مجله دانشکده پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی تهران
سال ۶۲، شماره ۴، صفحات ۳۰۲ تا ۳۰۹ (۱۳۸۳)

بررسی غلظت IL-1β، IL-6 ، IL-8 و TNF- α درکنسانتره‌های پلاکتی

دکتر مژگان شایگان (استادیار)*، دکتر علی اکبر پورفتح الله (دانشیار)**، مهرناز نمیری (کارشناس ارشد)***، دکتر غلامرضا بابائی (دانشیار)****، فروغ اعظم طرابادی (کارشناس)*****

* ایمونولوژی، مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران، بخش ایمونولوژی

** ایمونولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، بخش هماتولوژی و سازمان انتقال خون ایران

*** ایمونولوژی، بیمارستان دکتر شریعتی

**** آمار حیاتی و اپیدمیولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی

***** شیمی، سازمان انتقال خون ایران، بخش ایمونولوژی

چکیده

مقدمه: ازآنجا که افزایش سایتوکاینهائی نظیر: IL-1β، IL-6، IL-8 و TNF- α ، طی نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی مسئول ایجاد واکنشهای غیر همولیتیک تبزا ((= Febrile Non-Heamolytic Transfusion Reactions **FNHTRs** پس از تزریق پلاکتها می‌باشند، هدف این مطالعه بررسی غلظت این سایتوکائینها در کنسانتره‌های پلاکتی تولید شده در پایگاه انتقال خون تهران می‌باشد.

مواد و روشها: این مطالعه جهت تعیین اثر کاهش گلبولهای سفید، با استفاده از فیلترهای کاهش دهنده لکوسیتی (قبل از ذخیره سازی) ، بر تولید سایتوکائینها طی نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی انجام شده است. ٥٤ کنسانتره پلاکتی بروش پلاسمای غنی از پلاکت ((PRP از اهداکننده منفرد ، تهیه و در ٤ گروه تقسیم شدند :

۱- کنسانتره پلاکتی فیلتر نشده و اشعه ندیده (n= ۱۳) ۲- کنسانتره پلاکتی فیلتر نشده و اشعه دیده (n= ۱٦)

۳- کنسانتره پلاکتی فیلتر شده و اشعه ندیده (n= ١٤) ٤- کنسانتره پلاکتی فیلتر شده و اشعه دیده (n= ۱۱)

غلظت سایتوکائینها در مایع روئی کنسانتره‌های پلاکتی بروش الیزا تعیین گردید.

یافته‌ها: نتایج ما نشان داد ، غلظت IL-8 در نمونه‌های فیلتر نشده اشعه دیده و اشعه ندیده در روز سوم نگهداری افزایش یافته‌اند. در مقایسه با کنسانتره‌های پلاکتی فیلتر نشده ، فیلتراسیون قبل از ذخیره سازی باعث مهار تولید IL-8 و TNF- α در نمونه‌های فیلتر شده طی نگهداری شده است. غلظت IL-6 فقط در ۷ نمونه از کل نمونه‌های فیلتر شده قابل اندازه‌گیری بود. غلظت IL-1β از حداقل مقدار قابل اندازه‌گیری توسط کیت‌های مصرفی کمتر بود.

نتیجه گیری و توصیه ها: نتایج این مطالعه نشان دادند که کاهش گلبول‌های سفیدقبل از ذخیره سازی کنسانتره‌های پلاکتی از انباشته شدن IL-8،IL-6 و TNF- α طی نگهداری آنها ممانعت بعمل می‌آورد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-07]

مقدمه

واکنشهای غیر همولیتیک تب‌زا
Febrile Non-Heamolytic Transfusion Reactions = FNHTRs
ازعوارض جانبی شایع انتقال خون (١) و تزریق پلاکت (٤-٢) هستند. علائم بالینی این واکنشها شامل: تب ، لرز ، احساس سرما و ناراحتی ، سردرد و تهوع می‌باشند. خطر این واکنشها در تزریق گلبولهای قرمز ٦-٥ ٪ و در تزریق پلاکت ٣٠-٢٠ ٪ می‌باشد که این مسئله بیانگر مکانیسم‌های مختلف در بروز این واکنشهاست:

١- **واکنش کلاسیک:** در بدن گیرنده آنتی بادی ضدلکوسیتهای اهدائی ایجاد شده که با آنها واکنش داده و باعث آزاد شدن عوامل تب‌زای داخلی (سایتوکائین‌ها) از لکوسیت‌ها میگردد.

٢- **انتقال پاسیو سایتوکائینها:** طی ذخیره سازی یا نگهداری (storage) کنسانتره‌های پلاکتی (Platelet Concentrates= PCs) سایتوکائین‌های تب‌زا تجمع می‌یابند که مسئول اکثر واکنشهای غیرهمولیتیک تب‌زا در کنسانتره‌های پلاکتی non-leukodepleted هستند. اما این مکانیسم قادر به توضیح واکنشهادر کنسانتره‌های پلاکتی کم لکوسیت (leukodepleted) نمیباشد.

٣- **کمپلکسهای ایمنی:** تولید کمپلکسهای ایمنی باعث آغاز تحریک سلول‌های ایمنی به آزاد سازی سایتوکائین‌های التهابی می‌گردد. در عمل واکنش‌های همولیتیک تب‌زا به هر سه مکانیسم وابسته است (٥).

یکی از کاربردهای اولیه استفاده از فیلترهای کاهش دهنده لکوسیت (leuckodepletion Filters) جلوگیری از FNHTRs است. بررسی‌ها نشان داده‌اند در صورتیکه تعداد لکوسیتهای باقیمانده در گلبولهای قرمز متراکم کمتر از 10^8 X٥ در هر واحد باشند FNHTRs کاهش می‌یابند. روش‌های متداول کاهش لکوسیت بصورت قبل از ذخیره‌سازی (Pre-storage) و هنگام مصرف در بالین بیمار (bedside) میتوانند لکوسیت‌های اهدائی را به سطوح کمتر از مقادیر موثر در بروز FNHTRs برسانند. فرآورده‌های گلبولی بعلت نگهداری در سرما از نظر بالینی فاقد مقادیر قابل توجهی از سایتوکائین‌ها هستند لذا واکنشهای تب‌زا پس از مصرف این فرآورده‌ها بسیار ناچیزند، و اکثر واکنشهای تب‌زا پس از مصرف فرآورده‌های گلبولی بعلت وقوع واکنشهای همولیتیک ناشی از ناسازگاری خونی و آلودگیهای باکتریائی ایجاد می‌شوند. اما FNHTRs پس از مصرف کنسانتره‌های پلاکتی رایج‌ترند و کاملاً با کاهش لکوسیت‌ها نیز حذف نمیشوند. کاهش لکوسیت‌ها منجر به کاهش آلوایمیونیزاسیون HLA و کاهش انتقال برخی ویروسها نظیر CMV می‌گردد (٥).

گزارشات متعددی پیرامون افزایش غلظت سایتوکائین‌ها بویژه IL-1، IL-6، IL-8 و TNF- α در طی نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی وجود دارد (١،٢،٣،٤،٥،٦،٧). منبع عمده سایتوکائین‌ها در کنسانتره‌های پلاکتی گلبولهای سفید بویژه مونوسیت‌ها محسوب می‌شوند. گزارش شده تعداد بیش از ٣٠٠٠ گلبول سفید (در هر میکرولیتر µl) برای افزایش سایتوکائین‌ها در کنسانتره‌های پلاکتی (Random Donor RD-PCs) ضروری است. لذا کاهش لکوسیت‌ها در این فرآورده‌ها باعث کاهش تولید سایتوکائین‌ها می‌گردد. تابش اشعه نیز منجر به مهار پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های T، بعنوان یکی از منابع مولد سایتوکائین‌ها، می‌شود (١).

با توجه به گزارشات متعدد در مورد افزایش غلظت سایتوکائین‌ها در کنسانتره‌های پلاکتی و تاثیر زمان و فیلتراسیون قبل از ذخیره‌سازی در کاهش لکوسیت‌ها (Pre-storage leuckodepletion) و اثر اشعه بر فعالیت تکثیری لنفوسیت‌ها، در این مطالعه به بررسی غلظت سایتوکائین‌های IL-1، IL-6، IL-8 و TNF- α در طی زمان نگهداری در کنسانتره‌های پلاکتی (RD-PC) کم لکوسیت، اشعه دیده و اشعه ندیده پرداختیم.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-07]

مواد و روش‌ها

تعداد ٥٤ کنسانتره پلاکتی که به روش PRP (Platelet Rich Plasma) (۹۸،۲) از خون کامل تهیه شده، بصورت تصادفی به ٤ گروه تقسیم گردیدند:

۱- کنسانتره پلاکتی فیلتر نشده و اشعه ندیده (n= ۱۳)

۲- کنسانتره پلاکتی فیلتر نشده و اشعه دیده (n= ۱٦)

۳- کنسانتره پلاکتی فیلتر شده و اشعه ندیده (n= ۱٤)

٤- کنسانتره پلاکتی فیلتر شده و اشعه دیده (n= ۱۱)

کنسانتره‌های اشعه دیده تحت تابش GY rad ۲۵۰۰ - ۳۰۰۰ اشعه گاما قرار گرفتند.

جهت تهیه کنسانتره‌های پلاکتی فیلتر شده از کیسه فیلتردار حاوی فیلتر کاهش دهنده لکوسیتی Purecell-PL (PL1BE) محصول شرکت Pall استفاده شده است که این فیلترها از جنس پلی استر و دارای بار منفی می‌باشند. جهت فیلتراسیون ابتدا کنسانتره پلاکتی بروش PRP تهیه و سپس در زیر هود پورتهای کیسه حاوی کنسانتره و کیسه فیلتردار به یکدیگر متصل و سپس با آویزان کردن کیسه بر اثر جاذبه عمل فیلتراسیون تسهیل می‌شود.

پس از تهیه کنسانتره پلاکتی به روش PRP (و یا فیلتراسیون)، و تحت تابش اشعه گاماقرار می‌گرفتند.

تحت شرایط استریل از سوپرناتانت‌روئی کنسانتره پلاکتی ٥ ml نمونه گرفته که مقداری از آن جهت شمارش گلبول‌های قرمز و سفید مورد استفاده واقع شده و سوپرناتانت مابقی پس از سانتریفوژ بمدت ۱۵-۲۰ دقیقه و در g × ۱۰۰۰ جدا شده و در لوله‌های استریل تقسیم و به فریزر ۷۰ - درجه سانتیگراد منتقل شدند.

شمارش گلبولهای قرمز و سفید و پلاکت‌ها با لام نئوبار و بصورت دستگاهی انجام گردید. کنترل PH نیز انجام شد.

جهت شمارش گلبولهای سفید در کنسانتره پلاکتی فیلتر شده از لامNageotte استفاده شد که حساسیت آن 0.1 WBC/ µl تخمین زده شده است. شمارش گلبولها و کنترل PH در روزهای ۰ و ۳ (و در مورد نمونه‌های فیلتر شده پس از فیلتراسیون شمارش سلولی مجدداً) انجام میگردید.

جمعاً تعداد ۸۳ نمونه (در گروههای مختلف)جمع آوری گردید که پس از بررسی نتایج تستهای روتین انتقال خون ، شمارش گلبولهای قرمز و سفید و پلاکتها ،تعداد ٥٤ نمونه واجد شرایط لازم از نظر نتایج منفی تستهای روتین و مناسب بودن شمارش سلولی و حجم نهائی ، جهت اندازه‌گیری غلظت سایتوکائین‌ها به روش ELISA تشخیص داده شدند :

کیت ELISA ۹٦ تستی IL-8 محصول Roche (کمترین مقدار قابل ردیابی ٦/۲ pg/ml)

کیت ELISA ۱۹۲تستیIL-1β محصول Bio Source International (USA) (کمترین مقدار قابل ردیابی ۱ pg/ml)

کیت ELISA ۱۹۲تستی IL-6محصول Bio Source International (USA) (کمترین مقدار قابل ردیابی ۲ pg/ml)

کیت ELISA ۱۹۲تستی TNF-αمحصول Bio Source International (USA) (کمترین مقدار قابل ردیابی ۱/۷ pg/ml)

جهت بررسی آماری اطلاعات بدست آمده از نرم افزار SPSS استفاده شد. بمنظور بررسی میانگین غلظت سایتوکائین‌ها در هر گروه در روزهای مختلف از آزمون Paired T-Test و در بین گروهها از آزمون آنالیز واریانس و برای بررسی ارتباط غلظت سایتوکائین‌ها با یکدیگر و با تعداد سلولها از ضریب همبستگی Pearson استفاده گردید.

یافته‌ها

با توجه به حجم یک واحد کنسانتره پلاکتی قادر به تقسیم آن در ٤ قسمت (٤ گروه) نبودیم ، لذا از کنسانتره‌های پلاکتی تهیه شده از افراد مختلف در گروهها استفاده شد. نتایج ما نشان دادند که میانگین غلظت سایتوکائین‌ها (در روز صفر) در گروه‌ها اختلاف معنی‌داری ندارند. (P=0.3 برای IL-1β ، P=0.19 برای IL-8 ،

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-07]

P=0.25 برای IL-6 (و فقط غلظت TNF-α در گروه ١ کنسانتره پلاکتی فیلتر نشده و اشعه ندیده) در روز صفر از سایر گروهها کمتر بود.

غلظت IL-1β فقط در ٧ نمونه از کل نمونهها در تمامی گروهها ردیابی گردید. (٤٧/٥ pg/ml-١/٢) و در سایر نمونهها کمتر از حساسیت کیتهای مورد استفاده بود.

میانگین غلظت IL-8 بین روز صفر (٤٨/٥ Pg/ml) با روز ٣ (٢٣٩/٤ Pg/ml) در گروه اول (کنسانتره‌های پلاکتی فیلتر نشده و اشعه ندیده با P=0.011) و بین روز صفر (٣٧/٣ Pg/ml) با روز ٣ (٦٢/٣ Pg/ml) درگروه دوم (کنسانتره‌های پلاکتی فیلتر نشده و اشعه دیده با P=0.006)دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد به عبارتی غلظت IL-8 در کنسانتره‌های پلاکتی اشعه ندیده و اشعه دیده که لکوسیتهای آنها کاهش نیافته طی نگهداری افزایش یافته است و تابش اشعه مانع تولیدو افزایش آن نشده است. اما بین غلظت آن در گروههای سوم (کنسانتره‌های پلاکتی فیلتر شده و اشعه ندیده) و چهارم (کنسانتره‌های پلاکتی فیلتر شده و اشعه دیده) در روزهای صفر و سوم اختلاف معنی‌داری مشاهده نمیشود که این امر احتمالا بیانگر اثر فیلتر کاهش دهنده لکوسیتی در مهار افزایش غلظت این سایتوکائین طی نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی می‌باشد.

میانگین غلظت TNF-α بین روز صفر (١٥/٤٤ Pg/ml) و روز ٣ (٢٤/٠٦ Pg/ml) در گروه اول (با P=0.021) طی نگهداری افزایش معناداری را نشان می‌دهد. در سایر گروهها میانگین غلظت TNF-α در روز سوم از روز صفر کمتر است که این کاهش در گروه‌های دوم و سوم و چهارم (به ترتیب با P=0.011 ،0.04 = P و P = 0.037) معنی‌دار می‌باشد، بعبارتی در کنسانتره‌های پلاکتی فیلتر شده یا اشعه دیده غلظت TNF-α طی نگهداری نه تنها افزایش نمی یابد بلکه بصورت معنی‌داری کاهش نیز نشان می‌دهد، که این امراحتمالاً بیانگر اثر اشعه و فیلتراسیون در مهار افزایش این سایتوکائین طی نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی می‌باشد.

میانگین غلظت IL-6 بین روز صفر با روز سوم در گروه‌های اول و دوم اختلاف معنی‌داری ندارد، بعبارتی طی نگهداریRD- PCs اشعه ندیده و اشعه دیده غلظت این سایتوکائین افزایش نمی‌یابد. اما در گروه سوم این سایتوکائین را فقط در ٦ نمونه ردیابی نمودیم. در گروه چهارم طی روز سوم این سایتوکائین را فقط در ٢ نمونه رد یابی نمودیم. بعبارتی کاهش لکوسیت‌ها مانع تولید این سایتوکائین در اکثر نمونه‌های فیلتر شده گردیده است. در همه گروهها میانگین PH در روز سوم (در محدوده ٧/٤-٦/٥) اندکی کاهش یافته و این اختلاف فقط در گروه اول معنادار نمی‌باشد.

نتایج ما نشان دادند که بین غلظت سایتوکائین‌ها با یکدیگر و با تعداد پلاکتها ارتباطی مشاهده نمی‌گردد، اما در مورد ارتباط بین IL-8 با تعداد نوتروفیل‌ها نتایج متناقضی بدست آمد. در گروه دوم بین غلظت IL-8 در روز سوم با تعداد نوتروفیل‌ها ارتباط معکوسی مشاهده می‌شود. (r = -٠/٦٩ و P=٠/٠٠٩) ولی در گروه سوم بین غلظت IL-8 در روز اول با تعداد نوتروفیل‌ها ارتباط مستقیمی مشاهده می‌شود (r = ٠/٨٤ و P=٠/٠١٩). در گروه چهارم بین غلظت IL-6 در روز سوم با تعداد لنفوسیت‌ها ارتباط مستقیمی مشاهده میشود (r = ٠/٩١ و P=٠/٠٠٠١). فقط ٥ عدد از نمونه‌های تحت بررسی حاوی مونوسیت بودند.

میانگین شمارش گلبول‌های سفید در گروه سوم پس از فیلتراسیون ٠/٠٠٥ ± ٠/٠٠٨٩٥ و در گروه چهارم ٠/٠٠٥٨±٠/٠٠٨٦ (×١٠٧) سلول در هر واحد از کنسانتره‌های پلاکتی می‌باشد که در محدوده‌های استاندارد شمارش گلبول‌های سفید برای فرآورده‌های کم لکوسیت است.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-07]

جدول ۱– میانگین ± (SE) بر حسب (pg/ml) سایتو کائینها (در روزهای صفر و ۳) در گروههای مختلف

گروهها	IL1 روز صفر	IL1 روز سوم	IL8 روز صفر	IL8 روز سوم	IL6 روز صفر	IL6 روز سوم	TNF روز صفر	TNF روز سوم
گروه اول			۴۸/ ۵	۲۳۹/۴	۶/۴۵	۷/۲	۱۵/۴۴	۲۴/۰۶
SE ±میانگین	×	×	۲۹/۵۷±	۱۲۹/۵۶±	۲/۸±	۲/۳۵±	۵/۳۲±	۱۱/۰۴±
حداقل-			۱۹/ ۴–	۵۱۴/۴–	۴/۳–۱۰/۷	۱۰/۸–۴/۶	۳۲ –۱۲	۹–۴۴/۸
حداکثر			۹۹/۵	۹۵/۶				
N = ۱۳								
گروه دوم	۰/۷۶۳	۰/۵۳۱	۳۷/۳	۶۲/۳	۹/۳۳	۵/۶۳	۳۳/۱	۲۴/۳۹
SE ±میانگین	×	×	۲۰/۲۵±	۲۳/ ۹۸±	۱۱/۲۲±	۲/۹۳±	۱۱/۹۹±	۱۰/۱۱±
حداقل-			۸۰/۶–۱۴	۱۱۴/۶–	۴۵/۵–۰	۸/۶–۰	۴۶– ۸/۴	۳۸ –۱۰/۵
حداکثر				۲۷/۹				
N = ۱۶								
گروه سوم	۳/۸۶	۱/۷	۴۷/۳۳	۴۵/ ۰۴	۸/۷۸	†۲/۷۳	۳۵/۲۷	۳۲/۱۸
SE ±میانگین	×	×	۱۹/۵۶±	۱۹/۵۳±	۹/۷۹±	۳/۰۴±	۶/۸۲±	۷/۵۹±
حداقل-			۲۱/۵–	۶۹/۵–۱۹	۵/۲–۰/۴	۷/۷– ۰/۱	۱۵–۴۲/۳	۴۰/۲–۱۵/۳
حداکثر			۶۸/۴					
N = ۱۴								
گروه چهارم			۵۰/۱	۴۸/۴۷	۲/۴	‡۵/۶	۳۲/۹۲	۲۸/۷
SE ±میانگین	۰	۰/۶	۱۸/۵±	۱۸/۱۶±	۰/۸۵±	۲/۹۷±	۶/۴۸±	۹/۳۳±
حداقل-	×	×	۸۹–۲۱/۵	۸۵/۷–۲۳/۲	۲/۸–۰/۳	۷/۷–۳/۵	۱۸/۵– ۳۹/۵	۴۰/۸–۱۴/۷
حداکثر								
N = ۱۱								

† فقط در ۵ نمونه ردیابی شد ، ‡ فقط در ۲ نمونه ردیابی شد ، × جمعادر ۷ نمونه

جدول ۲– میانگین شمارش (±انحراف معیار)گلبولهای سفید و پلاکت در هر واحد کنسانتره پلاکتی

گروهها	گروه اول	گروه دوم	گروه سوم ×	گروه چهارم×
گلبوبهای سفید ۱۰۸ ×	۰/۳±۵۰	۰/۳۲±۳۳	۰/ ۰۰۱±۰/۰۱۳	۰/۰۰۰۱۴±۰/۰۰۰۸۶
×پلاکتها ۱۰۹	۱۴/۷±۸۰/۸	۱۷/۳±۷۹	۶/۳±۵۶	۱۷/۷±۷۵/۱

× شمارش سلولی پس از فیلتراسیون

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-07]

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که غلظت TNF-α و IL-8 طی نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی تهیه شده به روش PRP در نمونه‌های اشعه ندیده و غلظت IL-8 در نمونه‌های تحت تابش اشعه افزایش می‌یابند. گروههای تحقیقاتی مختلفی افزایش غلظت IL-1β،IL-6،IL-8 و TNF-α را طی نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی گزارش کرده‌اند (١،٣،١١، ١٠).

در سال ١٩٩٥، Aye و همکاران (٣) غلظت IL-1β، IL-6، IL-8 و TNF-α را در RD-PCs (تهیه شده به روش PRP) فیلتر شده و فیلتر نشده بررسی نمودند. نتایج آنها نشان داد که در نمونه‌های فیلتر نشده از روز صفر تا سوم غلظت IL-1β،IL-6،IL-8 افزایش می‌یابد اما غلظت TNF-α تغییر آشکاری را نشان نداد. پس از کاهش لکوسیت‌ها طی فیلتراسیون غلظت این سایتوکائین‌ها تا روز ٥ افزایش نمی‌یابد (٣). محدوده تغییرات غلظت این سایتوکائین‌ها در نمونه‌های فیلتر نشده عبارتند از: Pg/ml ١٢٦/٢٨– ٠/٣٢ برای IL-1β ، Pg/ml ٦١/ ٤١ – ٧/٥ برای TNF-α Pg/ml ٣٠٩/٣١ – ٠/٤١ برای IL-6 و، Pg/ml ٨/٣٩–٠٢ /٠ برای IL-8 . در سال ١٩٩٥، Flegel و همکاران (١٢) غلظت IL-1β،IL-6،IL-8 و TNF-α را در BC-PCs (تهیه شده به روش Buffy coat) بررسی نمودند. مقادیر سایتوکائین‌های موجود در این کنسانتره‌ها کمتر از مقادیر قابل ردیابی بوسیله این سایتوکائین‌ها گزارش گردید لذا آنها بیان داشتند فیلتراسیون قبل از نگهداری اثری بر غلظت سایتوکائین‌ها ندارد.

در سال ١٩٩٧ ، Fujihara و همکاران (١) کنسانتره‌های پلاکتی تهیه شده بروش آفرزیس را به سه بخش تقسیم و آنها را تحت تالش اشعه گاما، UV و فیلتراسیون (با استفاده از فیلتر PXL-8 محصول Pall) قرارداده و غلظت IL-1β،IL-6، IL-8، TNF-α و MCP-1 را بررسی نمودند. غلظت IL-1β،IL-6،IL-8 و TNF-α از روز صفر تا ٥ در نمونه‌های فیلتر نشده افزایش یافت. اما غلظت MCP-1 افزایشی نشان نداد. در کنسانتره‌های فیلتر شده غلظت IL-8 افزایش نیافت که بیانگر اثر فیلتراسیون در مهار تولید آن می‌باشد. اما غلظت IL-8 در روز ٥ در کنسانتره‌های تحت تابش اشعه گاما تفاوت آشکاری با کنسانتره‌های اشعه ندیده نداشت که بیانگر عدم توانائی اشعه گاما در مهار تولید IL-8 طی نگهداری می‌باشد .

در سال ١٩٩٨، Christensen و همکاران (٤) در کنسانتره‌های پلاکتی Pooled که هر یک از بافی کوت ٤ اهدا کننده تهیه شده بود mRNA مربوط به غلظت IL-1β،IL-6،IL-8 ، IL-2 ، TNF-α و IFN-γ را بررسی نمودند. و برای کاهش لکوسیت‌ها از کیسه فیلتردار LRP6 (Pall) استفاده کردند. mRNA مربوط به همه سایتوکائین‌ها در نمونه‌های فیلتر شده و فیلتر نشده ردیابی شدند که در نمونه‌های فیلتر شده این میزان کمتر بود.

در سال ١٩٩٨، Grey و همکاران (٨) در بخشی از مطالعه خود غلظت IL-1β را با استفاده از کیت Cytoscreen Bio Source International و غلظت IL-6 در مایع روئی کنسانتره‌های پلاکتی تهیه شده به روش PRP طی ٥ روز نگهداری بررسی نمودند و نشان دادند که غلظت IL-6 درهمه (Pg/ml ٣٩٢–٠/٧)و غلظت IL-1β (Pg/ml ٣٤٣ – ١) در اکثر کنسانتره‌های پلاکتی افزایش یافته‌اند. گرچه در این مطالعه ظهور شاخص‌های فعال شدن مونوسیت‌ها بیشتر می‌باشد اما هیچ ارتباط مستقیمی بین فعال شدن مونوسیت‌ها و غلظت این سایتوکائین‌ها مشاهده نشد .

در سال ١٩٩٨، Hetland و همکاران (١٣) غلظت IL-8، TNF-α و اجزا کمپلمان را در کنسانتره‌های پلاکتی تهیه شده بروش بافی کوت را بررسی نمودند .نتایج آنها نیز نشان داد که غلظت این سایتوکائین‌ها و اجزا کمپلمان طی نگهداری افزایش می‌یابند. اما در نمونه‌های فیلتر شده غلظت سایتوکائین‌ها افزایش نمی یابد ولی فیلتراسیون اثری برغلظت اجزا کمپلمان ندارد.

در سال ١٩٩٩، Chalandon و همکاران (١٤)، غلظت IL-6، TNF-α در کنسانتره‌های پلاکتی تهیه شده بروش آفرزیس بررسی نمودند و نتایج آنها نشان دهنده

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-07]

افزایش غلظت غلظت این سایتوکائین‌ها طی نگهداری پلاکتها می‌باشد.

در سال ۲۰۰۰، Frabetti و همکاران(٦) درکنسانتره‌های پلاکتی تهیه شده بروش بافی‌کوت و آفرزیس غلظت IL-1β،IL-6، IL-8 ، IL-2 ، TNF-α را بررسی نمودند نتایج آنها نشان داد که غلظت،IL-8 در نمونه‌های اشعه دیده و اشعه ندیده تهیه شده بروش بافی‌کوت افزایش یافته در حالیکه ،IL-6 در نمونه‌های اشعه دیده افزایش یافته‌اند ولی تغییر غلظت IL-1 و TNF-α بسیار ناچیز و نامحسوس می‌باشد. در نمونه‌های اشعه دیده (تهیه شده بروش آفرزیس) فقط غلظت،IL-8 افزایش نشان داد. بنظر میرسد روشهای مختلف آماده سازی کنسانتره‌های پلاکتی باعث القا الگوی سایتوکائینی متفاوتی میگردد (٦). در سال ۲۰۰۱، Lin و همکاران اثر تابش اشعه گاما را بر غلظت IL-8،IL-6،IL-1β ، IL-2 ، TNF-α در کنسانتره‌های پلاکتی تهیه شده روش آفرزیس بررسی کردند و نتایج آنها نشان داد که بجز TNF-α ، غلظت سایر سایتوکائین‌ها تا روز پنجم نگهداری افزایش می‌یابد (۱۵).

در سال ۲۰۰۲ Heddle و همکاران (١٦) و Hartwing و همکاران (۱۰) طی مطالعات خود بر روی غلظت سایتوکائین‌ها در کنسانتره‌های پلاکتی مونوسیت‌های فعال شده را مسئول تولید این سایتوکائینها شناختند. نقش گلبولهای سفید موجود درکیسه (١٤،٣) بعنوان سلولهای مولد این سایتوکائین‌ها مهم می‌باشد (١٤،٣،١) تصور می‌گردد تجمع سایتوکائین‌ها در کنسانتره‌های پلاکتی ناشی از تولید یا آزاد سازی آنها از گلبولهای سفید باقیمانده باشد. تابش cGY ۳۰ اشعه گاما اگرچه باعث مهار فعالیت تکثیری سلولهای T میشود اما مانع تولید IL-8 طی نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی نمی‌گردد (۱). ثابت شده است با کاهش تعداد گلبولهای سفید قبل از نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی توسط فیلترهای کاهش دهنده لکوسیتی میتوان از تجمع این سایتوکائین‌ها جلوگیری نمود (۱۷،۳) در حالیکه عوامل بیولوژیک محلول میتوانند حضور داشته باشند (۱۳،۱۸)مشاهده شده است که در کنسانتره‌های پلاکتی با تعداد لکوسیت کمتر از $۰/۱ \times ۱۰^{۹}$ نمیتوان سایتوکائین‌ها را ردیابی نمود (٤،١٢،١٩).

نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که غلظت TNF-α و IL-8 طی نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی تهیه شده به روش PRP درنمونه‌های اشعه ندیده و غلظت IL-8در نمونه‌های تحت تابش اشعه افزایش می‌یابند که از این نظر مشابه به مطالعات قبلی می‌باشد (۱ – ۳) اطلاعات ما مطرح ساخت تابش اشعه گاما روند تولید IL-8 را مهار نمیسازد و عدم تاثیر اشعه گاما بر تولید IL-8 توسط Fujihara نیز گزارش شده است (۱). در اکثر نمونه‌های فیلتر شده بعلت کمتر بودن غلظت IL-6 از کمترین مقدار قابل ردیابی توسط کیت قادر به اندازه‌گیری آن نبودیم ، همچنین طی نگهداری کنسانتره‌های پلاکتی کم لکوسیت غلظت IL-8 تغییر محسوسی نمی یابند اما غلظت TNF-α آشکارا کاهش می‌یابد ، بعبارتی کاهش لکوسیت‌ها قبل از نگهداری مانع تولید و تجمع بیشتر این سایتوکائین‌ها شده است. شاید کاهش غلظت IL-8 در نمونه‌های فیلتر شده علاوه بر کاهش تعداد لکوسیت‌ها بعنوان منابع مولد این سایتوکائین ، به خاصیت حذف انتخابی برخی عوامل بیولوژیک توسط فیلترهای پلی استیرنی مربوط باشد (۲۰).

تقدیر تشکر

هزینه‌های این تحقیق توسط مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران تامین گردیده است. بدینوسیله نویسندگان این مقاله از همکاری جناب آقای دکتر جهانگیراحمدی، سرکارخانم دکتر زهره عطارچی، جناب آقای دکتر مسعود ایروانی، سرکارخانم دکتر شهین شریفی، جناب آقای حمید کاویانی، جناب آقای سید تقی امینی، سرکارخانم طاهره هاشمی و سرکار خانم ماندانا محی‌الدین در این طرح تشکرات خود را ابراز می‌دارند.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-07]

منابع

1. Fujihara.M ، Takahashi.T.A ، Ogiso.C et al: Generation of Interleukin 8 in stored apheresis platelet concentrates and the preventive effect of prestorage ultraviolet B radiation. Transfusion. 1997، 37: 468- 75.

2. 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: 12-7.

3. Aye.M.T ، Plamer.A ، Giulivi.A et al: Effect of filtration of platelet concentrates on the accumulation of cytokine and platelet release factors during storage. Transfusion، 1995، 33: 117-24.

4. Chritensen.L.L ، Grunnet.N ، Rudiger.N: Comparison of level cytokine mRNA in buffy coat –derived platelet concentrates prepared with or without white cell reduction by filtration. Transfusion ،1999 ، 38: 236-41.

5. Hillyer، Silberstein، Anderson، Nees. Blood Banking and Transfusion Medicine (Basic and principles and practice) 2003; Chapter 19، P: 219 Churchil Livingstone. USA

6. Frabetti.F ، Tazzari.P.L ، Musiani.D et al: White cell apoptosis in platelet concentrates. Transfusion ، 2000 ، 40: 160-8.

7. Boehlen F، Clemetson.K.J،: Platelet chemokines and receptors: What is their relevance to platelet storage and transfusion practice? Trans. Med. 2001 ، 11: 403 – 17.

8. Grey.D، Erber.W.N ،Saunders. K. M: Monocyte Activation in Platelet Concentrates.Vox.Sang.1998،75: 110-4.

9. Hillyer، Silberstein، Anderson، Nees. Blood Banking and Transfusion Medicine (Basic and principles and practice) 2003 – Chapter 17 ، P: 181 Churchil Livingstone. USA.

10. Hartwing.D، Hartel.C ، Henning. H et al: Evidence for denovo synthrsis of cytokines and chemokines in platelet concentrates. Vox.Sang. 2002، 82: 182 -6.

11. Stack.G، Synder. EL: Cytokine generation in stored platelet concentrates. Transfusion .1994 ، 34: 20- 5.

12. Flegel C، Wiesneth M، Stampe. D et al: Low Cytokine concentration in buffy coat – derived platelet concentrates. without filtration. Transfusion. 1995 ، 35: 917 – 20.

13. Hertland. G ، Mollnes .TE ، Bergh. K et al: Effect of filtration and storage of platelet concentrates on the production of the chemotaxis C5a ، IL-8 ، TNF-α and LTB4. Transfusion. 1998 ، 38: 16- 23.

14. Chalandon.Y ، Mermillod.B ، Beris.Ph et al: Benefit of prestorage leukocyte depletion of single donor platelet concentrates. Vox.Sang. 1999، 76: 27–37.

15. Lin. JS ، Tzeng.CH ، Hao.TC et al: Influence of gamma irradiation and storage on apheresis platelets. j.Formos.Med.Assoc. 2001، 100 (2): 101–5.

16. Heddle.N.M ، Morris.A ، Blajman. A et al: A randomized controlled trial comparing the frequency of acute reactions to plasma – removed platelets and prestorage WBC- reduced Platelets. Transfusion. 2002، 42: 556- 66.

17. Muuelle.L ، Peetermans.ME: Effects of prestorage leukocyte removal on the cytokine levels in stored platelet concentrates .Vox.Sang.1994 ، 66: 14- 7.

18. Buoel S، Whlhelm.D، Entelmann.M et al: Chemokines in stored platelet concentrates. Transfusion. 1996 ، 36: 445- 9.

19. Kluter.H، Muller-Steinhardt.M ، Danzer S et al: Cytokines in derived platelet concentratesprepared from pooled buffy coats. Vox.Sang.1995 ، 69: 38- 43.

20. Davenport.R.D and Synder.E.L: Cytokines in Transfusion Medicine: A primer. 1997، AABB press ، Bethesds ، Meryland ، P: 68.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-07]