

O-YD07: NGHIÊN CỨU THU NHẬN TẾ BÀO VÀ KHUNG NGOẠI BÀO TỪ DÂY RÓN ĐỊNH HƯỚNG ỨNG DỤNG TRONG Y HỌC TÁI TẠO

Lê Thị Vĩ Tuyết^{1,2}, Nguyễn Thị Ngọc Mỹ^{1,2}, Hoàng Thị Diễm Tuyết³, Đỗ Xuân Trường⁴, Trần Lê Bảo Hà^{1,2}

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Thành phố Hồ Chí Minh

²Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

³Bệnh viện Hùng Vương, Thành phố Hồ Chí Minh

⁴Bệnh viện Thẩm mỹ Xuân Trường, Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Dây rốn có chứa các tế bào gốc trung mô (UC-MSC), có khả năng biệt hóa thành các tế bào khác nhau trong cơ thể và chứa khung ngoại bào (UC-ECM) giàu cytokine, yếu tố tăng trưởng giữ vai trò quan trọng trong y học tái tạo và kỹ nghệ mô. Nghiên cứu được thực hiện nhằm thu nhận đồng thời UC-MSC và UC-ECM của cùng một dây rốn. Việc phân lập tế bào được thực hiện bằng phương pháp nuôi cấy mảnh mô và khử tế bào để thu nhận khung ngoại bào bằng các chu kỳ đông lạnh - rã đông (1, 3, 5, 7, 10 chu kỳ). Hình thái tế bào được ghi nhận suốt quá trình nuôi cấy, tiềm năng biệt hóa tạo xương của tế bào được đánh giá. Bên cạnh đó, việc định lượng ADN mẫu dây rốn khử tế bào được tiến hành nhằm khẳng định hiệu quả của các phương pháp thu nhận. Kết quả cho thấy, các tế bào sau thu nhận có khả năng, bám dính và tăng sinh từ ngày 7 của quá trình nuôi cấy và những đặc tính này trở nên rõ hơn vào ngày 14 và ngày 21. Các UC-MSC bắt màu với thuốc nhuộm Alizarin Red vào ngày 14 và ngày 21 của quá trình nuôi cấy ứng biệt hóa. Đối với UC-ECM, nồng độ ADN tồn đọng trong những mẫu mô xử lý đông lạnh - rã đông đều thấp hơn ở mẫu mô chưa xử lý. Trong đó, chỉ những mô được khử tế bào bởi quy trình 7, 10 chu kỳ có nồng độ ADN tồn đọng phù hợp với tiêu chuẩn mô vô bào (< 50 ng/mg, P-value < 0,05). Nghiên cứu thành công trong việc khẳng định hiệu quả thu nhận UC-MSCs bằng nuôi cấy mảnh mô và UC-ECM bằng đông lạnh - rã đông với số lượng chu kỳ phù hợp (7, 10 chu kỳ). Kết quả nghiên cứu là tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng những sản phẩm này trong y học tái tạo hay kỹ nghệ mô.

Từ khóa: Dây rốn, đông lạnh - rã đông, khung ngoại bào, phân lập tế bào, quá trình khử tế bào, sự biệt hóa.

ISOLATION OF UMBILICAL CORD-DERIVED CELLS AND EXTRACELLULAR MATRIX TOWARDS THE REGENERATIVE MEDICINE APPLICATIONS

Tuyet Thi Vi Le^{1,2*}, My Thi Ngoc Nguyen^{1,2}, Tuyet Thi Diem Hoang³, Truong Xuan Do⁴, Ha Le Bao Tran^{1,2}

¹ University of Science, Ho Chi Minh City

² Vietnam National University, Ho Chi Minh City

³ Hung Vuong Hospital, Ho Chi Minh City

⁴ Xuan Truong Paradise Plastic Aesthetic, Ho Chi Minh City

SUMMARY

The umbilical cord contains mesenchymal stem cells (UC-MSCs), which can differentiate into different cells, and growth factors and cytokines-rich extracellular matrix (UC-ECM). These components play an important role in regenerative medicine and tissue engineering. This study was conducted to simultaneously collect UC-MSC and UC-ECM of the same umbilical cord. The operations of umbilical cord tissue culture and decellularization by freezing-thawing cycles (1, 3, 5, 7, 10 cycles) were performed to collect UC-MSCs and UC-ECM, respectively. Cell characteristics were observed by microscopy during culture time. The osteogenic differentiation potency was determined with Alizarin Red staining for 21 days. ADN quantification of the umbilical cord was conducted to confirm the effectiveness of decellularized methods. The results showed that collected cells by tissue culture method were able to migrate, attach and proliferate on the surface of the culture plate from day 7 of the culture time and these characteristics became more apparent on day 14 and day 21. The UC-MSCs stained with Alizarin Red dye on day 14 and day 21 of the induction differentiation time. For UC-ECM, the concentration of residual ADN was different among the treatment groups. The concentrations of residual ADN in the treated samples were lower than the untreated samples. The residual ADN concentrations of decellularized samples of 7 and 10 freezing-thawing cycles were suitable for the acellular tissue standard (< 50 ng/mg, P-value < 0.05). The study was successful in confirming the efficiency of UC-MSCs isolation by tissue culture and UC-ECM collection by freezing-thawing methods with appropriate numbers of repetition cycles (7, 10 cycles). The results of this study are prerequisites for research of individual or combinative products in regenerative medicine and tissue engineering.

Keywords: Cell isolation, Decellularization, Differentiation, Extracellular matrix, Freeze-thaw cycle, Umbilical cord.

* Author for correspondence: Tel: +84-936738303; Email: lvtuyet@hcmus.edu.vn