباشند که احتمالاً از مکانیسم‌های فعال شدن پلاکت‌ها طی نگهداری فرآورده پلاکت متراکم در دمای اتاق میباشد(۲۲). قابل ذکر است که فیلتراسیون پلاسما قبل از ذخیره‌سازی، آبشار کمپلمان را فعال می‌کند اما تولید سایتوکاین‌ها را تحت تأثیر قرار نمیدهد. مقادیر افزایش یافته C3aو SC5b-9 (کمپلکس تهاجم غشایی) در پلاسمای فیلتر شده از زمان شروع ذخیره‌سازی ثابت گردیده است (۲۳). گزارش دیگری نیز مطرح شده که ضمن اعلام افزایش مقادیر C3a و C4b طی نگهداری هفت روزه پلاکت‌های اهداکننده منفرد، بطور متناقضی فقدان عملکرد پلاکتی را به تولید مقادیر زیاد آنافیلاتوکسین‌ها نسبت میدهد (۲۴).

انتقال خون اتولوگ منجر به فعال شدن کمپلمان نمیشود و بازیافت خون[2]،

1. shedding
2. blood salvage

که از خون شسته شده استفاده میشود، از افزایش غلظت اجزای کمپلمان می‌کاهد، در حالیکه فیلتراسیون چنین اثری ندارد(۲۵).

گزارشهایی متناقضی در این مورد وجود دارد مبنی بر اینکه بازیافت خون قبل از عمل با آزاد سازی واسطه‌های التهابی همراه است و ممکن است بر حسب نوع آماده‌سازی، سیستم کمپلمان فعال نشود اما طی مطالعه‌ای در سال ۱۹۸۸(۲۶) خون ۱۶ بیمار که تحت جراحی ران قرار گرفته بودند، بازیافت گردید و مشخص شد غلظت C3a، C5a و مجموعه تهاجم غشایی در خون بازیافتی افزایش یافته‌اند. فیلتراسیون نیز منجر به کاهش عوامل فوق نشد بجز در گروهی که خون را به نسبت ۵ به ۱ با سرم فیزیولوژی شستشو داده بودند. به عبارتی خون جمع‌آوری شده و فیلتر شده[1] حاوی مقادیر افزایش یافته C3a، C5a و مجموعه تهاجم غشایی است. و تزریق مجدد این خون باعث افزایش غلظت منتشر اجزای فعال شده (activated) و یا اختلال در پارامترهای بیوشیمیایی و همودینامیکی نمیشود(۱۱).

× سایتوکاین‌ها:

با اینکه گلبولهای سفید در حین نگهداری متلاشی میشوند، اما حدود نیمی از آنها پس از سه هفته زنده‌اند و مواد فعال از نظر ایمنی تولید می‌کنند(۱)، بدین معنا که مواد بیواکتیو[2] متعددی از گلبولهای سفید و پلاکت‌ها در فرآورده‌های حاوی گلبولهای قرمز طی نگهداری آنها آزاد میشوند(۳).

از آنجا که برخی از این مواد دارای اثر تعدیل ایمنی[3] هستند، تعدیل ایمنی القاء شده بوسیلهٔ انتقال خون ممکن است به زمان ذخیره‌سازی بستگی داشته باشد. سایتوکاین‌های خاصی به صورت وابسته به زمان در فرآورده‌های خونی ذخیره شده حضور دارند. این مواد در گرانولهای داخل سلولی ذخیره نمیشوند بکله پس از تحریک سلولی ساخته و بدنبال آن آزاد میشوند. نگهداری خون در $4^{\circ}c$ منجر به تجمع مقادیر زیادی از سایتوکاین‌ها در سوسپانسیون گلبولهای قرمز نمیشود(۱). به عبارتی تولید سایتوکاین‌ها در فرآورده‌های گلبول قرمز که

1. hemofiltration
2. bioactive= فعال زی‌ستی
3. immunomodulation effect

در ۶°c-۱ نگهداری میشوند.در مقایسه با کنستانتره‌های پلاکتی کـه در ۲۴°c-۲۰ نگاهداری میشوند کمتر است(۲۷).

در مطالعه‌ای گزارش شده است که IL-6 در سوسپانسیـون گلبولهـای قرمـز ۴°c تجمع نمی‌یابند اما در کنسانتره‌های پلاکتی ذخیره شده در ۲۱°c تجمع می‌یابد(۳). اما در مطالعه‌ای، ما در یافتیم که در کنسانتره‌های پلاکتی در دمای اتاق نگهداری میشوند میزان تولید این سایتوکاین اندک است(۲۸). اینترلوکین-۸ (IL-8) عضوی از خانواده کموکاینی است که باعث مهاجرت گلبولهای سفید به محل التهاب، فعال شدن و آزادسازی محتویات گرانولی میشود. به علت اثر تحریکی، این سایتوکاین میتواند فعالیت تب‌زایی سایر سایتوکاین های درون زاد[1] و برون‌زاد[2] را هم تحت تأثیر قرار دهد(۲۷).-IL 8،TNF-α، IL-1β و IL-6در عوارض تب‌زای غیرهمولیتیک پس از تزریق پلاکت‌های متراکم مؤثر شناخته شده‌اند(۲۹).

البته اهمیت بالینیIL-8 تزریق شده و چندین کموکاین دیگر ممکن است به علت حضور یک گیرنده کموکاینی روی گلبولهای قرمز در تعداد زیادی از گیرندگان خون کاهش یابد. آنتی‌ژنهای دافی (Fy^a, Fy^b) گیرنده‌هایی با تمایل ترکیبی بالا برای IL-8 و فاکتور رشد ملانوما و عامل پروتئینی جاذب مونوسیتی-۱ (MCP-1)محسوب می‌شوند. تصور میگردد منبع سلولی مولد IL-8 و IL-1β و در فرآورده های گلبول قرمز، گلبولهای سفید باقیمانده هستند. لذا کاهش گلبولهای سفید طی فیلتراسیون قبل از نگهداری[3] از تولید سایتوکاین ها جلوگیری می‌کند(۲۷).

در مطالعه ما نیز (۲۸)، مشخص گردید که استفاده از فیلتراسیون کاهش دهنده لکوسیتی قبل از نگهداری منجر به کاهش تولید IL-8 و TNF-α میشود. تابش اشعه گاما نیز از تولید TNF-α طی ۳ روز نگهداری پلاکت‌های متراکم ممانعت به عمل می‌آورد اما مانع تولید IL-8 نمیگردد.

کنسانتره‌های پلاکتی تهیه شده به روش Buffuy Coat(BC-PC)نسبت به پلاکت-های متراکم تهیه شده به روش PRP[4](پلاسمای غنـی از پلاکـت) محتـوای سایتوکاینـی

1. endogenous
2. exogenous
3. pre-storage leukodepletion
4. Platelet Rich Plasma

کمتری دارند(۳۱). در مقادیر IL-1,6,8 در پلاکت‌های متراکم تهیه شده به روش BC طی ۶-۵ روز نگهداری افزایش معناداری مشاهده نشده است. محتوای سایتوکاینی در ۱۲ ساعت اول به سختی قابل ردیابی هستند. افزایش غلظت IL-8 در پلاکت‌های متراکم تهیه شده به روش آفرزیس[1] نیز گزارش شده است، اما در مقدار IL-6 این فرآورده‌ها طی ۶ روز نگهداری افزایشی مشاهده نشده است (۳۰). به عبارتی علاوه بر زمان نگهداری یا ذخیره‌سازی، روش تهیه پلاکت‌های متراکم، محتوای گلبولهای سفید، درجه حرارت ذخیره‌سازی و آلودگی باکتریایی بر محتوای سایتوکاینی این فرآورده اثر دارند. نشان داده است که هورمونهای جنسی، آزاد سازی TNF (عامل نکروز تومور) از ماکروفاژها را تنظیم می‌کنند. احتمالاً متغیرهای دیگری نیز نظیر نوع پلاستیک و یا عامل پلاستیک‌ساز[2] در جدارهٔ کیسه نیز ممکن است تولید سایتوکاین‌ها را تحت تأثیر قرار دهند. چسبندگی به پلاستیک، محرکی شناخته شده برای مونوسیت‌ها در تولید و ترشح سایتوکاین‌ها میباشد لذا تفاوت در پلاستیک کیسه‌های فرآورده‌ها خونی مهم میباشد. از سوی دیگر اندوتوکسین یا دیگر محصولات باکتریایی در صورت وجود میتوانند مونوسیت‌ها را وادار به تولید سایتوکاین نمایند. کمبود نسبی اکسیژن مونوسیت‌ها طی آماده سازی فرآورده و نگهداری در بانک خون عامل احتمالی دیگری برای تولید سایتوکاین‌ها میباشد. نشان داده شده که آسیب رسیدن به مونوسیت‌ها در مراحل مختلف تهیه و نگهداری فرآورده‌های خونی، سبب آزادسازی سایتوکاین‌ها میشود.

برای مثال آسیب‌های ریز در غشای سلولی مونوسیت میتواند منجر به آزاد شدن تنظیم نشده IL-1β شود.

به علاوه طی آپوتپوزیس مونوسیت‌ها، IL-1β آزاد میگردد. این احتمال وجود دارد که شرایط نگهداری پلاکت‌های متراکم باعث آسیب و آپوپتوزیس مونوسیت‌ها میشود که بدین طریق منجر به آزاد سازی سایتوکاین میشود. بنظر میرسد فعال شدن و یا آسیب پلاکتی طی نگهداری پلاکت‌های متراکم میتواند به آزادسازی سایتوکاین‌ها از این سلول مربوط شود. دستکاری فرآورده‌ها، نظیر تابش اشعه‌های گاما یا فرا بنفش نیز ممکن است در تجمع سایتوکاین‌ها دخالت کنند. برخلاف پلاکت‌های در دمای ۲۰-۲۴°c تا ۵ روز نگهداری میشوند، فرآورده‌های حاوی گلبول قرمز در ۱-۶°c تا ۴۲ روز نگهداری میگردند.

1. apheresis
2. plastisizer

از ای‌نرو انتظار میرود دمای پایین، متابولیسم گلبولهای سفید عبوری[1] را در این فرآورده‌ها مهار کند(۳۱).

**** هیستامین:***

علاوه بر سایتوکایین‌ها، نشان داده شده است که هیستامین نیز به صورت خودبخود و وابسته به زمان از گرانولهای بازوفیلی در فرآورده‌های خونی آزاد میشوند. هیستامین دارای اثرات متیوژنی، تکثیری، ضد ساخت رگ و سرکوب ایمنی در رشد تومور میباشد. علاوه بر بازوفیلها سایر سلولهای موجود در خون نظیر ائوزینوفیلها، نوتروفیلها و پلاکت‌ها دارای گرانولهای داخل سلولی حاوی مواد فعال زیستی هستند که ممکن است بطور طبیعی برای دفاع میزبان در مقابل آنتی‌ژنهای بیگانه و نئوپلازی‌ها مفید باشند. زمانی که این مواد در مقادیر زیاد و غیر قابل کنترل آزاد شوند، احتمالاً باعث وساطت واکنش‌های پاتوفیزی‌ولوژیک متعدد میشوند. مطرح شده است که آزاد شدن مواد فعال زیستی طی نگهداری ناشی از آسیب و تخریب تدریجی سلولها است(۳).

در طی ۴ هفته از ذخیره‌سازی یا نگهداری به علت اثر تخریبی گلبولهای سفید، افزایش لگاریتمی غلظت هیستامین نشان داده شده است (۳۲). در مطالعه‌ای در سال ۱۹۹۶ (۳۳) افزایش غلظت هیستامین به صورت وابسته به زمان طی ۳۵ روز نگهداری خون کامل از محدودهٔ ۲/۲-۱۷/۴nmol/L به ۱۷۵nmol/L، و از ۸/۲-۳۸/۵nmol/L به ۳۲۸/۵nmol/L خون کامل فاقد پلاسما و از ۰/۵-۱/۵nmol/L به ۱/۴-۶/۹nmol/L در خون حاوی SAGM[2] گزارش گردید. این نتایج بیانگر آزاد شدن خودبخود هیستامین طی نگهداری فرآورده‌های خونی انسان است که ممکن است در تعیین اثرات انتقال خون نقش آشکاری داشته باشد.

دقیقاً مشخص نشده است که آیا مقادیر در حال افزایش هیستامین طی ذخیره‌سازی میتواند از نظر بالینی مهم باشند یا خیر. برداشت احتمالی آنست که مقدار هیستامین پلاسما در بیمارانی که خون کهنه (aged) دریافت می‌کنند، میتواند آنقدر بالا باشد که علایم واکنش بعد از انتقال خون را آغاز کند. شواهد موجود در بیمارانی که واکنش‌های شبه آنافیلاکسی انتقال خون را تجربه کرده‌اند منجر به بروز این نظریه شده

1. passenger
2. Saline Adenine Glucose Mannitol

است که چنین ارتباطی میتواند وجود داشته باشد(۳۲). گزارشهای متعدد و متناقضی در مورد تولید یا عدم تولید هیستامین طی نگهداری فرآورده‌های پلاکتی وجود دارند.

بررسی‌ها نشان داده‌اند که افزایش هیستامین با تعداد اولیه گلبولهای سفید در پلاکت‌های متراکم ارتباط دارد. اما به درصد گلبولهایی که از بین رفته‌اند ربطی ندارد و این بدان معناست که گروهی از سلولها که پس از ۵ روز نگهداری به دلیل تجمع و یا متلاشی شدن قابل شمارش نیستند منبع احتمالی هیستامین پلاسما هستند گزارش شده محتوای کلی هیستامین طی نگهداری در پلاکت متراکم تغییر نمی‌کند و این روند ساخت فعال هیستامین را برخلاف تولید فعال سایتوکاین‌ها رد می‌نماید. علت مهار تولید فعال هیستامین احتمالاً به شرایط نگهداری (فقدان کلیسم و دمای نگهداری) مربوط است؛ چرا که کلسیم در فرآورده پلاکت متراکم به سیترات موجود در پلاسمای فوقانی پلاکت‌ها متصل و منجر به ترشح هیستامین میشود. Ferwin و همکاران همزمان با پیشرفت افت یا کاهش گلبولهای سفید در خون ذخیره شده، افزایش غلظت پلاسمایی هیستامین را مشاهده نمودند که دلالت بر آزاد شدن هیستامین از سلولهای تخریب شده دارد (۳۲). علیرغم آنکه گزارش شده هیستامین طی نگهداری پلاکت ساخته نمیشود(۳۴)، اما در یک بررسی بر روی ۱۴ نمونه پلاکت متراکم پس از روز سوم غلظت هیستامین از میانگین ۱۳/۳۸ ng/mlدر ۹ نمونه به غلظت کمتر از ۲۲ng/mlرسیده است که بوسیله گلبولهای سفید طی نگهداری آزاد میشوند. گرچه هیستامین در بدن (invivo) متابولیزه میگردد اما یک آستانه بحرانی هیستامین میتواند در انسان بدنبال تزریق سریع پلاکت متراکم ذخیره شده حاوی مقادیر زیادی از این ماده، حاصل شود، که این امر توضیح دهنده واکنش‌های غیر قابل انتظار در بیماران دریافت کننده پلاکت متراکم میباشد(۳۵). محتوای هیستامین خون کامل پس از ۶ هفته نگهداری در $4^{\circ}c$ ثابت میماند که به علت مهار متابولیسم سلولی در دمای پایین میباشد.

مطرح شده دمای بیشتر نگهداری پلاکت‌های متراکم ممکن است منجر به فعالیت بیشترگلبولهای سفید سازنده طی نگهداری در $22^{\circ}c$ از نظر متابولیکی فعال هستند(۳۲).

نیمی از هیستامین خون در بازوفیلها، یک سرم در ائوزیتوفیلها، یک ششم در نوتروفیلها و مابقی در سایر اجزای خون یافت میشود. گرانولوسیت‌ها سلولهای شکننده‌ای هستند که در $4^{\circ}c$سریعاً تخریب میشوند و چنانچه طی نگهداری در دمای اتاق ذخیره گردند، عملکرد گرانولوسیت‌ها بعد از ۲۴ ساعت به شدت کاهش می‌یابد، بویژه زمانی که گرانولوسیت‌ها طی نگهداری تکان داده میشوند. اگر چه بر خلاف گرانولوسیت‌ها در

فرآورده خون کامل و گلبول قرمز متراکم، تعداد این سلولها در پلاکت‌های متراکم کمتر میباشد، اما به علت تخریب سریع گرانولوسیت‌ها، فرآورده اخیر از محتوای هیستامینی بیشتری برخوردار میباشد و انتقال یا تزریق پلاکت‌های متراکم ذخیره شده، میتواند سطح هیستامین پلاسمای فرد گیرنده را از حد بحرانی 1ng/ml افزایش دهد. تصور میگردد میزان هیستامین در واحدهای کهنه‌تر خون ذخیره شده آنقدر بالا باشد که منجر به بروز یا افزایش واکنش‌های انتقال خون شود و دورهٔ ذخیره‌سازی خون ممکن است بر شیوع این واکنش‌های اثر داشته باشد و می‌زان کمتر گلبولهای سفی‌د قبل از نگهداری فرآورده ها، از مقادی‌ر زی‌اد هی‌ستامی‌ن در فرآورده های متراکم گلبولهای قرمز و پلاکتی جلوگی‌ری می نمای‌د و ممکن است منجر به مهار واکنش های مربوط به انتقال هیستامین شود(۳۴).

ایمونوگلوبولین‌ها:

سرم طبیعی دارای اتوآنتی‌بادی علیه تعداد زیادی از پروتئین‌های سلولی و سرمی است. اتوآنتی‌بادیهای IgG ضد پروتئین‌های غشای سلول نظیر اسپکترین، محصولات تجزیه شده Band 3 و آنتی‌ژنهای سلولهای پیر[1] از این دسته‌اند(۳۶). یکی از آنتی‌ژنهای روی سلولهای پیر، در اسیدآمینه ۹۱۱ پروتئین غشایی Band 3 وجود دارد. Band 3 یک ناقل غشایی همگانی است که در غشای پلاسمایی انواع متعددی از سلولها، بافت‌ها، هسته سلول و غشاهای میتوکندریایی و گلژی وجود دارد. یکی از مکانیسم‌های تولیدآنتی‌ژن های پیر اکسیداسیون میباشد. جایگاههای آنتی‌ژنیک aging در انسان در نواحی ۵۵۴-۵۳۸ و ۸۳۰-۸۱۲ از مولکول Band 3 قرار دارند. این اتوآنتی‌بادیها بطور طبیعی در سرم انسانهای سالم وجود دارند و با افزایش سن و در بیماریهای خودایمنی،افزایش می‌یابند(۳۷).

گلبولهای قرمز پیر در مقایسه با گلبولهای جوانتر،دارای IgA، IgM، IgG و C3d بیشتری در سطح خود هستند(۳۸). سلولهای بیگانه خوار تک هسته‌ای، گلبولهای قرمز پیر را بر اساس اتصال ایمونوگلوبولین‌ها از گلبول‌های بالغ، انتخاب می‌نمایند(۳۹). غشای گلبولهای قرمز طی نگهداری در شرایط استاندارد، دچار آسیب میگردد که منجر به

1. senescent cells

کاهش قابلیت زیستی[1] آنها پس از تزریق میشود(۴۰) میزان IgG سطح گلبولهای قرمز طی نگهداری افزایش می‌یابد که بیانگر تجمع آنتی‌ژنها در سطح سلولهای پیر میباشد(۳۶). اتصال مولکولهای IgG اتولوگ به گلبولهای قرمز ذخیره شده بر قابلیت زیستی[1] آنها پس از تزریق اثر دارد (۴۰).

مولکولهای محلول HLA-I :

پلاسمای انسان حاوی مولکولهای محلول MHC یا HLA است که در کبد ساخته میشوند(۴۱). غلظت HLA محلول در روز سی‌ام نگهداری فرآورده حاوی گلبول قرمز و روز پنجم نگهداری پلاکت به ۴ng/ml میرسد(۴۲). بنظر میرسد، ممکن است MHC محلول بوسیله سلولهای پردازش کننده آنتی‌ژن،پردازش شده و طی عرضه مستقیم به سلولهای T گیرنده عرضه میشوند نتیجه این عرضه آنتی‌ژنی به مقدار آنتی‌ژن و عملکرد سلولهای پردازش کننده آنتی‌ژن و لنفوسیت‌های T گیرنده بستگی دارد (۲). از آنتی‌ژنهای HLA-I، مولکول HLA-B7 که به وفور روی گلبولهای قرمز (تحت عنوان آنتی‌ژن Bg^a) می‌یافت می شود، نقش مؤثرتری دارد. لذا فرآورده های گلبول قرمز که HLA-B7 مثبت می‌باشند، ممکن است باعث ورود مقادیر زیادی از این پپتید به بدن گیرنده خون شود. توالی HLA ممکن است ردیابی و پاکسازی سلولهای دهنده بوسیلهٔ سلولهای NK گیرنده و دفاع میزبان و می‌زان میکروکایمریسم ناشی از انتقال خون را تحت تأثیر قرار دهد(۴۳).

1. viabilty

منابع:

1.Mynster TD, Dybkjær E,Kronborg G,Nielsen HJ:Immunomodulationg effect of blood transfusion: Is storage time Important Vox Sang 1998, 74: 176-81.
2. Mincheneff M: Changes in donor leukocyte during blood storage. implication on post-transfusion immunomodulation and transfusion-associated GVHD. Vox Sang 1998, 74 (suppl 2): 189-200.
3. Nielsen HJ, Reimert CM, Pedersen AN, Brunner N, Edvardson L, et al: Time dependent, spontaneous release of white cell-and platelet derived bioactive substances from stored human blood. Transfusion 1996, 36: 960-65.
4. Mccullough J, Bensen SJ, Yunis EJ, Quie PG : Effect of blood-bank storage on leucocyte function: The Lancet 1996, 2: 1333-7.
5.Miller GH, levy NB: Effects of storage conditions on lymphocyte phenotypes from healthy and diseased persons J Clin Lab Anal 1989, 3(5): 296-306.
6.Dzik WH, Neckers L: Mononuclear cell-surface antigen during storage of banked blood. Transplantation 1984, 38(1): 67-71.
7.Khan A, Wakasugi K, Hill N, Komezi T, Osamura S: Changes in the immunocompetence and surface markers of lymphocytes in stored blood. Exp Hematol 1997, 5(1): 8-12.
8.Landent E, Semple JW, Berlig G: White blood cell subsets in buffy coat derived platelet concentrates: the effect of pre-and poststorage Filtration. Vox Sang 2000, 79: 235-41.
9.Prince HE, Arens L : Effect of storage on lymphocyte surface marker in whole blood units. Transplantation 1986, 41(2): 235-8.
10.Blood cells. http://www.cat.cc. md. us/ courses/ boil41/ lecguide/ unite2/ innate/.
11.Lane TA: Granulocyte storage and metabolism. In: Anderson-Ness(editors): Scientefic Basis of Transfusion Medicine. 2nd edition, 2000, W.B. Saunders, PA, P: 171-6.
12.Lane TA, Lamkin GE: The effect of storage on degranulation by human neutrophils (abstract). Transfusion. 1985, 25: 155.
13.Thanthwaite JT, Rosenthal PK, Vazquez DA, Seckinger D: The effects of anticoagulant and temperature on the measurement of helper and suppressor cells. Diagn Immunology (abstract). 1984 2(3):167-74.
14.Georgesca RN, Keller SE: Overnight storage at 1 degree C does not affect NK cytotoxicity. J Immunol Methods 1987,103(1):151.
15.Fujiwara S, Akiyama M, Yamakido M,et al: Cryopreservation of human lymphocytes for assessment of lymphocyte subsets and NK cytotoxicity. J Immunolo Methods. 1986, 90(2): 265.

16.March CB, Gadek JE, Kindt GC, Moore SA, Wewers MD: Monocyte Fc gamma receptor cross-linking inducer IL-8 production.J Immounology 1995, 155(6): 3161-7.
17.Grey D, Erber MN, Saunders KM, Lown JA: Monocyte activation in platelet concentrates. Vox Sang 1998, 75(2): 110-14.
18.Pfeifer PH, Kawahara MS, Hugli TE: Possible mechanism for in vitro complement activation in blood and plasma samples: Futhan/EDTA controls in vitro complement actovation. Clini Chemist 1999, 45:1190-9.
19.Schlevning M, Schmid-Haslbeek M, Utz H, et al : Complement activation during storage of blood under normal blood bank conditions. Effects of proteinase inhibitos and leukocyte depletion. Blood 19982, 7a(11): 3071-5.
20.Geiger TL, Synder EL: Biological response modifiers in blood component processing. In: Davenport R.D, Synder EL (editors): Cytokines in Transfusion Medicine: A primer. AABB press, 1997: 65-6
21.Gyongyosy-Issa MI, Mcleod E, Devine DV,et al: Complement activation in Platelet concentrates is surface-dependent and modulated by the platelets. J Lab Clin Med 1994, 123(6): 859-68.
22.Miletic VD, Popovic O: Complement activation in stored platelet concentrates. Transfusion 1993, 33: 150.
23.Hyllner M, Tylman M, Bengtson JP, Rydberg L, Bengtsson A: Complement activation in prestorage leucocyte filtered plasma (abstract) Transfusion Medicine 2004, 14: 45.
24.Schleuning M, Bock M, Mempel W:Complement activation during storage of single-donor platelet concentrates.Vox Sang 1994, 67(2):144-8.
25.Tylmanan M, Bengtson JP, Bengtsson A : Activation of complement system by different autologous transition devices: an in vitro study. Transfusion 2003, 43(3): 395-9.
26.Annestad JP, Hyllner M,Bengtson JP,et al : Removal of activated complement from shed blood : comparison of high and low-dilutional haemofiltration (abstract). Acta Anaesthesiol Scand 1998, 42(7). 811-5.
27.Stack G, Baril L, Napychank P, Synder EL: Cytokine generation in stored, white cell-reduced and bacterially contaminated units of red cells. Transfusion 1995, 35: 199-203.
۲۸-مژگان شایگان، علی‌اکبر پورفتح‌الله، مهرنازغیری، غلامرضا بابایی فروغ اعظم طرآبادی: تعیین IL-1β، IL-8، TNF-α و IL-6 در کنسانتره پلاکتی. تحت چاپ- مجله غلظت
دانشکده پزشکی – د. ع. پ تهران - ۱۳۸۳

29. Muller-Steinhardt M, Kirchner H, Kluter H: Impact of storage at 22°c and citrate anticoagulation on the cytokine secretion of mononuclear leukocytes. Vox Sang 1998, 75: 12-17.
30. Wadhwa M, Seghatchian MJ,Lubenko A, Contretras M, Dilger P,et al: Cytokine levels in platelet concentrate quantitation by bioassays and immunoassays (abstract). Br J Haematol 1996, 93: 255.
31. Stock G, Berkowicz D: Cytokine production During blood component storage . In: Davenport RD, Synder EL(editors): Cytokine in Transfusion Medicine: A primer. AABB press: 1997, P: 30-38.
32. Frewin DB, Jinsson JR, Frewin CR, Russeh WJ, Russell MW, et al: In fluence of blood storage reactions. Vox Sang 1989, 56: 243-6.
33.Nielsen HJ, Edvardson L, Vangsgaard K, Dybkjær E, Skov PS: Time dependent histamin release from stored human blood products (abstract). Br J Surg 1996, 63(2): 259-62.
34. Mylle L, Beert JF, Mertens G, BUH H: Histamine synthesis by white cells during storage of platelet concentrates. Vox Sang 1998,74: 193-7.
35. Mylle L, Laekman G, Herman AG, Peetmans ME: Histamine levels in stored platelet concentrates. Relationship to white cell content. Transfusion 1988, 28(3): 226-8.
36. Kay MM, Sorense K, Wong P, Bolton P: Antigenicity, stored and aging: physiologic autoantibodies to cell membrane and serum proteins and the senescent cell antigen (abstract). Mol Cell Biochem 1982,49(2):65-85.
37. Kay MM, Lake D, Cover C: Band 3 and its peptides during aging, radiation exposure and Alzheimer's disease: alterations and self-recognition (abstract). Adv Exp Med Biol 1995, 383: 167-93.
38. Freedman J: Membrane-bound immunoglobulins and complement components on young and old red cells. Transfusion 1984, 24(6): 477-81.
39. Kay MM, Role of physiologic autoantibodies in the removal of senescent human red cells (abstract). J Supramol Struet 1987 9(4): 555-67.
40. Gareau R, Brisson GR, Goulet H, Dube J : Blood banking – induced senescent modifications on red blood cells. Cell Biol 1992, 38(4): 395-8.
41. Dzik WH: Proposed mechanisms of the immunomodulatory effect of allogenic blood transfusion In: Vamvakas EC, Blajchman MA(editors): Immunomodulatory effects of Blood Transfusions. AABB press, Bethesda, Maryland, 1999.
42. Bclojchman MA, Dzik S, Vamvakas EC, Sweeney J, Synder EL: clinical and moleucular basis of transfusion-induced immunomodulation: Summary of the proceedings of a state-of the-Art conference. Transfusion Med Rev 2001, 15: 108-53.
43. Dzik S: Mechanisms underlying the immunomodulatory effect of allogenic blood transfusion, In: Anderson, Ness: scientific of Transfusion Medicin, 2000, Saunders, P: 444.