خون
دور ۴ شماره ۵ زمستان ۸۶ ویژه‌نامه (۳۵۷-۳۵۱)

بررسی زیر گروه‌های مختلف گلبول سفید در خون کامل با روش فلوسایتومتری قبل و بعد از کاهش لکوسیت با استفاده از فیلتر Prestorage در سازمان انتقال خون ایران

محمد حسین رازی[۱]، دکتر علی‌اکبر پورفتح‌اله[۲]، دکتر مهناز آقایی‌پور[۳]، مهین نیکوگفتار[۴]

چکیده

سابقه و هدف

گلبول‌های سفید خون یا لکوسیت‌ها در همه فرآورده‌های سلولی که به روش استاندارد تهیه می‌شود وجود دارند. مطالعات نشان داده است که گلبول‌های سفید می‌توانند باعث عوارض مضری بعد از انتقال خون شوند. واکنش‌های بالینی ممکن است در اثر زیر گروه‌های خاصی از گلبول‌های سفید به وجود آیند. فیلترهای کاهنده گلبول سفید می‌توانند باعث کاهش قابل ملاحظه تعداد گلبول‌های سفید و در پی آن عوارض احتمالی آن‌ها شوند. در این مطالعه، زیر گروه‌های مختلف گلبول‌های سفید در خون کامل، قبل و بعد از کاهش با فیلتر Prestorage ، در سازمان انتقال خون ایران مورد بررسی قرار گرفت.

مواد وروش‌ها

در این بررسی نوع مطالعه تجربی بود. خون کامل از اهداکنندگان داوطلب درون کیسه‌های مخصوص چهارتایی جمع‌آوری شد. واحدهای خون در همان روز نمونه‌گیری،فیلتر شده و نمونه خون جهت آزمایش قبل و بعد از فیلتراسیون تهیه شد. تعداد گلبول‌های سفید و زیر گروه‌های مختلف گلبول سفید، قبل و بعد از فیلتراسیون خون کامل با روش فلوسایتومتری با هم مقایسه گردیدند. گلبول‌های سفید با استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال اختصاصی CD13 ، CD19 ، CD3 ، CD45 و CD14 بررسی شدند. جهت تحلیل نتایج آزمون آماری کای‌دو(Chi-square) و نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۰ استفاده شد. محاسبات آماری در ابتدا شامل سنجش و اندازه‌گیری آمار توصیفی و مرحله بعد شامل تجزیه و تحلیل آماری بود. برای مقایسه بین دو جفت داده از آزمون آماری paired t-test استفاده شد.

یافته‌ها

فیلتراسیون با این نوع فیلتر باعث کاهش ۲/۸ لگاریتم با انحراف معیار ۰/۳۵ گلبول‌های سفید به طور متوسط گردید. هم چنین فیلتراسیون یک سری تغییراتی را به طور نسبی در بعضی از زیر گروه‌های گلبول سفید به وجود آورد، به طوری که پلی‌مورفونوکلئرها($CD13^+$) و منوسیت‌ها($CD14^+$) بعد از فیلتراسیون به کل گلبول‌های سفید($CD45^+$) کاهش پیدا کرد، در صورتی که نسبت سلول‌های T ($CD3^+$) و سلول‌های B ($CD19^+$) قبل و بعد از فیلتراسیون تفاوت قابل ملاحظه‌ای نداشتند.

نتیجه گیری

نتایج تحقیق مشخص کرد که فیلتراسیون قبل از نگهداری(Prestorage) باعث تغییر نسبت زیر گروه‌های مختلف گلبول سفید بعد از فیلتراسیون می‌شود، که به نظر می‌رسد به سایز سلولی بستگی دارد. هم چنین فیلتراسیون در کاهش قابل ملاحظه گلبول‌های سفید موثر است.

کلمات کلیدی: فیلتراسیون، فلوسایتومتری، گلبول سفید

تاریخ دریافت : ۸۴/ ۸/ ۷
تاریخ پذیرش : ۸۷/ ۱/۲۹

۱ـ کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون ـ مرکز نابارووری یزد
۲ـ مؤلف مسؤول: PhD ایمونولوژی ـ استاد دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس ـ صندوق پستی: ۱۱۱-۱۴۱۵۵
۳- متخصص آسیب‌شناسی بالینی و تشریحی ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۴ـ دانشجوی PhD هماتولوژی ـ دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس و مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

واکنش انتقال خون یعنی هر واکنش ناخواسته‌ای که در نتیجه تزریق خون یا فرآورده‌های آن اتفاق می‌افتد. واکنش حاد در طی چند ساعت و واکنش‌های تاخیری بعد از روزها و یا ماه‌ها ایجاد می‌گردد.

در بین سال‌های ۱۹۶۰ تا ۱۹۷۰ میلادی مشخص شد که گلبول‌های سفید در ایجاد واکنش‌های پس از انتقال خون مثل واکنش تب‌زای غیر همولیتیک و آلوایمونیزاسیون بسیار مهم هستند. در پی آن و با مطالعات دیگر اثر گلبول‌های سفید در یک‌سری عوارض گسترده بعد از انتقال خون معلوم گشت. هم چنین نقش سایتوکاین‌های تولید شده از گلبول‌های سفید در این عوارض نیز مشخص شد.

گلبول‌های سفید در همه فرآورده‌های سلولی که به روش استاندارد تهیه می‌شوند وجود دارند. با توجه به اثرات مضر آن‌ها در غالب موارد به نظر می‌رسد جداسازی آن‌ها باعث کاهش عوارض انتقال خون می‌گردد. هر چند اثر مفید گلبول‌های سفید در افزایش عمر کلیه پیوندی مورد بحث است. روش‌های مختلفی برای جداسازی گلبول‌های سفید وجود دارد، فیلتراسیون با فیلترهای نسل سوم بسیار خوب و موفقیت‌آمیز بوده و منجر به حذف تعداد قابل ملاحظه‌ای از آن‌ها می‌شود(۱).

گلبول‌های سفید باعث عوارضی هم چون واکنش تب‌زای غیر همولیتیک(شایع‌ترین واکنش پس از انتقال خون) می‌شوند که عبارت است از افزایش حداقل یک درجه دمای بدن در زمان انتقال و یا بعد از آن، که در ۱٪ همه ترانسفوزیون‌ها و ۴۵٪ بیمارانی که تزریق مکرر فرآورده‌خونی دارند رخ می‌دهد(۳، ۲). عوامل مختلفی برای آن عنوان شده که واکنش‌های Ag ، Ab و آنتی‌ژن لکوسیتی(HLA) و هم چنین وجود و تجمع سایتوکاین‌ها در فرآورده‌های سلولی ذخیره شده نیز ذکر شده است(۵، ۴). گلبول‌های سفید هم چنین باعث انتقال ویروس‌های مختلف می‌شوند و به خوبی روشن شده که زیر گروه‌های مختلف گلبول‌های سفید می‌توانند به طور انتخابی بعضی از عوامل عفونی مانند ویروس‌های سایتومگال، اپشتین بار و باکتری یرسینیا را در خود نگه دارند و بدین ترتیب عفونت را از طریق خون منتقل نمایند(۷، ۶). احتمال انتقال پرایون‌ها از طریق آن‌ها نیز وجود دارد(۹، ۸). مقاومت به پلاکت‌ها که یافته شایعی در بیمارانی است که ترانسفوزیون‌های متعدد داشته‌اند نیز به دو علت ایمنی و غیر ایمنی به وجود می‌آید که عامل مهم آن آلوایمونیزاسیون به آنتی‌ژن‌های گلبول سفید است(۹). بسیاری از این عوارض به زیر گروه‌های خاصی از لکوسیت‌ها نسبت داده می‌شوند(۱۰). هم چنین ثابت شده است که زیر گروه‌های مختلف گلبول سفید ممکن است واکنش‌های مختلف زیان‌باری را سبب شوند که این خود علاوه بر این که به نوع زیر گروه‌های مختلف گلبول سفید باقی مانده وابسته است، به مقدار مطلق گلبول‌های سفید نیز بستگی دارد(۶). بدین ترتیب استفاده از محصولات کم لکوسیت توصیه شده‌اند که به صورت روزافزون در حال گسترش هستند(۱۱). هم چنین در کسانی که از فرآورده‌های گلبول قرمز و پلاکت که قبل از نگهداری با استفاده از فیلترهای کاهنده لکوسیتی(Prestorage) گلبول سفید آن‌ها کاهش داده شده استفاده کرده‌اند، کاهش آلوایمونیزاسیون دیده شده و مقاومت پلاکتی نیز کاهش پیدا کرده است(۱۲). در این مطالعه که بر روی واحد خون کامل انجام گرفت، با هدف بررسی تغییرات گلبول‌های سفید قبل و بعد از فیلتراسیون با استفاده از فیلترهای قبل از نگهداری(Prestorage) به تعیین زیر گروه‌های مختلف گلبول سفید با استفاده از روش فلوسایتومتری و آنتی‌بادی‌های اختصاصی CD3, CD14, CD19, CD45, CD13 پرداخته شد. این مطالعه در سازمان انتقال خون تهران انجام گرفت.

مواد و روش ها

در این بررسی نوع مطالعه تجربی بود. نمونه مورد مطالعه کیسه‌های اهدایی خون بودند. شیوه نمونه‌گیری تصادفی ساده و حجم نمونه با توجه به پارامترهای p= ۰/۹ ، ۰/۰۵ = α ، $d=\frac{1}{5}p$ ، برای هر نوع آزمایش n=۱۰ بود. متغیرهای اصلی مورد نظر در این تحقیق از نوع متغیرهای عددی گسسته شامل میزان CD3، CD19 ، CD13، CD14 و CD45 بودند.

www.SID.ir
Archive of SID

نمونه‌گیری در محل پایگاه انتقال خون تهران انجام گرفت. کیسه خون مورد استفاده از نوع فیلتردار اینتگرال(In line Filter) مدل PL-۱۴۶ ساخت باکستر بود که شامل ۴ کیسه و یک عدد فیلتر Leuko -۲۰۰۰ depleted RZ ساخت شرکت آساهی است. نمونه در این نوع کیسه که ۴۵۰ میلی‌لیتر ظرفیت دارد طبق ضوابط استاندارد از اهداکنندگان داوطلب جمع‌آوری شد. مدت نمونه‌گیری ۲ ماه و تعداد کل آن ۱۰ نمونه بود.

بعد از نمونه‌گیری، کیسه‌های خون به آزمایشگاه منتقل شدند. کیسه‌های خون بنا به دستورالعمل استفاده شرکت سازنده کیسه‌های فیلتردار، در فاصله ۱/۲۰ متر الی ۱/۵۰ متری سطح زمین قرار گرفته و بعد از مخلوط کردن با آزاد شدن مانع، خون به فیلتر وارد شده و سپس به میزان ۲۰۰ تا ۲۵۰ میلی‌لیتر خون از فیلتر عبور کرده و ظرف مدت ۱۵ الی ۲۰ دقیقه به کیسه دوم وارد شدند. این قسمت، خون کم لکوسیت بود، سپس مسیرها به کمک گیره مسدود گردیدند. در نتیجه دو کیسه خون کامل تقریباً با مقدار مساوی، یکی حاوی خون فیلتر شده و دیگری خون فیلتر نشده به دست آمد. برای آزمایش‌ها لازم بود از خون فیلتر شده و خون فیلتر نشده، ۵-۳ میلی‌لیتر خون تهیه شود که در این جا از خون‌های فیلتر شده و نشده در زیر هود دو نمونه تهیه گردید و سپس مسیرها با کمک سیلر در شرایط متعارف مسدود شدند. نمونه خون‌هایی که برای انجام آزمایش‌ها در نظر گرفته شد به ترتیب یک لوله خون حداقل ml ۳ برای فلوسایتومتری و CD مارکرهای مورد نظر قبل از فیلتر و یک نمونه خون بعد از فیلتراسیون که در همان روز به بخش فلوسایتومتری منتقل شدند.

به منظور بررسی زیر گروه‌های گلبول‌های سفید در این تحقیق از روش فلوسایتومتری استفاده شد. این سیستم قادر است تا مقدار اندک گلبول های سفید را بر اساس مارکر سلولی آن‌ها در نمونه‌های مختلف ردیابی کرده و درصد آن‌ها را مشخص نماید. همان طور که ذکر شد از کیسه‌های خون قبل و بعد از فیلتراسیون جهت آزمایش تعیین زیر گروه‌های گلبول سفید با فلوسایتومتری هر کدام یک نمونه جدا شده و به بخش فلوسایتومتری منتقل گردیدند. نمونه‌ها چون از کیسه خون گرفته شدند، همراه ضد انعقاد CPD بودند که جهت آزمایش فلوسایتومتری مناسب بود. برای نشاندار کردن گلبول‌های سفید از آنتی‌بادی‌های منوکلونال کنژوگه با رنگ‌های فلورسنت(شرکت داکو دانمارک) استفاده گردید. جهت بررسی این زیر گروه از آنتی‌بادی‌های ذکر شده در جدول ۱ استفاده شد.

جدول ۱: مشخصات آنتی‌بادی‌های مورد استفاده

ردیف	آنتی‌بادی	کونژوگه	نوع سلول
۱	کنترل منفی	FITC* PE**	
۲	CD13	FITC	پلی‌مورفونوکلئر
۳	CD14	PE	منوسیت
۴	CD19	PE	B سل
۵	CD3	FITC	Tسل
۶	CD45	FITC	پان لکوسیت

جهت تعیین درصد زیر گروه‌های مختلف گلبول سفید با استفاده از فلوسایتومتری به طور کلی مراحلی که در زیر شرح داده می‌شود برای نمونه‌های قبل و بعد از فیلتراسیون انجام گرفت.

پس از شماره‌گذاری لوله‌ها، به هر کدام از لوله‌های مربوط به نمونه قبل از فیلتراسیون، ۵ میکرولیتر از آنتی‌بادی‌های منوکلونال مربوطه را اضافه و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه آزمایش را نیز به هر کدام از لوله‌ها اضافه کردیم. در مورد نمونه‌های بعد از فیلتراسیون با توجه به این که تعداد گلبول‌های سفید در نمونه‌های بعد از فیلتراسیون به شدت کاهش نشان می‌دهد جهت ارزیابی صحیح‌تر در مورد تعداد آن‌ها، ۵ میکرولیتر از آنتی‌بادی منوکلونال قید شده و ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه را به هر یک از لوله‌ها اضافه کردیم و به این ترتیب حجم نمونه‌های خون بعد از فیلتراسیون در هر لوله آزمایش ۲ برابر حجم نمونه‌های قبل از فیلتراسیون بود. لوله‌های مذکور به خوبی مخلوط گردید و برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

بعد از انکوباسیون در دمای مورد نظر لوله‌ها خارج گردیده و سپس با استفاده از دستگاه Q-prep در مورد

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲: میزان مارکرهای گلبول سفید قبل و بعد از فیلتراسیون

نوع سلول و مارکر	میانگین تعداد در میکرولیتر		انحراف معیار		میزان کاهش لگاریتمی در مبنای ۱۰
	قبل از فیلتراسیون	بعد از فیلتراسیون	قبل از فیلتراسیون	بعد از فیلتراسیون	
CD13 (PMN)	۲۷۲۳/۷	۲/۷	۱۱۸۲/۶	۲/۵	۳/۰
CD19 (سل B)	۲۰۱/۴	۱/۱	۱۸۹	۰/۵	۲/۳
CD3 (سل T)	۱۲۲۵/۳	۳/۹	۷۰۴/۱	۳/۹	۲/۵
CD14 (منوسیت)	۵۱۲/۶	۰/۳	۱۹۷/۲	۰/۳	۳/۳
CD45 (پان لکوسیت)	۴۵۹۵	۹	۱۲۷۵/۹	۶/۳	۲/۸

نمونه‌های قبل از فیلتر، ۵۶۰ میکرولیتر از محلول اسید فرمیک به منظور لیز گلبول‌های قرمز و ۲۶۰ میکرولیتر از محلول بافر فسفات(PBS) جهت خنثی شدن اثر طولانی مدت محلول لیز و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول پارافرمالدئید ۱٪ جهت فیکس شدن سلول‌ها به لوله‌ها افزوده و به خوبی توسط دستگاه ورتکس مخلوط گردیدند. در مورد نمونه‌های بعد از فیلتراسیون(فیلتر شده) حجم محلول‌های اضافه شده به ترتیب شامل ۱۱۲۰ میکرولیتر از محلول اسید فرمیک، ۵۲۰ میکرولیتر از محلول بافر PBS و ۲۰۰ میکرولیتر از محلول پارافرمالدئید بود. در این مرحله نمونه‌ها جهت آنالیز با دستگاه فلوسایتومتری آماده بودند.

دستگاه فلوسایتومتر مورد استفاده مدل Partec PAS III (ساخت کشور آلمان) بود که در بخش فلوسایتومتری سازمان انتقال خون موجود می‌باشد. این دستگاه علاوه بر تعیین درصد سلولی قادر به شمارش مطلق گلبول‌های سفید نیز می‌باشد به این ترتیب که حجم ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون آماده شده را آنالیز کرده و تعداد سلول‌های کنژوگه به فلورسانس را در این حجم محاسبه نموده و در نهایت به شکل Count/ml ارایه می‌دهد. بعد از آزمایش نمونه‌ها با این دستگاه، وقایع فلورسنت سلولی مشخص گردید.

جهت تحلیل نتایج از آزمون آماری کای‌دو و نرم‌افزار SPSS ۱۰ استفاده شد. محاسبات آماری در ابتدا شامل سنجش و اندازه‌گیری آمار توصیفی شامل میانگین و دامنه بود. برای مقایسه بین دو جفت داده از آزمون آماری paired t-test استفاده شد. با توجه به در نظر گرفتن $\alpha = ۰/۵$ ، مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ درصد معنی‌دار تلقی شد.

یافته ها

بیشترین کاهش در زیر گروه‌های گلبول سفید بعد از فیلتراسیون در منوسیت(CD14) و کمترین کاهش در B-Cell (CD19) مشاهده می‌شود. میانگین کاهش لگاریتمی گلبول‌های سفید ۲/۸ و دامنه آن از ۲/۳ تا ۳/۳ در مبنای ۱۰ می‌باشد(جدول ۲).

میانگین تعداد کل گلبول‌های سفید(CD45) از میزان ۴۵۹۵ عدد در میکرولیتر قبل از فیلتراسیون به ۹ عدد در میکرولیتر رسیده و به میزان ۹۹/۸۱٪ کاهش یافت. p value به میزان ۰/۰۰۱ در این مورد به دست آمد که نشان می‌دهد تمامی زیر گروه‌های گلبول سفید به میزان قابل توجهی کاهش پیدا کرده‌اند.

جدول ۳: میانگین درصد زیر گروه‌های گلبول سفید به کل قبل و بعد از فیلتراسیون

نوع سلول	درصد نسبت به گلبول‌های سفید(CD45)	
	قبل از فیلتراسیون	بعد از فیلتراسیون
پلی‌مورفونوکلئر (CD13)	۵۹/۳	۳۰/۵
B سل(CD19)	۴/۴	۱۳/۲
T سل(CD3)	۲۶/۷	۴۵/۴
منوسیت(CD14)	۱۱/۲	۳/۵

Archive of SID
www.SID.ir

در نسبت زیر گروه‌های گلبول سفید قبل از فیلتراسیون بیشترین نسبت را PMN (CD13) و کمترین آن را B Cell (CD19) و بعد از فیلتراسیون بیشترین نسبت را T Cell (CD3) و کمترین آن را منوسیت (CD14) تشکیل می‌دهد(جدول ۳). هم چنین تغییر نسبت منوسیت‌ها و پلی‌مورفونوکلئرها به گلبول‌های سفید قبل و بعد از فیلتراسیون معنی‌دار بوده(p= ۰/۰۴ و p=۰/۰۵) در صورتی که تغییر نسبت سلول‌های B و T معنی‌دار نمی‌باشد.

بحث

یکی از موثرترین روش‌های حذف گلبول‌های سفید از فرآورده‌ها، فیلتراسیون گلبول‌های سفید است که امروزه در بیشتر مراکز انتقال خون مطرح است. از نظر علمی فیلتراسیون گلبول سفید به کاهش تعداد گلبول‌های سفید اطلاق می‌شود و کمتر به نوع و زیر گروه‌های آن توجه می‌گردد. اگر چه ممکن است زیر گروه‌های گلبول سفید مسؤول بعضی از واکنش‌های مضر مانند انتقال CMV توسط منوسیت‌های آلوده در گیرنده خون باشند، بنابراین شاید اهمیت زیر گروه‌های مختلف گلبول سفید بعد از فیلتراسیون از اهمیت شمارش آن‌ها کمتر نباشد(۱۳).

نتایج به دست آمده با روش فلوسایتومتری برای شمارش و بررسی زیر گروه‌های مختلف گلبول سفید نشان می‌دهد که با استفاده از فیلتر کاهنده گلبول سفید به کار برده شده، میزان متوسط ۲/۸ لگاریتم از تعداد گلبول‌های سفید بعد از فیلتراسیون کاهش پیدا کرده است که دامنه آن بین ۲/۳ تا ۳/۲ می‌باشد. این عدد نزدیک به استاندارد فیلترهای کاهنده گلبول سفید می‌باشد که آن را ۳ لگاریتم و بیشتر بیان کرده‌اند(۱۴). هر چند که فیلترهای دیگر هم چون Biofil in line RCC filter گلبول‌های سفید را به نسبت ۴ لگاریتم کاهش داده است(۱۵). این نشان می‌دهد که انواع مختلف فیلتر از نظر میزان کاهش لکوسیت با همدیگر تفاوت دارند که این موضوع در مطالعه اردال و همکارانش با مقایسه ۵ نوع مختلف فیلتر نشان داده شده است(۱۶). هم چنین زیر گروه‌های مختلف گلبول سفید قبل و بعد از فیلتراسیون بررسی گردید. نتایج نشان داد که تغییرات نسبت PMN (CD13) و منوسیت(CD14) به کل گلبول‌های سفید(CD45) معنی‌دار بوده است که بعد از فیلتراسیون کاهش قابل ملاحظه‌ای در نسبت آن‌ها به کل گلبول‌های سفید به وجود آمد. با توجه به این که اندازه سلولی این دو بزرگ‌تر از سلول‌های لنفوسیتی T و B (CD19 ، CD3) می‌باشند، به نظر می‌رسد سایز سلولی در کاهش نسبت آن‌ها بعد از فیلتراسیون نقش دارند. سلول‌های بزرگ‌تر به علت ماندن در بین رشته‌های(فیبرها) موجود در خود فیلتر از درون فیلترها به سختی عبور می‌کنند و هم چنین چسبندگی این سلول‌ها به فیلترها بیشتر است. همان طور که ذکر شد کارایی فیلترها و عبور سلول‌ها از فیلترها به شرایط فیزیکی سلول یعنی به کشش سطحی، شارژ سلولی و مهم‌تر از همه به سایز سلولی بستگی دارد(۱۰).

سلول‌های CD19 و CD3 علی‌رغم این که میانگین نسبت‌های آن‌ها تغییر داشته اما این تغییر با توجه به دامنه وسیع آن‌ها قابل ملاحظه نبوده است. در مطالعه نرون و همکاران نیز نشان داده شد که نسبت‌های B cell و T cell تغییر چندانی به قبل از فیلتراسیون پیدا نکرده است و حتی در گلبول‌های سفیدی که از فیلترها بازیافت شده‌اند نیز این نسبت مشابه با مقادیر نرمال خون بود(۱۷). یافته‌ها نشان می‌دهد که تغییر توزیع زیر گروه‌ها بعد از فیلتراسیون در مورد PMN و منوسیت‌ها مشابه بوده و نسبت هر دو به میزان قابل ملاحظه‌ای بعد از فیلتراسیون کاهش پیدا کرده که این یافته در مطالعه لوز نیز به چشم می‌خورد(۱۸). اما در مطالعه آلوس و همکاران که از فیلتر Biofil in line RCC استفاده کرده بودند، نسبت نوتروفیل و منوسیت بعد از فیلتراسیون افزیش پیدا کرد(۱۴). در مطالعه ما نسبت T-cell (CD3) به B-cell (CD19) قبل از فیلتراسیون ۶ به ۱ بود که بعد از فیلتراسیون به ۳/۴ به ۱ رسید، نتایج حاصل نشان می‌دهد علی‌رغم این که در کل نسبت این سلول‌ها قبل و بعد از فیلتراسیون تغییری پیدا نشده، اما به نظر می‌رسد تعداد کمتری سلول T-cell در مقایسه با B-Cell از فیلتر عبور کرده است که این یافته در مطالعه گوبر نیز ذکر شده است(۱۹).

در مطالعه محمودیان و همکاران بر روی فیلتراسیون واحدهای پلاکتی نیز نشان داده شد که فیلتراسیون باعث

Archive of SID
www.SID.ir

کاهش قابل ملاحظه گلبول‌های سفید می‌شود، که در این مورد فیلتراسیون قبل از نگهداری نسبت به فیلتراسیون بعد از نگهداری از ارجحیت بالاتری برخوردار است. هم چنین نشان داده شد نسبت زیر گروه‌های مختلف گلبول سفید، بعد از فیلتراسیون تغییر می‌یابد(۱۲). همان طور ذکر شد نوع فیلتر کاهنده گلبول سفید در عبور گلبول‌های سفید و تفاوت در نسبت قبل و بعد از فیلتراسیون نقش دارند(۱۶).

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه نتایج این بررسی نشان داد که فیلتراسیون با استفاده از این نوع فیلتر Prestorage(-PL Baxter Fenwal 146) باعث کاهش میزان لکوسیت به نسبت ۲/۸ لگاریتم گردید. فیلتراسیون نسبت توزیع زیر گروه‌های مختلف گلبول سفید قبل و بعد از فیلتراسیون را تغییر داد که این تغییر در مورد منوسیت و PMN قابل ملاحظه بود. از آن جا که فیلتراسیون هزینه نسبتاً بالایی داشته و شاید نتوان به صورت گسترده از آن استفاده کرد، لااقل می‌توان فرآورده فیلتر شده و کم لکوسیت را برای کاهش عوارض گلبول‌های سفید برای آن دسته از بیماران در معرض خطر تهیه نمود.

تشکر و قدردانی

بر خود لازم می‌دانیم از زحمات دکتر علی طالبیان و دکتر زهره عطارچی در انجام این مطالعه تشکر و قدردانی نماییم.

References :

1- Chu RW. Leukocyte in blood transfusion: adverse effects and their prevention HKMJ 1999; 5:280-284.

۲- رادمن سالی‌وی. درسنامه بانک خون وطب انتقال خون، ترجمه دکتر پورفتح‌اله و همکاران. تهران. دانشگاه شاهد ۱۳۷۹ جلد دوم. صفحه ۵-۲۱۳.

3- Overfield J, Dawson M, Hamer D. Transfusion Science 1999:Butterworth-Heinemann:162-5;2300-5.

4- Stack G, Synder EL. Cytokine genaration in stored platelet concentration. Transfusion 1994;34:20-5.

5- Dzik WH, Szczepiorkowski ZM. Leukocyte Reduced Product. In: Hillyer CD, Silberstein L, Paul M. Ness editors. Blood banking and transfusion basic, principle and practice. Philadelphia: Churchill Livingstone;2003:219-37.

6- Buetler E. Preservation and cinical use of erythrocytes and whole blood. In: Williams Hematology. 6th edition. 2001:1882-3.

7- Williamson LM. Leucocyte depletion of the blood supply how will patient benefit? Br J Hematol 2000;110(2):256-72.

8- Carson JL, Sweeney JD. RBC filtration and allogenic blood transfusion. In: Transfusion Medicine and Alternatives to Blood Transfusion. 2000.

9- Rider JR, Want EJ, Winter MA, Turton, Pamphilon DH, Nobset P. Differential leucocyte subpopulation analysis of leucodepleted red cell products. Transfusion Medicine 2000;10:49-58.

10- British committee for standards in hematology blood transfusion. Guidelines on the clinical use of leucocyte depleted blood components. Transfus Med 1998;8:59-71.

11- Seftel MD, Growe GH, Petraszko T, Benny WB, Le A, Lee CC, *et al*. Universal prestorage leukoreduction in Canada decreases platelet alloimmunization and refractoriness. Blood 2004;103:333-9.

۱۲-محمودیان شوشتری محمود، دواتگر علی‌اصغر، آقایی‌پور مهناز. اثر قابلیت فیلتراسیون پلاکت‌های متراکم، قبل و بعد از نگهداری. فصلنامه پژوهشی خون، تابستان ۱۳۸۵، شماره ۲: ۹-۱۶۱.

13- Barclay GR, Walker B, Gibson J, McColl K, Turner M. Quality assurance by a commerial flowcytometry method of leucodepletion of whole blood donation: initial application of universal testing and proposals for a batch- release sampling plan. Transfusion Medicine 2000;10:37-48.

14- Alves MFA, Laranjeria P, Guerra N, Paiva A, Pais L, Neto P. Residual leucocyte phenotyping in leucodepleted red blood cell concentrates. Vox Sanguinis 2006;91(suppl.3):218-9.

15- Erdal S, Birtas ae, Kaygysuz L, Aktas S, Noyan F, Adiguzel C, *et al*. Quality of leukocyte removal filters used in marmara university hospital bone marrow transplantation unit. Vox Sanguinis 2006;91(suppl.3):219.

16- Neron S, Dussault N, Racine C. Whole Blood Leukoreduction filters are a source for cryopreserved cells for phenotypic and functional investigations on peripheral blood lymphocytes. Transfusion 2006;46:537-544.

17- Loos JA, Wautier JL. Leukocyte depletion: a biotechnical transfusion story. Transfusion Clinique et Biologique 1998;5:64-79.

18- Guber SE, Neumüller LJ, Schwartz DWM, Köhler M, Mayr WR. Removal of T and B lymphocyte by in-line filteration: evaluation of the efficiency of a polyester filter type (pall WBF-2) by flow cytometric counting. Vox Sanguinis 2002,83:234-8.

Archive of SID

www.SID.ir

The flowcytometric study of leukocyte subpopulation in whole blood prior and after Prestorage filter leukodepletion

Razi M.H.[1](MS), Pourfathollah A.A.[2](PhD), Aghaie Pour M.[3](MD), Nikoo Goftar M.[3](MS)

[1]*Yazd Infertility Center*
[2]*Tarbiat Modares School of Medical Sciences*
[3]*Iranian Blood Transfusion Organization – Research Center*

Abstract

Background and Objectives

White blood cells (WBCs) are present in all cellular blood components which are prepared by standard techniques. Studies have shown that leucocytes can cause a variety of side effects after transfusion. Clinical reactions may be attributed to specific leucocyte subsets. Leukodepletion filters reduce leucocytes and some of their adverse effects. The aim of this study was to evaluate leucocyte subpopulations in whole blood prior and after Prestorage filter leukodepletion; it was performed in Iranian Blood Transfusion Organization.

Materials and Methods

In this experimental study, different leukocyte subpopulations in whole blood were identified and quantified before and after filtration in a blood collection system having integral whole blood filtration (Baxter Fenwal, USA) equipped with RZ 2000 (Asahi, Japan) filters. Leucocytes were analysed by flowcytometry with monoclonal antibodies specific for CD45, CD19, CD3, CD14 and CD13. Statistical analysis was performed through SPSS software.

Results

Leukodepletion by this type of filter reduced the leukocyte load by 2.8 log 10 on average. The proportion of PMNs ($CD13^+$) and monocytes ($CD14^+$) to total number of leucocytes ($CD45^+$) significantly reduced, but that of $CD3^+$ and $CD19^+$ cells showed no considerable differences before and after filtration.

Conclusions

This type of filter caused difference in leucocyte subset distribution after filtration. It appears that these distributions were cell size dependent. Filtration also reduced the absolute number of WBCs significantly.

Key words: Filtration, Flowcytometry, White blood cell
SJIBTO 2008; 4(5): 351-357

Received: 29 Oct 2005
Accepted:17 Apr 2008

Correspondence: Pourfathollah A.A.,PhD of Immunology. Tarbiat Modares School of Medical Sciences. P.O.Box:14155-111, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 8801101; Fax : (+9821)88013030
E-mail: *pourfa@modares.ac.ir*

Archive of SID
www.SID.ir