

اثر پلاسمای خون نگهداری شده در القای مرگ برنامه‌ریزی شده (Apoptosis) در سلول‌های جرکات در شرایط آزمایشگاهی

مرجان حاج‌هاشمی^۱، علی‌اکبر پورفتح‌اله^{۲*}، مهناز آقایی‌پور^۳، سیدمحمد مؤذنی^۴، مهین نیکوگفتار^۵، احد زارع^۶

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه هماتولوژی آزمایشگاهی و بانک خون، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- استاد، گروه ایمونولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران، تهران، ایران

۴- استاد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۵- دانشجوی دکتری، گروه هماتولوژی آزمایشگاهی و بانک خون، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۶- کارشناس ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، آسم و آلرژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

پذیرش مقاله: ۸۸/۰۲/۲۹

دریافت مقاله: ۸۷/۱۱/۱۵

چکیده

هدف: انتقال خون نقش گسترده و انکارناپذیری در ارتقای سلامت و افزایش طول عمر بشر داشته است. اما در کنار این اثرات سودمند، انتقال خون همچنین دارای عوارض ناخواسته و ناخوشایندی نیز بوده است. TRIM یا تعدیل ایمنی ناشی از انتقال خون از موضوعات بحث برانگیز طب انتقال خون بوده و با توجه به این‌که مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی یکی از مکانیسم‌های احتمالی TRIM است، هدف این مطالعه بررسی آثار خون نگهداری شده در ایجاد مرگ برنامه‌ریزی شده در یک مدل آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها: برای ارزیابی آثار خون نگهداری شده در ایجاد مرگ برنامه‌ریزی شده، تأثیر بخش پلاسمایی خون در روزهای مختلف نگهداری بر روی سلول‌های جرکات، که نسبت به مرگ برنامه‌ریزی شده حساس هستند، مطالعه شد. برای این منظور، در روزهای ۳، ۱۰، ۲۱ و ۳۵ بعد از اهدای خون کامل، بخش پلاسمایی خون توسط سانتریفیوژ جدا و سپس به سلول‌های جرکات اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در کنار یکدیگر کشت داده شدند. در نهایت میزان مرگ برنامه‌ریزی شده از طریق بررسی آنکسین V روی سلول‌های جرکات با استفاده از آنالیز فلوسیتومتری محاسبه شد.

نتایج: درصد مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های جرکات در روزهای ۳، ۱۰، ۲۱ و ۳۵ به ترتیب $3/85 \pm 1/52$ ، $5/27 \pm 2/12$ ، $8/40 \pm 1/90$ و $12/01 \pm 2/32$ بود. همچنین درصد مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌ها در گروه کنترل منفی و مثبت به ترتیب $3/85 \pm 1/94$ و $65/80 \pm 2/28$ بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که بخش پلاسمایی خون کامل دارای اثر القای مرگ برنامه‌ریزی شده بوده و این اثر پلاسمای با افزایش زمان نگهداری آن تشدید می‌شود. این مدل آزمایشگاهی برای مطالعه و بررسی دیگر مکانیسم‌های مرتبط با آثار تعدیل ایمنی انتقال خون نیز مناسب است.

کلیدواژگان: مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، تعدیل ایمنی ناشی از انتقال خون، آنکسین V، سلول جرکات

۱- مقدمه

امروزه انتقال خون نقش وسیعی در سلامت و افزایش طول عمر بشر دارد و به همین دلیل تلاش همه جانبه‌ای برای کاهش خطرات مرتبط با انتقال خون و دسترسی به انتقال خون کاملاً سالم و بی‌خطر صورت گرفته است. یکی از مباحث مهم مرتبط با عوارض انتقال خون نقش احتمالی انتقال خون در تعدیل ایمنی است که به آن "تعدیل ایمنی مرتبط با انتقال خون" یا TRIM (Transfusion Related immunomodulatory) گفته می‌شود.

نقش احتمالی انتقال خون در تعدیل ایمنی اولین بار در سال ۱۹۵۳ توسط بیلینگهام (Billingham) و همکاران مطرح شد [۱] و یکی از موضوعات بحث برانگیز در عرصه طب انتقال خون طی ۳۰ سال گذشته بوده است [۱، ۲]. گزارش‌های متعددی در ارتباط با تأثیر خون آلوژنیک (Allogenic) در افزایش بقای پیوند کلیه [۱، ۳-۵]، کاهش بقای بیماران مبتلا به تومور [۶-۹]، افزایش خطر ابتلا به عفونت‌ها در اعمال جراحی بزرگ [۱۰-۱۲] و تسریع رشد تومور [۱۳، ۱۴] ارایه شده است. در مورد مکانیسم‌های احتمالی مرتبط با TRIM موارد زیادی همچون توانایی القای سرکوب پاسخ‌های ایمنی [۱۵]، جهت‌گیری پاسخ ایمنی به سمت Th2 (T helper 2) [۱، ۲، ۵، ۱۶] و نقش سلول‌های کشنده طبیعی [۱۱] مطرح شده است اما موضوعی که در این تحقیق به آن پرداخته شده مکانیسم القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی [۱، ۵] است. فرایند مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی از مسیرهای مختلف و با شرکت عوامل متعددی از جمله مسیر Fas-Fas Ligand (Facilitating Apoptosis signal) به وقوع می‌پیوندد. مطالعات نشان داده‌اند که در زمان نگهداری بعضی از فراورده‌های خونی تغییرات زیادی در آن‌ها رخ می‌دهد که از آن جمله می‌توان به افزایش غلظت مولکول‌های دخیل در فرایند مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی مانند مولکول sFasL (soluble Fas-Ligand) اشاره کرد. این تغییرات در نهایت منجر به توانایی خون تزریق شده در القای مرگ برنامه‌ریزی شده در بعضی از سلول‌های خونی بدن گیرنده می‌شوند.

در این تحقیق از رده سلولی جرکات (Jurkat cell line) به‌عنوان مدل آزمایشگاهی مورد مطالعه استفاده شد. سلول‌های جرکات، لنفوسیت‌های T سرطانی هستند که برای اولین بار در اواخر دهه ۷۰ از خون محیطی یک پسر بچه ۱۴ ساله مبتلا به لوسمی T جدا شدند. این سلول‌ها CD95⁺ (Fas⁺) بوده و به القای مرگ سلولی از طریق روند مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی نسبت به مسیر نکروز بسیار حساس هستند و به همین دلیل در تحقیقات برای درک بیشتر مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده به‌کار گرفته می‌شوند. این سلول‌ها تغییرپذیری عمده‌ای در درجه حساسیت خود در مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی ناشی از Fas نشان داده‌اند.

طی مراحل اولیه مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، فسفاتیدیل سرین (Phosphatidyl Serine) بر سطح سلول عرضه می‌شود و ردیابی آن بر سطح سلول نشانه وقوع مرگ برنامه‌ریزی شده در آن سلول است. در این زمان، تغییرات هسته‌ای همچون تجزیه DNA در سلول در حال رخ دادن هستند. در این مطالعه از انکسین V (Annexin V) استفاده شد که در حضور کلسیم (Ca²⁺) قادر است به فسفاتیدیل سرین فسفولیپیدهای غشای سلول هدف متصل شود. به همین دلیل در مطالعه حاضر از این ویژگی برای ردیابی سلول‌های در حال مرگ برنامه‌ریزی شده توسط انکسین V استفاده شد.

هدف از این پژوهش بررسی توانایی انتقال خون در ایجاد اثر تعدیل ایمنی از طریق مکانیسم القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی بود. بنابراین به مطالعه توانایی خون و تأثیر مدت نگهداری آن در القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در یک مدل آزمایشگاهی (In-vitro) پرداخته شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- طراحی مدل آزمایشگاهی

این مطالعه از نوع تجربی (قبل و بعد) بود و در یک مدل آزمایشگاهی اثر TRIM بررسی شد. در این تحقیق پلاسمای خون نگهداری شده در روزهای ۳، ۱۰، ۲۱ و ۳۵ جدا و به سلول‌های جرکات

تقریبی 2×10^6 سلول در هر میلی‌لیتر محیط کشت رسید، شمارش سلولی و آزمون تعیین میزان زنده بودن (Viability test) انجام گرفت و براساس این آزمون نشان داده شد که بیش از ۹۶ درصد سلول‌ها قبل از انجام آزمایش‌ها زنده بودند. در این تحقیق از پلیت‌های ۹۶ خانه (چاهکی) استفاده شد و به ازای هر کیسه، ۶ چاهک در نظر گرفته شد. در هر یک از این ۶ خانه سلول‌های جرکات به تعداد ۱۰۰۰۰۰ سلول، که در ۵۰ میکرولیتر محیط کشت (RPMI) فاقد FBS معلق بودند، وارد شد. سپس به خانه ۱ تا ۴ به ترتیب ۵۰ میکرولیتر از بخش پلاسمایی کیسه مربوط که به ترتیب در روزهای ۳، ۱۰، ۲۱ و ۳۵ جدا شده بودند، اضافه شد. به چاهک شماره ۵، ۵۰ میکرولیتر محیط کشت فاقد FBS اضافه و به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. چاهک شماره ۶ نیز برای کنترل مثبت در نظر گرفته شد و به آن ۵۰ میکرولیتر محیط کشت فاقد FBS اضافه شد. پلیت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO_2 ۵ درصد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و پس از آن محتویات چاهک‌های ۱-۵ در لوله‌های میکرو تخلیه و توسط PBS (Phosphate Buffered Saline) یا محیط کشت استریل ۲ بار شستشو داده شدند و سپس سلول‌ها برای آنالیز فلوسیتومتری و بررسی میزان مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی آماده شدند [۱۷].

براساس راهنمای کیفیت مورد استفاده (Sero Tec ANNEXIN V:FITC ASSAY KIT)، به محتویات چاهک ششم پس از تخلیه در میکروتیوب (Microtube) استریل، فرمالدئید ۳ درصد در بافر اضافه شد و به مدت نیم ساعت بر روی یخ قرار گرفت. بعد از آن ۲ بار شستشو و برای فلوسیتومتری آماده شد. لازم به ذکر است که فرمالدئید در غلظت مشخصی با کاهش شدید محتوای گلوکاتینون سلولی، باعث افزایش حساسیت سلول به استرس اکسیداتیو شده و از این طریق قادر به القای مرگ سلولی است؛ بنابراین می‌توان از این سلول‌ها به‌عنوان کنترل مثبت استفاده نمود [۱۸].

که حساس به مرگ برنامه‌ریزی شده هستند اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در محیط کشت قرار داده شد و سپس میزان مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های جرکات مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۲- نمونه مورد مطالعه

نمونه مورد نیاز، خون کامل (Whole blood) بود که از اهداءکننده خون با رعایت مسایل اخلاقی و دادن آگاهی لازم از موضوع تحقیق، دریافت و در کیسه‌های ۴۵۰ میلی‌لیتر حاوی ضدانعقاد CPDA-1 (Citrate Phosphate Dextrose Adenine-1) ذخیره شد. این کیسه‌ها در شرایط استاندارد نگهداری خون کامل و در یخچال 2 ± 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در روزهای ۳، ۱۰، ۲۱ و ۳۵ پس از خون‌گیری، با رعایت شرایط استریل، از هر یک از کیسه‌ها حداقل ۱۰ میلی‌لیتر خون جدا و در لوله‌های استریل وارد شد و با سانتریفوژ نمودن لوله‌ها به مدت حداقل ۱۰ دقیقه در ۲۵۰۰ دور در دقیقه، مایع رویی (پلازما) جداسازی و جمع‌آوری شد [۱۷].

۲-۳- کشت و تکثیر رده سلولی جرکات

در این تحقیق رده سلولی جرکات (NCBI C121 Jurkat E6.1) از بانک سلولی انستیتو پاستور تهیه و در شرایط مناسب در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO_2 ۵ درصد در داخل محیط RPMI که حاوی FBS (Fetal Bovine Serum) ۱۰ درصد بود کشت داده شدند. برای کسب بهترین نتایج، این سلول‌ها باید در مرحله لگاریتمی رشد خود بوده و میزان زنده بودن (Viability) در آن‌ها بیش از ۹۵ درصد باشد.

۲-۴- تیمار سلول‌های جرکات در مجاورت

پلاسمای جدا شده از خون‌های نگهداری شده

برای بررسی مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی

پس از این‌که تعداد سلول‌های جرکات به میزان

۲-۵- آنالیز فلوسیتومتری

در این مطالعه میزان مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌ها با استفاده از کیت Sero Tec ANNEXIN V:FITC ASSAY KIT که محتوی ۲ واکنش‌گر انکسین V و پروپیدیوم یوداید (Propidium Iodide: PI) بود و توسط دستگاه فلوسیتومتری مدل Partec pas3 اندازه‌گیری شد. انکسین V این خصوصیت را داراست که در حضور کلسیم (Ca^{2+}) به فسفاتیدیل سرین فسفولیپیدهای غشای سلول هدف متصل می‌شود و از آنجایی که این انکسین آغشته به FITC (Fluorescein isothiocyanate) است، بنابراین می‌توان با ردیابی آن، به سلول دچار مرگ برنامه‌ریزی شده دستیابی پیدا کرد. پس از طی مرحله اولیه مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و بروز تغییرات سطحی در غشا، سلول وارد مرحله بعدی (میانی) مرگ برنامه‌ریزی شده می‌شود که در این‌جا غشا دچار شکاف شده و PI قادر است که به سلول نفوذ کرده و به هسته سلول متصل شود. در مرحله انتهایی مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، یکپارچگی غشای سلول از دست رفته و به همین دلیل انکسین نمی‌تواند به آن متصل شود ولی PI قادر است که با هسته سلول واکنش دهد. سلولی که تنها انکسین مثبت است، در مرحله ابتدایی مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی [مرحله پروآپتوتیک (Proapoptotic)] است. سلولی که با انکسین واکنش داده و PI^+ است در مرحله میانی (مرحله آپتوتیک) و سلولی که تنها PI^+ است در مرحله انتهایی مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی قرار دارد.

۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

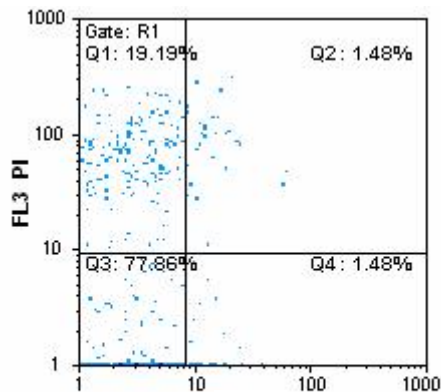
نتایج این مطالعه در گروه‌های ۱ تا ۶ (به ترتیب روزهای ۳، ۱۰، ۲۱، ۳۵ و کنترل منفی و مثبت) به صورت میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SD) استخراج و برای مقایسه ۶ گروه از تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد. برای تعیین اختلاف در گروه‌ها آزمون Tukey HSD به کار برده شد.

۳- نتایج

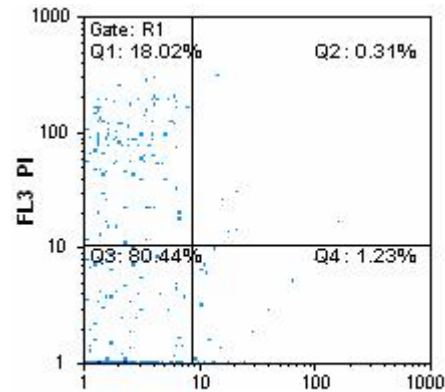
نتایج حاصل از اندازه‌گیری توانایی بخش پلاسمایی خون در روزهای ۳، ۱۰، ۲۱ و ۳۵ در القای مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های جرات در جدول ۱ آورده شده است. براساس تجزیه و تحلیل آماری، بین گروه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0/05$) و در بررسی این گروه‌ها، براساس آزمون Tukey HSD بین گروه‌های ۳ و ۴ (روزهای ۲۱ و ۳۵) با گروه کنترل منفی اختلاف معنی‌دار وجود دارد. همچنین این آزمون بین گروه‌های ۱ و ۲ (روزهای ۳ و ۱۰) با گروه‌های ۳ و ۴ (روزهای ۲۱ و ۳۵) اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد که بیان‌گر تأثیر طول نگهداری خون بر توانایی القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی است ($P < 0/05$). این آزمون بین گروه‌های ۱ و ۲ (روزهای ۳ و ۱۰) با همدیگر و با گروه کنترل منفی اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P > 0/05$).

جدول ۱ مقایسه میزان مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های جرات پس از مجاورت این سلول‌ها با پلاسمای خون نگهداری شده در روزهای مختلف (مقادیر ارایه شده برحسب درصد هستند)

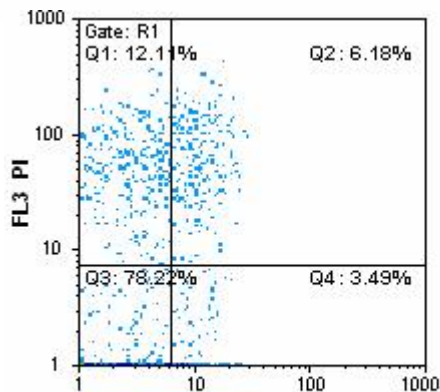
میانگین \pm انحراف معیار	کیسه ۶	کیسه ۵	کیسه ۴	کیسه ۳	کیسه ۲	کیسه ۱	
۱/۵۱ \pm ۳/۸۴	۳/۶۵	۴/۰۸	۳/۱۹	۴/۳۷	۶/۲۱	۱/۵۹	روز ۳
۲/۱۱ \pm ۵/۲۷	۴/۹۷	۴/۸۶	۳/۶۹	۷/۷۸	۷/۷۴	۲/۵۸	روز ۱۰
۱/۸۹ \pm ۸/۴۴	۹/۰۵	۷/۷۸	۶/۱۲	۹/۹۶	۱۱/۰۲	۶/۷۴	روز ۲۱
۲/۳۲ \pm ۱۲/۰۱	۱۳/۶	۱۲/۰۱	۹/۲۷	۱۲/۳۹	۱۵/۲۹	۹/۵۵	روز ۳۵
۱/۹۴ \pm ۳/۸۵	۴/۶۳	۳/۰۹	۲/۳۳	۳/۵۳	۷/۳۶	۲/۱۳	کنترل منفی
۲/۲۸ \pm ۶۵/۸۰	۶۰/۷۸	۶۲/۸۱	۶۴/۵۵	۶۷/۹۱	۷۰/۵۷	۶۸/۲۳	کنترل مثبت



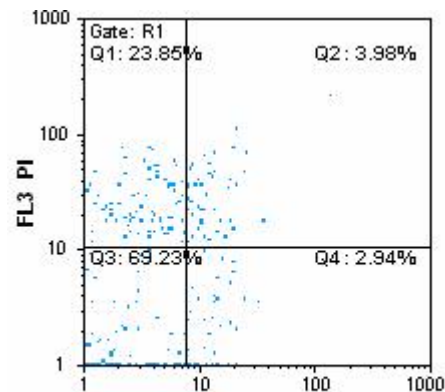
ب



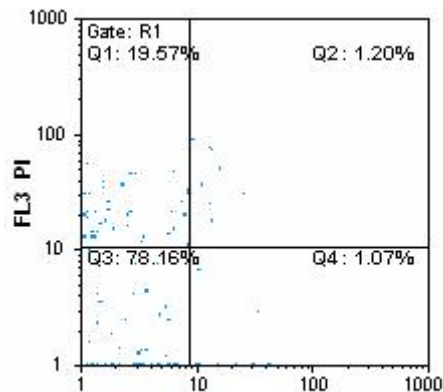
الف



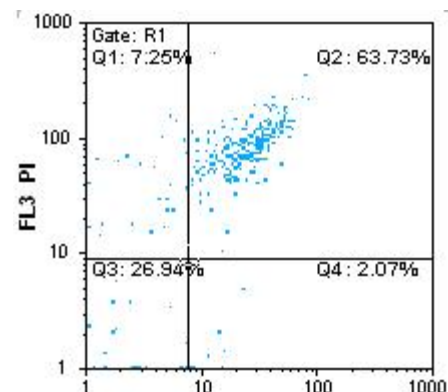
د



ج



ی



ه

شکل ۱ نتایج آنالیز فلوسیتومتری در یکی از نمونه‌های مورد مطالعه در روزهای ۳ (تصویر الف)، ۱۰ (تصویر ب)، ۲۱ (تصویر ج) و ۳۵ (تصویر د) به همراه کنترل منفی (تصویر ه) و مثبت (تصویر ی)؛ Q1: بیانگر نکروز است و سلول‌ها انکسین منفی و PI⁻ هستند. Q2: بیانگر مرگ برنامه‌ریزی شده تأخیری است و سلول‌ها انکسین مثبت و PI⁻ هستند. Q3: بیانگر جمعیت سلول‌های زنده (دست‌نخورده) است که انکسین منفی و PI⁻ هستند. Q4: بیانگر مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی است و سلول‌ها انکسین مثبت و PI⁻ هستند.

سلول‌ها (سلول‌های SW 620) می‌توان باعث مهار مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های جرکات شد [۱۹].

براساس مطالعه گیو و همکاران بین میزان مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و میزان sFasL موجود در خون یک ارتباط مستقیم وجود داشت و با افزایش توانایی خون در القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، میزان sFasL هم افزایش می‌یافت که در مطالعه حاضر نیز با افزایش این توانایی، میزان sFasL افزایش یافته بود (نتایج منتشر نشده است).

علاوه بر این، مطالعات دیگر نیز آزاد شدن مواد متعدد دیگری را در زمان نگهداری خون از لکوسیت‌ها و به میزان کمتر از اریتروسیت‌ها و پلاکت‌ها گزارش نموده‌اند [۲۰] که با مکانیسم‌های مختلفی قادر به القای آثار تعدیل ایمنی هستند. از جمله این مواد یوبی‌کوئیتین (Ubiquitin) است که در دفاع میزبان و تعدیل ایمنی از طریق القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و ترشح سایتوکاین‌ها دخالت دارد و در زمان نگهداری خون، میزان آن در خون افزایش می‌یابد [۲۱].

ویژگی مطالعه حاضر ارایه یک مدل آزمایشگاهی است که کنترل و محدودسازی عوامل مداخله‌گر در آن امکان‌پذیر است. با توجه به این‌که حتی پس از استفاده از روش‌های حذف لکوسیتی قبل از ذخیره‌سازی در کشورهای توسعه‌یافته آثار TRIM آلورژنیک در پاره‌ای از مطالعات انجام شده مشاهده شده است [۲۲]، می‌توان با انجام آزمایش در یک مدل آزمایشگاهی و درک مکانیسم‌های مؤثر، این امکان را فراهم ساخت که بتوان نسبت به بررسی و تعمیم آن در مطالعات آزمایشگاهی اقدام نمود و بتوان نظرات متفاوتی همچون حذف کلونی رده‌های سلولی اختصاصی، بی‌پاسخی (Anergy) کلونی و انتخاب سلول‌های فاقد پاسخ (non-responder)، جهت‌گیری به سمت پاسخ‌های Th2، کایمیرسم مختلط (Mixed chimerism)، نقش سلول‌های کشنده طبیعی [۱، ۲] را با دقت بیشتری بررسی نمود.

در این تحقیق از بخش پلاسمایی کیسه‌های خون به میزان ۵۰ میکرولیتر در برابر ۱۰۰۰۰۰ سلول جرکات (سلول‌های

نتایج فلوسیتومتری یکی از نمونه‌های مورد مطالعه در روزهای ۳، ۱۰، ۲۱ و ۳۵ به‌همراه کنترل منفی و مثبت در شکل ۱ آورده شده است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود به‌ترتیب از تصویر (الف) تا (د) (روزهای ۳ تا ۳۵) میزان سلول‌هایی که انکسین مثبت (مجموعه Q2 و Q4) هستند افزایش یافته که نشان‌دهنده افزایش تدریجی میزان مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های جرکات همراه با افزایش زمان نگهداری کیسه خون است و نشان می‌دهد که نگهداری خون سبب افزایش و تجمع موادی در کیسه خون می‌شود که قادر به القای مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های جرکات هستند.

۴- بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که بخش پلاسمایی خون نگهداری شده دارای توانایی القای مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های جرکات بوده و این توانایی با افزایش مدت نگهداری خون تشدید می‌شود. از آن‌جا که سلول‌های جرکات انتخابی در این مطالعه $CD95^+$ Fas⁺ هستند و در مطالعات انجام شده نشان داده شده است که مسیر القای مرگ برنامه‌ریزی شده در این سلول‌ها Fas است [۱۷]، بنابراین ممکن است یکی از مکانیسم‌های مسئول در القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در مدل مورد مطالعه حاضر نیز مولکول sFasL باشد.

گیو (Ghio) و همکارانش مشاهده نمودند که نگهداری طولانی مدت خون سبب آزاد شدن FasL در بخش محلول خون می‌شود. این محققان توانایی sFasL یا FasL سطح سلول را در القای مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های $CD95^+$ Fas⁺ به اثبات رساندند [۱۷]. همچنین در مطالعه‌ای که توسط گروه دیگری انجام شد، دیده شد که سلول‌های SW 620 که رده سلولی آدنوکارسینومای کولون انسان (Human colon adenocarcinoma) هستند، از طریق FasL سطحی خود قادر به القای مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های جرکات بوده و با مهار mRNA مربوط به FasL سطحی این

می تواند آثار متفاوتی داشته باشد و به طور کل می توان گفت که ارایه و طراحی یک مدل آزمایشگاهی برای ارزیابی آثار تعدیل ایمنی خون در زمینه القای مرگ برنامه ریزی شده سلولی امکان پذیر است.

۵- تشکر و قدردانی

بدین وسیله بر خود لازم می دانم از زحمات صمیمانه جناب آقای دکتر جمالی، آقای دکتر زیدی و سرکار خانم دکتر زارع و دیگر همکاران در سازمان انتقال خون استان تهران بابت همکاری در تهیه نمونه های مورد تحقیق تشکر و قدردانی نمایم.

هدف) استفاده شد که در انطباق با مطالعات آزمایشگاهی، باید حجم پلاسما که حدود ۲۵۰ میلی لیتر است و به دنبال هر تزریق خون کامل وارد بدن گیرنده می شود را محاسبه و اعمال نمود. اما از طرف دیگر خون پس از تزریق در حجم خون گیرنده که به طور متوسط ۵۰۰۰ میلی لیتر است، رقیق می شود؛ بنابراین تأثیر ضریب رقت به دنبال رقیق شدن خون تزریقی در حجم خون گیرنده را نباید فراموش نمود.

در انتها می توان گفت که نتایج حاصل از بررسی حاضر بر اثر فاکتور زمان نگهداری خون در القای مرگ برنامه ریزی شده سلولی تأکید دارد و نشان داده است که با افزایش زمان نگهداری، قدرت خون نیز در القای مرگ برنامه ریزی شده سلولی افزایش می یابد که با توجه به شرایط گیرنده خون

۶- منابع

- [1] Blumberg N, Heal JM. Transfusion immunomodulation. In: Anderson KC, Ness PM, (editors). Scientific Basis of Transfusion Medicine: Implications for Clinical Practice. 2nd ed., Philadelphia: W.B. Saunders, 2000; p: 427-43.
- [2] Vamvakas EC, Blajchman MA. Deleterious clinical effects of transfusion-associated immunomodulation: fact or fiction?. Blood 2001; 97(5): 1180-95.
- [3] Bordin JO, Blajchman MA. Clinical Effects of the immunomodulation associated with Allogenic Blood Transfusions. In: Linden JV, Bianco C, (editors). Blood Safety and Surveillance. New York: Marcel Dekker, Inc., 2001; p: 139-57.
- [4] Hillyer CD, Hillyer KL, Jefferies L, Strobl F, Silberstein LE. Handbook of Transfusion Medicine. Colifornia: Academic Press, 2001; p: 59.
- [5] Bordin JO, Blajchman MA. Transfusion associated immunomodulation. In: Simon TL, Dzik WH, Synder EL, Stowell CP, Strauss RG. Rossi's Principle of Transfusion Medicine, 3rd ed., Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2003; p: 867-79.
- [6] Heiss MM, Fraunberger P, Delanoff C, Stets R, Allgayer H, Ströhlein MA, Tarabichi A, Faist E, Jauch KW, Schildberg FW. Modulation of immune response by blood transfusion: evidence for a differential effect of allogeneic and autologous blood in colorectal cancer surgery. Shock 1997; 8(6): 402-8.
- [7] Blumberg N, Heal JM. Perioperative blood transfusion and solid tumour recurrence--a review. Cancer Invest 1987; 5(6): 615-25.
- [8] Busch OR, Hop WC, Hoynck van Papendrecht MA, Marquet RL, Jeekel J. Blood transfusions and prognosis in colorectal cancer. N Engl JMed 1993; 328(19): 1372-6.
- [9] Burrows L, Tartter P, Aufses A. Increased recurrence rates in perioperatively transfused

- colorectal malignancy patients. *Cancer Detect Prev* 1987; 10(5-6): 361-9.
- [10] Hensler T, Hecker H, Heeg K, Heidecke CD, Bartels H, Barthlen W, Wagner H, Siewert JR, Holzmann B. Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery. *Infect Immun* 1997; 65(6): 2283-91.
- [11] Jensen LS, Andersen AJ, Christiansen PM, Hokland P, Juhl CO, Madsen G, Mortensen J, Møller-Nielsen C, Hanberg-Sørensen F, Hokland M. Postoperative infection and natural killer cell function following blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery. *Br J Surg* 1992; 79(6): 513-6.
- [12] Blumberg N. Allogeneic transfusion and infection: economic and clinical implications. *Semin Hematol* 1997; 34(3 suppl 2): 34-40.
- [13] Blajchman MA, Bardossy L, Carmen R, Sastry A, Singal DP. Allogeneic blood transfusion-induced enhancement of tumour growth: two animal models showing amelioration by leukodepletion and passive transfer using spleen cells. *Blood* 1993; 81(7): 1880-2.
- [14] Jensen LS, Kissmeyer-Nielsen P, Wolff B, Qvist N. Randomised comparison of leucocyte-depleted versus buffy-coat-poor blood transfusion and complications after colorectal surgery. *Lancet* 1996; 348(9031): 841-5.
- [15] Blajchman MA, Dzik S, Vamvakas EC, Sweeney J, Snyder EL. Clinical and molecular basis of transfusion-induced immunomodulation: summary of the proceedings of a state-of-the-art conference. *Transfus Med Rev* 2001; 15(2): 108-35.
- [16] Dzik DH. Proposed Mechanisms of the Immunomodulatory Effect of Allogeneic Blood Transfusion. In: Vamvakas EC, Blagchman MA. *Immunomodulatory Effects of Blood Transfusion*. Bethesda, Maryland: aabb press, 1999; p: 73-94.
- [17] Ghio M, Contini P, Mazzei C, Brenci S, Barberis G, Filaci G, Indiveri F, Puppo F. Soluble HLA class I, HLA class II, and Fas ligand in blood components: a possible key to explain the immunomodulatory effects of allogeneic blood transfusions. *Blood* 1999; 93(5): 1770-7.
- [18] Oyama Y, Sakai H, Arata T, Okano Y, Akaike N, Sakai K, Noda K. Cytotoxic effects of methanol, formaldehyde, and formate on dissociated rat thymocytes: A possibility of aspartame toxicity. *Cell Biol Toxicol* 2002; 18(1): 43-50.
- [19] O'Connell J, O'Sullivan GC, Collins JK, Shanahan F. The Fas counterattack: Fas-mediated T cell killing by colon cancer cells expressing Fas ligand. *J Exp Med* 1996; 184(3): 1075-82.
- [20] Nielsen HJ, Reimert CM, Pedersen AN, Brünner N, Edvardsen L, Dybkjaer E, Kehlet H, Skov PS. Time-dependent spontaneous release of white cell- and platelet-derived bioactive substances from stored human blood. *Transfusion* 1996; 36(11-12): 960-5.
- [21] Patel MB, Proctor KG, Majetschak M. Extracellular ubiquitin increases in packed red blood cell units during storage. *J Surg Res* 2006; 135(2): 226-32.
- [22] Vamvakas EC. White blood cell containing allogeneic blood transfusion and postoperative infection or mortality: an update meta-analysis. *Vox Sang* 2007; 92(3): 224-32.