خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۶ شماره ۲ تابستان ۹۸ (۱۱۵-۱۰۳)

مقاله پژوهشی

اثر ژل پلاکتی بر روند ترمیم و میزان بیان فاکتور VEGF در زخم‌های تجربی پوست در موش صحرایی

ماهان محمدی‌پور[۱]، ناصر امیری‌زاده[۲]، پژمان مرتضوی[۳]، علیرضا جهاندیده[۴]

چکیده

سابقه و هدف

ژل پلاکتی تهیه شده از پلاسمای غنی از پلاکت با دارا بودن فاکتورهای رشد، باعث تسریع بازسازی لایه‌های پوست، تحریک رگ‌زایی و افزایش سنتز کلاژن در روند ترمیم زخم‌ها می‌شود. در این مطالعه، تاثیر ژل پلاکت انسانی بر میزان بیان فاکتور رشد عروقی در زخم‌های تجربی پوست در موش صحرایی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه تجربی، ژل پلاکتی با افزودن ترومبین به پلاسمای غنی از پلاکت تهیه شد. در ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، یک زخم ۱/۵ در ۱/۵ سانتی‌متری در قسمت پشتی بدن بین دو کتف ایجاد شد. موش‌ها به طور تصادفی به دوگروه ۱۲تایی شاهد و درمان(استفاده موضعی از ژل پلاکتی در محل زخم) تقسیم شدند. درمان از ژل پلاکتی جهت پانسمان زخم استفاده گردید. نمونه‌های زخم پوستی با رنگ‌آمیزی H&E و ماسون تریکروم برای هیستوپاتولوژی و فلورسنت ایمنوهیستوشیمی جهت ارزیابی فاکتور رشد عروقی بررسی شدند.

یافته‌ها

میزان تشکیل بافت پوششی در روز پنجم در گروه درمان شده با ژل پلاکتی ۰/۳ ± ۲ و در گروه شاهد ۰/۱ ± ۱ بود. نتایج هیستوپاتولوژی نشان‌دهنده افزایش میزان تشکیل کلاژن و افزایش نفوذ سلول‌های التهابی در گروه درمان نسبت به گروه شاهد به ویژه در مراحل ابتدایی روند ترمیم زخم بود. هم چنین نتایج ایمنوهیستوشیمی نشان داد که میزان بیان فاکتور رشد عروقی در گروه درمان بیشتر از گروه شاهد بوده است.

نتیجه گیری

استفاده موضعی از ژل پلاکتی بر روی زخم‌های پوستی، اثرات مثبتی بر روند بهبود به ویژه در مراحل ابتدایی ترمیم دارد.

کلمات کلیدی: پلاسمای غنی از پلاکت، موش صحرایی(رت)، VEGF

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۵
تاریخ پذیرش: ۹۸/ ۲/۹

۱- دکترای عمومی دامپزشکی ـ واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی ـ تهران ـ ایران
۲- مؤلف مسئول: PhD خون‌شناسی و بانک خون ـ دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵
۳- متخصص آسیب‌شناسی دامپزشکی ـ واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی ـ تهران ـ ایران
۴- متخصص جراحی دامپزشکی ـ واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی ـ تهران ـ ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-30]

مقدمه

زخم‌های پوستی و کاهش زمان بهبود آن‌ها یکی از جنبه‌های مهم پزشکی محسوب می‌شود. به هرگونه گسستگی در انسجام لایه‌های پوست یا بافت‌های زیرپوستی زخم گفته می‌شود که می‌تواند در اثر عوامل فیزیکی یا شیمیایی ایجاد شود. با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در درمان زخم، همچنان تلاش در جهت توسعه روش‌های موثر در درمان زخم طی کوتاه‌ترین زمان و با ایجاد کمترین عارضه ادامه دارد (۱). بهبود و ترمیم زخم در انسان و حیوانات تکامل‌یافته، با یک مکانیسم کاملاً پیچیده صورت می‌پذیرد. سرعت بهبود زخم، به عوامل بسیاری بستگی دارد از جمله: اندازه زخم، ذخیره خونی در محل زخم، وجود اجسام خارجی و میکروارگانیسم‌ها، سن، وضعیت سلامت و تغذیه بیمار (۲).

یکی از پیشرفت‌ها در زمینه مدیریت و مراقبت برای تسریع بهبود زخم‌های پوستی، استفاده از فرآورده‌های خونی و ترکیبات مشتق از آن‌ها مانند فاکتور رشد پلاکتی (PDGF)، درمان با سلول‌های بنیادی حاصل از مغز استخوان و یا خون بندناف می‌باشد(۳).

امروزه استفاده از پلاکت‌ها به صورت ژل پلاکتی، در ترمیم هر چه سریع‌تر زخم‌ها، رو به افزایش است. مزایای استفاده از ژل پلاکتی، افزایش فاکتورهای رشد مورد نیاز برای ترمیم در موضع زخم، ایجاد بستر مناسب برای ترمیم زخم، تقویت سلول‌های پیش‌ساز و بنیادی شرکت‌کننده در ترمیم زخم، بهبود روند جلوگیری از از دست دادن خون و آب بدن، خواص ضد التهابی، خواص ضد میکروبی، روش تهیه و استفاده نسبتاً ساده می‌باشد(۴). پلاکت‌ها علاوه بر نقش ضد میکروبی که دارند، باعث فعال شدن سلول‌های ایمنی دیگر می‌شوند که همین امر باعث تقویت مکانیسم دفاعی و تسریع روند بهبودی می‌گردد(۵).

استفاده از فاکتورهای رشد موجود در پلاکت(PDGF: AA, AB, BB)، (TFG:β1,β2)، (bFGF)، (EGF)، (VEGF) در ترمیم هر چه سریع‌تر زخم‌ها خصوصا زخم‌های مزمن ایجاد شده در افراد دیابتیک که نیاز به ترمیم سریع‌تر برای جلوگیری از ایجاد عفونت دارند و هم‌چنین برش‌های حاصل از جراحی‌ها و یا شکستگی‌های استخوانی، به صورت ژل پلاکتی که از پلاسمای غنی از پلاکت(PRP) تهیه می‌شود رو به افزایش است. ژل پلاکتی را می‌توان از طریق مخلوط کردن PRP با ترومبین و کلسیم تهیه نمود که در آن غلظت پلاکت‌ها ۳ تا ۵ برابر غلظت پلاکت‌های اولیه در خون است(۸-۶). ترومبین به کار رفته در تهیه ژل پلاکتی به عنوان فعال‌کننده، سبب تحریک تجمع پلاکت‌ها و آزادسازی فاکتورهای رشد ذخیره شده در پلاکت‌ها می‌شود. کلسیم باعث خنثی شدن اثر ماده ضد انعقاد خون و تسهیل در آزادسازی گرانول‌های پلاکتی می‌شود. بعد از افزودن ترومبین و کلسیم، ژل چسبنده و ضخیمی شکل می‌گیرد(۴). در سال ۲۰۱۴ تامبلا و همکارانش استفاده از ژل پلاکتی اتولوگ را در درمان زخم بستر در سگ مورد مطالعه قرار دادند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از ژل پلاکتی اتولوگ می‌تواند اثر مثبتی در بهبود زخم‌های مقاوم به درمان و مزمن داشته باشد(۹).

ادیلبلوت و همکارانش در سال ۲۰۱۵ میزان اثر بخشی ژل پلاکتی را بر میکروارگانیسم‌های فرصت طلب (شامل استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و آسینوباکتر بومانی) در زخم‌های پوستی بررسی کردند. نتایج نشان داد که استفاده از ژل پلاکتی در درمان زخم‌های پوستی علاوه بر این که باعث تسریع در روند بهبودی زخم می‌شود، می‌تواند اثر ضد میکروبی موثری در زخم‌های عفونی داشته باشد(۱۰).

در سال ۲۰۰۹ امانی و همکارانش تاثیر ژل پلاکتی را بر تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی در محیط کشت(*In vitro*) مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج به دست آمده از مطالعه آن‌ها نشان داد که عوامل رشد پلاکتی را می‌توان جایگزین سرم در محیط کشت سه بعدی نمود. زیرا این عوامل، محیط مناسبی را برای رشد سلول های مزانشیمی فراهم می‌سازند(۱۱).

هدف کلی ما از این مطالعه، بررسی تاثیر ژل پلاکتی بر شاخص‌های التیامی زخم پوستی القا شده در موش صحرایی و اهداف اختصاصی بررسی اثر ژل پلاکتی دارای فاکتورهای رشد بر میزان بیان فاکتور VEGF در ترمیم زخم و افزایش سرعت ترمیم زخم پوستی در بیماران در مدل حیوانی بود.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-30]

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع تجربی بود و این مطالعه مطابق با مصوبه اخلاق در پژوهش به شناسه IR.IAU.SRB.REC.1397.071 در تاریخ ۱۳۹۷/۸/۹ در دانشگاه آزاد اسلامی- واحد علوم و تحقیقات تهران، مورد تصویب کمیته اخلاق قرار گرفت.

تهیه ترومبین از پلاسمای انسان:

۱۰ میلی‌لیتر نمونه خون سیتراته از یک فرد اهداکننده خون تهیه شد. به منظور جداسازی پلاسما، نمونه با دور g ×۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ(اپندورف، آلمان) شد. محلول رویی(پلاسمای شفاف) در لوله فالکون ۱۵ mL (Nunc، دانمارک) جداگانه جمع‌آوری شد. در نهایت، به ازای هر ۲ میلی‌لیتر پلاسما، ۱/۵ میلی‌لیتر کلسیم گلوکونات ۱۰٪ (مینو، ایران) اضافه شد و منتظر ماندیم تا در بن ماری (اپتیما، ژاپن) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد لخته ایجاد شود و سپس با سانتریفیوژ کردن لخته از محلول روئی که حاوی ترومبین بود، جدا شد.

طرز تهیه ژل پلاکتی:

کیسه پلاکتی از خون کامل اهداکنندگان با روش استاندارد در بانک خون تهیه گردید. کیسه پلاکتی تهیه شده در دستگاه آژیتاتور پلاکت خون(اپتیما ، ژاپن) نگهداری شد. مطابق با روش‌های ذکر شده در بالا، PRP و ترومبین به دست آمد. به منظور تهیه ژل پلاکتی، محتویات کیسه پلاکتی به ۴ لوله فالکون ۱۵ mL (Nunc، دانمارک) منتقل شد. تعداد پلاکت‌های موجود در این PRP توسط دستگاه شمارش سلول‌های خونی (سیس‌مکس) شمارش شد. لوله‌های فالکون حاوی PRP با دور g۳۰۰۰× به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ(اپندورف، آلمان) گردید. به منظور تغلیظ بیشتر پلاکت‌ها، نیمی از محلول روئی خالی شد. دوباره تعداد پلاکت‌ها توسط دستگاه شمارش سلول‌های خونی (سیس‌مکس) شمارش شد که در نهایت با سمپلر (اپندورف، آلمان)، ۲ میلی‌لیتر PRP تغلیظ شده با ۰/۵ میلی‌لیتر ترومبین در درون یک پتری دیش ریخته شد و به آرامی مخلوط گردید تا لخته ایجاد شد و ژل پلاکتی تشکیل گردید. تمام مراحل تهیه ژل پلاکتی در زیر هود و در شرایط استریل انجام شد.

آماده‌سازی موش‌ها و ایجاد زخم تجربی و درمان:

۲۴ سر موش صحرایی(رت) نر بالغ نژاد ویستار با محدوده سنی ۱۴- ۱۵ هفته و محدوده وزنی ۱۰ ± ۲۰۰ گرم از آزمایشگاه حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله(عج) تهیه شد. این حیوانات به محل در نظر گرفته شده جهت انجام آزمایش منتقل و در قفس‌های استاندارد نگهداری موش تحت شرایط نوردهی کنترل شده ۱۲ ساعت روشنایی و۱۲ ساعت تاریکی و دمای ثابت ۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

حیوانات قبل از انجام مطالعه‌ها به مدت یک هفته دوره تطابق را گذراندند تا تاثیر منفی استرس ناشی از محیط ناآشنا بر روی نتایج مطالعه مورد نظر به حداقل برسد. موش‌ها با پلت تغذیه شدند و به آب و غذا (پلت) دسترسی آزاد داشتند. القای بیهوشی با ترکیب زایلازین هیدروکلراید(۲٪) mg/kg/IP ۵ وکتامین هیدروکلراید(۱۰٪) mg/kg/IP ۵۰ به‌صورت داخل صفاقی انجام گردید. موش‌ها به صورت شکمی بر روی میز جراحی قرار داده شدند، سپس سطح پشتی موش‌ها ازناحیه کتف تا ایلئوم آماده‌سازی و اسکراب شد و یک زخم مربع شکل با ابعاد ۱/۵ در ۱/۵ سانتی‌متری در محل بین دو کتف با پانچ پوستی ایجاد شد به طوری که لایه‌های اپی‌درم و درم به طور کامل برداشته شد.

ابتدا موش‌ها به طور تصادفی به دوگروه ۱۲تایی(شاهد و درمان شده با ژل پلاکتی) تقسیم شده، سپس هر کدام از این‌ها خود به ۴ زیر گروه ۳ تایی(گروه‌های نمونه‌برداری در روزهای مختلف) تقسیم شدند. در گروه درمان شده ژل پلاکتی به صورت موضعی در محل زخم مورد استفاده قرار گرفت و در گروه شاهد هیچ درمانی انجام نشد(شکل ۱).

درمان زخم‌های پوستی در گروه درمان شده با ژل پلاکتی به صورت زیر انجام شد:

نمونه‌های درمانی که روز ۳ نمونه‌برداری شدند ← یک بار ژل پلاکتی دریافت کردند (فقط در روز ۰)

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-30]

نمونه‌های درمانی که روز ۵ نمونه‌برداری شدند ⟵ دو بار ژل پلاکتی دریافت کردند (روزهای ۰، ۳)
نمونه‌های درمانی که در روز ۷ نمونه‌برداری شدند ⟵ سه بار ژل پلاکتی دریافت کردند(روزهای ۰، ۳، ۵)
نمونه‌های درمانی که در روز ۱۴ نمونه‌برداری شدند ⟵ چهار بار ژل پلاکتی دریافت کردند(روزهای ۰، ۳، ۵، ۱۲)



شکل ۱: زخم پوستی ۱/۵ در ۱/۵ سانتی‌متری. زخم پوستی در محل بین دو کتف رت با پانچ پوستی ایجاد شد.

روش نمونه‌برداری از پوست:

در پایان روزهای ۳، ۵، ۷ و ۱۴ در هر گروه شاهد و درمان از ۳ موش صحرایی به منظور بررسی‌های هیستوپاتولوژی و ایمنوهیستوشیمی توسط اسکالپل و پنس، نمونه‌ای جهت انجام آزمایش‌های مربوطه اخذ شد. بعد از نمونه‌برداری، نمونه پوست به منظور جلوگیری از چروکیده شدن بافت بر روی تکه‌ای مقوا چسبانده شد و سپس درون یک لوله فالکون ۵۰ mL که حاوی ۴۵ میلی‌لیتر فرمالین ۱۰٪ بود قرار داده شد.

در پایان روزهای نمونه‌برداری پوست موش‌های صحرایی بخیه گردید و نمونه‌های پوست به آزمایشگاه پاتولوژی منتقل شد و پس از آماده‌سازی به روش معمول، اسلاید هیستوپاتولوژی تهیه گردید.

نمونه‌های زخم پوستی با رنگ‌آمیزی H&E و ماسون تریکروم برای ارزیابی هیستوپاتولوژی و فلورسنت ایمنوهیستوشیمی به روش غیر مستقیم جهت ارزیابی فاکتور VEGF طبق دستورالعمل استاندارد انجام شد(۱۳، ۱۲).

روش کار ایمنوهیستوشیمی:

روش تهیه پارافرمالدهید ۴٪ :

مقدار ۲۰ گرم پارا فرمالدهید(آلمان، مرک) به ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. روی Hot Plate قرار گرفت تا دمای آن به ۶۰ درجه سانتی‌گراد برسد. بعد از آن به محلول مورد نظر، سود(NaOH) اضافه گردید تا pH محلول به ۷/۲ تا ۷/۴ برسد. در مرحله آخر یک قرص PBS (Phosphate Buffer Salin) درون محلول قرار داده شد.

روش تهیه اسید کلریدریک ۲ طبیعی:

مقدار ۲ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۳۷/۵٪ به ۱۱ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید.

روش تهیه سرم بز ۱۰ درصد و تریتون (Triton) ۰/۳٪ :

مقدار ۱۰۰ لاندا سرم بز به ۹۰۰ لاندا PBS اضافه گردید و سرم بز ۱۰٪ به دست آمد.

مقدار ۳ لاندا تریتون ۱۰۰x به ۹۹۷ لاندا PBS اضافه شد و تریتون ۰/۳٪ به دست آمد.

روش انجام کار:

نمونه با PBS در ۴ مرحله و به فاصله ۵ دقیقه شسته شد. به منظور بازیابی آنتی‌ژنی بر روی نمونه‌ها، اسیدکلریدریک ۲ طبیعی به مدت ۳۰ دقیقه ریخته شد. بافر بورات به منظور خنثی‌سازی اسید به مدت ۵ دقیقه اضافه شد و سلول‌ها با PBS شسته شدند. تریتون ۰/۳٪ به مدت ۳۰ دقیقه به منظور نفوذ پذیر کردن غشاء سلول‌ها استفاده گردید. با PBS شستشو داده شدند. سرم بز ۱۰٪ برای مدت

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-30]

۳۰ دقیقه به منظور بلوک کردن واکنش آنتی‌بادی ثانویه به صورت رنگ اضافی زمینه اضافه شد. آنتی‌بادی اولیه رقیق شده(۱ به ۱۰۰) با PBS به نمونه اضافه گردید و بعد از ایجاد یک محیط مرطوب برای جلوگیری از خشک شدن بافت، به مدت یک شب درون یخچال با دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. روز بعد ظرف حاوی بافت از یخچال خارج شد و سپس ۴ بار و هر بار به مدت ۵ دقیقه با PBS شستشو داده شد. به نمونه آنتی‌بادی ثانویه با رقت ۱ به ۱۵۰ اضافه گردید و سپس در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت و ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شد. بعد از آن نمونه از انکوباتور به اتاق تاریک منتقل گردید و بعد از ۴ بار شستشو، به آن‌ها DAPI اضافه گردید، بلافاصله برداشته و روی نمونه PBS ریخته شد. در مرحله آخر نمونه توسط میکروسکوپ فلوروسنت مدل Olympus و با لنز ۴۰۰ برای تایید مارکرها مشاهده شد. سپس شاخص‌های التیامی مانند میزان تشکیل بافت پوششی، میزان تشکیل کلاژن، میزان نفوذ سلول‌های التهابی و میزان بیان فاکتور VEGF مورد بررسی قرار گرفت.

میزان بیان VEGF به این صورت ارزیابی گردید:

۱: ۰٪ (بدون واکنش ایمنی) = ۰ یا منفی

۲: ۱٪ تا ۱۰٪ = ۱+ یا مثبت ضعیف

۳: ۱۰٪ تا ۵۰٪ = ۲+ یا مثبت متوسط

۴: بیشتر از ۵۰٪ = ۳+ یا مثبت شدید

تحلیل آماری:

برای تحلیل داده‌های هیستوپاتولوژی از بسته نرم‌افزاری SPSS ورژن ۲۲ استفاده شد و توسط آزمون کای‌اسکوئر (Chisquare) مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر $p< ۰/۰۵$ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شدند. برای مقایسه میانگین از تحلیل واریانس(ANOVA) استفاده شد.

یافته‌ها

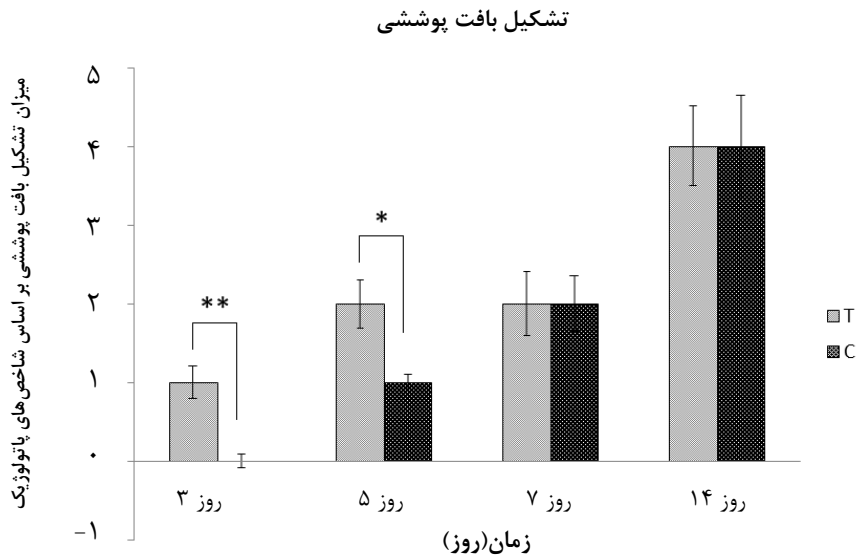
شمارش تعداد پلاکت‌ها:

تعداد پلاکت‌های موجود در PRP در کیسه‌های پلاکتی، ۸۳۸×۱۰^{۳} در هر میکرولیتر بود که به منظور تغلیظ بیشتر بعد از سانتریفیوژ و خالی کردن نیمی از محلول رویی، تعداد پلاکت‌ها ۱۵۴۸×۱۰^{۳} در هر میکرولیتر شده بود.

ارزیابی شاخص‌های ترمیمی بافت پوست:

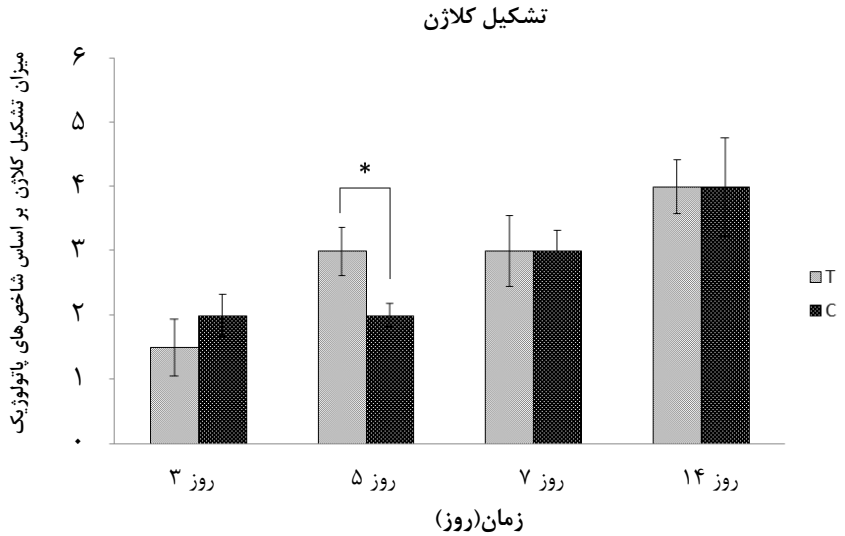
میزان تشکیل بافت پوششی:

میزان تشکیل بافت پوششی در تمامی نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت(نمودار ۱).

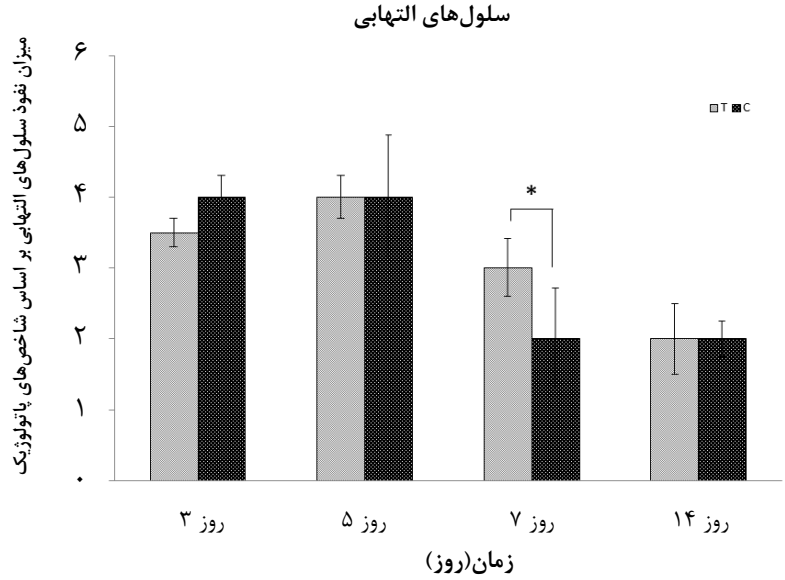


نمودار ۱ : میزان تشکیل بافت پوششی در زمان‌های مختلف. گروه درمان با حرف T و گروه شاهد با حرف C نشان داده شده است.
(* به معنای $p< ۰/۰۵$ و ** به معنای $p< ۰/۰۱$ و اختلاف معناداری از نظر آماری نشان می‌دهند)

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-30]



نمودار ۲ : میزان تشکیل کلاژن در زمان‌های مختلف. گروه درمان با حرف T و گروه شاهد با حرف C نشان داده شده است.
(* به معنای ۰/۰۵ >p و اختلاف معناداری از نظر آماری نشان می‌دهد).



نمودار۳ : میزان سلول‌های التهابی در زمان‌های مختلف. گروه درمان با حرف T و گروه شاهد با حرف C نشان داده شده است.
(* به معنای ۰/۰۵ >p و اختلاف معناداری از نظر آماری نشان می‌دهد).

همان طور که در نمودار مربوطه مشخص است، تفاوت معنادار بین گروه‌های شاهد و درمان در روزهای ۳ و ۵ بعد از ایجاد زخم دیده می‌شود به طوری که تشکیل بافت پوششی در روز ۳ بعد از ایجاد زخم در گروه درمان وجود داشته اما در گروه شاهد تشکیل بافت پوششی وجود نداشته است و در روز ۵ بعد از ایجاد زخم، در گروه درمان میزان تشکیل بافت پوششی نسبت به گروه شاهد بیشتر بوده است.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-30]

میزان تشکیل کلاژن:

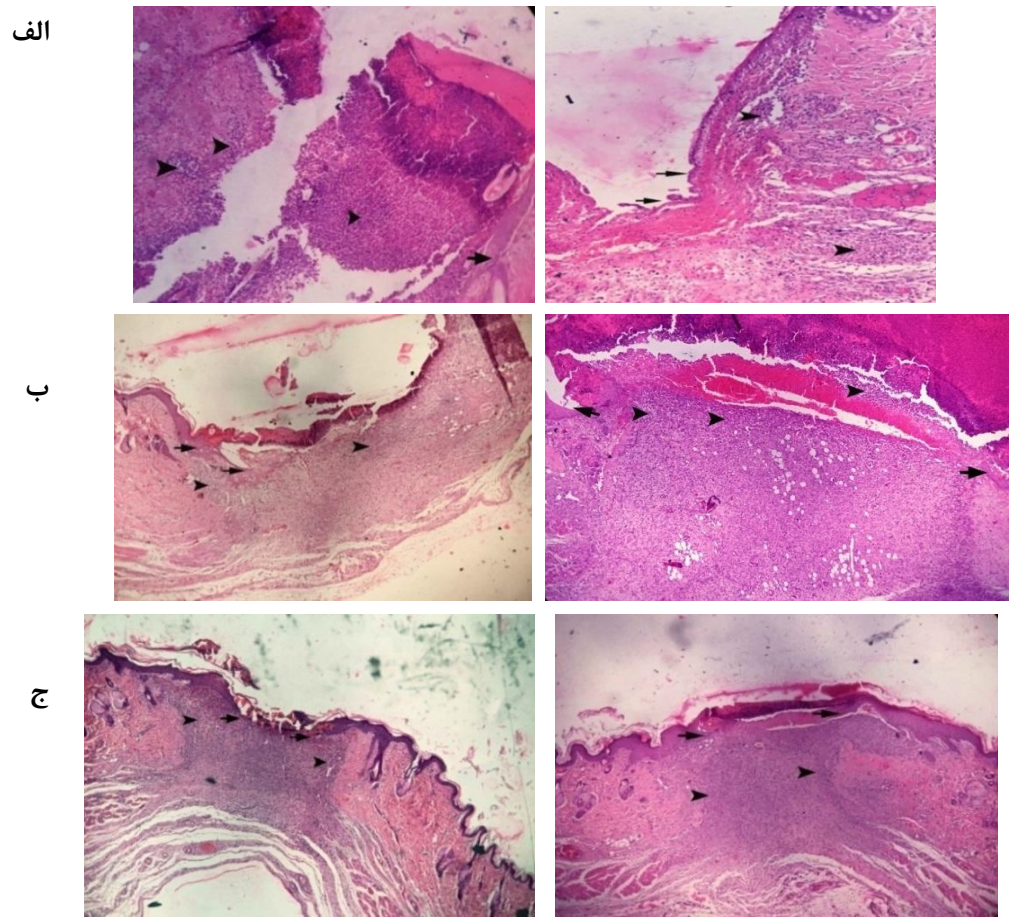
میزان تشکیل کلاژن در تمامی نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت(نمودار ۲). همان طور که در نمودار مربوطه مشخص است میزان تشکیل کلاژن در روز ۵ بعد از ایجاد زخم در گروه درمان با اختلاف معناداری نسبت به گروه شاهد بیشتر است.

میزان نفوذ سلول‌های التهابی:

میزان نفوذ سلول‌های التهابی در تمامی نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت(نمودار ۳). همان طور که در نمودار مربوطه مشخص است، میزان نفوذ سلول‌های التهابی در گروه درمان نسبت به گروه شاهد در روز ۷ بعد از ایجاد زخم بیشتر است.

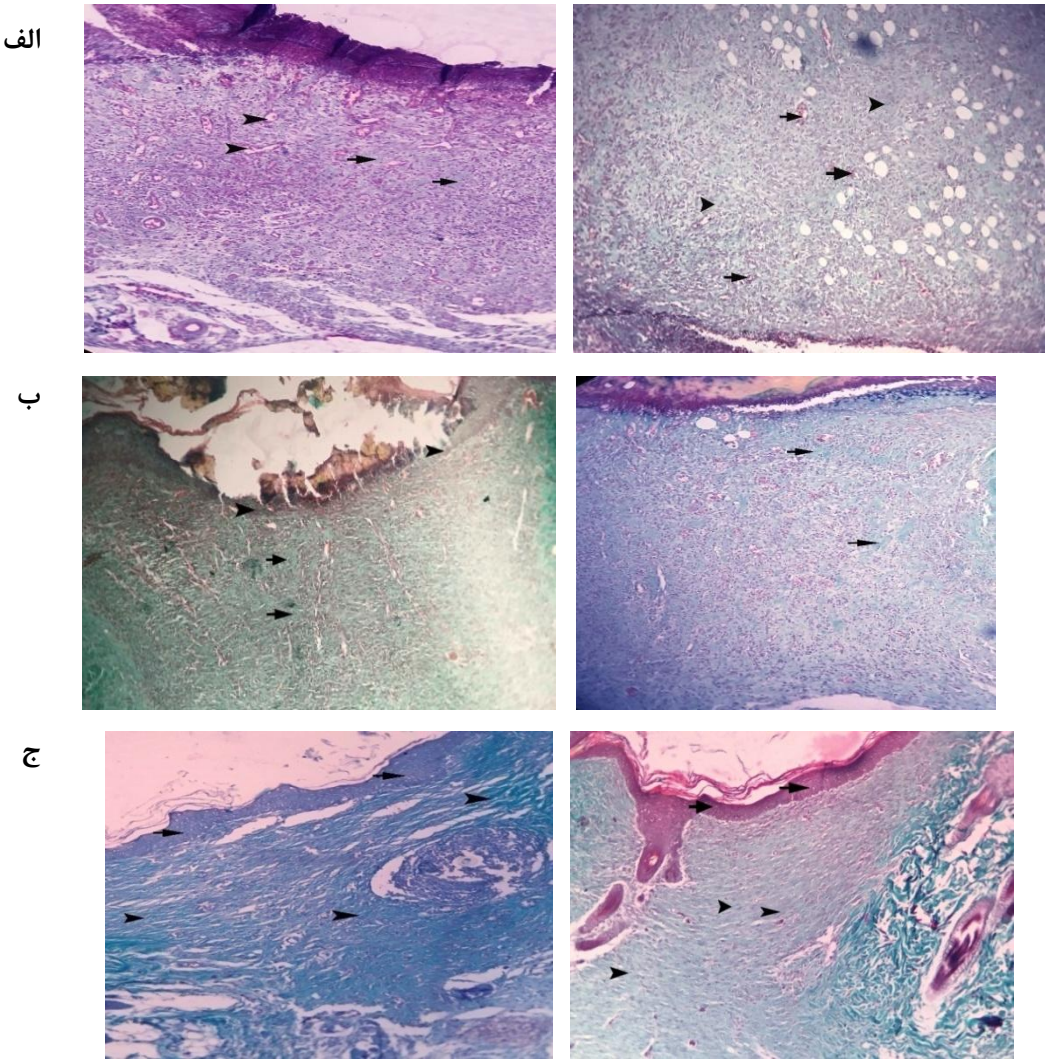
نتایج هیستوپاتولوژی بافت پوست:

در لام‌های هیستوپاتولوژی تهیه شده از بافت پوست، شاخص‌هایی مانند تشکیل بافت پوششی، نفوذ سلول‌های التهابی و میزان تشکیل کلاژن مورد ارزیابی قرار گرفتند (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲ : هیستوپاتولوژی مقطع زخم در گروه درمان (سمت راست) و شاهد (سمت چپ) در روزهای سوم، پنجم و هفتم(به ترتیب الف، ب و ج). در گروه درمان مهاجرت سلول‌های اپیدرم (پیکان) در کنار لبه زخم و نفوذ شدید سلول‌های التهابی در درم(نوک پیکان) دیده می‌شود. در گروه شاهد ضخیم شدن اپیدرم (پیکان) بدون هیچ گونه مهاجرتی در کنار لبه زخم و نفوذ شدید سلول‌های التهابی در درم(نوک پیکان) دیده می‌شود(الف)، در شکل ب، مهاجرت اندک سلول‌های اپیدرم(پیکان) در کنار لبه زخم و نفوذ شدید سلول‌های التهابی در دُم(نوک پیکان) دیده می‌شود. در شکل ج، مهاجرت زیاد سلول‌های اپیدرم(پیکان) در کنار لبه زخم و بافت جوانه گوشتی(نوک پیکان) در گروه درمان نسبت به شاهد به وضوح دیده می‌شود.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-30]

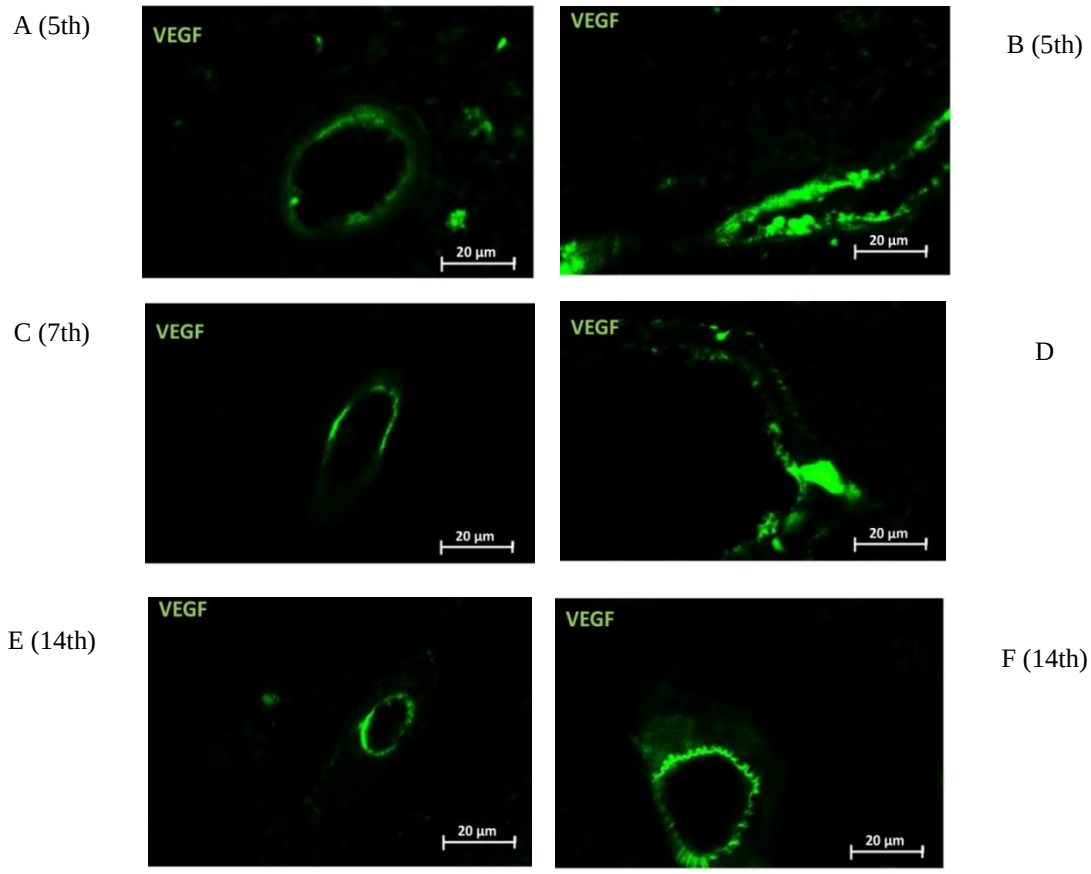


شکل ۳ : هیستوپاتولوژی مقطع زخم در گروه درمان (سمت راست) و شاهد (سمت چپ) در روز پنجم(الف) عروق خونی تازه تشکیل(پیکان) و رشته‌های کلاژن(نوک پیکان) در بافت جوانه گوشتی دیده می‌شود. در روز هفتم(ب) رشته‌های کلاژن(نوک پیکان) با ضخامت قابل توجه دیده می‌شود. در گروه شاهد اپیدرم در حال ترمیم نیز(نوک پیکان) دیده می‌شود. در روز چهاردهم(ج) رشته‌های کلاژن با ضخامت مناسب و اپیدرم نوزایش یافته(نوک پیکان) دیده می‌شود.

جدول ۱: نتایج ارزیابی ایمونوهیستوشیمی بافت پوست

میزان بیان VEGF با استفاده از آنتی بادی فلورسنت							
روز ۳		روز ۵		روز۷		روز۱۴	
درمان	+۲	درمان	+۳	درمان	+۳	درمان	+۳
شاهد	+۲	شاهد	+۲	شاهد	+۲	شاهد	+۲

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-30]



شکل ۴ : بیان متوسط VEGF در اطراف یک رگ خونی در گروه شاهد(A, C, E) در روزهای پنجم، هفتم و چهاردهم بعد از ایجاد زخم و بیان شدید VEGF در اطراف یک رگ خونی در گروه درمان(B, D, F) در روزهای پنجم، هفتم و چهاردهم بعد از ایجاد زخم (Indirect immunofluorescence of VEGF)

نتایج ایمنوهیستوشیمی بافت پوست:

در این مطالعه، میزان بیان فاکتور VEGF در دو گروه درمان و شاهد در روزهای ۳، ۵، ۷ و ۱۴ بعد از ایجاد زخم توسط آنتی‌بادی فلورسنت اندازه‌گیری شد(جدول ۱). همان طور که در جدول مربوطه مشخص است، تفاوت معنادار بین گروه‌های درمان و شاهد در روزهای ۵، ۷، ۱۴ دیده می‌شود به طوری که میزان بیان VEGF در گروه‌های درمان شدید در حالی که میزان بیان این فاکتور رشد در گروه‌های شاهد متوسط است(شکل ۴).

بحث

روند بهبود زخم‌های پوستی شامل یکسری وقایع سلولی و بیوشیمیایی بنام هموستاز و التهاب، تکثیر، بلوغ و بازسازی می‌باشد(۱۴). امروزه روش‌های درمانی مختلفی برای بهبود زخم وجود دارد اما روش درمانی که بتواند به تسریع این روند بهبودی کمک کند، بسیار ارزشمند است. تجمع پلاکت‌ها در محل زخم و آزادسازی فاکتورهای رشد مختلف از آن‌ها می‌تواند محرکی برای تسریع مراحل ترمیم زخم باشند(۱۵).

در این مطالعه، هدف از تهیه ژل پلاکتی 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(۱۱). در ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی شاخص‌های ترمیمی مانند میزان تشکیل بافت پوششی، میزان تشکیل کلاژن و میزان

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-30]

نفوذ سلول‌های التهابی بررسی شد که نتایج نشان داد استفاده ار ژل پلاکتی به صورت موضعی باعث تسریع در روند ترمیم زخم‌های پوستی می‌شود. هم چنین در ارزیابی ایمنوهیستوشیمی میزان بیان فاکتور VEGF در دو گروه شاهد و درمان گزارش شد. میزان رگ‌زایی که در ترمیم زخم نقش مهمی ایفا می‌کند به صورت اختصاصی با آنتی‌بادی فلورسنت ارزیابی شد. براساس نتایج به دست آمده از روز ۵ بعد از ایجاد زخم، میزان بیان VEGF در گروه درمان شدید و در گروه شاهد متوسط مشاهده شد.

در سال ۲۰۱۵ پارازی و همکاران سطوح بالایی از هورمون ها و مولکول‌هایی با توانایی ترمیم بافت در ژل پلاکتی تهیه شده از خون بندناف کشف نمودند. ژل پلاکتی خون بندناف در مقایسه با خون محیطی غلظت‌های بالاتری از چندین فاکتور رگ‌زا را دارد(۱۶). در مطالعه حاضر نیز با ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی بافت مشاهده شد که استفاده از ژل پلاکتی به صورت موضعی باعث تسریع روند ترمیم زخم در گروه درمان نسبت به گروه شاهد می‌شود. در ارزیابی ایمنوهیستوشیمی افزایش میزان رگ‌زایی در گروه درمان شده با ژل پلاکتی نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. دمسی و همکارانش در سال ۲۰۱۶ اثر فاکتورهای رشد را بر ترمیم زخم‌های پوستی در موش صحرایی مورد مطالعه قرار دادند. در مطالعه آن‌ها، گروهی با تزریق فاکتور رشد EGF و گروهی دیگر با تزریق ترکیبی از چندین فاکتور رشد(VEGF، FGF و IGF) درمان شدند. نتایج حاصل از مطالعه آن‌ها بیانگر این بود که تزریق چندین فاکتور رشد در مرز زخم‌های پوستی منجر به بهبودی سریع‌تر و کاهش بافت گرانوله می‌شود و به طور کلی با ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی در گروه درمان، افزایش میزان رگ‌زایی گزارش شده بود(۱۷). در سال ۲۰۱۷ تاتار و همکارانش اثر PRP را بر ترمیم زخم‌های پوستی در موش صحرایی مورد بررسی قرار دادند. موش‌ها به گروه‌های مختلفی تقسیم شدند. گروهی PRP را به صورت موضعی در محل زخم و گروهی دیگر PRP را به صورت تزریقی داخل زخم دریافت کردند. در نتایج به دست آمده از مطالعه آن‌ها، در روزهای ۷ و ۱۴ بعد از ایجاد زخم در گروهی که PRP را به صورت موضعی دریافت کردند میزان رگ‌زایی به طور معناداری بیشتر از گروه‌های دیگر بود (۱۴). در مطالعه حاضر با ارزیابی ایمنوهیستوشیمی میزان بیان VEGF در روزهای مختلف بعد از ایجاد زخم بررسی گردید و یافته‌های ایمنوهیستوشیمی بیانگر آن بود که میزان بیان فاکتور VEGF در روزهای ۵، ۷ و ۱۴ بعد از ایجاد زخم در گروه درمان شده با استفاده موضعی از ژل پلاکتی نسبت به گروه شاهد بیشتر بوده است.

دیوراکس و همکارانش در سال ۲۰۱۸ اثر PRP را بر فیبروبلاست‌های پوستی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد استفاده از PRP باعث افزایش فیبروبلاست‌های پوستی می‌شود که این فیبروبلاست‌ها با مهاجرت و تکثیر در بافت گرانوله اطراف زخم ذخیره شده و باعث کاهش اسکار پوستی می‌شوند(۱۸). هم چنین در سال ۲۰۱۸ شو ایبی و همکارانش اثر PRP را در تکثیر و مهاجرت فیبروبلاست‌های پوستی انسان مورد مطالعه قرار دادند. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات PRP بر روی بازسازی ماتریکس خارج سلولی بود که نیاز به فعال‌سازی فیبروبلاست‌های پوستی دارد. PRP باعث تحریک تکثیر و مهاجرت فیبروبلاست‌های پوستی و هم چنین افزایش بیان پروکلاژن I آلفا 1، الاستین، MMP-1، MMP-2 در فیبروبلاست‌های پوستی می‌شود در نتیجه می‌تواند به تسریع ترمیم کمک کند(۱۹). در مطالعه حاضر نیز در ارزیابی میکروسکوپی روز ۵ بعد از ایجاد زخم، میزان تشکیل کلاژن در گروه درمان نسبت به گروه شاهد بیشتر مشاهده شد که نشان‌دهنده تاثیر ژل پلاکتی بر تسریع روند ترمیم زخم است.

عبداله و همکارانش در سال ۲۰۱۸ ، اثرات استفاده موضعی ازPRP (همولوگ) در خرگوش را بررسی کردند. در ارزیابی‌های میکروسکوپی روز ۳ بعد از ایجاد زخم در گروهی که PRP دریافت کردند، تشکیل بافت پوششی در بستر زخم به همراه افزایش میزان رگ‌زایی به طور مشخص دیده شد(۲۰). در نتایج میکروسکوپی ما در این مطالعه در روز ۳ بعد از ایجاد زخم، تشکیل بافت پوششی در گروه شاهد مشاهده نشد در حالی که در گروه درمان

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-30]

شده با ژل پلاکتی، تشکیل بافت پوششی دیده شد اما برخلاف نتایج میکروسکوپی روز ۳ بعد از ایجاد زخم در مطالعه آن‌ها، میزان رگ‌زایی در گروه شاهد و درمان در مطالعه حاضر مشابه بوده است(نتایج ایمنوهیستوشیمی). نتایج روز ۷ در مطالعه آن‌ها نشان داد در گروه درمان شده با PRP ، تشکیل بافت پوششی تکمیل و رشته‌های کلاژن ضخیم نسبت به گروه شاهد دیده شد(۲۰). اما در مطالعه حاضر تشکیل بافت پوششی و میزان کلاژن در دو گروه درمان و شاهد در روز ۷ اختلاف آماری معناداری نداشت و در هر دو گروه درمان وشاهد بافت پوششی در حال ترمیم و رشته‌های کلاژن با ضخامت قابل توجه دیده شد.

در سال ۲۰۱۸ چونچارونی و همکارانش اثر ژل پلاکتی را بر ترمیم زخم‌های پوستی در موش‌های صحرایی مورد ارزیابی قرار دادند که همانند مطالعه ما از پلاکت انسانی برای ترمیم زخم‌های پوستی در موش صحرایی استفاده شد با این تفاوت که آن‌ها از PRP تاریخ گذشته استفاده کردند و آن را در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری کرده و قبل از استفاده، PRP را در داخل یک ژلی که با محلول سدیم کربوکسی متیل سلولز، گلیسیرین، متیل پارابن و پروپیل پارابن تهیه شده قرار دادند(۱۵). اما در مطالعه حاضر طرز تهیه ژل پلاکتی متفاوت بود زیرا ما ژل پلاکتی را با ترکیب PRP تازه و تغلیظ شده به همراه ترومبین تهیه کردیم. در مطالعه آن‌ها ارزیابی میکروسکوپی در روزهای ۳، ۷ و ۱۲ بعد از ایجاد زخم نشان داد که در روزهای ۳ و ۷ بعد از ایجاد زخم، در گروه درمان افزایش مهاجرت سلول‌های اپی‌تلیال و تشکیل بافت پوششی در محل زخم به خوبی دیده شد (۱۵). در مطالعه حاضر نیز در مراحل ابتدایی روند ترمیم زخم، تشکیل بافت پوششی و افزایش نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای قابل مشاهده بود که این امر نشان‌دهنده اثر ترمیمی ژل پلاکتی تهیه شده از پلاکت تازه بر روند بهبود زخم‌های پوستی می‌باشد. به طور کلی پلاکت‌های تاریخ گذشته و کهنه با کیفیتی مشابه با پلاکت‌های تازه می‌توانند در تهیه ژل پلاکتی مورد استفاده قرار گیرند زیرا فاکتورهای رشد موجود در پلاکت‌هاست که باعث تسریع روند ترمیم زخم‌های پوستی می‌شود (۴).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی و ایمنوهیستوشیمی انجام شده در روزهای مختلف بعد از ایجاد زخم نشان داد که استفاده از ژل پلاکتی حاوی فاکتورهای رشد در روند ترمیم زخم به‌ویژه در مراحل ابتدایی ترمیم مؤثر است به طوری که با افزایش میزان رگ-زایی، تشکیل بافت پوششی و تشکیل کلاژن و هم‌چنین افزایش نفوذ سلول‌های التهابی(تک هسته‌ای) به علت تولید انواع فاکتورهای رشد، سیتوکین‌ها، کموکین‌ها، مدیاتورهای پیش التهابی و اعمال اثرات ضد میکروبی در فرآیند التیام، باعث تسریع روند بهبود زخم‌های پوستی می‌شود. این مطالعه می‌تواند در تعداد بیشتری از حیوانات آزمایشگاهی و با اندازه‌گیری شاخص‌های پاتولوژی بیشتر تکمیل شود. بدیهی است کاربرد این ژل پلاکتی در انسان نیازمند انجام بررسی‌های بیشتر از نظر میزان کارایی، ایمنی و اثر بخشی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری اساتید و کارکنان آزمایشگاه مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و اعضای محترم گروه پاتولوژی و جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات تهران سپاسگزاری می‌نماییم.

References:

1- Takzaree N, Hassanzadeh G, Rouini MR, Keshtkar A, Manayi A, Haajiakhondi A. Histological study of wound repair with topical aloe vera gel in rat. Tehran University Medical Journal 2015; 73(9): 660-7. [Article in Farsi]
2- Ghaderi R, Afshar M, Akhbarie H, Golalipour MJ. Comparison of the Efficacy of Honey and Animal Oil in Accelerating Healing of Full Thickness Wound of mice skin. Int J Morphol 2010; 28(1): 193-8.
3- Ghaderi R. Novel advancements in wound healing. J Birjand Univ Med Sci 2014; 21(1): 1-19. [Article in Farsi]
4- Yahyavi Y, Teimuri NH, Amani M, Halabian R, Edalati M, Mohammadipour M, *et al*. Application of

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-30]

expired platelets in the preparation of platelet gel and study of proliferative effects of expired platelet derived growth factor on variety of cell lines. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2010; 7(3): 127-37. [Article in Farsi]
5- Seyoum M, Enawgaw B, Melku M. Human blood platelets and viruses: defense mechanism and role in the removal of viral pathogens. Thromb J 2018; 16(1): 16.
6- Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. Thromb Haemost 2004; 91(01): 4-15.
7- Green DM, Klink B. Platelet gel as an intraoperatively procured platelet-based alternative to fibrin glue. Plast Reconstr Surg 1998; 101(4): 1161-2.
8- O'Neill E, Zalewski W, Eaton L, Popovsky M, Pivacek L, Ragno G, *et al*. Autologous platelet-rich plasma isolated using the Haemonetics Cell Saver 5 and Haemonetics MCS+ for the preparation of platelet gel. Vox Sang 2001; 81(3): 172-5.
9- Tambella AM, Attili AR, Dini F, Palumbo Piccionello A, Vullo C, Serri E, *et al*. Autologous plateletgel to treat chronic decubital ulcers: a randomized, blind controlled clinical trial in dogs. Vet Surg 2014; 43(6): 726-33.
10- Edelblute CM, Donate AL, Hargrave BY, Heller LC. Human platelet gel supernatant inactivates opportunistic wound pathogens on skin. Platelets 2015; 26(1): 13-6.
11- Amani M, Amirizadeh N, Soleimani M, Malekan H, Habibi Roudkenar M, Bashtar M. Effect of growth factors of platelet gel on proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2009; 6(2): 71-83. [Article in Farsi]
12- Suvik A, Effendy A. The use of modified Masson's trichrome staining in collagen evaluation in wound healing study. Mal J Vet Res 2012; 3: 39-47.
13- Mohan K H, Pai S, Rao R, Sripathi H, Prabhu S. Techniques of immunofluorescence and their significance. Indian J Dermatol Venereol Leprol 2008; 74: 415-9.
14- Tatar C, Aydin H, Karsidag T, Arikan S, Kabukcuoglu F, Dogan O, *et al*. The effects of platelet-rich plasma on wound healing in rats. Int J Clin Exp Med 2017; 10(5): 7698-706.
15- Chuncharunee A, Waikakul S, Wongkajornsilp A, Chongkolwatana V, Chuncharunee L, Sirimontaporn A, *et al*. Invalid freeze-dried platelet gel promotes wound healing. Saudi Pharm J 2019; 27(1): 33-40.
16- Parazzi V, Lavazza C, Boldrin V, Montelatici E, Pallotti F, Marconi M, *et al*. Extensive characterization of platelet gel releasate from cord blood in regenerative medicine. Cell Transplant 2015; 24(12): 2573-84.
17- João De Masi EC, Campos AC, João De Masi FD, Ratti MA, Ike IS, João De Masi RD. The influence of growth factors on skin wound healing in rats. Braz J Otorhinolaryngol 2016; 82(5): 512-21.
18- Devereaux J, Nurgali K, Kiatos D, Sakkal S, Apostolopoulos V. Effects of platelet-rich plasma and platelet-poor plasma on human dermal fibroblasts. Maturitas 2018; 117: 34-44.
19- Cho EB, Park GS, Park SS, Jang YJ, Kim KH, Kim KJ, *et al*. Effect of platelet-rich plasma on proliferation and migration in human dermal fibroblasts. J Cosmet Dermatol 2018 Oct 2. doi: 10.1111/jocd.12780.
20- Abdullah BJ, Atasoy N, Omer AK. Evaluate the effects of platelet rich plasma (PRP) and zinc oxide ointment on skin wound healing. Ann Med Surg (Lond) 2018; 37: 30-7.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-30]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2019;16(2): 103-115

Original Article

Evaluation of human platelet gel effect on production process and expression level of VEGF in experimental skin wounds in rat

Mohammadipour M.[1], Amirizadeh N.[2], Mortazavi P.[1], Jahandideh A.R.[1]

[1]Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2]Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Platelet gel prepared from platelet-rich plasma, containing growth factors, accelerates reconstruction of skin layers, stimulation of angiogenesis and increase of collagen synthesis in wounds healing process. In this study, the effect of human platelet gel on was investigated VEGF expression in experimental skin wounds in rat.

Materials and Methods

In this experimental study, platelet gel was prepared by adding thrombin to platelet-rich plasma. 1.5×1.5 cm wound was created on back of the body in 24 male Wistar rats. Then, the rats were divided into two control and treated groups with the application of platelet gel on the wound. Then, each group was divided into 4 subgroups with three rats for sampling on the 3rd, 5th, 7th, and 14th days. Skin wound samples were studied by using H & E staining and Mason Trichrome methods for histopathological examination. Furthermore, fluorescent immunohistochemistry method was used to measure the expression level of VEGF.

Results

The rate of epithelial tissue formation in the fifth day was 2 ± 0.3 and 1 ± 0.1 in the treated and control groups, respectively. The results of this study revealed that angiogenesis, epithelial tissue formation and collagen formation and inflammatory cells infiltration, in the treated group were higher than the control group, especially at the early stages of wound healing. Moreover, IHC findings showed that VEGF expression level is higher in the treated group than the control.

Conclusions

The topical application of platelet gel on skin lesions has a positive effect on the healing process, especially in the early stages.

Key words: Platelet-Rich Plasma, Rats, VEGF

Received: 24 Feb 2019
Accepted: 29 Apr 2019

Correspondence: Amirizadeh N., PhD of Hematology and Blood Banking. Associate Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88601599; Fax: (+9821) 88601599
E-mail: *n.amirizadeh@ibto.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-30]