پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال نوزدهم، شماره ۳، پی در پی ۹۹، صفحات ۱۲۵ تا ۱۳۰
مرداد و شهریور ۱۳۹۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۰/۳
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۵/۱۱

بررسی تأثیر لیزات پلاکتی بر میزان تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی

امیر الهوردی[۱]، دکتر عارفه جعفریان[۲]، دکتر سعید آبرون[۳]، دکتر مسعود سلیمانی[۴]، دکتر محمد تقی‌خانی[۵]، فاطمه اسکندری[۶]*

۱. کارشناس ارشد خون‌شناسی، گروه هماتولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۲. دکتری تخصصی بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، آسم و آلرژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
۳. استادیار، گروه هماتولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۴. دانشیار، گروه هماتولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۵. استاد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۶. کارشناس ارشد خون شناسی، گروه هماتولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به موارد زیاد استفاده از سلول‌های بنیادی و روند رو به افزایش آن و هزینه‌ی بالای استفاده از FBS و گزارش‌هایی از موفقیت لیزات پلاکتی بر میزان تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal stem cells – MSC) و عدم گزارش تجربه‌ای از آن در ایران، این تحقیق به منظور تعیین تأثیر لیزات پلاکتی نسبت به محیط حاوی FBS بر میزان تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی انجام شد.

مواد و روش‌ها: تحقیق حاضر به روش تجربی انجام گرفت. پنج کیسه کنسانتره پلاکتی تاریخ مصرف گذشته از بیمارستان سینا تهیه گردید. لیزات پلاکتی به وسیله‌ی عمل انجماد و ذوب کنسانتره پلاکتی تهیه و سپس سلول‌های مرده از لیزات پلاکتی به وسیله‌ی سانتریفیوژ جدا شد. به لیزات پلاکتی به دست آمده، ضد انعقاد هپارین برای جلوگیری از ژلاتینه شدن محیط کشت اضافه شد. سلول‌های بنیادی مزانشیمی از شرکت فن‌آوری زیستی بن‌یاخته تهیه گردید. ماهیت سلول‌ها به روش فلوسایتومتری تأیید و به صورت تصادفی در دو گروه شاهد (در مجاورت FBS) و آزمون (در مجاورت لیزات پلاکتی)، کشت داده شدند. تکثیر، با شمارش سلولی و تمایز، در مجاورت محیط‌های تمایزی استئوبلاستی و آدیپوسیتی به وسیله‌ی رنگ آمیزی آلیزارین- قرمز و Oil-Red O در زیر میکروسکوپ، مشاهده شد.

یافته‌ها: تعداد سلول‌ها در روز ۳ در گروه شاهد $۲\times۱۰^{۴}\pm۰/۲$ و در گروه آزمون $۳\times۱۰^{۴}\pm۰/۳$ ($P<۰/۰۰۱$)، و در روز ۷ در گروه شاهد و آزمون به ترتیب $۵\times۱۰^{۴}\pm۰/۳$ و $۸\times۱۰^{۴}\pm۰/۵$ بود ($P<۰/۰۰۱$). از نظر تمایز سلولی اختلافی وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که لیزات پلاکتی از نظر تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی بهتر از محیط FBS باشد و از نظر تمایزی سلول‌ها فرقی نخواهند داشت. مطالعات بیشتر در این زمینه، توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: سلول‌های بنیادی مزانشیمی، لیزات پلاکتی، FBS، تکثیر سلولی، تمایز سلولی

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:
Allahverdi A, Jafarian A, Abroun S, Soleimani M, Taghikhani M, Eskandari F. The effect of platelet lysate on proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells. Pejouhandeh 2014;19(3):125–130.

مقدمه

سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) دارای قابلیت چندتوانه (multipotency) و خود تکثیر شوندگی (self-renewality) بوده و می‌توانند به بافت‌های اندودرمی، مزودرمی و اکتودرمی تمایز یابند (۱). این سلول‌ها، نمای فیبروبلاستی و چسبنده داشته و دارای مارکرهای سطحی CD73، CD90، CD105 و CD44 و فاقد HLA-DRCD11b، CD14، CD19، CD34، CD45 و CD79a می‌باشند (۲). فنوتیپ ایمنولوژیکی سلول‌های بنیادی مزانشیمی I^{+} MHC، II^{-} MHC، $CD40^{-}$، $CD80^{-}$ و $CD86^{-}$ بوده و باعث غیرایمنوژنیک شدن آنها می‌شود (۳). سلول‌های بنیادی مزانشیمی به دلیل قابلیت تمایزی به

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر سعید آبرون؛ تهران، بزرگراه جلال آل‌احمد، پل نصر، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه خون شناسی؛ صندوق پستی: ۱۱۱-۱۴۱۱۵، تلفن ۰۹۱۲۲۰۱۰۳۷۷، نمابر: ۸۲۸۸۴۵۵۵ (۰۲۱)؛ پست الکترونیک: abroun@modares.ac.ir

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

سلول‌های مختلف و تکثیر نسبتاً سریع و خصوصیت ایمنولوژیک آنها، به طور گسترده در پزشکی ترمیمی و ژن‌درمانی، استفاده می‌شوند. روش مرسوم برای کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی، استفاده از محیط L-DMEM (Low glucose-Dulbecco's Modified Eagle Medium) حاوی ۱۰ درصد FBS می‌باشد (۴ و ۵). در سال ۲۰۱۲ برای نخستین بار از سلول‌های بنیادی مزانشیمی به عنوان اولین داروی سلول بنیادی با نام تجاری پروکایمال (Prochymal) استفاده شد. استفاده از جایگزین‌های انسانی نظیر سرم انسانی PRP (Platelet rich plasma) و لیزات پلاکتی، مورد توجه قرار گرفته و اثرات مثبت آن در رشد و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی، تأیید شده است (۶ و ۷). لیزات پلاکتی انسانی به وسیله‌ی روش ساده‌ی انجماد-ذوب واحدهای کنسانتره‌ی پلاکتی از اهداکنندگان به دست می‌آید و این روش موجب آزاد شدن فاکتورهای رشد پلاکتی می‌شود. فاکتورهای رشد مشتق از پلاکت شامل PDGF (Platelet derived growth factor)، TGF-β1 (Transforming growth factor-beta1)، IGF-1 (Insulin like growth factor-1) و bFGF (Basicfibroblast growth factor) هستند که در ترمیم و رشد سلول‌های محل آسیب دیده، نقش مهمی را ایفا می‌کنند و باعث فراخوانی سلول‌ها در بهبود زخم می‌شوند (۸). حضور این فاکتورهای رشد، موجب افزایش رشد و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی در مقایسه با FBS می‌شود (۱۲-۹). با توجه به مشکلات و هزینه‌های FBS و گزارش‌هایی از نتیجه‌ی مثبت استفاده از محیط کشت لیزات پلاکتی برای تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی در خارج از کشور، این سؤال مطرح بود که آیا با توجه به امکانات و شرایط کشور، این محیط بهتر از FBS می‌باشد بود یا خیر. لذا به منظور مقایسه‌ی محیط کشت حاوی لیزات پلاکتی با FBS بر تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی، این تحقیق در گروه خون شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، در سال ۱۳۹۲ انجام شد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر به روش تجربی (experimental) انجام شد. سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسانی مشتق از مغز استخوان، از شرکت فن‌آوری زیستی بن‌یاخته تهیه گردید. برای تهیه‌ی لیزات پلاکتی، ۵ واحد کنسانتره پلاکتی تاریخ مصرف گذشته که از ۵ اهدا کننده‌ی مختلف گرفته شده بود، از بیمارستان سینا در تهران، تهیه گردید. نمونه‌ها ابتدا در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد فریز و سپس در بن ماری و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد ذوب گردید. عمل فریز و ذوب شدن برای ۴ بار انجام شد. در زیر هود، کورد (cord) کیسه‌های پلاکت، توسط ماده‌ی ضدعفونی‌کننده‌ی ساولن، استریل گردید. سپس با قیچی استریل، سر کوردها را بریده و محتویات داخل کیسه به یک فلاسک کشت سلولی ۷۵ سانتی‌متر مکعب به منظور تهیه‌ی پول (pool) پلاکتی منتقل شد. لیزات پلاکتی در فالکون‌های ۵۰ میلی‌لیتری تقسیم و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰ rpm، سانتریفیوژ شد. مایع رویی جمع‌آوری و به آن ۲ u/ml هپارین، اضافه گردید.

برای انجام کشت سلولی و بررسی سرعت تکثیر، تعداد 10^3 cell/µl سلول MSCs پاساژ ۳ (با توجه به حداکثر ظرفیت فلاسک‌های کشت سلول T-25 که 2×10^6 سلول می‌باشد) در فلاسک‌های T-25 در دو گروه جداگانه، یکی در مجاورت محیط کشت L-DMEM حاوی ۱۰٪ FBS به عنوان گروه کنترل و دیگری در مجاورت محیط کشت L-DMEM حاوی ۱۰٪ لیزات پلاکتی، کشت داده شد تا در طول ۷ روز کشت سلولی (با توجه به حداکثر ظرفیت فلاسک‌های کشت سلول T-25 که 2×10^6 سلول می‌باشد)، ظرفیت کافی برای تکثیر سلول‌ها فراهم باشد. محیط کشت سلولی L-DMEM و FBS از شرکت ایده‌زیست (ایران) خریداری شد. در مطالعات انجام شده‌ی مشابه، از لیزات پلاکتی با غلظت ۵ تا ۱۰ درصد استفاده شده است. هر چند مواد تشکیل دهنده‌ی FBS و لیزات پلاکتی، بسیار متفاوت بوده و مقایسه را مشکل می‌کنند، ولی برای یکسان کردن شرایط دو گروه آزمایش، به ناچار از غلظت‌های یکسان استفاده شد. سپس در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و CO2 ۵٪، انکوبه شد. به منظور بررسی سرعت رشد جمعیت سلولی، سلول‌ها در روزهای ۳ و ۷ کشت، مورد شمارش قرار گرفتند. بدین ترتیب که سلول‌ها با تریپسین ۰/۲۵ درصد جدا شده و در یک میلی‌لیتر محیط کشت، به حالت سوسپانسیون درآمدند. ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی با حجم مساوی از رنگ متیلن بلو مخلوط و به کمک لام نئوبار در ۴ خانه‌ی ۱۶تایی شمارش شد. سپس افزایش سرعت رشد سلولی از طریق فرمول $[\log_{10}(NH)-\log_{10}(N1)]/\log_{10}2$ محاسبه گردید (۱۳). NH سلول‌های استحصال شده در روزهای ۳ و ۷ و N1 تعداد سلول‌های اولیه‌ی کشت داده شده می‌باشد. بررسی رشد و تکثیر سلولی، ۳ بار و به طور مستقل از یک منبع سلولی مشترک انجام گرفت.

آنالیز فلوسیتومتری با دستگاه فلوسیتومتری (Becton-

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

Dickinson, FACscan) ساخت کشور امریکا انجام شد. برای تأیید فنوتیپ سلول‌های مزانشیمی به وسیله‌ی روش فلوسیتومتری، سلول‌ها پس از تریپسینه شدن، با PBS شستشو داده و سپس با آنتی‌بادی منوکلونال متصل به PE (phycoerythrin) به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و در تاریکی انکوبه شدند. آنتی‌بادی‌های استفاده شده شامل CD90-PE، CD34-PE، CD105-PE و CD31-PE بودند.

برای بررسی عملکرد سلولی، تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده سلول‌های آدیپوسیتی و استئوبلاستی بررسی شد. محیط تمایزی استئوبلاستی شامل محیط کشت پایه L-DMEM، دگزامتازون (شرکت QIAGEN، آمریکا) با غلظت ۸ تا ۱۰ مولار، گلیسروفسفات ۱۰ میلی‌مولار و اسید اسکوربیک ۰/۰۵ گرم در دسی‌لیتر و محیط تمایزی آدیپوسیتی شامل محیط کشت پایه L-DMEM، دگزامتازون ۶ تا ۱۰ مولار و اسید اسکوربیک (Merck، آلمان) با غلظت ۰/۰۵ گرم در دسی‌لیتر بود. سپس ۱۰۴ سلول بنیادی مزانشیمی در پلیت ۱۲ خانه، کشت داده شد و سلول‌های تیمار شده، با محیط تمایزی حاوی ۱۰ درصد لیزات پلاکتی به مدت ۱۴ روز برای تمایز آدیپوسیتی و ۲۱ روز برای تمایز استئوبلاستی، کشت شدند. تعویض محیط، هفته‌ای ۲ بار با محیط تمایزی انجام شد.

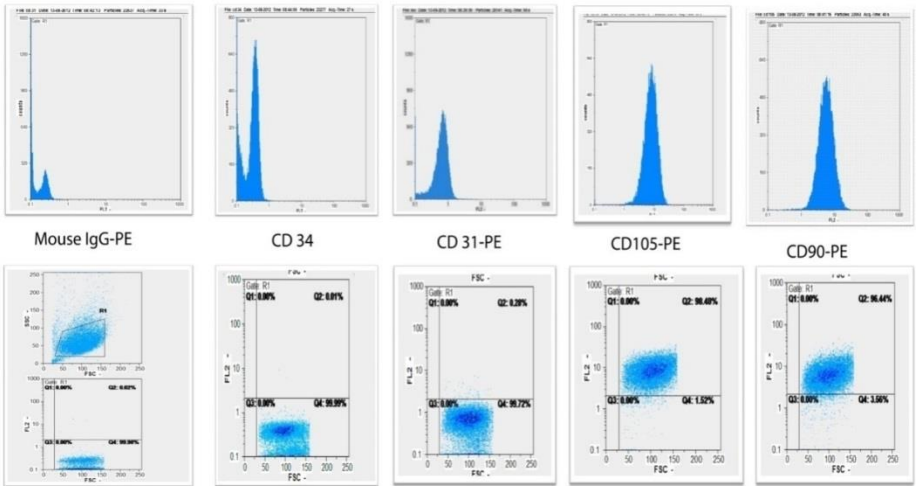
رنگ آمیزی Oil-Red O در روز ۱۴ تمایز آدیپوسیتی انجام شد. برای این منظور، سلول‌ها ابتدا با PBS شسته شده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه، با پارافرمالدئید ۴۰٪ فیکس شدند. پس از آن، عمل آب‌گیری با استفاده از ایزوپروپانل ۶۰٪ به مدت ۵ دقیقه، انجام گرفت. در نهایت، سلول‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در مجاورت محلول رنگ Oil-red O ۵٪ (در ایزوپروپانل ۹۹٪) رنگ شدند. سپس، سه بار با PBS شستشو داده شدند. سلول‌ها در زیر میکروسکوپ معکوس، از نظر واکوئل‌های چربی مورد بررسی قرار گرفتند.

در روز ۲۱ تمایز استئوبلاستی، رنگ آمیزی آلیزارین قرمز انجام شد. برای این منظور، سلول‌ها ابتدا با PBS شسته شده و به مدت ۲۰ دقیقه با پارافرمالدئید ۴۰٪ فیکس شدند. سپس، رنگ آمیزی با محلول آلیزارین قرمز یک درصد (در آب مقطر) به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. pH محلول، مورد سنجش قرار گرفت و به وسیله‌ی محلول سدیم هیدروکساید یک نرمال، به حدود ۴ تا ۴/۳ رسید. سپس سه بار با PBS شستشو انجام شد. سلول‌ها در زیر میکروسکوپ معکوس، از نظر رسوب قرمز کلسیم مورد بررسی قرار گرفتند.

در این مطالعه، از آزمون آماری t-studet test، برای مقایسه‌ی نتایج تکثیر سلولی در دو گروه آزمون و شاهد، استفاده شد. نتایج حاصل از ۳ بار تکرار و به صورت میانگین همراه با انحراف معیار (mean±SD) با سطح اطمینان ۹۵٪ ارایه شدند.

یافته‌ها

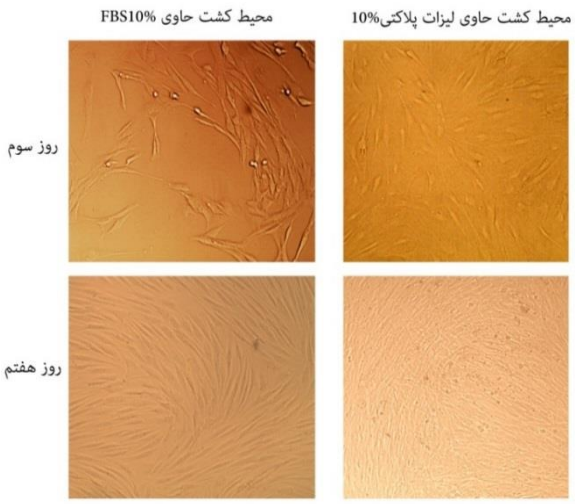
به منظور تأیید هویت سلول‌های بنیادی مزانشیمی از نظر فنوتیپی، آنالیز فلوسیتومتری روی سلول‌های پاساژ ۳ مورد استفاده در این پژوهش، انجام گرفت. نتایج حاصل، نشان‌دهنده‌ی بیان بالای مارکرهای CD90 و CD105 و بیان اندک مارکرهای CD31 و CD34 بود (شکل ۱).



شکل ۱. نتایج فلوسیتومتری سلول‌های بنیادی مزانشیمی پاساژ ۳. بیان مطلق CD90 و CD105 و بیان اندک CD31 و CD34 تأییدکننده‌ی فنوتیپ سلول‌های بنیادی مزانشیمی است.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

بررسی رشد و تکثیر سلولی. بررسی رشد و تکثیر سلول‌ها در دو گروه مجزا شامل سلول‌هایی که در مجاورت FBS ۱۰٪ و سلول‌هایی که با محیط حاوی لیزات پلاکتی ۱۰٪ کشت داده شده بودند، انجام شد (شکل ۱). تعداد سلول‌ها در روزهای ۳ و ۷، مورد شمارش قرار گرفت. نتایج حاصل از شمارش سلول‌ها در روزهای ۳ و ۷، در جدول ۱ نمایش داده شده است.

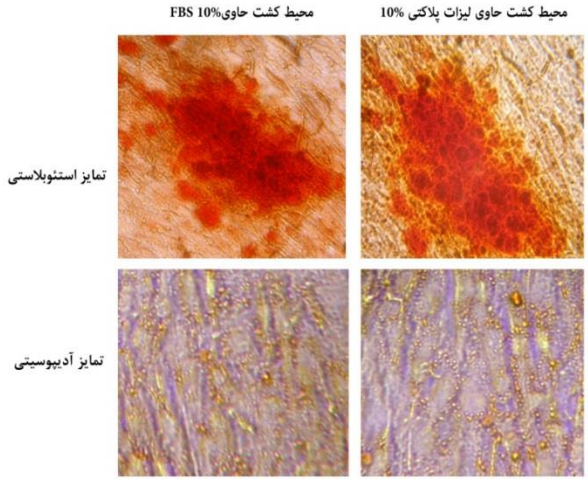


شکل ۲. مقایسه‌ی سرعت تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی در روزهای سوم و هفتم کشت سلولی.

جدول ۱. تعداد سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر حسب زمان‌های پیگیری و تفکیک محیط‌های کشت (P<۰/۰۰۱).

	تعداد سلول در هر میلی متر مکعب محیط کشت	
	حاوی FBS ۱۰٪	حاوی لیزات پلاکتی ۱۰٪
روز سوم	$۲\times۲۱۰^{۴}\pm۰/۲$	$۳\times۱۰^{۴}\pm۰/۳$
روز هفتم	$۵\times۱۰^{۴}\pm۰/۳$	$۸\times۱۰^{۴}\pm۰/۵$

بررسی تمایز استئوبلاستی و آدیپوسیتی. بررسی عملکرد سلولی با بررسی قدرت تمایزی سلول‌ها به رده‌های آدیپوسیتی و استئوبلاستی انجام شد. سلول‌های تمایز یافته‌ی آدیپوسیتی پس از رنگ آمیزی Oil Red-O در زیر میکروسکوپ معکوس مشاهده شدند و واکوئل‌های چربی به رنگ قهوه‌ای درآمدند. سلول‌هایی که در محیط حاوی لیزات پلاکتی، تمایز یافته بودند، همانند سلول‌هایی که در محیط حاوی FBS تمایز یافته بودند، رنگ شدند. سلول‌های تمایز یافته‌ی استئوبلاستی نیز با آلیزارین قرمز رنگ آمیزی شدند و در اینجا نیز سلول‌های تمایز یافته در محیط حاوی لیزات پلاکتی، به خوبی سلول‌های تمایز یافته در محیط حاوی FBS، رنگ گرفته بودند. سلول‌های تمایز یافته‌ی آدیپوسیتیی و استئوبلاستی در شکل ۳ نشان داده شده‌اند.



شکل ۳. تمایز استئوبلاستی و آدیپوسیتی سلول‌های MSC در دو مجاورت محیط سرم‌دار و محیط حاوی لیزات پلاکتی.

بحث

این مطالعه نشان داد که استفاده از لیزات پلاکتی در محیط کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی به دلیل افزایش سرعت رشد و تکثیر سلولی و کاهش زمان مجاورت سلول‌ها با شرایط خارج بدن، به عنوان جایگزین مناسب FBS می‌باشد. البته در مطالعات مشابه که اثر لیزات پلاکتی بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی بررسی شده، از حدود ۴۰ تا ۵۰ واحد کنسانتره پلاکتی استفاده شده است (۱۳)، ولی در مطالعه‌ی حاضر، با تعداد واحدهای کنسانتره پلاکتی محدودتر ولی با نتایج قابل قبول، کارایی لیزات پلاکتی در محیط کشت سلولی، مورد تأیید قرار گرفت. همچنین، با بررسی قدرت تمایزی سلول‌های بنیادی مزانشیمی در محیط کشت حاوی لیزات پلاکتی، کارآیی این سلول‌ها مورد تأیید قرار گرفت. در مطالعه‌ی حاضر، غلظت ۱۰٪ لیزات پلاکتی و FBS که به طور استاندارد برای کشت سلولی به کار می‌روند، مورد استفاده قرار گرفت (۱۴). هر چند مواد تشکیل دهنده‌ی FBS و لیزات پلاکتی بسیار متفاوت بوده و مقایسه را مشکل می‌کنند، ولی برای یکسان کردن شرایط دو گروه آزمایش، به ناچار از غلظت‌های یکسان استفاده گردید. لیزات پلاکتی در مقایسه با FBS، سرعت رشد سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مغز استخوان را ۲ برابر افزایش می‌دهد. البته در مطالعات قبلی، سرعت تکثیر سلول‌های جدا شده از بافت چربی نسبت به نمونه‌ی مغز استخوان، بیشتر گزارش شده است (۱۱ و ۱۵). به نظر می‌رسد اثر مثبت لیزات پلاکتی بر روی رشد و تکثیر سلولی و حفظ عملکرد آن، به دلیل ترکیب خاص مواد آزاد

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

شده از پلاکت‌ها به خصوص PDGF باشد (۱۸-۱۶). از دیگر فاکتورهای رشد موجود در لیزات پلاکتی باید به bFGF، TGF-β و IGF-1 اشاره کرد که دارای اثر رشد مثبت روی سلول‌های بنیادی مزانشیمی هستند (۲۱-۱۹). متأسفانه در مطالعه‌ی حاضر، بر خلاف مطالعات دیگر، سطح فاکتورهای رشد موجود در لیزات پلاکتی به دلیل محدویت منابع، اندازه‌گیری نشد ولی به دلیل افزایش سرعت رشد و تکثیر سلولی، احتمالاً میزان فاکتورهای رشد باید از سطح قابل‌قبولی برخوردار باشد. نکته‌ی دیگر در خصوص مزیت استفاده از لیزات پلاکتی، کاهش خطر انتقال عوامل بیماری‌زای ویروسی، پریون‌ها در مقایسه با FBS و همچنین وجود آنتی‌بادی‌های طبیعی علیه پروتئین‌های گزنوژنیک نظیر آنتی‌بادی علیه ان-گلیکوزیل‌نورامینیک اسید موجود در FBS می‌باشد (۲۴-۲۲). خطر بروز جهش و ترانسفرماسیون در تکثیر در شرایط آزمایشگاهی وجود دارد. در یک مطالعه با بررسی کاریوتایپ کروموزومی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی که در مجاورت FBS و لیزات پلاکتی تکثیر شده بودند، پس از ۱۲ پاساژ متوالی، تریزومی کروموزم ۲۱ در یکی از جمعیت‌های سلولی کشت داده شده در محیط کشت حاوی FBS مشاهده گردید، ولی در سلول‌هایی که در مجاورت لیزات پلاکتی تکثیر یافتند، هیچ‌گونه ناهنجاری کروموزومی مشاهده نشد (۲۵). بنابراین، استفاده‌ی بالینی از سلول‌های بنیادی مزانشیمی که در محیط‌های حاوی FBS تکثیر شده‌اند، خالی از خطر نمی‌باشد.

در مطالعه‌ی حاضر، برای تهیه‌ی لیزات پلاکتی از پروتوکل‌های مختلفی استفاده شد ولی متأسفانه به دلیل خاصیت انعقادی پلاکت‌ها، پس از تهیه‌ی لیزات پلاکتی و اضافه کردن آن به محیط کشت، انعقاد در محیط کشت مشاهده شد. در یک مطالعه، به منظور جلوگیری از این امر، استفاده از هپارین پیشنهاد شده بود (۲۶) که در مطالعه‌ی حاضر پس از استفاده از هپارین، مشکل بر طرف گردید. تهیه‌ی لیزات پلاکتی یک روش مقرون به صرفه بوده و می‌توان مقادیر فراوان آن را بدون مواجه شدن با مشکلات اخلاقی موجود در تهیه‌ی FBS، تهیه کرد.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد محیط کشت حاوی لیزات پلاکتی بهتر می‌تواند در تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی و همین‌طور در تمایز آنها به کار گرفته شود. از آنجا که مطالعه‌ی حاضر، نخستین تجربه از این دست در ایران بوده است، تحقیقات بیشتر را در این زمینه توصیه می‌کنیم.

REFERENCES

1. Kolf CM, Cho E, Tuan RS. Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation. Arthritis Res Ther 2007;9(1):204.

2. Haynesworth S, Barer M, Caplan A. Cell surface antigens on human marrow-derived mesenchymal cells are detected by monoclonal antibodies. Bone 1992;13(1):69–80.

3. Patel SA, Sherman L, Munoz J, Rameshwar P. Immunological properties of mesenchymal stem cells and clinical implications. Arch Immunol Ther Exp (Warsz) 2008;56(1):1–8.

4. Tarte K, Gaillard J, Lataillade JJ, Fouillard L, Becker M, Mossafa H, *et al*. Clinical-grade production of human mesenchymal stromal cells: occurrence of aneuploidy without transformation. Blood 2010;115(8):1549–53.

5. Kim N, Im KI, Lim JY, Jeon EJ, Nam YS, Kim EJ, *et al*. Mesenchymal stem cells for the treatment and prevention of graft-versus-host disease: experiments and practice. Ann Hematol 2013;92(10):1295–308.

6. Galipeau J. The mesenchymal stromal cells dilemma-does a negative phase III trial of random donor mesenchymal stromal cells in steroid-resistant graft-versus-host disease represent a death knell or a bump in the road? Cytotherapy 2013;15(1):2–8.

7. Bieback K, Hecker A, Kocaömer A, Lannert H, Schallmoser K, Strunk D, *et al*. Human alternatives to fetal bovine serum for the expansion of mesenchymal stromal cells from bone marrow. Stem Cells 2009;27(9):2331–41.

8. Crespo-Diaz R, Behfar A, Butler GW, Padley DJ, Sarr MG, Bartunek J, *et al*. Platelet lysate consisting of a natural repair proteome supports human mesenchymal stem cell proliferation and chromosomal stability. Cell Transplant 2011; 20(6):797–811.

9. Schallmoser K, Bartmann C, Rohde E, Reinisch A, Kashofer K, Stadelmeyer E, *et al*. Human platelet lysate can replace fetal bovine serum for clinical-scale expansion of functional mesenchymal stromal cells. Transfusion 2007; 47(8):1436–46.

10. Goedecke A, Wobus M, Krech M, Münch N, Richter K, Hölig K, *et al*. Differential effect of platelet-rich plasma and fetal calf serum on bone marrow-derived human mesenchymal stromal cells expanded in vitro. J Tissue Eng Regener Med 2011;5(8):648–54.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

11. Cholewa D, Stiehl T, Schellenberg A, Bokermann G, Joussen S, Koch C, *et al*. Expansion of adipose mesenchymal stromal cells is affected by human platelet lysate and plating density. Cell Transplant 2011;20(9):1409–22.

12. Horn P, Bokermann G, Cholewa D, Bork S, Walenda T, Koch C, *et al*. Impact of individual platelet lysates on isolation and growth of human mesenchymal stromal cells. Cytotherapy 2010;12(7):888–98.

13. Schallmoser K, Strunk D. Preparation of pooled human platelet lysate (pHPL) as an efficient supplement for animal serum-free human stem cell cultures. J Vis Exp 2009;32:1523.

14. Bernardo ME, Cometa AM, Pagliara D, Vinti L, Rossi F, Cristantielli R, *et al*. Ex vivo expansion of mesenchymal stromal cells. Best Pract Res Clin Haematol 2011;24(1):73–81.

15. Horn P, Bokermann G, Cholewa D, Bork S, Walenda T, Koch C, *et al*. Comparison of individual platelet lysates for isolation of human mesenchymal stromal cells. Cytotherapy 2010;12(7):888–98.

16. Ogino Y, Ayukawa Y, Kukita T, Koyano K. The contribution of platelet-derived growth factor, transforming growth factor-β1, and insulin-like growth factor-I in platelet-rich plasma to the proliferation of osteoblast-like cells. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontol 2006;101(6):724–9.

17. Huang Q, Wang YD, Wu T, Jiang S, Hu YL, Pei GX. Preliminary separation of the growth factors in platelet-rich plasma: effects on the proliferation of human marrow-derived mesenchymal stem cells. Chin Med J 2009;122(1):83–7.

18. Tokunaga A, Oya T, Ishii Y, Motomura H, Nakamura C, Ishizawa S, *et al*. PDGF receptor β is a potent regulator of mesenchymal stromal cell function. J Bone Miner Res 2008;23(9):1519–28.

19. Chieregato K, Castegnaro S, Madeo D, Astori G, Pegoraro M, Rodeghiero F. Epidermal growth factor, basic fibroblast growth factor and platelet-derived growth factor-bb can substitute for fetal bovine serum and compete with human platelet-rich plasma in the ex vivo expansion of mesenchymal stromal cells derived from adipose tissue. Cytotherapy 2011;13(8):933–43.

20. Doumit ME, Cook DR, Merkel RA. Fibroblast growth factor, epidermal growth factor, insulin-like growth factors, and platelet-derived growth factor-BB stimulate proliferation of clonally derived porcine myogenic satellite cells. J Cell Physiol 1993;157(2):326–32.

21. Ng F, Boucher S, Koh S, Sastry KS, Chase L, Lakshmipathy U, *et al*. PDGF, TGF-β, and FGF signaling is important for differentiation and growth of mesenchymal stem cells (MSCs): transcriptional profiling can identify markers and signaling pathways important in differentiation of MSCs into adipogenic, chondrogenic, and osteogenic lineages. Blood 2008;112(2):295–307.

22. Sundin M, Ringdén O, Sundberg B, Nava S, Götherström C, Le Blanc K. No alloantibodies against mesenchymal stromal cells, but presence of anti-fetal calf serum antibodies, after transplantation in allogeneic hematopoietic stem cell recipients. Haematologica 2007;92(9):1208–15.

23. Spees JL, Gregory CA, Singh H, Tucker HA, Peister A, Lynch PJ, *et al*. Internalized antigens must be removed to prepare hypoimmunogenic mesenchymal stem cells for cell and gene therapy. Mol Ther 2004;9(5):747–56.

24. Komoda H, Okura H, Lee CM, Sougawa N, Iwayama T, Hashikawa T, *et al*. Reduction of N-glycolylneuraminic acid xenoantigen on human adipose tissue-derived stromal cells/mesenchymal stem cells leads to safer and more useful cell sources for various stem cell therapies. Tissue Eng Part A 2009;16(4):1143–55.

25. Jonsdottir-Buch SM, Lieder R, Sigurjonsson OE. Platelet lysates produced from expired platelet concentrates support growth and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. PloS One 2013;8(7):e68984.

26. Lohmann M, Walenda G, Hemeda H, Joussen S, Drescher W, Jockenhoevel S, *et al*. Donor age of human platelet lysate affects proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells. PLoS One 2012;7(5):e37839.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]