

## Original Article

# The effect of N-acetyl-cysteine (NAC) on RBC oxidative damage and RBC metabolism during storage of red blood cell product in blood bank condition

Najmeh Mehrdadi<sup>1</sup>, Mohammad Reza Deyhim<sup>2\*</sup>, Azadeh Hekmat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Science and Research Branch of Islamic Azad University of Tehran, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Iranian Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

\*Corresponding author; E-mail: mrdeyhim@yahoo.com

Received: 8 Apr 2019      Accepted: 16 June 2019      First Published online: 24 Feb 2021

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2021;42(6):667-676

## Abstract

**Background:** Oxidative damage is one of the main causes of Red blood cell (RBC) storage lesion which can reduce RBC survival during RBC storage in blood bank condition. In this study, we evaluate the effect of N-acetyl cysteine (NAC) as an anti-oxidant compound on RBC oxidative damage and RBC metabolism during storage of this product.

**Methods:** In this experimental study, 10 bag of packed RBC were provided to the Iranian Blood Transfusion Organization's Innovation Center were randomly selected and effect of NAC was investigated on metabolism, oxidative status and hematologic variables of RBC during RBC storage. The results of this study were compared between two groups of NAC treated RBC and untreated RBC (without NAC). All of the data were analyzed with SPSS statistical program (version 22).

**Results:** In this study, the concentration of lactate and LDH enzyme activity in the NAC treated RBC were lower than the control group (without NAC). The concentration of malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker in the NAC treated RBC was lower increase than the untreated RBC. Also antioxidant capacity was so higher in the NAC - RBC than in the control group, especially in the 28th day of RBC storage ( $P_{\text{day28}} < 0.05$ ).

**Conclusion:** The results of this study indicated that the use of NAC as an additive solution could decrease oxidative damage via maintaining of the RBC oxidant capacity during RBC storage. In the future NAC may be used as an additive for maintaining of the RBC survival and RBC quality during storage of RBC in blood bank condition.

**Keywords:** Red blood cell oxidative damage, Red blood cell storage lesion, Red blood cell storage, N-Acetylcysteine

**How to cite this article:** Mehrdadi N, Deyhim M R, Hekmat A. [The effect of N-acetyl-cysteine (NAC) on RBC oxidative damage and RBC metabolism during storage of red blood cell product in blood bank condition]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020;42(6): 667-676. Persian.

## مقاله پژوهشی

# تأثیر ان-استیل-سیستئین (NAC) بر آسیب اکسیداتیو و متابولیسم گلبول قرمز در طول مدت زمان نگهداری گلبول قرمز در شرایط بانک خون

نجمه مهربادی<sup>۱</sup>، محمد رضا دیهیم<sup>۲\*</sup>، آزاده حکمت<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران  
<sup>۲</sup>مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران، موسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، سازمان انتقال خون ایران، تهران، ایران  
\* نویسنده مسئول؛ ایمیل: mrdeyhim@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۸/۱/۱۹ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۲۶ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۱۲/۶  
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۶): ۶۶۷-۶۷۶

## چکیده

**زمینه:** استرس اکسیداتیو یکی از دلایل مهم آسیب ذخیره گلبول قرمز است که می تواند سبب کاهش عملکرد گلبول قرمز در طول ذخیره سازی آن در بانک خون گردد. در این مطالعه به تاثیر ان - استیل سیستئین (NAC) به عنوان ترکیب آنتی اکسیدان، بر آسیب اکسیداتیو و متابولیسم گلبول قرمز در طول مدت نگهداری این فرآورده خونی پرداخته می شود.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی، ۱۰ عدد کیسه خون حاوی گلبول قرمز متراکم تهیه شده در مرکز نوآوری سازمان انتقال خون ایران، بصورت تصادفی ساده انتخاب گردید و به تاثیر NAC بر متغیرهای آسیب اکسیداتیو، متغیرهای متابولیسم و تاثیر آن بر متغیرهای هماتولوژیک گلبول قرمز در طول مدت نگهداری فرآورده گلبول قرمز پرداخته شد. نتایج بدست آمده بین دو گروه گلبول قرمز تیمار با NAC و گروه فاقد NAC (گروه کنترل) با استفاده از نرم افزار آماری SPSS مورد آنالیز قرار گرفت.

**یافته ها:** در این مطالعه مشاهده شد که غلظت لاکتات و فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) در گروه دارای NAC به مراتب کمتر از گروه شاهد بود. همچنین غلظت مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها در گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد در طول مدت نگهداری گلبول قرمز، افزایش کمتری داشت. ظرفیت آنتی اکسیدانی نیز در گلبول های قرمز تیمار با NAC به مراتب بیشتر از گروه شاهد بود، بخصوص در روز ۲۸ نگهداری گلبول قرمز ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه گیری:** نتایج بدست آمده نشان داد که شاید NAC بتواند با حفظ ظرفیت آنتی اکسیدانی گلبول قرمز سبب کاهش آسیب اکسیداتیو در گلبول های قرمز در طول مدت ذخیره سازی آن شده و بدین ترتیب در آینده بتوان از آن در جهت افزایش بقا و حفظ کیفیت گلبول های قرمز در طول مدت نگهداری استفاده کرد.

**کلید واژه ها:** آسیب اکسیداتیو گلبول قرمز، آسیب ذخیره گلبول قرمز، نگهداری گلبول قرمز در بانک خون، ان-استیل - سیستئین

**نحوه استناد به این مقاله:** مهربادی ن، دیهیم م ر، حکمت آ. تاثیر ان-استیل-سیستئین (NAC) بر آسیب اکسیداتیو و متابولیسم گلبول قرمز در طول مدت زمان نگهداری فرآورده گلبول قرمز در شرایط بانک خون. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۶): ۶۶۷-۶۷۶

حق تالیف برای مولف محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر گردیده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

## مقدمه

امروزه استفاده از فرآورده گلبول قرمز متراکم برای درمان بسیاری از بیماری‌های خونی مانند تالاسمی و هموگلوبینوپاتی و سرطان‌ها که بیمار دچار کم خونی شده و یا در تصادفات و حوادث اورژانس که بیمار حجم خون زیادی را از دست داده باشد، به کار می‌رود. با تزریق گلبول قرمز در این بیماران حجم خون از دست رفته در آنها جبران شده و نیاز به افزایش ظرفیت حمل اکسیژن برطرف می‌گردد (۱). با توجه به اینکه سالانه در کشور هزاران واحد گلبول قرمز تولید و مصرف می‌شود، نگهداری و ارتقا سطح سلامت و کیفیت این فرآورده خونی در طول مدت ذخیره سازی قبل از تزریق آن به نیازمندان اهمیت زیادی دارد. فرآورده گلبول قرمز متراکم، پس از تهیه شدن از خون کامل اهداکنندگان خون، در محلول افزودنی سالین-آدنین-گلوکز-مانیتول (SAGM) به عنوان ماده افزودنی برای حفظ بقا و متابولیسم گلبول قرمز، به مدت حداکثر ۴۲ روز در دما ۶-۱ درجه سانتی‌گراد قابل نگهداری است. اما در زمان نگهداری این فرآورده خونی تحت شرایط ذکر شده، گلبول‌های قرمز دچار یک‌سری تغییرات بیوشیمیایی، ساختاری و عملکردی می‌شوند که به آن آسیب ذخیره گلبول قرمز (Red Blood Cell Storage lesion) گفته می‌شود که این پدیده می‌تواند سبب کاهش بقا و کاهش کیفیت گلبول‌های قرمز طی زمان نگهداری و ذخیره سازی آن گردد (۲). تغییراتی که در طی آسیب ذخیره گلبول قرمز رخ می‌دهد شامل تغییر در مورفولوژی سلول، تغییر در ساختار و عملکرد سلول، کاهش غلظت ATP و ۳،۲ دی فسفوگلیسیرید، کاهش گلیکولیز و همچنین افزایش غلظت اسیدلاکتیک و کاهش pH است. به تدریج با کاهش گلیکولیز و کاهش ATP در این فرآیند، مورفولوژی گلبول قرمز به اشکال آکیتوسیت و اسفرواکیتوسیت تغییر شکل یافته که در مراحل بعدی با تشکیل وزیکول، غشا سلول کاملاً از بین رفته و همولیز رخ می‌دهد که یکی از دلایل کاهش بقا سلول است (۱). آسیب اکسیداتیو یکی از عوامل مهم در ایجاد آسیب ذخیره گلبول قرمز است که می‌تواند در طی فرآیند تولید و نگهداری در گلبول‌های قرمز رخ دهد (۳). همچنین با کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گلبول قرمز طی ذخیره سازی و در نتیجه افزایش سطح اکسیدان‌ها و با اکسیداسیون پروتئین‌ها و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا گلبول قرمز توسط رادیکال‌های آزاد و با تشکیل وزیکول‌های سلولی، اختلالات فیزیولوژیک از جمله اختلال در عملکرد و تغییرات مورفولوژیک در گلبول قرمز رخ داده که می‌تواند منجر به لیز سلول گردد. وزیکول‌های گلبول قرمز که در روند آسیب اکسیداتیو تشکیل شده‌اند می‌توانند بصورت عوامل پیش‌التهابی و پیش‌انعقادی عمل کرده و در بیمارانی که گلبول قرمز دریافت کرده‌اند منجر به آسیب حاد ریوی مرتبط با تزریق خون (Transfusion-related acute lung injury) در دریافت کننده گلبول قرمز گردد.

## نکات کاربردی

استفاده از محلول افزودنی در فرآورده‌های خونی، یکی از راهکارهایی است که می‌تواند سبب حفظ کیفیت فرآورده خونی شده و از آسیب‌های ذخیره خون تا حد زیادی جلوگیری نماید. با توجه به نتایج مطلوبی که در این تحقیق از تاثیر مثبت ان-استیل-سیستئین در ارتباط با فرآورده گلبول قرمز بدست آمد، شاید در آینده بتوان از این ماده به عنوان محلول افزودنی جهت حفظ و ارتقاء کیفیت فرآورده گلبول قرمز در طی دوران ذخیره سازی استفاده نمود.

در نتیجه آسیب اکسیداتیو، گلبول‌های قرمز قابلیت حمل اکسیژن خود را از دست داده و با افزایش لیز سلولی، بقا آنها نیز کاهش می‌یابد که موجب کاهش کارایی تزریق گلبول قرمز در بیماران خواهد شد (۴،۵). یکی از راهکارهایی که می‌تواند سبب بهبود کیفیت و کارایی فرآورده گلبول قرمز گردد، استفاده از ترکیبات طبیعی است که خواص آنتی‌اکسیدانی داشته و بتوانند با کاهش استرس اکسیداتیو و حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گلبول قرمز، سبب افزایش کیفیت و بقا آن در طول مدت نگهداری و ذخیره سازی شوند (۶). یکی از ترکیبات طبیعی که امروزه خواص آنتی‌اکسیدانی آن شناخته شده است، ان‌استیل‌سیستئین (NAC) می‌باشد که یک ان-استیل مشتق شده از آمینواسید ال-سیستئین است که گروه تیول (سولفیدرید) این ماده دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و قادر به خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد است. این ماده همچنین به عنوان پیش‌ساز گلوتاتیون که یک آنتی‌اکسیدان قوی است عمل می‌کند که یک عامل مهم در حفاظت از ساختمان بیولوژیکی سلول‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد محسوب می‌شود (۷). تغییرات متابولیکی که طی دوران ذخیره سازی گلبول قرمز رخ می‌دهد، یکی از دلایل آسیب ذخیره گلبول قرمز است که می‌تواند منجر به کاهش عملکرد و کاهش بقا آن گردد. همچنین تغییرات مورفولوژیک نیز که در پی اختلالات متابولیک رخ می‌دهد یکی از عوامل کاهش زنده‌مانی این سلول‌ها طی نگهداری آن است (۳). به این علت، در این تحقیق علاوه بر بررسی تاثیر NAC بر آسیب اکسیداتیو گلبول قرمز، به تاثیر آن بر پارامترهای متابولیسم و هماتولوژیک که شامل شاخص‌های مورفولوژی گلبول قرمز نیز است، پرداخته شد.

## روش کار

این مطالعه که بصورت تجربی است، در مدت زمان ۶ ماه پس از طی فاز مطالعاتی در سال ۱۳۹۵، در مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران انجام گرفت. در این مطالعه ۱۰ عدد کیسه خون حاوی گلبول قرمز متراکم که بصورت تصادفی ساده، بدون در نظر گرفتن سن، جنس و نوع گروه خونی اهداکنندگان انتخاب شده بود مورد بررسی قرار گرفت. معیار ورود اهداکنندگان خون به مطالعه،

## طرز تهیه محلول NAC

برای تهیه محلول استوک NAC (۵۰۰ میلی مول) از پودر آن - استیل-سیستین (مرک) با توجه به وزن مولکولی آن، ۸۱۵ میلی گرم را در ۱۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی حل کردیم .

## مطالعه اولیه برای تعیین غلظت بهینه NAC (Pilot study)

از محلول استوک NAC (۵۰۰ میلی مول) ، سه غلظت مختلف ۰/۵ و ۱/۵ میلی مول تهیه شد. برای هر غلظت از ماده NAC ۴ کیسه گلبول قرمز انتخاب شد که هر کیسه گلبول قرمز خود نیز به دو قسمت با حجم مساوی تقسیم گردید. یک قسمت برای تیمار با NAC و قسمت دیگر به عنوان گروه کنترل که فاقد ماده افزودنی NAC بود. غلظت های ذکر شده از NAC بر اساس حجم گلبول قرمزی که NAC به آن تزریق می شد محاسبه گردید. برای تزریق NAC ابتدا، در شرایط کاملا استریل در زیر هود لامینار کلاس II با استفاده از سرنگ استریل، NAC از طریق کورد کیسه به درون کیسه های کنسانتره گلبول قرمز تزریق گردید که به عنوان گروه مورد استفاده شد و گروه کنترل نیز قسمت دیگر از گلبول قرمز که فاقد ماده افزودنی NAC بود انتخاب شد و پارامترهای تحقیق در گروه ها در فواصل زمانی مختلف تا روز ۴۲ نگهداری گلبول قرمز مورد آزمایش قرار گرفت.

## مطالعه اصلی

در مطالعه اصلی از غلظت بهینه NAC که پس از انجام مطالعه اولیه بدست آمد، استفاده شد. براساس یافته هایی که از مطالعه اولیه (Pilot) بدست آمد، غلظت ۱.۵ میلی مول از ماده NAC به عنوان غلظت بهینه انتخاب گردید و سپس ۱۰ عدد کیسه حاوی گلبول قرمز متراکم جهت انجام مطالعه انتخاب شد. هر یک از کیسه های حاوی گلبول قرمز با استفاده از دستگاه متصل کننده کورد (Connection device welder, TSCD II, Japan) به یک کیسه جانبی که از جنس کیسه اصلی بود (ماکوفارما، فرانسه)، در شرایط کاملا استریل متصل شد و با استفاده از ترازو ( Sartorius, GE, Germany, 4101) محتوی گلبول قرمز هر کیسه به دو حجم مساوی تقسیم گردید (یکی برای تیمار با NAC و دیگری برای گروه شاهد بدون ماده افزودنی). حجم گلبول قرمز داخل کیسه اصلی با حجم گلبول قرمز انتقال داده شده به کیسه جانبی یکسان بود. پس از آن هر دو کیسه گلبول قرمز به زیر هود لامینار کلاس ۲ منتقل شد و از کورد کیسه ها ۲ نمونه خون با حجم مساوی به لوله های آزمایش منتقل شد و قبل از تزریق NAC ، پارامترهای آسیب اکسیداتیو و متابولیسم گلبول قرمز همراه شاخص های هماتولوژیک گلبول قرمز به عنوان مقادیر پایه مورد اندازه گیری و ارزیابی قرار گرفت (روز صفر، روز تهیه نمونه قبل از تزریق NAC). سپس از استوک ۵۰۰ میلی مول از ماده NAC ، غلظت ۱.۵ میلی مول از آن با توجه به حجم گلبول قرمز تهیه و به

افراد سالم بودند که توسط معیارهایی که از طرف سازمان انتقال خون برای انتخاب اهداکننده سالم تدوین شده است توسط پزشک اهدا انتخاب گردید. افرادی که دارای این شرایط نبودند از مطالعه خارج می شدند. تعداد نمونه نیز با توجه به حجم نمونه در مطالعات مشابه تعیین شد (۱۲). پارامترهای متابولیسم، هماتولوژیک و آسیب اکسیداتیو گلبول قرمز در دو گروه گلبول قرمز تیمار با NAC در مقایسه با گروه شاهد (گروه فاقد NAC) در طول مدت نگهداری گلبول قرمز مورد ارزیابی قرار گرفت. برای ارزیابی آسیب اکسیداتیو گلبول قرمز از شاخص هایی نظیر اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی (TAC) و اندازه گیری مالون دی آلدئید (MDA) که شاخص پراکسیداسیون لیپید بود استفاده شد. برای ارزیابی وضعیت متابولیسم گلبول قرمز نیز از شاخص های متابولیسم که شامل اندازه گیری غلظت گلوکز، اندازه گیری غلظت لاکتات (محصول نهایی گلیکولیز) و اندازه گیری pH بود استفاده شد. اندازه گیری فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) و مقدار همولیز گلبول های قرمز، به عنوان شاخص های آسیب سلولی در نظر گرفته شد. در نهایت تاثیر NAC بر پارامترهای هماتولوژیک نیز که شامل اندازه گیری غلظت هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (Hct) ، MCV (یکی از شاخصه های ارزیابی مرفولوژی گلبول قرمز) ، MCH ، MCHC بود مورد بررسی قرار گرفت. تمامی داده ها وارد نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ گردید و قبل از شروع آزمون های آماری روی داده ها، نرمال بودن توزیع متغیرهای مورد تحقیق را توسط آزمون شاپیرو ویلک بررسی کردیم. متغیرهای تحقیق، بین گروه ها و نیز بین دفعات اندازه گیری مختلف توسط آنالیز واریانس اندازه های تکراری (Repeated Measured Anova) مقایسه گردید. جهت مقایسه زوجی داده ها نیز با توجه به نرمال یا غیرنرمال بودن متغیرها در هر نوبت اندازه گیری، از آزمون های آماری تی مستقل (independent paired T-test) و یا از آزمون آماری من وینتی (Mann-whitney)، مقادیر متغیرها در هر نوبت اندازه گیری بین گروه ها مقایسه کردیم. مقادیر ( $P < 0.05$ ) از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

## طرز تهیه فرآورده گلبول قرمز متراکم

ابتدا ۴۵۰ میلی لیتر خون کامل تهیه شده از اهداکننده خون که درون کیسه های جمع آوری خون قرار داشت، به مدت ۴ دقیقه در  $2100 \times g$  در دما ۲۴-۲۰ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ گردید (سانتریفیوژ در دور سبک)، سپس به آرامی گلبول قرمز و پلاسما غنی از پلاکت با استفاده از دستگاه استخراج کننده از یکدیگر جدا شدند (لایه رویی پلاسما غنی از پلاکت جدا می گردد و آنچه باقی می ماند، مقداری پلاسما در حجم حدودا ۷۰-۶۰ میلی لیتر همراه گلبول های قرمز در کیسه ها است). بدین ترتیب فرآورده گلبول قرمز تا ۴۲ روز می تواند در دمای ۱-۶ درجه سانتی گراد در یخچال نگهداری شود.

جذب نوری رنگ ایجاد شده متناسب با غلظت گلوکز در نمونه بود.

## ۲. اندازه‌گیری غلظت لاکتات

اندازه‌گیری غلظت لاکتات با استفاده از روش آنزیمی (شرکت پارس آزمون-ایران) انجام گردید. در این آزمایش لاکتات در حضور NAD در مجاورت آنزیم لاکتات دهیدروژناز به پیرووات تبدیل می‌گردد. میزان NADH تولید شده در این واکنش که به صورت فوتومتریک قابل اندازه‌گیری بود با مقدار لاکتات در نمونه رابطه مستقیم داشت.

## ۳. اندازه‌گیری PH

برای بررسی تاثیر NAC بر روی pH گلبول‌های قرمز در طول مدت نگهداری، pH محیط گلبول قرمز اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا، دستگاه pH متر (متلر، انگلیس) با محلول‌های استاندارد کالیبره شد و پس از کالیبراسیون، pH نمونه‌های گلبول قرمز خوانده شد.

## ج- اندازه‌گیری و ارزیابی پارامترهای آسیب غشا گلبول قرمز

بررسی شاخص همولیز در گلبول‌های قرمز

فاکتور همولیز یکی از مهمترین پارامترهای کنترل کیفیت در گلبول‌های قرمز طی مدت ذخیره سازی آن است که میزان هموگلوبین آزاد در پلاسما را که از متلاشی شدن گلبول‌های قرمز به داخل پلاسما نشأت می‌کند، ارزیابی می‌کند. طبق استانداردهای انتقال خون و AABB (American associated blood bank) میزان همولیز در پلاسما گلبول قرمز در طول مدت ذخیره سازی نباید به بیش از ۰٫۸ درصد برسد. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از پلاسما نمونه‌ها به لوله آزمایش منتقل شده و سپس ۱ میلی‌لیتر سدیم کربنات به تمامی لوله‌ها اضافه شد و میزان جذب نوری هر نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Cecil 7200, UK) در طول موج‌های ۴۱۵، ۶۵۰ و ۷۰۰ نانومتر خوانده شد و با فرمول زیر شاخص همولیز محاسبه شد (۸). (این روش ارزیابی، طبق دستورالعمل سازمان انتقال خون ایران انجام گردید).

$$\text{Plasma Hb} = (\text{OD}_{415\text{nm}} \times 154.7) - (\text{OD}_{450\text{nm}} \times 130.7) - (\text{OD}_{700\text{nm}} \times 123.9)$$

$$\frac{\text{Plasma Hb} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}}\right) - \text{Hct}(\%)}{\text{Hb} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}}\right)} = \text{Hemolysis}(\%)$$

## ۲. اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH)

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم LDH به عنوان یکی از پارامترهای آسیب غشا سلول اهمیت زیادی دارد. زمانی که صدمات جدی به غشا سلول وارد می‌گردد، LDH که یک آنزیم سیتوزولی است به فضا خارج سلولی منتقل می‌کند و افزایش آن در پلاسما حاکی از آسیب سلولی است (۹). در این مطالعه، اندازه‌گیری فعالیت آنزیم LDH بر اساس تبدیل پیرووات به لاکتات که توسط آنزیم LDH کاتالیز می‌گردد انجام شد (کیت شرکت پارس آزمون-ایران). در این واکنش آنزیمی که در آن  $\text{NAD}^+$  به  $\text{NAD}^+$  تبدیل می‌شود،

گلبول‌های قرمز تزریق شد و بدین ترتیب گلبول‌های قرمز تحت تیمار با NAC قرار گرفتند. به اندازه حجم مساوی از ماده تزریقی NAC نیز، سرم فیزیولوژی به گلبول‌های قرمز گروه شاهد تزریق گردید و هر چه سریع‌تر کیسه‌های گلبول قرمز هر دو گروه تیمار با NAC و کیسه‌های گروه شاهد به یخچال بانک خون منتقل شده و در دمای یخچال تا ۴۲ روز نگهداری گردید. نمونه برداری از کیسه‌ها در روزهای صفر، ۲، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و روز ۴۲ انجام گرفت.

## الف- پارامترهای هماتولوژیک

شمارش گلبول قرمز و اندکس‌های گلبول قرمز

شمارش گلبول‌های قرمز روشی برای ارزیابی کیفیت، تعداد و حجم گلبول‌های قرمز است. شمارش تعداد گلبول‌های قرمز در همه گروه‌های کنترل و گروه‌های تیمار با NAC با استفاده از دستگاه اتوماتیک شمارشگر سلول‌های خونی (Sismex K-1000, Japan) انجام گردید. نمونه‌ها به میزان ۱:۵ با فسفات بافر سالین (PBS) رقیق شدند و توسط دستگاه شمارشگر سلولی، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و شاخص‌های آن که شامل غلظت هموگلوبین (Hb)، میزان هماتوکریت (Hct)، میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، MCH و MCHC بود، اندازه‌گیری گردید.

## ب- بررسی و ارزیابی پارامترهای متابولیسم گلبول قرمز

در این قسمت پس از اینکه ۵ میلی‌لیتر از نمونه گلبول قرمز در شرایط کاملاً استریل در زیر هود لامینار کلاس ۲ (بعثت-ایران) از طریق کورد کیسه به داخل لوله آزمایش منتقل گردید، نمونه در دور 3700xg به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و پلاسما از گلبول قرمز جدا شد. سپس پلاسما جهت بررسی و ارزیابی پارامترهای متابولیسم که شامل اندازه‌گیری غلظت گلوکز، اندازه‌گیری غلظت لاکتات و اندازه‌گیری pH بود استفاده شد. کلیه پارامترهای ذکر شده با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر شیمی (Hitachi 911-Japan) اندازه‌گیری شد. کلیه اندازه‌گیری پارامترها برای جلوگیری از هر گونه خطا، بصورت دوتایی انجام گردید و در کلیه مراحل برای اطمینان از صحت و دقت آزمایشات از سرم کنترل‌های تجاری Turu Lab (پارس آزمون-ایران) استفاده شد.

## ۱. اندازه‌گیری غلظت گلوکز

غلظت گلوکز با استفاده از روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت دارواش-ایران)، بصورت واکنش رنگ‌سنجی انجام شد. ابتدا گلوکز توسط آنزیم گلوکز اکسیداز به گلوکوزونیک اسید و هیدروژن پراکسید اکسیده شده، سپس هیدروژن پراکسید تولید شده با استفاده از آنزیم پراکسیداز به کوئینون که یک ماده رنگی است تبدیل شد. جذب نوری رنگ ایجاد شده در مقابل استاندارد توسط اتوآنالایزر شیمی در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد که شدت

### یافته‌ها

در جدول ۱، میانگین نتایج بدست آمده از پارامترهای متابولیسم و فعالیت آنزیم LDH در دو گروه گلبول قرمز تیمار با NAC در مقایسه با گروه شاهد (گروه فاقد NAC) مشاهده می‌شود. در این جدول غلظت لاکتات و میزان فعالیت آنزیم LDH در گلبول های قرمز تیمار با NAC افزایش کمتری نسبت به گلبول‌های قرمز گروه شاهد در طول مدت نگهداری دارد هر چند که این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. در جدول ۲ نیز نتایج مربوط به میانگین تغییرات غلظت MDA، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، میانگین تغییرات pH و میانگین تغییرات همولیز طی زمان نگهداری گلبول قرمز در دو گروه گلبول قرمز تیمار با NAC در مقایسه با گروه شاهد آمده است. در این جدول پراکسیداسیون لیپیدها با استفاده از شاخص MDA، در گلبول‌های قرمز تیمار با NAC نسبت به گروه شاهد در طول مدت نگهداری این فرآورده افزایش کمتری دارد هر چند که این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. همچنین، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گلبول قرمز در طول مدت نگهداری در گروه تیمار با NAC نسبت به گروه شاهد بهتر حفظ شده و کاهش کمتری داشت و در روز ۲۸ نگهداری گلبول قرمز این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود (p=0.043). میزان همولیز گلبول‌های قرمز نیز در گروه تیمار با NAC نسبت به گروه کنترل افزایش کمتری طی مدت نگهداری گلبول قرمز داشت، هر چند که از نظر آماری معنی دار نبود.

تغییرات جذب نوری در واحد زمان و در طول موج ۳۴۰ نانومتر محاسبه می‌گردد.

د- اندازه گیری و ارزیابی پارامترهای آسیب‌اکسیداتیو

۱. اندازه گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (Total antioxidant capacity (TAC

برای اندازه گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام در پلاسما، از کیت کمپانی (زلیبو، آلمان) استفاده شد. اساس این روش که یک واکنش رنگ‌سنجی است بر مبنی کاهش  $Fe^{+++}$  به  $Fe^{++}$  توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است که به کروموزنی مناسب جفت شده و محصول رنگی تولید می‌کند. جذب نوری محصول بدست آمده در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد و بر اساس منحنی استاندارد که از قبل تهیه شده بود، غلظت TAC در واحد میلی‌مول محاسبه گردید.

۲. اندازه گیری غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA)

یکی از نتایج استرس اکسیداتیو افزایش پراکسیداسیون لیپیدها است. در این فرآیند لیپیدهای غشا سلول مورد هجوم رادیکال‌های آزاد قرار گرفته و در اثر پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، لیز سلول رخ می‌دهد. روش تیوباریتوریک اسید یکی از روش‌های استاندارد جهت اندازه گیری مالون دی‌آلدئید (محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها) است. در این روش که بر اساس واکنش بین MDA و تیوباریتوریک اسید در دما جوش است، جذب نوری کمپلکس ایجاد شده (به رنگ صورتی) در طول موج ۵۳۵ نانومتر خوانده شده و بر اساس منحنی استاندارد که از قبل تهیه شده بود، غلظت MDA در واحد میکرومول محاسبه شد (۱۰).

جدول ۱: جدول میانگین پارامترهای متابولیسم گلبول قرمز در دو گروه گلبول قرمز تیمار با NAC در مقایسه با گروه شاهد در طول مدت ذخیره سازی گلبول قرمز

P Value	گلوکز		P Value	لاکتات دهیدروژناز		P Value	لاکتات	
	(میلی‌گرم/دسی‌لیتر)			(واحد بین‌المللی/لیتر)			(میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	
	(شاهد)	(مورد)		(شاهد)	(مورد)		(شاهد)	(مورد)
	X±SD N=10	X±SD N=10		X±SD N=10	X±SD N=10		X±SD N=10	X±SD N=10
۰.۸۵۳	۴۳۷.۴±۸۲.۸۲	۴۴۴.۶±۹۲.۴۲	۰.۸۵۶	۳۳۳.۸۷±۷۴.۵	۳۳۱.۲۰±۷۴.۸۵	۰.۳۲۷	۳۸.۹۲±۱۹.۶۱	۳۴.۱۱±۱۷.۷۴
۰.۱۶۵	۴۱۷.۴±۷۴.۱۸	۳۹۰.۹±۶۴.۷۳	۰.۵۶۸	۳۳۸.۸۹±۱۵۴.۸۶	۲۹۱.۶۰±۸۹.۳۱	۰.۷۶۹	۵۶.۹۰±۸.۷۵	۵۵.۴۴±۸.۳۸
۰.۵۷۹	۳۵۷.۷±۸۲.۵	۳۴۷.۱±۸۵.۰۷	۰.۵۷۵	۷۰۵.۲۲±۲۷۸.۲۶	۶۰۵.۸۰±۳۳۱.۸۸	۰.۸۹	۱۱۳.۰۵±۲۳.۹۴	۱۰۷.۵۰±۱۱.۱۲
۰.۴۳۶	۲۹۱.۸±۸۵.۵۴	۲۷۶.۳±۹۴.۲۴	۰.۶۵۷	۱۱۰.۱۸۹±۳۹۲.۵۳	۹۸۳.۲۰±۳۱۹.۴۶	۰.۲۴۱	۱۵۹.۹۴±۴۳.۲۴	۱۴۲.۱۵±۳۱.۹۳
۰.۶۸۴	۲۲۹.۱±۹۱.۵۲	۲۱۹.۴±۱۰۹.۲۶	۰.۷۷۸	۱۵۷۶.۶۷±۵۳۲.۳۰	۱۴۶۹.۴۰±۳۴۴.۵۲	۰.۴۹۶	۲۱۲.۰۵±۴۳.۶۵	۲۰۷.۸۳±۵۶.۵۹
۰.۷۳۹	۱۹۴.۸±۸۷.۴۴	۱۷۷.۳±۱۱۰.۹۷	۰.۹۱۵	۱۸۴۱.۵۶±۵۷۶.۸۲	۱۸۲۰.۶۰±۳۵۸.۵۲	۰.۸۲۱	۲۴۷.۷۲±۴۷.۷۳	۲۳۴.۸۲±۶۳.۶۵
۰.۹۱۲	۱۵۳.۵±۸۶.۷۹	۱۴۶.۱±۱۰۰.۲۲	۰.۸۵۱	۲۲۵۷.۶۰±۴۸۴.۸۷	۲۳۳۹.۸۹±۸۲۸.۷۵	۰.۵۸۴	۲۹۵.۲۸±۶۷.۱۴	۲۸۴.۵±۴۴.۹۸
۰.۸۵۳	۱۲۷.۱±۸۶.۳۵	۱۲۱.۵±۸۹.۹۵	۰.۷۷۲	۲۶۲۱.۷۸±۱۰۳۴.۸۳	۲۶۷۵.۵۰±۵۸۹.۲۸	۰.۱۰۱	۳۳۰±۴۸.۵۷	۲۹۴.۱۵±۵۱.۲۲

جدول ۲: جدول میانگین پارامترهای آسیب‌اکسیداتیو، pH و شاخص همولیز گلبول قرمز در دو گروه گلبول قرمز تیمار با NAC در مقایسه با گروه شاهد در طول مدت ذخیره سازی گلبول قرمز

P Value	مالون دی‌آلدئید		P Value	ظرفیت آنتی‌اکسیدان		P Value	pH		P Value	شاخص همولیز (%)	
	(نانومول)			(میکرومول)			(مورد)			(شاهد)	
	(شاهد)	(مورد)		(شاهد)	(مورد)		(شاهد)	(مورد)		(شاهد)	(مورد)
	X±SD N=10	X±SD N=10		X±SD N=10	X±SD N=10		X±SD N=10	X±SD N=10		X±SD N=10	X±SD N=10
۰.۷۷۹	۸۸۴±۴۰.۱	۹.۱۲±۴.۸۱	۰.۹۳۷	۰.۲۵±۰.۰۸	۰.۲۷±۰.۰۶	۱	۷.۲۹±۰.۰۶	۷.۲۹±۰.۰۶			
۰.۸۴۶	۱۱.۵۱±۳.۸۵	۱۱.۰۸±۴.۳۳	۰.۳۳۹	۰.۲۰±۰.۰۵	۰.۳۳±۰.۰۵	۰.۳۶	۶.۹۱±۰.۰۷	۶.۸۸±۰.۰۶	۰.۱۴	۰.۱۷±۰.۰۷	۰.۱۲±۰.۰۹
۰.۱۸	۱۳.۹۳±۴.۳۸	۱۲.۷۷±۶.۶۷	۰.۰۴۳	۰.۱۱±۰.۰۴	۰.۱۷±۰.۰۴	۰.۶۲۲	۶.۶۹±۰.۱۰	۶.۶۶±۰.۱۱	۰.۴۵	۰.۴۸±۰.۳۷	۰.۳۲±۰.۲۱
۰.۹۱۴	۱۶.۶۲±۴.۴۹	۱۶.۳۲±۵.۷۴	۰.۳۶	۰.۰۳±۰.۰۳	۰.۰۶±۰.۰۴	۰.۰۵۱	۶.۵۳±۰.۰۴	۶.۴۹±۰.۰۴	۰.۷۷	۱.۳۳±۰.۲۶	۱.۱۶±۰.۲۴

جدول ۳. جدول میانگین پارامترهای هماتولوژیک گلبول قرمز در دو گروه گلبول قرمز تیمار با NAC در مقایسه با گروه شاهد در طول مدت ذخیره سازی گلبول قرمز

روز ذخیره	MCV (فمتولیترا) (مورد)	MCV (فمتولیترا) (شاهد)	P value	هماتوکریت (%) (مورد)	هماتوکریت (%) (شاهد)	P value	هموگلوبین	
							هماتوکریت (%) (مورد)	هماتوکریت (%) (شاهد)
	X±SD N=10	X±SD N=10		X±SD N=10	X±SD N=10		(گرم/دسی‌لیتر) (شاهد)	(گرم/دسی‌لیتر) (مورد)
روز صفر	۸۶٫۶۰±۱٫۶۶	۸۵٫۳۶±۴٫۳۹	۰٫۵۹۶	۵۶٫۰۷±۲٫۹۵	۵۲٫۵۰±۳٫۵۳	۰٫۷۱۶	۱۷٫۷۰±۱٫۶۲	۱۸٫۹۵±۰٫۴۱
روز ۲	۸۵٫۵۴±۴٫۶۹	۸۵٫۳۶±۴٫۶۹	۰٫۹۵۳	۵۳٫۴۳±۱٫۷۶	۵۱٫۵۲±۳٫۷۴	۰٫۴۲۱	۱۷٫۵۲±۱٫۷۷	۱۸٫۳۳±۰٫۹۴
روز ۷	۸۷٫۸۴±۵٫۱۱	۸۸٫۹۸±۲٫۷۴	۰٫۸۲	۵۶٫۶۵±۲٫۲۵	۵۴٫۳۴±۳٫۲۴	۰٫۸۱۷	۱۷٫۹۶±۱٫۱۱	۱۸٫۳۸±۰٫۸۶
روز ۱۴	۸۹٫۶۰±۵٫۰۴	۸۹٫۳۴±۴٫۶۸	۰٫۵۲	۵۷٫۱۸±۲٫۶۳	۵۵٫۵۰±۴٫۵۱	۰٫۷۳۷	۱۷٫۶۶±۱٫۶۹	۱۸٫۴۳±۰٫۸۶
روز ۲۱	۹۲٫۵۰±۵٫۱۴	۹۲٫۵۰±۴٫۷۵	۰٫۹۱	۵۹٫۷۸±۲٫۷۶	۵۷٫۵۶±۳٫۸۲	۰٫۶۱۷	۱۷٫۶۴±۱٫۶۸	۱۸٫۳۵±۰٫۹۰
روز ۲۸	۹۲٫۱۲±۵٫۱۹	۹۲٫۱۸±۵	۰٫۵۷	۵۹٫۵۳±۲٫۹۲	۵۷٫۲۴±۴٫۲۹	۰٫۸۰۸	۱۷٫۷۰±۱٫۵۳	۱۸٫۳۸±۰٫۸۶
روز ۳۵	۹۴٫۱۸±۴٫۹۹	۹۴٫۹۴±۵٫۲۸	۰٫۶۵	۶۱٫۸۰±۳٫۷۴	۵۹٫۲۰±۴٫۹۹	۰٫۵۶	۱۷٫۷۴±۱٫۵۴	۱۸٫۴۷±۰٫۹۴
روز ۴۲	۹۴٫۶۱±۴٫۹۴	۹۴٫۵۴±۵٫۲۸	۰٫۹۴	۶۱٫۷۵±۳٫۴۲	۵۹٫۴۴±۴٫۶۵	۰٫۵۴۴	۱۷٫۸۲±۱٫۶۰	۱۸٫۳۸±۰٫۹۳

در طول مدت نگهداری گلبول قرمز رخ داده و سبب آسیب های جدی به سلول می‌شود (۳). در مطالعه حاضر نیز یکی از متغیرهای مهم تحقیق بررسی پارامترهای متابولیسم گلبول قرمز بود. طبق نتایج بدست آمده، غلظت لاکتات و فعالیت آنزیم LDH (یکی از شاخص های آسیب سلولی) در گروه گلبول قرمز دارای ماده افزودنی NAC افزایش کمتری نسبت به گروه شاهد (گروه فاقد NAC) داشت، هر چند که این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود، ولی به نظر می‌رسید که NAC تا حدی توانسته بود سبب حفظ غشا و حفظ متابولیسم این فرآورده خونی طی مدت نگهداری گردد. نشت کمتر آنزیم LDH به فضا پلاسمایی می‌تواند حاکی از آسیب کمتر غشایی در گلبول های قرمز تیمار با NAC نسبت به گلبول های قرمز گروه شاهد باشد و با توجه به میانگین تغییرات شاخص همولیز که نشان‌دهنده لیز کمتر سلول های تیمار با NAC در مقایسه با گروه شاهد بود، ممکن است که افزودن NAC بتواند سبب حفظ بقا گلبول های قرمز گردد. در سال ۲۰۱۴ پالوتا و همکارانش تاثیر مکمل های ان-استیل سیستئین را روی متابولیسم گلبول‌های قرمز ذخیره شده در محیط‌های سیترات، فسفات، سالین دکستروز، گلوکز و مانیتول در بانک خون بررسی کردند. نتایج آنها نشان می‌داد که جریان متابولیسم انرژی مسیرهای گلیکولیز و پنتوز فسفات و همچنین لیز گلبول های قرمز در طول مدت ذخیره سازی کاهش یافته است (۱۱). در مطالعه هاندیگوند و همکاران روی فرآورده پلاکت، مشاهده شد که تزریق NAC به کیسه های حاوی پلاکت کنستانتتره می‌تواند باعث کاهش فعالیت متابولیک و در نتیجه افزایش ماندگاری و افزایش کیفیت پلاکت ها در طول مدت ذخیره سازی گردد و NAC می‌تواند به عنوان یک ماده نگهدارنده مناسب در حفظ کیفیت پلاکت ها در طول مدت نگهداری موثر باشد (۱۲). این نتایج با نتایج تحقیق ما که NAC توانسته بود سبب کاهش جریان متابولیسم گلبول قرمز با استفاده از شاخص لاکتات در طول مدت نگهداری شود همخوانی داشت. یکی دیگر از پارامترهای مهم تحقیق بررسی وضعیت آسیب اکسیداتیو در گلبول های قرمز در طول مدت نگهداری بود. در این

در جدول ۳، تغییرات میانگین پارامترهای هماتولوژیک در طول مدت نگهداری در گلبول های قرمز تیمار با NAC در مقایسه با گروه شاهد نشان داده شده است. در این نمودار غلظت هموگلوبین و هماتوکریت در گلبول های قرمز تیمار با NAC در طول مدت نگهداری نسبت به گروه شاهد افزایش بیشتری داشت ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. نتایج بدست آمده از شاخص دیگر گلبول قرمز یعنی MCV، در هر دو گروه گلبول قرمز تیمار با NAC در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی داری را از نظر آماری نشان نمی‌داد.

### بحث

آسیب ذخیره گلبول قرمز می‌تواند باعث کاهش عملکرد، کاهش بقا و کاهش کیفیت فرآورده گلبول قرمز قبل از تزریق آن به بیماران گردد. آسیب اکسیداتیو یکی از دلایل اصلی بروز آسیب ذخیره گلبول قرمز طی مدت نگهداری این فرآورده خونی است که بر اثر صدمات وارد شده از طرف رادیکال های آزاد به گلبول های قرمز ایجاد می‌شود (۳،۴). این صدمات می‌توانند بسیار جدی و در بعضی اوقات بصورت برگشت ناپذیر باشند و باعث لیز گلبول‌های قرمز شوند. نقش آنتی اکسیدان‌ها در جلوگیری از آسیب های اکسیداتیو بسیار با اهمیت است. یکی از این ترکیبات آنتی اکسیدان ان-استیل-سیستئین (NAC) است که به دلیل مطالعات اندکی که در ارتباط با تاثیر آن بر آسیب ذخیره گلبول قرمز انجام گرفته، به نظر می‌رسد نتایج بدست آمده از این مطالعه بتواند تاثیر NAC بر آسیب ذخیره گلبول قرمز و آسیب اکسیداتیو را واضح تر و روشن تر بیان داشته و اطلاعات جدیدی را در این خصوص ارائه دهد که بتواند در بحث انتقال خون مفید باشد. در تحقیق حاضر با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه اولیه، غلظت ۱٫۵ میلی مول از ماده افزودنی NAC به عنوان غلظت بهینه این ماده انتخاب شد که در این پروژه استفاده شد. یکی از دلایل مهم ایجاد آسیب ذخیره گلبول قرمز، تغییرات متابولیکی است که

سلول می باشد - می تواند سبب کاهش آسیب اکسیداتیو و در نتیجه سبب افزایش بقا و عملکرد سلول شود (۷). در مطالعه دیگری که توسط گیسون و همکارانش انجام شد، بیان داشتند که NAC می تواند سبب سرعت بخشیدن به دفاع آنتی اکسیدانی سلول شده و همچنین به علت داشتن گروه های تیولی، خود نیز دارای خواص آنتی اکسیدانی می باشد (۱۶). طبق مطالعه نور و همکاران، NAC می توانست به عنوان آنتی اکسیدان، سبب کاهش آسیب اکسیداتیو به غشا گلبول قرمز در بیماران مبتلا به آنمی داسی شکل شده و در نتیجه آن سبب کاهش لیز سلول و افزایش بقا آن شود (۱۷). آمن و همکارانش در مطالعه دیگری نشان دادند که استفاده از ماده افزودنی NAC می تواند سبب حفظ کیفیت و عملکرد گلبول قرمز گردد (۱۸). در نهایت می توان گفت استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدان مانند NAC شاید بتواند سبب کاهش آسیب اکسیداتیو و در نتیجه کاهش آسیب ذخیره گلبول قرمز در طول دوران نگهداری این فرآورده شود و ممکن است بتواند با حفظ کیفیت و افزایش بقا گلبول های قرمز سبب کاهش عوارض تزریق خون در بیماران گردد.

### نتیجه گیری

یکی از محدودیت هایی که در این مطالعه وجود داشت، شاید تعداد نمونه ها بود که به علت محدودیت های عدم دسترسی به نمونه های بیشتر، باید به این تعداد نمونه کفایت می شد. یکی دیگر از محدودیت ها نیز عدم استفاده از غلظت های بیشتر NAC بود و در این مطالعه سعی کردیم غلظت هایی از NAC که در مطالعات مشابه استفاده شده بود را بکار ببریم. شاید با استفاده از تعداد بیشتر نمونه و همچنین استفاده از غلظت های بالاتر از ماده NAC می توانستیم نتایج مطلوب تری بدست آوریم. بدین ترتیب با تاثیری که این ماده آنتی اکسیدان بر روند متابولیسم و همچنین آسیب اکسیداتیو گلبول قرمز در طول مدت نگهداری داشت، شاید در آینده بتوان از NAC در حفظ کیفیت گلبول های قرمز و جلوگیری از آسیب ذخیره گلبول قرمز استفاده کرد و فرآورده ای خونی با کیفیت بالاتر در اختیار مصرف کنندگان و نیازمندان به خون قرار داد که نیاز به مطالعات بیشتر در این زمینه است.

### قدردانی

این پروژه قسمتی از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی در پاییز ۱۳۹۵ است. از معاونت آموزشی و پژوهشی موسسه آموزش عالی طب انتقال خون، معاونت فنی سازمان انتقال خون و مدیریت آزمایشگاه های سازمان انتقال خون، معاونت آموزشی و پژوهشی مرکز علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی و همچنین از پرسنل محترم شاغل در آزمایشگاه های بیوشیمی، هماتولوژی و آزمایشگاه مرکز نوآوری

مطالعه با توجه به نتایج بدست آمده، افزایش آسیب اکسیداتیو در گلبول های قرمز در طول مدت نگهداری مشاهده می شد. در مطالعه برزگر و همکارانش بیان شد که با افزایش طول مدت نگهداری گلبول قرمز میزان تولید اکسیدان ها در این فرآورده افزایش یافته و این امر باعث افزایش استرس و آسیب اکسیداتیو در گلبول های قرمز می شود (۱۳). در سال ۲۰۱۴ نیز دیهیم و همکارانش در مطالعه دیگری نشان دادند که در طول مدت نگهداری گلبول قرمز فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاهش یافته که این کاهش در فعالیت آنزیم با طول زمان نگهداری گلبول قرمز نسبت مستقیم داشته و خود این موضوع می تواند عاملی در جهت وقوع آسیب اکسیداتیو در این فرآورده باشد (۱۴). در مطالعه سفورد و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان داده شد که با افزایش سطوح آنتی اکسیدان ها مانند افزایش سطح ویتامین C، می توان از تجمع رادیکال های آزاد جلوگیری کرد. نتیجه این تحقیقات، تاثیر افزایش ظرفیت آنتی اکسیدان در جلوگیری از تجمع رادیکال های آزاد را نشان داد (۱۵). طبق نتایج این مطالعه، سطح ظرفیت آنتی اکسیدان ها در هر دو گروه گلبول قرمز تیمار با NAC و گروه شاهد در طول مدت نگهداری کاهش یافته بود ولی در گلبول های قرمز دارای ماده افزودنی NAC این روند کاهشی کمتر مشاهده می شد، بخصوص در روز ۲۸ نگهداری گلبول قرمز که ظرفیت آنتی اکسیدانی در گروه تیمار با NAC در مقایسه با گروه شاهد بصورت معنی داری افزایش داشت ( $p=0.042$ ). همچنین، نتایج این تحقیق نشان می داد که پراکسیداسیون لیپیدها با توجه به شاخص MDA در گروه تیمار با NAC در مقایسه با گروه شاهد در طول مدت نگهداری گلبول قرمز افزایش کمتری داشت، هر چند که این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. با توجه به نتایج به نظر می رسد که NAC توانسته است از طریق القا گلو تاتیون در سلول تا حدی مانع از افزایش رادیکال های آزاد و همچنین پراکسیداسیون لیپیدها شده و با حفظ ظرفیت آنتی اکسیدانی سلول شاید بتواند تا حدی سبب کاهش آسیب های اکسیداتیو در گلبول های قرمز گردد. در مطالعه هندیکوند و همکارانش در ارتباط با تاثیر NAC بر روی پلاکت ها در طول مدت نگهداری، شاهد این بودند که NAC توانسته بود سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در پلاکت ها شده و این موجب تجمع کمتر فرآورده های اکسیداسیون (از جمله گلو تاتیون اکسید شده و پروستاگلاندین ها) شده بود و در نهایت این مطلب را بیان کردند که آنتی اکسیدان هایی مثل NAC می توانند کیفیت پلاکت ها را طی ذخیره سازی بهبود بخشند (۱۲). این نتایج تا حدی با نتایج مطالعه ما همخوانی داشت. لئونیسکا و همکاران در تحقیقی که در سال ۲۰۱۲ روی NAC انجام دادند، اظهار داشتند که گروه سولفور هیدریل ( $SH^-$ ) در ساختار NAC، می تواند واکنش گونه های اکسیژن فعال (ROS) را از بین ببرد و با افزایش سطح گلو تاتیون (GSH) - که یک آنتی اکسیدان اصلی در



سازمان انتقال خون که همکاری لازم را در این پروژه با ما داشتند صمیمانه تشکر می‌کنیم.

### منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف و یا انتشار این مقاله ندارد.

### مشارکت مؤلفان

ن.م در اجرا پروژه، م.ر.د در طراحی پروژه و تحلیل داده‌ها و آ.ح در مشاوره این پروژه نقش داشته است.

### ملاحظات اخلاقی

هرگونه تحقیقاتی که در راستای ارتقا و سلامت خون انجام می‌گردد، طی فرمی با کسب اجازه از اهدا کننده خون انجام می‌شود.

### منابع مالی

منابع مالی ندارد

## References

- Chen D, Serrano K, Devine DV. Introducing the red cell storage lesion. *ISBT Science Series*. 2016 Jan;11(S1):26-33. doi: 10.1111/voxs.12222
- Delobel J, Garraud O, Barelli S, Lefrère JJ, Prudent M, Lion N, et al. Storage lesion: History and perspectives. *World J Hematol*. 2015;4(4):54-68. doi: 10.5315/wjh.v4.i4.54
- Orlov D, Karkouti K. The pathophysiology and consequences of red blood cell storage. *Anaesthesia*. 2015 Jan;70 Suppl 1:29-37, e9-12. doi: 10.1111/anae.12891. PMID: 25440392.
- Küçükakin B, Kocak V, Lykkesfeldt J, Nielsen HJ, Magnussen K, Rosenberg J, et al. Storage-induced increase in biomarkers of oxidative stress and inflammation in red blood cell components. *Scand J Clin Lab Invest*. 2011 Jul;71(4):299-303. doi: 10.3109/00365513.2011.563789. Epub 2011 Mar 8. PMID: 21385017.
- Vani R, Soumya R, Manasa K, Carl H. Storage lesions in blood components. *Oxid Antioxid Med Sci*. 2015;4(3):125-32. doi: 10.5455/oams.130915 .rv.019
- Kucherenko YV, Bernhardt I. Natural antioxidants improve red blood cell "survival" in non-leukoreduced blood samples. *Cell Physiol Biochem*. 2015;35(5):2055-68. doi: 10.1159/000374012. Epub 2015 Mar 31. PMID: 25871329.
- Radomska Leœniewska D, Skopinski P. N-acetylcysteine as an anti-oxidant and anti-inflammatory drug and its some clinical applications. *Centr Eur J Immunol*. 2012;37:57-66.
- Ghezelbash B, Azarkeivan A, Pourfathollah AA, Deyhim M, Hajati E, Goodarzi A. Comparative Evaluation of Biochemical and Hematological Parameters of Pre-Storage Leukoreduction during RBC Storage. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*. 2018;12(1):35-42.
- Chaudhary R, Katharia R. Oxidative injury as contributory factor for red cells storage lesion during twenty eight days of storage. *Blood Transfus*. 2012 Jan;10(1):59-62. doi: 10.2450/2011.0107-10. Epub 2011 Oct 25. PMID: 22044961; PMCID: PMC3258990.
- Ibrahim Mustafa, Asma Al Marwani, Khuloud Mamdouh Nasr, Noora Abdulla Kano, Tameem Hadwan. "Time Dependent Assessment of Morphological Changes: Leukodepleted Packed Red Blood Cells Stored in SAGM", *BioMed Research International*. 2016;2016 Article ID 4529434, 7 pages, 2016. doi: 10.1155/2016/4529434
- Pallotta V, Gevi F, D'alessandro A, Zolla L. Storing red blood cells with vitamin C and N-acetylcysteine prevents oxidative stress-related lesions: a metabolomics overview. *Blood Transfus*. 2014 Jul;12(3):376-87. doi: 10.2450/2014.0266-13. Epub 2014 Jun 5. PMID: 25074788; PMCID: PMC4111820.
- Handigund M, Bae TW, Lee J, Cho YG. Evaluation of in vitro storage characteristics of cold stored platelet concentrates with N acetylcysteine (NAC). *Transfus Apher Sci*. 2016 Feb;54(1):127-38. doi: 10.1016/j.transci.2016.01.006. Epub 2016 Jan 13. PMID: 26847865.
- Barzegar S, Nadali F, Pourfathollah AA, Abbaspour AR, Farokhinia S, Shiravand Y. Oxidative stress changes in blood bags in consecutive weeks after donation. *Sci J Iran Blood Transfus Organ*. 2016;13(1):11-8. doi: 10.29252/jnkums.7.1.37
- Deyhim MR, Nabavi Z, Jalili MA, Maghsoudloo M, Khoshnaghsh F. Alternation in erythrocyte enzyme antioxidant activity during blood storage. *Iranian Journal of Blood and Cancer*. 2014 Jan 10;6(2):69-74.
- Sanford K, Fisher BJ, Fowler E, Fowler AA, Natarajan R. Attenuation of Red Blood Cell Storage Lesions with Vitamin C. *Antioxidants (Basel)*. 2017 Jul 12;6(3):55. doi: 10.3390/antiox6030055. PMID: 28704937; PMCID: PMC5618083.
- Gibson KR, Neilson IL, Barrett F, Winterburn TJ, Sharma S, MacRury SM, et al. Evaluation of the antioxidant properties of N-acetylcysteine in human platelets: prerequisite for bioconversion to glutathione for antioxidant and antiplatelet activity. *J Cardiovasc*

- Pharmacol. 2009 Oct;54(4):319-26. doi: 10.1097/FJC.0b013e3181b6e77b. PMID: 19668088.
17. Nur E, Brandjes DP, Teerlink T, Otten HM, Oude Elferink RP, Muskiet F, et al. CURAMA study group. N-acetylcysteine reduces oxidative stress in sickle cell patients. *Ann Hematol.* 2012 Jul;91(7):1097-105. doi: 10.1007/s00277-011-1404-z. Epub 2012 Feb 10. PMID: 22318468; PMCID: PMC3368118.
18. Amen F, Machin A, Touriño C, Rodríguez I, Denicola A, Thomson L. N-acetylcysteine improves the quality of red blood cells stored for transfusion. *Arch Biochem Biophys.* 2017 May 1;621:31-7. doi: 10.1016/j.abb.2017.02.012. Epub 2017 Apr 6. PMID: 28392212.