

# ONDERZOEK NAAR DE OPTIMALE FORMULATIE VAN PLAATJESLYSAAT VOOR WONDGENEZING

Jos Lorinser<sup>1</sup>, Stéphanie Groot<sup>1</sup>,  
Anne-Marieke van Stalborch<sup>2</sup>, Jaap van Buul<sup>2</sup>,  
Thomas Klei<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sanquin Bloedbank, afdeling Product- en Proces Ontwikkeling, Amsterdam

<sup>2</sup>Sanquin Moleculaire en Cellulaire Hemostase, afdeling Moleculaire Celbiologie, Amsterdam

[j.lorinser@sanquin.nl](mailto:j.lorinser@sanquin.nl)

NVB presentatie 19 mei 2021

Jos Lorinser



# Disclosure

Geen 'disclosures'

# Achtergrond

Patiënten met de indicatie “extreem droge ogen” gebruiken humane serum oogdruppels (SED). AB serum donors zijn schaars en het product is relatief duur.

Er wordt gekeken naar groeifactorrijke alternatieven zoals plaatjes rijk plasma en plaatjeslysaat.

- Rol bloedplaatjes stolling
- Trombocytenconcentraat
- Bloedplaatjes kunnen gebruikt worden als bron van groeifactoren
  - Wondheling
    - Plaatjes rijk plasma (subcutane injectie of als een gel)
    - Plaatjeslysaat uit bv. trombocytenconcentraat of buffycoats

# Doel van deze studie

Het *in vitro* vergelijken van de groeibevorderende werking van verschillende formuleringen van plaatjeslysaat middels een Human Umbilical Vein Endothelial Cell proliferatie assay

# Producten en condities

## Producten:

- plaatjeslysaat in PAS-E® (65% PAS-E®, 35% plasma)
- plaatjeslysaat in plasma
- AB serum
- gefiltreerd serum (SED)

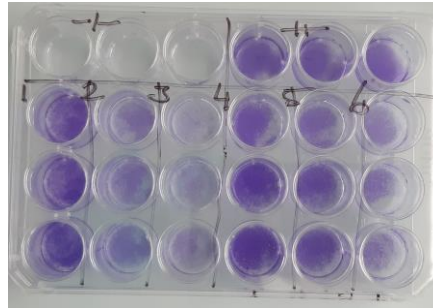


## Conditie:

- serum conversie (om stolling te voorkomen: additie van CaCl<sub>2</sub>)
- hitte inactivatie (complement inactivatie: 1 uur, 56°C)
- steriele filtratie en nano filtratie (sterilisatie)

# Methode

- Product concentratie van 20%, 10% en 2% in groeimedium zonder Fetal Calf Serum (FCS)
- Positieve controle: groeimedium met groeifactoren en 2% FCS
- Negatieve controle: groeimedium zonder groeifactoren en zonder FCS (basaal medium)
- In triplo in 24-wells platen met  $1 \times 10^4$  cellen per well

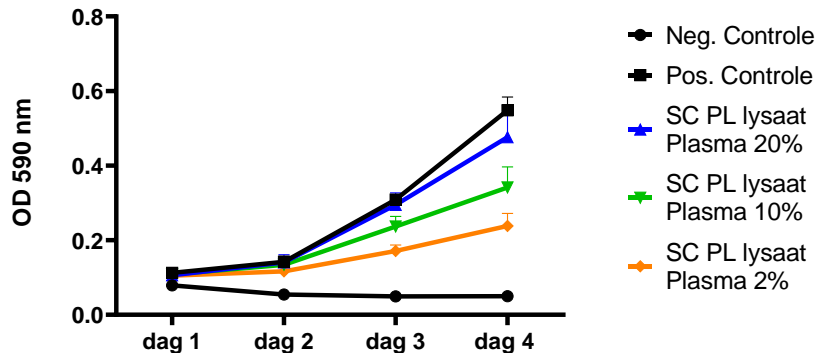


De proliferatie werd gemeten op dag 1, 2, 3 en 4 na uitzaaien van de cellen.  
Gehechte cellen werden:

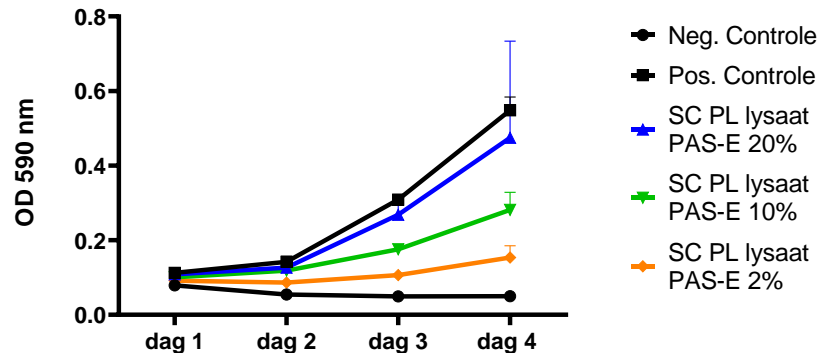
- gekleurd met 0.5% Crystal Violet
- gelyseerd met 2% Sodium Dodecyl Sulphate
- absorptie gemeten bij 590 nm.

# Resultaten

Proliferatie met plaatjeslysaat (PL) in plasma serum geconverteerd (SC)

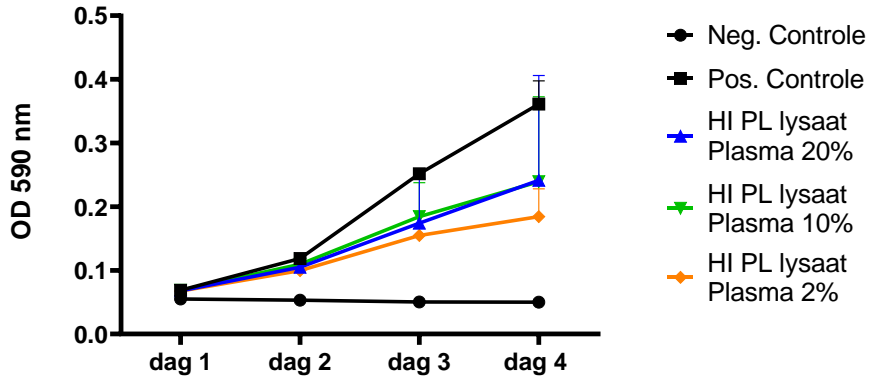


Proliferatie met plaatjeslysaat (PL) in PAS-E serum geconverteerd (SC)

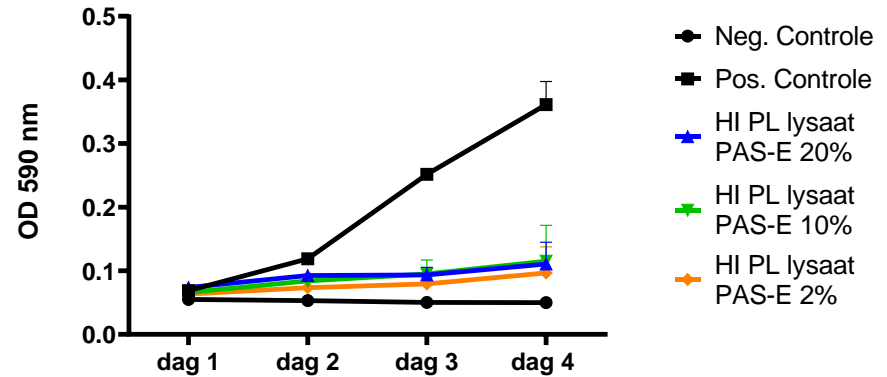


# Resultaten

Proliferatie met plaatjeslysaat (PL) in plasma hitte geïnactiveerd (HI)



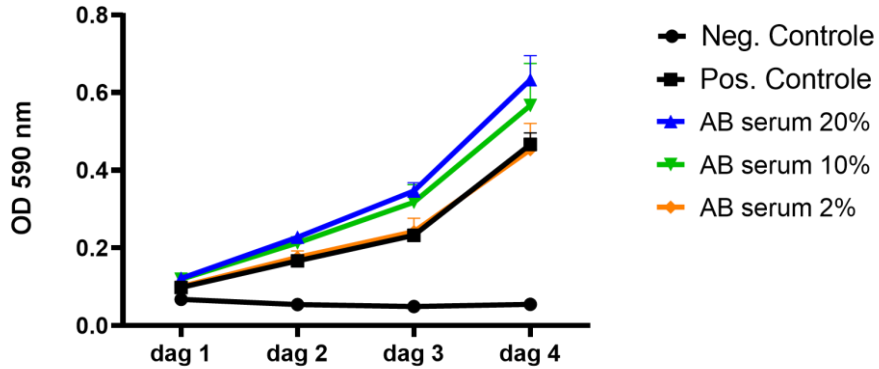
Proliferatie met plaatjeslysaat (PL) in PAS-E hitte geïnactiveerd (HI)



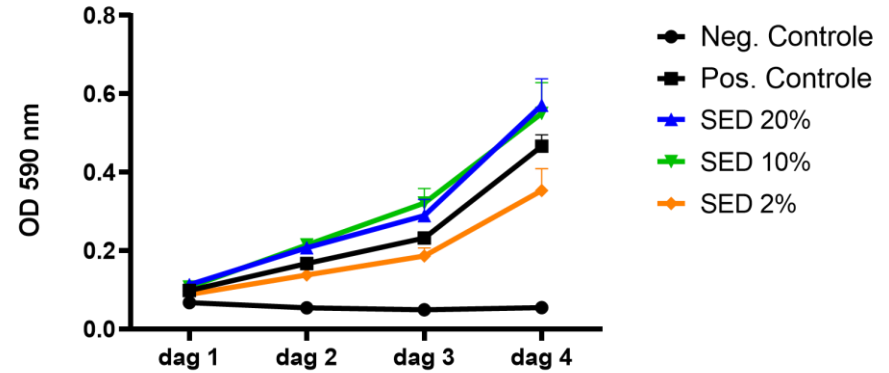


# Resultaten

## Proliferatie met AB serum



## Proliferatie met gefiltreerd AB serum (SED)



# Conclusie

- Met de proliferatietest is een reproduceerbaar model ontwikkeld om de groeibevorderende werking van plaatjeslysaat op HUVEC te testen.
- Er is een directe en reproduceerbare werkzaamheid gemeten bij alle verdunningen.
- De hoogste proliferatie werd geïnduceerd met de 20% concentraties van de geteste plaatjeslysaat producten.
- Inactivatie van complement (hitte inactivatie) gaat gepaard met een verslechterde proliferatie capaciteit, vooral in combinatie met PAS-E®.
- Steriele filtratie (SED vs. AB serum) leidt niet tot een verslechterde proliferatie capaciteit.