خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۷ شماره ۳ پاییز ۸۹ (۱۳۷-۱۲۷)

مقاله پژوهشی

اثر فاکتورهای رشد پلاکتی مشتق از ژل پلاکتی تهیه شده از پلاکت‌های تاریخ گذشته بر رده‌های مختلف سلولی

یحیی یحیوی[۱]، حسین تیموری نقده[۲]، مریم امانی[۱]، راحله حلبیان[۳]، مهدی عدالتی[۴]، مهشید محمدی‌پور[۵]، پژمان حامدی اصل[۱]، ناصر امیری‌زاده[۶]، مهریار حبیبی رودکنار[۷]

چکیده

سابقه و هدف

امروزه استفاده از فاکتورهای رشد به صورت ژل پلاکتی، در ترمیم هر چه سریع‌تر زخم‌ها، رو به افزایش می‌باشد. هدف از مطالعه بررسی امکان استفاده از پلاکت‌های کهنه به عنوان منبع اصلی برای تهیه ژل پلاکتی و هم چنین جایگزین مکمل‌هایی مثل FCS و FBS در محیط کشت بود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه تجربی پلاکت اهداکنندگان پس از خونگیری توسط سانتریفوژ جداسازی شد. به منظور اثبات این فرضیه که ژل پلاکتی و عوامل رشد حاصل از آن در پلاکت‌های تاریخ گذشته توانایی تکثیر سلول‌های مختلف را دارا هستند، از پلاسمای تازه غنی از پلاکت و پلاکت‌های تاریخ گذشته با روش‌های مختلف، عوامل رشد پلاکتی تهیه و میزان فاکتورهای رشد و رشد سلول‌ها در محیط کشت توسط روش الایزا و MTT اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که پلاکت‌های کهنه با کیفیتی مشابه با پلاکت‌های تازه می‌توانند در تهیه ژل پلاکتی مورد استفاده قرار گیرند، هم چنین میزان فاکتورهای رشد آزاد شده از پلاکت‌های تازه و کهنه در روش تهیه ژل پلاکتی از تمام روش‌های مورد استفاده در تحقیق بیشتر و اثر پرولیفراتیو عوامل رشد حاصل از آن‌ها نیز روی کشت سلولی یکسان می‌باشد.

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد میزان غلظت فاکتورهای رشد آزاد شده از پلاکت‌های کهنه با مقادیر حاصل از پلاکت‌های تازه یکسان و اثرات فاکتورهای رشد حاصل از هر دو گروه بر میزان رشد سلولی به یک اندازه است. این امر نویدبخش استفاده از پلاکت‌های کهنه در راستای کاربردهای نوین می‌باشد.

کلمات کلیدی: پلاسمای غنی از پلاکت، عوامل رشد مشتق از پلاکت ، رده سلولی

تاریخ دریافت : ۸۸/۱۱/۱۲
تاریخ پذیرش : ۸۹/ ۴/۲۸

۱ـ کارشناس ارشد خون‌شناسی ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۲ـ متخصص آسیب‌شناسی ـ استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۳- کارشناس ارشد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۴ـ کارشناس ارشد خون‌شناسی ـ مربی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
۵ـ کارشناس ارشد ژنتیک ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۶ـ PhD خون‌شناسی و بانک خون ـ استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۷ـ مؤلف مسؤول: PhD بیوتکنولوژی ـ استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران ـ صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

مقدمه

خون و فرآورده‌های آن، در حمایت و مراقبت از بیماران نیازمند از اهمیت بالایی برخوردار هستند. اما محدودیت‌های موجود در تولید، تاریخ مصرف، خطر بیماری‌های منتقله از راه انتقال خون و هزینه‌های زیاد، نیاز به نظارت و مدیریت مناسب در استفاده از این محصولات را الزامی می‌کند.

یکی از این فرآورده‌های مهم، پلاکت‌ها می‌باشند که به دلیل محدودیت‌های موجود در تولید، نگهداری و تاریخ مصرف از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند و ممکن است به دلیل کوتاه بودن تاریخ مصرف آن‌ها که حدود ۵ روز است، بدون استفاده از چرخه مصرف خارج شوند و از بین بروند(۱). امروزه استفاده از فاکتورهای رشد موجود در پلاکت(PDGF: AA, BB, AB)، (TGF:β_1,β_2)، (FGF–b)، (EGF) و (VEGF) در ترمیم هر چه سریع‌تر زخم‌ها مخصوصاً زخم‌های مزمن ایجاد شده در افراد دیابتیک که نیاز به ترمیم سریع‌تر زخم‌ها برای جلوگیری از ایجاد عفونت دارند و هم‌چنین برش‌های ایجاد شده از جراحی‌ها و یا شکستگی‌های استخوانی، به صورت ژل پلاکتی که از پلاسمای تازه غنی از پلاکت تهیه می‌شود، رو به افزایش است(۵-۲). هم‌چنین این عوامل در رشد و تکثیر سلول‌های مزانشیمی، استئوبلاستی و فیبروبلاستی نقش مؤثری دارند(۹-۶). بنابراین اگر بتوان این قضیه را در مورد پلاکت‌های تاریخ گذشته نیز به اثبات رساند، در آن صورت می‌توان از پلاکت‌های تاریخ گذشته در تهیه ژل پلاکتی به منظور ترمیم زخم‌ها و شکستگی‌ها و از فاکتورهای رشد جهت جایگزین کردن در محیط‌های کشت سلولی به جای مکمل‌هایی مثل FCS و FBS که هزینه زیادی دارند، استفاده کرد(۱۴-۱۰، ۲).

مدت زمانی که از پلاکت‌ها در بالین بیمار به عنوان تصحیح‌کننده تعداد یا عمل پلاکتی در ترومبوسیتوپنی استفاده می‌شود، دارای محدودیت حدود ۵ روز است. پلاکت‌های تاریخ گذشته استفاده بالینی ندارند. اگر چه نیمه عمرهموستاتیک پلاکت‌ها کوتاه است ولی به نظر می‌رسد که عوامل رشد خود را مدت زمان طولانی حفظ می‌کنند(۱).

مهم‌ترین هدف این مطالعه استفاده از پلاکت‌های تاریخ گذشته در تهیه ژل پلاکتی و بررسی تاثیر فاکتورهای رشد آزاد شده از آن‌ها بر روی رشد و تکثیر رده‌های مختلف سلولی بود. در این تحقیق از سه رده سلولی فیبروبلاست (سلول اصلی در بهبود زخم)، سلول CHO (China Hamester Ovary) به عنوان سلول یوکاریوت جهت بیان پروتئین‌های نوترکیب و سلول بنیادی مزانشیمال(به علت کاربرد متعدد از جمله پیوند و سلول درمانی)، استفاده شد(۲۰-۱۵). هم چنین یکی از اهداف مطالعه اخیر، کاربرد فاکتورهای مشتق از لیز پلاکت‌های کهنه به عنوان فاکتورهای جایگزین FCS و FBS می‌باشد. توجیه اقتصادی و فقدان خطر ناشی از برخی بیماری‌ها از جمله جنون گاوی، از مزیت‌های جایگزینی FBS و FCS با فرآورده‌های پلاکتی برای رشد و تکثیر سلول‌ها است. تکثیر رده‌های مختلف سلولی تحت تاثیر عوامل رشد آزاد شده از پلاکت‌های تاریخ گذشته، بررسی میزان تاثیر گذاری عوامل رشد پلاکتی روی انواع رده‌های سلولی و استفاده از پلاکت‌های تاریخ گذشته در تهیه ژل پلاکتی، از اهداف دیگر این تحقیق به شمار می‌رود.

مواد و روش ها

مطالعه انجام شده از نوع تجربی بود و نمونه‌ها به صورت تصادفی انتخاب شدند. به منظور تحلیل داده‌ها، از آزمون آماری ANOVA استفاده شد. مقادیر $p \leq ۰/۰۵$ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

تهیه عوامل رشد پلاکتی:

به منظور انجام آزمایش‌ها ابتدا با استفاده از روش زیر پلاسمای غنی از پلاکت و ترومبین تهیه شد.

تهیه پلاسمای غنی از پلاکت(PRP):

۲۰ میلی‌لیتر نمونه خون سیتراته از ۱۵ اهداکننده سالم (عدم داشتن بیماری‌های خونی و پلاکتی، عفونت ویرال و عدم مصرف داروهای ضد التهابی) تهیه شد. نمونه‌ها با دور g ×۳۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ(اپندورف،

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

آلمان) شدند و محلول رویی که حاوی پلاسمای غنی از پلاکت بود، جدا و به لوله فالکون ۱۵ ml(Nunc ، دانمارک) منتقل گردید. محلول مجدداً با دور g × ۱۸۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. به منظور تغلیظ پلاکت‌ها، نیمی از پلاسمای رویی خالی شد. رسوب پلاکتی تشکیل شده در پلاسمای باقیمانده شناور و بدین ترتیب پلاسمای غنی از پلاکت تهیه گردید.

نیمی از پلاسمای غنی از پلاکت تهیه شده به منظور تهیه پلاکت‌های تاریخ گذشته و کهنه در انکوباتور شیکردار(اُپتیما، ژاپن) در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹ روز نگهداری شد. عدم وجود آلودگی باکتریایی پلاسما با کشت میکروبی در محیط بلاد آگار و EMB (ائوزین متیل بلو = محیط کشت اختصاصی جهت تشخیص باکتری‌های گرم منفی) بررسی گردید. نیم دیگری از پلاسماهای تهیه شده(پلاکت های تازه) در همان روز مورد استفاده قرار گرفتند. برای تهیه فاکتورهای رشد پلاکتی از پلاکت‌های کهنه و تازه، از سه روش انتخابی استفاده شد.

تهیه ترومبین از پلاسمای انسانی:

۱۰ میلی‌لیتر نمونه خون سیتراته تهیه شد. به منظور جداسازی پلاسما، نمونه با دور g × ۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. مایع رویی حاوی پلاسما بود. برای تهیه ترومبین، کلسیم گلوکونات۱۰٪(مینو ،ایران) و پلاسمای عاری از پلاکت جدا شده به نسبت ۱ به ۵ با یکدیگر مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. پس از تشکیل لخته، نمونه با دور g ×۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ(اپندورف، آلمان) شد.

محلول رویی که حاوی ترومبین بود در لوله جداگانه جمع‌آوری شد. ترومبین تهیه شده با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ میکرون (Orange scientific، کانادا) استریل شد. نمونه تهیه شده بعد از فیلتراسیون تا زمان مصرف در دمای ۸۰ºC– (Dairei ، آمریکا) نگهداری شد. ترومبین تهیه شده در این مرحله در روش ۱ و ۲ آزمایش (ژل پلاکتی) مورد استفاده قرار گرفت(۲۱).

روش‌های تهیه فاکتورهای رشد پلاکتی

ژل پلاکتی (روش ۱ و ۲):

مطابق با روش‌های ذکر شده در مرحله تهیه عوامل رشد پلاکتی، پلاسمای غنی از پلاکت و ترومبین تهیه شد. به منظور تهیه ژل پلاکتی، برای هر نمونه در ۲ لوله فالکون ۱۵ ml (Nunc ، دانمارک)(یک لوله پلاکت تازه و یک لوله پلاکت کهنه)، ۳ میلی‌لیتر پلاسمای غنی از پلاکت با ۱ میلی‌لیتر ترومبین و ۱/۵ میلی‌لیتر کلسیم گلوکونات (مینو، ایران) مخلوط و نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت (روش ۱) و ۶ ساعت(روش۲) در دمای ۳۷ ºC انکوبه گردیدند. سپس، نمونه‌ها با دور g × ۱۸۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ(اپندورف، آلمان) شدند و محلول رویی(عوامل رشد آزاد شده از پلاکت) جدا و به لوله‌های جدید منتقل گردید. عوامل رشد پلاکتی حاصل از تمام نمونه‌ها از پلاکت‌های تازه با هم و پلاکت‌های کهنه نیز با هم مخلوط و نمونه‌های تهیه شده تا زمان مصرف در دمای ۸۰ ºC– (Dairei، آمریکا) نگهداری شدند(۲۲، ۵).

انجماد ـ ذوب(روش ۳):

در این روش۳ میلی‌لیتراز پلاسمای غنی از پلاکت، هر نمونه در یک لوله فالکون ۱۵ ml(Nunc، دانمارک) (در یک لوله پلاکت‌های تازه و در لوله دیگر پلاکت‌های کهنه) به مدت ۱ ساعت در فریزر ۸۰ ºC– منجمد شد. سپس پلاکت‌ها در دمای اتاق ذوب شدند(بدین ترتیب غشای پلاکت‌ها لیز شده و محتویات گرانول‌های آن‌ها بیرون می‌ریزد). نمونه‌ها با دور g ×۱۸۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ(اپندورف، آلمان) شدند. محلول رویی از رسوب اجساد سلولی جدا گردید. محلول رویی تمام نمونه‌ها به صورت فاکتورهای رشد حاصل از پلاکت‌های تازه و کهنه با هم مخلوط شدند. نمونه‌های تهیه شده با استفاده از فیلترهای ۰/۲۲ میکرون(Orange scientific، کانادا) فیلتر شدند. نمونه‌های فیلتر شده به میکروتیوپ‌های استریل (اپندورف، آلمان) منتقل شدند. نمونه‌های تهیه شده تا زمان مصرف در دمای ۸۰ºC– نگهداری شدند.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

لیز پلاکت‌ها توسط محلول هیپوتونیک Triton X- ۱۰۰ (۰/۵٪)(روش ۴):

۵۰۰ میکرولیتر از محلول تریتون X- ۱۰۰ (سیگما، آمریکا) در ۱۰ میلی‌لیترآب مقطر استریل حل گردید. محلول حاصل به نسبت ۱ به ۹ با پلاسمای غنی از پلاکت مخلوط و نمونه‌ها یک ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. محلول هیپوتونیک تریتون X-۱۰۰ باعث لیز غشای پلاکت‌ها شده و محتویات گرانول‌ها آزاد خواهد شد. سپس نمونه‌ها با دور g × ۱۸۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. محلول رویی تمام نمونه‌ها به صورت فاکتورهای رشد حاصل از پلاکت‌های تازه و کهنه با هم مخلوط، به میکروتیوپ‌های استریل(اپندورف، آلمان) منتقل و تا زمان مصرف در دمای ۸۰- ºC نگهداری شدند.

کشت سلولی:

ذخیره رده‌های سلولی فیبروبلاست و CHO از بانک سلولی انستیتوپاستور ایران تهیه شد. پس از دفریز شدن، به هر ویال حاوی سلول‌های ذخیره، ۱ میلی‌لیتر محیط RPMI(سیگما، آمریکا) حاوی ۱۰٪ FBS و ۱٪ آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین (۲۰۰ mg/ml سیگما، آمریکا) و پنی‌سیلین(۲۰۰۰۰۰ U/ml سیناژن، ایران) افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه در دور g ×۱۷۰۰ سانتریفوژ شدند. سپس محیط رویی خارج و رسوب سلولی در ۱ میلی‌لیتر محیط کشت فوق حل گردید. در نهایت سلول‌ها در فلاسک ۲۵ cm^3 حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط RPMI (سیگما، آمریکا) شامل ۱۰٪ FBS و ۱٪ آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین(۲۰۰ mg/ml سیگما، آمریکا) و پنی‌سیلین(۲۰۰۰۰۰ U/ml سیناژن، ایران) کشت داده شدند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی از ۱۰ میلی‌لیتر نمونه مغز استخوان با کسب رضایت از اهداکنندگان سالم تهیه گردید. سلول‌های تک هسته‌ای با استفاده از گرادیانت غلظت جدا و در فلاسک ۲۵ cm^3حاوی محیط DMEM Low Glucose (سیگما، آمریکا) شامل ۱۰٪ FBS (اینویتروژن، آمریکا) و ۱٪ آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین(۲۰۰ mg/ml سیگما، آمریکا) و پنی‌سیلین(۲۰۰۰۰۰ U/ml سیناژن، ایران) کشت داده شد. سلول‌های غیر چسبنده و سلول‌هایی که قادر به رشد در این محیط اختصاصی نبودند، با تعویض محیط حذف شدند. به مدت ۱۴ روز، هر ۴ روز یک بار محیط کشت سلول‌ها تعویض شد. بعد از گذشت این مدت، سلول‌های بنیادی مزانشیمال، ۸۰ درصد فلاسک را پوشاندند(۲۴، ۲۳).

تیمار سلول‌ها با عوامل رشد پلاکتی:

ابتدا ۷۰۰ سلول درون چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای (سل استار، آلمان) کشت داده شد. سپس سه رده سلولی در حضور محیط‌های کشت فاقد سرم(کنترل منفی)، حاوی۱۰٪ سرم FBS یا FCS (کنترل مثبت) و ۱۰٪ فاکتورهای رشد پلاکتی(نمونه‌های آزمایش) آماده شده با چهار روش ذکر شده در روش‌های تهیه ژل پلاکتی، تیمار شدند. به مدت ۷ روز، یک روز در میان محیط کشت تعویض گردید. تمام آزمایش‌ها برای هر یک از رده‌های سلولی به صورت سه تایی(تریپلیکیت) در چاهک‌های پلیت انجام و هر آزمایش دو بار تکرار شد.

اندازه‌گیری عوامل رشد آزاد شده از پلاکت‌ها:

میزان عوامل رشد TGF-β ، FGF ، EGF و PDGF-AB آزاد شده از پلاکت‌ها در زمان‌های مختلف با استفاده از روش الایزا و مطابق با دستورالعمل کیت(R&D system ، آمریکا) اندازه‌گیری شد(۲۶، ۲۵).

بررسی میزان تکثیر سلول‌ها در حضور عوامل رشد آزاد شده از پلاکت‌ها:

میزان تکثیر سلول‌ها با استفاده از روش MTT-assay و توسط دستگاه الایزا ریدر(Labsystem Multiskan) در جذب نوری ۵۷۰ نانومتر(الایزا ریدر Labsystem Multiskan) مورد ارزیابی قرار گرفت. برا ی انجام MTT ، محیط چاهک‌ها به طور کامل خالی و به هر چاهک ۱۸۰ میکرولیتر محیط کشت و ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT ۵ mg/ml (۳-۴،۵ دی متیل تیازول دی فنیل تترازولیوم بروماید) (سیگما، آلمان) افزوده شد. پلیت به مدت ۴

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

ساعت در انکوباتور ºC ۸۰- (بیندر، آلمان) قرار داده شد. محیط از چاهک‌ها خارج شده و ۲۰۰ میکرولیتر DMSO (مرک، آلمان) به هر چاهک افزوده شد. به هر چاهک ۲۵ میکرولیتر بافر سورنسن گلایسین نیز اضافه شد.

یافته ها

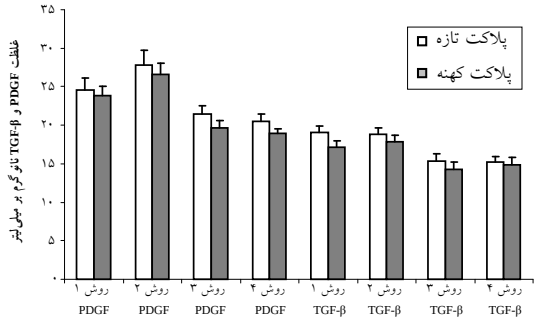
اندازه‌گیری مقدار فاکتورهای رشد پلاکتی:

با استفاده از کیت‌های الایزای R&D system ، میزان فاکتورهای رشد آزاد شده از پلاکت‌ها سنجیده و جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰-۵۴۰ نانومتر در دستگاه الایزا ریدر قرائت شد.

اندازه‌گیری میزان فاکتور PDGF-AB و TGF-β:

میزان عوامل رشد Human TGF-β (R&D system) و Human/mouse PDGF-AB حاصل از نمونه‌های پلاکتی تهیه شده با روش‌های ۱-۴ ، با استفاده از روش الایزا اندازه‌گیری شد. داده‌های به دست آمده به صورت میانگین ارایه شدند. میزان حضور این دو عامل رشد در پلاسما و سوپرناتانت پلاکتی بالا بوده و در حدود نانوگرم در هر میلی‌لیتر می‌باشد.

در نمودار ۱، چهار ستون دوتایی سمت چپ مربوط به PDGF-AB و چهار ستون دوتایی سمت راست مربوط به فاکتور TGF-β است. تفاوت معنی‌داری بین ستون‌های تیره و روشن در هر روش وجود ندارد که این یافته نشان‌دهنده نزدیک بودن مقدار فاکتورهای رشد آزاد شده از پلاکت‌های تازه و کهنه می‌باشد. در بین ۴ روش استفاده شده، تفاوت معنی‌داری بین نمودارهای روش دوم با سه روش دیگر دیده می‌شود که بیان‌کننده میزان زیاد آزادسازی فاکتورهای رشد در روش دوم(شش ساعت پس از انکوباسیون ژل پلاکتی) می‌باشد. بالاترین میزان PDGF-AB مربوط به روش دوم تهیه ژل پلاکتی است که میزان آن ۲/۹ ± ۲۷/۸ نانوگرم در میلی‌لیتر می‌باشد و از نظر آماری به طور معنی‌داری نسبت به روش‌های دیگر بیشتر است (p< ۰/۰۵). در رابطه با فاکتور رشد TGF-β ، بیشترین غلظت فاکتور رشد آزاد شده ۱/۹۸ ± ۱۸/۸ نانوگرم در میلی‌لیتر (روش دوم) می‌باشد که از نظر آماری به طور معنی‌داری نسبت به روش‌های دیگر بیشتر است(p <۰/۰۵).



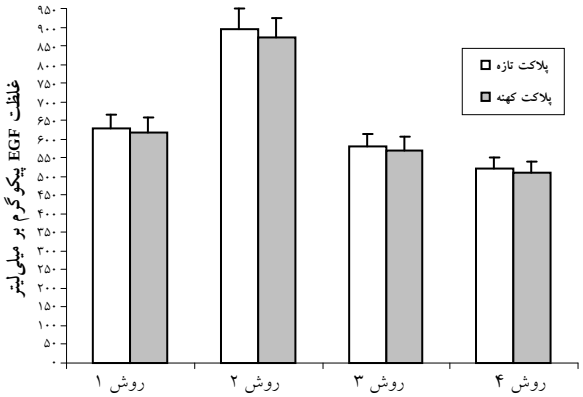
نمودار ۱: میزان غلظت فاکتورهای PDGF-AB و TGF-β آزاد شده از پلاکت‌های تهیه شده با روش‌های مختلف تهیه عصاره پلاکتی. چهار ستون دوتایی سمت چپ مربوط به میزان آزادسازی فاکتور PDGF و چهار ستون دوتایی سمت راست نشان‌دهنده میزان آزادسازی فاکتور TGF-β در چهار روش مختلف تهیه عوامل رشد پلاکتی است. اختلاف معنی‌داری بین غلظت فاکتورهای PDGF-AB و TGF-β آزاد شده از پلاکت‌های تازه و کهنه وجود ندارد. در روش دوم، بیشترین میزان آزادسازی فاکتورهای PDGF-AB و TGF-β مشاهده می‌شود(p <۰/۰۵).

اندازه‌گیری میزان فاکتور EGF و b-FGF:

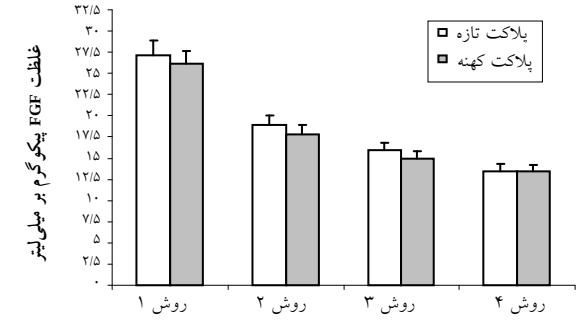
بااستفاده از کیت(Human EGF (R&D system و b-FGF ، سطح این فاکتورها در تمامی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد(نمودارهای ۲ و ۳). بر خلاف میزان بالای فاکتور PDGF-AB و TGF، میزان این فاکتورها پایین و در حدود پیکوگرم در میلی‌لیتر است. بعد از دگرانولاسیون پلاکت‌ها و آزاد شدن فاکتورهای رشد موجود در گرانول‌های آلفا، میزان فاکتور EGF افزایش یافت. در طول دوره انکوباسیون تا ۶ ساعت میزان این فاکتور به تدریج افزایش می‌یابد، به طوری‌که بیشترین میزان این فاکتور در روش دوم(۶ ساعت انکوباسیون ژل پلاکتی) به میزان ۶/۱ ± ۸۹۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر رسید. اختلاف معنی‌داری بین ستون‌های تیره و روشن در هر روش از تهیه فاکتورهای رشد پلاکتی مشاهده نشد که نشان‌دهنده نزدیکی مقدار آزادسازی فاکتورهای رشد پلاکتی از پلاکت‌های تازه و کهنه بود ولی اختلاف معنی‌دار در نمودار روش دوم با سه

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

روش دیگر مشاهده شد که بیان کننده میزان زیاد آزادسازی فاکتورهای رشد پلاکتی در این روش بود. در مجموع میزان EGF در این روش، نسبت به روش‌های دیگر به طور معنی‌داری بیشتر بود(p< ۰/۰۵).



نمودار ۲: غلظت فاکتور EGF آزاد شده از پلاکت‌های تهیه شده با روش‌های مختلف تهیه عصاره پلاکتی. اختلاف معنی‌داری بین فاکتور EGF آزاد شده از پلاکت‌های تازه و کهنه وجود ندارد، اختلاف معنی‌دار بین روش‌های آزادسازی فاکتورهای رشد وجود دارد که در روش دوم بیشترین غلظت فاکتورEGF مشاهده می‌شود(p<۰ /۰۵).



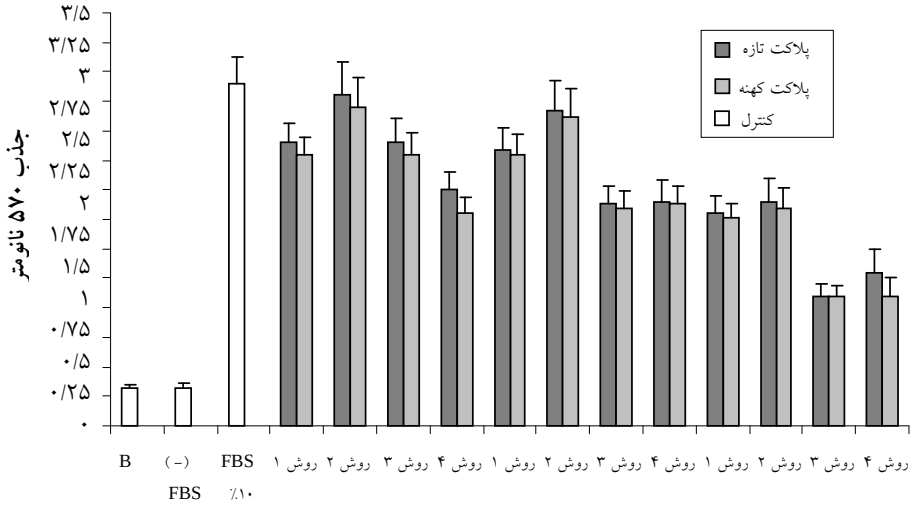
نمودار ۳ : میزان فاکتور b-FGF در روش‌های مختلف تهیه عوامل رشد پلاکتی. نمودار نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین میزان فاکتور آزاد شده از پلاکت‌های تازه و کهنه وجود ندارد. اختلاف معنی‌دار بین روش‌های تهیه عوامل رشد پلاکتی دیده می‌شود که در روش اول بیشترین مقدار فاکتور b-FGF در محیط آزاد شده است. این بدان علت می‌باشد که نیمه عمر این فاکتور کم بوده و به مرور گذشت زمان از مقدار آن کم می‌شود(p< ۰/۰۵).

در رابطه با b-FGF ، میزان این فاکتور نیز مانند فاکتور EGF پایین و در حد ۲/۲ ± ۲۷/۲ پیکوگرم در میلی‌لیتر است(نمودار ۳). میزان b-FGF در روش دوم(۶ ساعت پس ازانکوباسیون ژل پلاکتی) به میزان زیادی کاهش می‌یابد. علت این امر پایین بودن نیمه عمر این فاکتور می‌باشد(۲). تفاوت میزان فاکتور در این روش نسبت به روش اول از لحاظ آماری معنی‌دار بود(p< ۰/۰۵).

بررسی میزان تکثیر سلول‌ها در حضور فاکتورهای رشد پلاکتی :

با استفاده از روش MTT ، تغییرات رشد سلول‌ها در محیط کشت DMEM و RPMI حاوی ۱۰٪ از فاکتورهای رشد رها شده از پلاکت‌ها در روش‌های مختلف تهیه عوامل رشد پلاکتی، در مقابل کنترل مثبت(FBS ۱۰٪) و کنترل منفی(محیط کشت فاقد ماده مغذی) پس از ۷ روز تعیین شد. بررسی میزان تکثیر سلول‌ها نشان‌دهنده افزایش تکثیر سلول ها در حضور تمامی فاکتورهای رشد بود. بیشترین میزان رشد سلول‌ها در محیط حاوی فاکتورهای آزاد شده از پلاکت در طی ۶ ساعت انکوباسیون مشاهده شد. میزان رشد سلول‌ها در این روش به طور معنی‌داری بیشتر از روش‌های دیگر و نزدیک به نمونه کنترل مثبت است. در تمام رده‌های سلولی، اختلاف معنی‌داری بین پلاکت‌های کهنه و تازه به لحاظ رشد سلولی دیده نشد. در رده سلولی فیبروبلاست، اختلاف معنی‌داری در روش ۱ و ۴ در مقایسه با FBS دیده شد، میزان جذب نوری همه سلول‌ها در حضور FBS در حدود ۱/۱۵ ± ۲/۹ بود. میزان جذب نوری خوانده شده در حضور پلاکت‌های تهیه شده از روش ۱ و ۴ به ترتیب ۱/۱۱ ± ۲/۳ و ۱/۰۷± ۲ می‌باشد که در مقایسه با FBS ، رشد کاهش یافته است(p< ۰/۰۵). در رده سلولی CHO ، اختلاف معنی‌داری در روش‌های ۱ ، ۳ و ۴ پلاکت‌های کهنه و تازه در مقایسه با FBS ملاحظه شد. میزان جذب نوری خوانده شده در حضور پلاکت‌های تهیه شده از روش ۱ ، ۳ و ۴ به ترتیب ۰/۹۴ ± ۲/۳ ، ۰/۸۹ ± ۱/۸۹ و ۰/۸۰ ± ۱/۹ بود(p< ۰/۰۵). در مورد سلول بنیادی مزانشیمال، اختلاف معنی‌داری در روش ۳ و ۴ در مقایسه با FBS مشاهده شد(p< ۰/۰۵). هم چنین به محیط کشت سلول‌ها ری‌لاست جوشیده شده(۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]



نمودار ۴ : میزان رشد سلول‌های فیبروبلاست، سلول بنیادی مزانشیمی و رده سلولی CHO. سه ستون سفید سمت چپ به ترتیب B= فاکتور رشد جوشیده. (-) FBS = محیط کشت فاقد FBS و ۱۰٪ FBS = محیط کشت حاوی FBS ۱۰٪ است. میزان رشد سلولی در اثر فاکتور رشد جوشیده و محیط کشت فاقد FBS به یک میزان بوده و نزدیک به صفر است. چهار ستون دوتایی اول مربوط به رده سلولی فیبروبلاست، چهار ستون دوتایی وسط مربوط به رده سلولی CHO ، چهار ستون دوتایی سمت راست مربوط به رده سلولی بنیادی مزانشیمی است. در تمامی رده‌های سلولی، اختلاف معنی‌داری بین میزان رشد سلول‌ها در حضور فاکتورهای رشد آزاد شده از پلاکت‌های کهنه و تازه دیده نشد. در مورد میزان رشد رده سلولی فیبروبلاست، میزان رشد در حضور FBS ۱۰٪ بیشتر از روش اول و چهارم تهیه پلاکت بود در حالی که میزان رشد در روش دوم خیلی نزدیک به میزان رشد در اثر FBS ۱۰٪ می‌باشد. در رده سلولی CHO ، اختلاف معنی‌دار در روش اول و سوم و چهارم. میزان رشد سلول‌ها در مقایسه با میزان رشد در اثر FBS ۱۰٪ کمتر بود در حالی که میزان رشد در روش دوم خیلی نزدیک به میزان رشد در اثر FBS ۱۰٪ بود. سلول‌های بنیادی مزانشیمال(چهار ستون دوتایی سمت راست) میزان رشد در اثر FBS ۱۰٪ بیشتر از روش سوم و چهارم بود، در حالی که میزان رشد در روش اول و دوم بسیار نزدیک به میزان رشد در اثر FBS ۱۰٪ می‌باشد(p< ۰/۰۵).

سانتی‌گراد) اضافه گردید که رشدی برابر با کنترل منفی دیده شد. سلول‌های کشت داده شده در حضور فاکتورهای رشد پلاکتی از نظر مورفولوژی تغییری نشان ندادند. لازم به ذکر است که میزان رشد سلول‌ها بر اساس جذب نوری(OD) بیان گردید. هر قدر تعداد سلول‌های موجود در چاهک‌های مورد آزمایش بیشتر باشد، میزان جذب بیشتر می‌گردد(نمودار ۴).

بحث

به منظور جلوگیری از هدر رفتن پلاکت‌های تاریخ گذشته و استفاده بهینه از آن‌ها، این مطالعه انجام شد. در این تحقیق فرض بر این بود که به دلیل سرشار بودن پلاکت‌های تاریخ گذشته از فاکتورهای رشد، هم چون پلاکت‌های تازه می‌توانند کاربردهای دیگری داشته باشند.

اولین نکته قابل توجه، استفاده از روشی بود که بتواند منجر به آزاد شدن حداکثر ذخایر فاکتورهای رشد مشتق از پلاکت‌ها شود. در این تحقیق برای این منظور، چهار روشی که در اکثر مقاله‌های مشابه از آن‌ها در تهیه فاکتورهای رشد پلاکتی استفاده شده بود، به کار گرفته شد (۲۷، ۲۶). روش‌های یک و دو استفاده از ترومبین انسانی و گلوکونات کلسیم با انکوباسیون در زمان‌های یک و شش ساعته در ۳۷ ºC با رطوبت ۹۵٪ و CO_2 ۵٪ بود. هدف از این روش این بود که بتوان پلاکت‌ها را با آگونیست‌های قوی مانند ترومبین در حضور کلسیم فعال کرد تا بدین طریق محتویات گرانول‌های پلاکتی به بیرون تراوش کند. روش سه مبتنی بر یک بار انجماد و ذوب پلاسمای غنی از پلاکت به ترتیب در دمای ۷۰- ºC و ۳۷ ºC بود. هدف از روش فوق این بود که بتوان بدین طریق غشای پلاکت‌ها را از بین برده و محتویات گرانول‌ها به بیرون بریزد.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

روش چهارم مبتنی بـر تخریـب غشـای پلاکـت‌هـا در محلول هیپوتونیک ۰/۵ درصد تریتون X-۱۰۰ بود. در این روش نیز همانند روش سوم هدف تحت تـاثیر قـرار دادن غشای پلاکت‌ها به منظور آزادسازی فاکتورهای رشد آن‌ها بود.

در اندازه‌گیـری مقـدار فاکتورهـای رشـد آزاد شـده از پلاکت‌ها به روش الایزا، روش دوم مؤثرترین و بهینه‌ترین روش شناخته شد. دلیل احتمالی ایـن یافتـه آن اسـت کـه پلاکت‌ها زمان بیشـتری بـرای واکـنش بـین گیرنـده‌هـای غشای پلاکت و آگونیست‌هایی مثل ترومبین داشته‌اند ولی با گذشت زمـان طـولانی، از میـزان فاکتورهـای رشـد بـه آهستگی کاسته می‌شود(۲۸). مشابه مطالعه اخیر، مـارتینیو و همکـاران در سـال ۲۰۰۴ بـا اسـتفاده از روش تهیـه ژل پلاکتـی بـا دوره انکوباسـیون شـش سـاعته(روش دوم) بیشترین میزان فاکتورهای رشد مشتق از پلاکـت‌هـا را بـه دست آوردند.

لازم به ذکر است فاکتور رشد b-FGF ، میـزان کمتـری در روش دوم داشت. دلیل این امـر، نیمـه عمـر پـایین آن می‌باشد به طوری که در روش ۱ ، میـزان آن بیشـتر بـوده است. مشابه این یافته، در تحقیقـات مـارتینیو و همکـاران نیز گزارش شده است(۲۸).

در این تحقیق، اثـر رشـد فاکتورهـای رشـد مشـتق از پلاکت‌های تازه و کهنه بـر روی سـه رده سـلولی مطالعـه شـد. ایـن سـلول‌هـا عبـارت بودنـد از: رده سـلولی فیبروبلاست، CHO و سلول بنیادی مزانشیمال.

یکی از مهم‌ترین کاربردهای پلاکت‌ها، تهیه ژل پلاکتی است و ژل پلاکتی هم کاربرد عمده‌ای در ترمیم زخـم‌هـا دارد و در این فرآینـد، فیبروبلاسـت نقـش عمـده‌ای ایفـا می‌کند. به همین دلیل، از رده سلولی فیبروبلاست اسـتفاده شـد. لیـو و همکـاران در سـال ۲۰۰۲ ، جوهانسـون و همکـاران در سـال ۲۰۰۳ ، مـارکس و همکـاران در سـال ۱۹۹۸، دوسـت و همکـاران در سـال ۲۰۰۵ و اسـلاتر و همکاران در سال ۲۰۰۶ در مطالعه‌های خود از رده سلولی فیبروبلاست استفاده کردنـد(۳۰، ۲۹، ۱۴، ۱۱، ۲). قابلیـت تبدیل سلول‌های MSC به سلول‌های استئوبلاست کـه بـه نوبه خود نقش عمـده‌ای در تـرمیم شکسـتگی‌هـا دارنـد، (یکی از موارد کاربرد ژل پلاکتی) دلیل اسـتفاده از MSCs در این تحقیق بود. مـارکس و همکـاران در سـال ۱۹۹۸ ، کانالیس و همکاران در سال ۱۹۸۹ ، کیلیان و همکاران در سال ۲۰۰۴ ، لیبرمن و همکاران در سال ۲۰۰۲ ، پیتنگـر و همکـاران در سـال ۱۹۹۹ و جیانـگ و همکـاران در سـال ۲۰۰۲ در مطالعـه‌هـای خـود از رده سـلولی مزانشـیمال استفاده کرده بودند(۳۲، ۳۱، ۹، ۸، ۴، ۲).

چون رده سلولی CHO بـه عنـوان میزبـان یوکـاریوتی برای بیان پروتئین‌های نوترکیب، در حجـم زیـاد اسـتفاده می‌شود، در این راستا نیاز به استفاده از یک جـایگزین بـه جای سرم‌های حیوانی در محیط کشت بـه دلیـل خطـرات احتمالی بیماری vCJD و آلودگی باکتریال، میکوپلاسـما و وجود اندوتوکسین، بیماری‌های دیگر و انتقال ایـن مـوارد به همراه پروتئین‌های نوترکیب به بدن بیماران و هم چنین ارزیابی اثر فاکتورهای رشد پلاکتی روی طیف وسـیعی از سلول‌ها، دلیل استفاده از رده سلولی CHO در این مطالعـه بود. این اولین گـزارش تـاثیر فاکتورهـای رشـد مشـتق از پلاکت‌ها روی رده سـلولی CHO بـود. جایاپـال در سـال ۲۰۰۷ ، گانـدور و همکـاران در سـال۱۹۹۵ و همیلتـون و همکاران در سال ۱۹۷۷ در مطالعه‌های خود از فاکتورهای رشد نوترکیب روی رده سلولی CHO استفاده کردنـد(۲۰، ۱۷، ۱۶).

جوهانسـون و همکـاران در سـال ۲۰۰۳ بـه بررسـی جایگزینی عصاره پلاکتی به جـای FBS در محـیط کشـت سلولی پرداختند. آن ها در این مطالعه از رده‌هـای سـلولی مختلـف مثـل میلوماهـا، هیبریـدوماها، فیبروبلاسـت‌هـا و سلول‌های اپی‌تلیال استفاده کردند(۳۰). هم چنین مـارتینیو و همکاران در سال ۲۰۰۴ از سرم انسانی گروه خونی AB و هم چنین PRP فعال شده با تـرومبین در محـیط کشـت سلولی، روی رده سلولی مزانشیمال بـه عنـوان جـایگزینی برای FCS استفاده نمودند(۲۸).

در این تحقیق از رقت ۱۰٪ عصاره پلاکتـی در محـیط کشت سلولی برای تکثیر رده‌های مختلف سلولی اسـتفاده شـد و دلیـل ایـن امـر اثـر وابسـته بـه دوز بـودن میـزان مکمل‌های رشد تجاری مثل FBS و FCS در محیط کشت سلولی و تاثیر زیاد در این رقت(۱۰٪) روی رشد سلول‌ها

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

بود. بنابراین در محیط کشت سلولی، از رقت ۱۰٪ عصاره پلاکتی استفاده شد. لیو و همکاران در سال ۲۰۰۲ ، مارکس و همکاران در سال ۱۹۹۸، اسلاتر و همکاران در سال ۲۰۰۶، دوست و همکاران در سال ۲۰۰۵ ، میرابت و همکاران در سال ۲۰۰۸ و چان و همکاران در سال ۲۰۰۲ در تحقیقات خود از درصدهای مختلف فاکتورهای رشد پلاکتی و مکمل‌های تجاری در محیط کشت سلولی استفاده نموده و اثر وابسته به دوز بودن آن را به اثبات رسانده‌اند(۳۳، ۲۹، ۱۴، ۱۳، ۱۱، ۲). اسلاتر و همکاران در سال ۲۰۰۶ و دوست و همکاران در سال ۲۰۰۵ پلاکت‌های کهنه را در مطالعه‌های خود به کار بردند و فاکتورهای رشد آزاد شده از آن‌ها را با فاکتورهای رشد پلاکت‌های تازه مقایسه نمودند(۱۴، ۱۱).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه نشان داده شد که میزان غلظت فاکتورهای رشد آزاد شده از پلاکت‌های کهنه با مقادیر حاصله از پلاکت‌های تازه یکسان و اثرات فاکتورهای رشد حاصل از هر دو گروه بر میزان رشد سلولی به یک اندازه بوده است و این امر نویدبخش استفاده از پلاکت‌های کهنه در راستای کاربردهای نوین می‌باشد. مکانیسم عملکرد فاکتورهای مشتق از پلاکت‌ها بر روی تکثیر سلولی و عوامل اصلی القای تکثیر، مستلزم مطالعه‌های تکمیلی در آینده است.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران انجام شده است. بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از همکاری اهداکنندگان خون جهت جمع‌آوری پلاکت‌ها تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References :

1- Questions and Answers About Blood Management. Committee on Transfusion Medicine of the American Society of Anesthesiologists.4th ed. 2006-2007.
2- Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, goergeff KR, *et al*. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endol 1998, 85(6): 638-46.
3- Cordeiro MF. Beyond mitomycin: TGF-beta and Wound healing. Prog Retinal Eye Res 2002; 21: 75-89.
4- Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in repair of bone-biology and clinical applications. J Bone Joint Surg-America 2002; 84: 1032-44.
5- Anitua E, Andia I, Ardanza B. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. Thromb Haemost 2001; 91(1): 4-15.
6- Deuel TF, Huang JS. Platelet-derived growth factor. Structure, function, and roles in normal and transformed cells. J Clin Invest 1984; 74(3): 669-76.
7- Heldin CH, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. Physiology Revs 1999; 79: 1283-316.
8- Canalis E. Insuline-like growth factor I mediates selective anabolic effects of parathyroid hormone in bone cultures. J Clin Invest 1989; 83: 60-5.
9- Kilian O, Flesch I, Wenisch S, Taborski B, Jork A, Schnettler R. Effects of platelet growth factors on human mesenchymal stem cells and human endothelial cells *in vitro*. Eur J Med Res 2004; 9: 337-44.
10- Chan RK, Liu P, Lew DH, Ibrahim SI, Srey R, Valeri CR. Expired Liquid Preserved Platelet Releasates Retain Proliferative Activity. J Surg Res 2005; 126(1): 55-8.
11- Doucet C, Ernou I, Zhang Y, Begot L, Holy X. Platelet lysates promote mesenchymal stem cell expansion: a safety substitute for animal serum in cell-based therapy applications. J Cell Physiol 2005; 205(2): 228-36.
12- Gaissmaier C, Fritz J, Krackhardt T, Flesch I, Aicher WK, Ashammakhi N. Effects of platelet growth factors on human mesenchymal stem cells and human endothelial cells *in vitro*. Eur J Med Res 2004; 9: 337-44.
13- Mirabet V, Solves P, Miñana MD, Encabo A, Carbonell-Uberos F, Blanquer A, *et al*. Human platelet lysate enhances the proliferation activity of cultured human fibroblast-like cells from different tissues. Cell Tissue Bank 2008; 9 (1): 1-10.
14- Slatter M. Platelet concentration increase growth of fetus osteoblasts *in vitro*. JDR 2006; 34: 68-74.
15- Available from: http:// en. wikipedia. org/ wiki/ Chinese_hamster_ovary_cell.
16- Gandor C, Leist C, Fiechter A, Asselbergs FA. Amplification and expression of recombinant genes in serum-independent Chinese hamster ovary cell. FEBS Lett 1995; 377(3): 290-4.
17- Hamilton WG, Ham RG. Clonal growth of Chinese hamster cell lines in protein–free media. In Vitro 1977; 13 (9): 537-47.
18- Nakashima A, Hayashi N, Kaneko YS, Mori K, Egusa H, Nagatsu T, *et al*. Neurondifferentiation of bone marrow-derived stromal stem cells involves suppression of discordant phenotypes through gene silencing. J Biol Chem 2005; 280: 23691-7.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

19- Xu W, Zhang X, Qian H, Zhu W, Sun X, Hu J. Mesenchymal stem cells from adult human bonemarrow differentiate into a cardiomyocyte phenotype *in vitro*. Exp Biol Med (Maywood) 2004; 229: 623-31.
20- JayaPal KP, Walschin F, Yap MG, Hu WS. Recombinant protein therapeutics from the CHO cells. Eng prog 2007; 103: 40-7.
21- Crovetti G, Martinelli G, Issi M, Barone M, Guizzardi M, Campanati B. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. Transfus Apher Sci 2004; 30(2): 145-51.
22- Green DM, Klink B. Platelet gel as an intraoperatively procured platelet-based alternative to fibrin glue. Plast Reconstruct Surg 1998; 101(4): 1161-2.
23- Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. Thromb Haemost 2001; 91 (1): 4-15.
24- Kraus KH, Head CK. Mesenchymal stem cells and bone regeneration. Vet Surg 2006; 35: 232-42.
25- Leitner GC, Gruber R, Neumuller J. Platelet content and growth factor release in platelet rich plasma: a comparison of four different systems. Vox sang 2006; 91: 135-9.
26- Zimmermann R, Arnold D, Strasser E. Sample preparation technique and white cell content influence the detectable levels of growth factors in platelet concentrates. Vox Sang 2003; 85: 283-9.
27- Zagai U, Fredriksson K, Rennard SI. Platelet stimulates fibroblast-mediated contraction of collagen gels. Respir Res 2003; 17: 4-13.
28- Martineu I, Lacoste E, Gagnon G. Effects of calcium and thrombin on growth factor release from platelet concentrates: Kinetics and regulation of endothelial cell proliferation. Biomaterial 2004; 25: 4489-502.
29- Liu Y, Kalen A, Risto O, Wahlstrom O. Fibroblast proliferation due to exposure to a platelet concentrate *in vitro* is pH dependent. Wound Repair Regen 2002; 10(5): 336-40.
30- Johansson L, klith J, Holmqvist O, Ohlsou S. platelet lysate: a replacement for fetal bovine serum in animal cell cultures. Cytotechnology 2003; 42: 67-74.
31- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, *et al*. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science 1999; 284: 143-7.
32- Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, *et al*. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature 2002, 418: 41-9.
33- Chan RK, Liu P, Lew DH, Ibrahim SI, Srey R, Valeri CR, *et al*. Expired Liquid Preserved Platelet Releasates Retain Proliferative Activity. J Surg Res 126(1): 55-8.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

Original Article

Application of expired platelets in the preparation of platelet gel and study of proliferative effects of expired platelet derived growth factor on variety of cell lines

Yahyavi Y.[1], Teimuri H.[1], Amani M.[1], Halabian R.[1], Edalati M.[2], Mohammadipoor M.[1], Hamedi Asl P.[1], Amirizadeh N.[1], Habibi Roudkenar M.[1]

[1]Research Center of Iranian Blood Transfusion Organization, Tehran, Iran
[2]Ardebil University of Medical Sciences, Ardebil, Iran

Abstract

Background and Objectives

There is growing evidence indicating that growth factors derived from platelets can be used in wound healing. This study aimed to investigate whether old platelets can be used as the main material for preparation of platelet gel and as substitute for FBS and FCS in cell culture medium.

Materials and Methods

In this exprimental study, platelets were prepared from voluntary blood donors by centrifugation. To prove the hypothesis that the platelet gel and the growth factor derived from expired platelets are able to propagate different cells, platelet derived factors were prepared from both new and expired platelet-rich plasma. The concentration of platelet-derived growth factors was measured by ELISA and cell proliferation was measured by MTT assay.

Results

The results showed the high quality of platelet gel obtained from old platelets. Our results also revealed that old platelets released growth factors similar to those released by new platelets. The growth factors derived from old and new platelets had the same proliferation effects on MSC, CHO, and Fibroblast cell lines.

Conclusions

Old platelets released the same growth factors that new platelets did; this showed that old platelets as valuable constituents of blood are cost effective to be used.

Key words: Platelet–Rich Plasma, Platelet–Derived Growth Factor, Cell line
Sci J Iran Blood Transfus Org 2010; 7(3): 127-137

Received 1 Feb 2010
Accepted:19 Jul 2010

Correspondence: Habibi Roudkenar M., PhD of Biotechnology. Assistant professor of Iranian Blood Transfusion Organization-Research Center. P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821)88601599; Fax: (+9821)88601599
E-mail: *roudkenar@ibto.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]