

THU NHẬN VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC ĐỘNG CỦA GEL HUYẾT TƯƠNG GIÀU TIỂU CẦU LÊN TẾ BÀO NỘI MẠC TỬ CUNG NGƯỜI *IN VITRO*

Lê Thị Vĩ Tuyết^{1,2,3*}, Phan Thị Hiếu Nghĩa^{1,2,3}, Hoàng Thị Diễm Tuyết⁴, Trần Lê Bảo Hà^{1,2,3}

¹Bộ môn Sinh lý học và Công nghệ sinh học Động vật, Khoa sinh học – Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

²Phòng Thí nghiệm Kỹ nghệ mô và Vật liệu Y sinh, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

³Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Bệnh viện Hùng Vương, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

TÓM TẮT

Tế bào nội mạc tử cung người (hEnSCs) giữ vai trò quan trọng trong quá trình tái tạo liên quan đến chu kỳ kinh nguyệt tự nhiên hoặc các bệnh lý rối loạn chức năng tử cung. Mục tiêu của nghiên cứu là thu nhận thành công gel huyết tương giàu tiểu cầu (PRP gel) với khả năng phóng thích các yếu tố tăng trưởng (GFs) và đánh giá vai trò của nó lên sự sinh trưởng của hEnSCs. Theo đó, PRP gel được thu nhận và đánh giá nồng độ các GFs (PDGF-AB và VEGF-A) từ dịch chiết sau 1, 3 và 7 ngày ủ ở 37°C. Chế phẩm này tiếp tục được đánh giá ảnh hưởng lên sự tăng sinh và di cư của hEnSCs thông qua các thử nghiệm MTT, di cư vào vết rạch và di cư vào khối PRP gel. Kết quả cho thấy rằng, PRP gel có khả năng phóng thích PDGF-AB và VEGF-A. Tuy vậy, tốc độ phóng thích các yếu tố tăng trưởng này khác nhau. Nồng độ PDGF-AB bắt đầu được ghi nhận từ dịch chiết sau 1 ngày ủ ấm ($2150,33 \pm 11,07$ pg/mL) và có xu hướng giảm dần sau đó. Trong khi ở VEGF-A, tín hiệu phóng thích bắt đầu vào 7 ngày ($67,00 \pm 6,71$ pg/mL). Ngoài ra, dịch chiết từ PRP gel thúc đẩy tăng sinh và di cư vào vết rạch của hEnSCs. Tuy vậy, không quan sát thấy tế bào di cư vào sâu trong khối PRP gel sau 3 ngày đồng nuôi cấy. Từ các kết quả trên có thể nhận định rằng, PRP có khả năng phóng thích các GFs liên quan đến quá trình tái tạo mô đồng thời thúc đẩy quá trình tăng sinh và di cư của các tế bào nội mạc tử cung ở người. Chế phẩm PRP có tiềm năng ứng dụng điều trị các bệnh lý liên quan tái tạo nội mạc tử cung. Tuy nhiên, dạng tồn tại của chế phẩm cần được nghiên cứu thêm nhằm tối ưu hiệu quả điều trị.

Từ khóa: Gel, huyết tương giàu tiểu cầu, tái tạo, tế bào nội mạc tử cung, yếu tố tăng trưởng.

MỞ ĐẦU

Nội mạc tử cung, lớp lót bên trong tử cung, là cấu trúc mô đặc biệt trải qua những thay đổi liên tục trong suốt chu kỳ kinh nguyệt để đáp ứng với sự điều hòa của nội tiết tố. Những thay đổi này rất cần thiết để phối hợp làm tổ thành công và dẫn đến sự mang thai sau đó. Quá trình tái cấu trúc nội mạc tử cung đặc trưng bởi hoạt động của các tế bào mô đệm nội mạc tử cung (hEnSCs) bao gồm sự tăng sinh, di cư và biệt hóa (Gellersen, Brosens, 2014). Sự bất thường của các hoạt động này có liên quan đến các rối loạn sinh sản khác nhau, chẳng hạn như lạc nội mạc tử cung, sảy thai và vô sinh. Mặc dù quá trình tái tạo nội mạc tử cung bao gồm các hoạt động của hEnSCs phụ thuộc vào hormone sinh dục nhưng các yếu tố tăng trưởng lại giữ vai trò quan trọng trong việc điều hòa quá trình này (Guzeloglu-Kayisli et al., 2009). Do đó, các liệu pháp bổ sung yếu tố tăng trưởng dần được quan tâm trong nghiên cứu liệu pháp điều trị các bệnh lý nội mạc tử cung.

Huyết tương giàu tiểu cầu (PRP) đã được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực lâm sàng khác nhau, bao gồm chỉnh hình, nhãn khoa và da liễu. Trong quá trình sửa chữa mô, tiểu cầu được kích hoạt nhằm mục đích kháng viêm, thúc đẩy di cư tế bào, tái cấu trúc chất nền ngoại bào, tăng sinh, biệt hóa tế bào và thúc đẩy sự hình thành mạch máu. Do đó, PRP được sử dụng tại vị trí tổn thương mô để sửa chữa, tái tạo mô trong các bệnh lý khác nhau. Trong sản phụ khoa, PRP gần đây đã được nghiên cứu để điều trị suy giảm chức năng nội mạc tử cung và buồng trứng ở phụ nữ vô sinh. Nhiều nghiên cứu đã báo cáo tác dụng điều trị của việc bơm PRP chưa hoạt hóa (nA-PRP) vào buồng tử cung, giúp tăng độ dày nội mạc tử cung và cơ hội làm tổ của phôi (Allahveisi et al., 2020). Tuy vậy, cũng còn một số tranh cãi bởi một số công bố không ghi nhận được hiệu quả tác động (Javaheri et al., 2020). Ở Việt Nam, một số thử nghiệm lâm sàng cũng được công bố trên các tạp chí khoa học trong nước nhằm đánh giá vai trò PRP trong hỗ trợ tái tạo nội mạc tử cung. Tuy vậy, cũng trên đối tượng bệnh nhân mỏng nội mạc tử cung và có tiền sử thất bại làm tổ phôi, trong khi nhóm nghiên cứu của Nguyễn Thanh Tùng và cộng sự (2020) khẳng định được hiệu quả PRP thông qua khả năng cải thiện độ dày nội mạc và khả năng mang thai thì Nguyễn Huyền Minh Thụy và cộng sự (2020) lại có ghi nhận ngược lại (Nguyễn Huyền Minh Thụy et al., 2020, Nguyen

Thanh et.al., 2022, Nguyễn Thanh Tùng et.al., 2020). Bên cạnh đó, các chế phẩm từ PRP cũng chưa được nghiên cứu và ứng dụng nhiều trong lĩnh vực này.

Trong nghiên cứu này, chế phẩm PRP dạng gel được nghiên cứu và đánh giá tiềm năng *in vitro* thông qua tác động lên dòng tế bào nội mạc tử cung. Nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học cho việc ứng dụng chế phẩm này trong điều trị bệnh lý liên quan đến tái tạo nội mạc tử cung.

VẬT LIỆU – PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Tế bào nội mạc tử cung được cung cấp bởi ATCC (hEnSC, ATCC No. CRL-4003), được nuôi cấy trong môi trường (M+): DMEM/F12 (Sigma, USA) có bổ sung 1,5 g/L sodium bicarbonate (Sigma, USA), 10% huyết thanh bào thai bò (FBS) được xử lý charcoal/dextran (HyClone, USA), 1% ITS+ Premix (BD, USA) và 500 ng/mL puromycin (Sigma, USA).

Máu ngoại vi được thu từ người tình nguyện khỏe mạnh, trong độ tuổi sinh sản và có kết quả xét nghiệm máu âm tính với HIV, HBV, HCV và BW. Việc thu nhận máu ngoại vi người được tiến hành và thông qua bởi Hội đồng Y đức (số: 2395/GCN-BVHV, cấp ngày 15/09/2019) của Bệnh viện Hùng Vương.

Thu nhận PRP gel và dịch chiết từ PRP gel

Để chuẩn bị PRP gel, 8,5 mL máu ngoại vi người được thu nhận vào ống lấy máu chứa 1,5 mL ACD (Acid Citrate Dextrose) (BD Vacutainer, USA). Ống máu được ly tâm (Hettich, Đức) với tốc độ 3.500 vòng/phút, trong 3 phút và phân đoạn huyết tương được thu nhận vào một ống ly tâm mới (Nunc, USA). Ống này được ly tâm với tốc độ 3.000 vòng/phút, trong 22 phút để thu nhận 1/3 dịch huyết tương với cặn tiểu cầu ở lớp đáy. Huyền phù hỗn hợp này được gọi là huyết tương giàu tiểu cầu chưa hoạt hóa (nA-PRP). Để hoạt hóa tiểu cầu, dung dịch 230 mM CaCl_2 (Sigma, USA) được bổ sung vào nA-PRP theo tỷ lệ tương ứng 1:9. PRP gel được hình thành khi hỗn hợp này được ủ ở 37°C.

Dịch chiết từ PRP gel được thu nhận cho các đánh giá nồng độ yếu tố tăng trưởng và tác động lên tế bào nội mạc tử cung. Quy trình thu nhận dịch chiết tuân thủ hướng dẫn theo ISO 10993-12. Theo đó, gel PRP được ngâm trong môi trường cơ bản M- (môi trường M+ không chứa huyết thanh) với tỷ lệ 0,1 g/mL (w:v) ở 37°C, 5% CO_2 (Panasonic, Nhật Bản).

Đánh giá nồng độ PDGF-AB và VEGF-A bằng ELISA

Dịch chiết PRP được thu nhận tại các thời điểm sau 1 ngày, 3 ngày và 7 ngày ủ PRP gel sẽ được nạp vào đĩa ELISA của các yếu tố tăng trưởng PDGF-AB (RAB0396, Sigma, USA) và VEGF-A (RAB0507, Sigma, USA). Đĩa được ủ qua đêm ở 4°C (Panasonic, Nhật Bản). Kháng thể được bổ sung vào các giếng ngay sau đó, ủ và lắc nhẹ 60 phút ở nhiệt độ phòng. Tiếp theo, dung dịch HRP-Streptavidin được thay vào các giếng, ủ và lắc nhẹ 45 phút ở nhiệt độ phòng. Thuốc thử TMB được bổ sung vào các giếng trong 30 phút ở nhiệt độ phòng và dung dịch STOP được sử dụng để dừng phản ứng. Cuối cùng, kết quả được ghi nhận ở bước sóng 450 nm bởi máy đọc đĩa 96 giếng (Biochrom ASYS, United Kingdom).

Nuôi cấy tế bào nội mạc tử cung

Tế bào nội mạc tử cung được nuôi cấy trong môi trường M+, môi trường được thay sau mỗi 2-3 ngày. Sau khi tế bào che phủ được trên 80% bề mặt đĩa nuôi, các tế bào được tách khỏi bề mặt đĩa nuôi bằng 0,25% Trypsin/EDTA (Sigma, USA) và ly tâm 3.000 vòng/phút trong 5 phút. Cặn tế bào được thu nhận và tiến hành cấy chuyển hoặc bảo quản đông lạnh (10% DMSO) (Sigma, USA).

Đánh giá khả năng tăng sinh tế bào nội mạc tử cung (hEnSCs) bằng thử nghiệm MTT

Dịch chiết PRP sau 1 ngày ủ PRP gel sẽ được sử dụng để đánh giá khả năng tác động lên sự tăng sinh của các tế bào hEnSCs. Thử nghiệm MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-yl]-2,5-diphenyltetrazoliumbromide) (Sigma, USA) được thực hiện. Theo đó, 100 μL hEnSCs được cấy vào đĩa 96 giếng (Nunc, USA) với 10^4 tế bào/giếng và được ủ ở 37°C, 5% CO_2 qua đêm. Sau đó, môi trường M- được bổ sung với dịch chiết PRP (10%) được thay vào giếng nhằm khảo sát tác động của PRP lên sự tăng sinh tế bào. Môi trường M+ và M- được sử dụng tương ứng là đối chứng dương và đối chứng âm. Các thời điểm đánh giá bao gồm sau 1, 3, 5 và 7 ngày nuôi cấy. Tại đó, 100 μL của 0,5 mg/mL MTT được bổ sung vào đĩa và ủ ở 37°C, 5% CO_2 trong 4 giờ. Cuối cùng, MTT được loại bỏ và 100 μL DMSO:Ethanol (1:1) (Sigma, USA) được bổ sung. Kết quả được ghi nhận ở bước sóng 570 nm.

Đánh giá khả năng di cư của tế bào nội mạc tử cung vào vết rạch

Để đánh giá khả năng di cư vào vết rạch của các tế bào hEnSCs, các tế bào này được cấy vào đĩa 6 giếng (Nunc, USA) với mật độ 10^5 tế bào/giếng và nuôi cấy đến khi độ bao phủ của tế bào trên bề mặt đĩa nuôi đạt trên 80%. Sau đó, vết rạch được tạo trên lớp đơn tế bào. Dịch chiết 10% PRP được bổ sung vào đĩa nuôi để đánh giá tác động lên sự di cư của hEnSCs. Môi trường M+ và M- được sử dụng là đối chứng dương và đối chứng âm. Sau 24 giờ thực hiện liệu pháp, hình ảnh tế bào (Olympus, Nhật Bản) và diện tích che phủ vào vết rạch của tế bào được ghi nhận (phần mềm ImageJ).

Đánh giá khả năng di cư của tế bào nội mạc từ cung vào khối PRP gel

100 μ L dịch huyền phù tế bào hEnSCs với số lượng 5×10^4 tế bào được bổ sung lên trên bề mặt PRP gel đã được đặt vào đĩa 96 giếng (Nunc, USA) trước đó. Đĩa nuôi được ủ ở 37°C , 5% CO_2 . Việc đánh giá khả năng di cư của tế bào vào PRP gel được thực hiện bằng cách cố định gel với 4% paraformaldehyde (Sigma, USA), cắt lát và nhuộm mô học (hematoxylin & eosin). Hình ảnh di cư của tế bào vào PRP gel được ghi nhận tại các mốc thời gian sau 1, 2 và 3 ngày nuôi cấy.

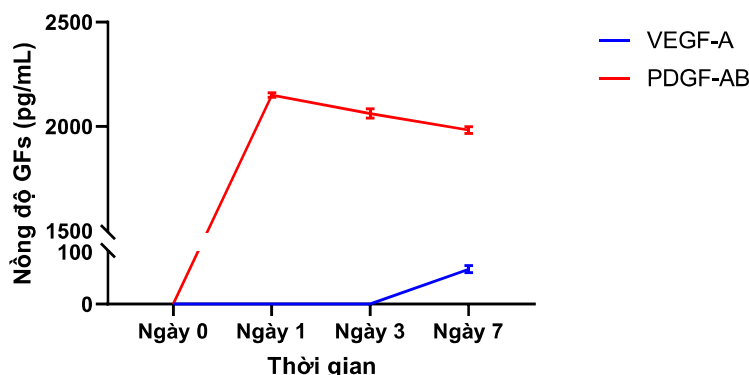
Xử lý thống kê

Phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm GraphPad Prism 9. Kết quả được biểu thị bằng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn (Mean \pm SD). Giá trị $p < 0,05$ được coi là khác biệt có ý nghĩa thống kê.

KẾT QUẢ

Kết quả đánh giá nồng độ PDGF-AB và VEGF-A bằng ELISA

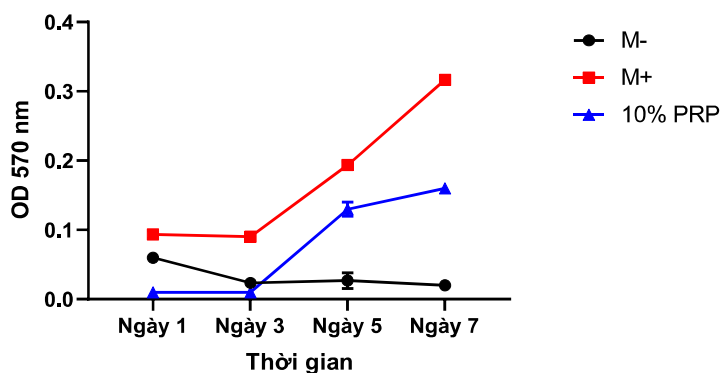
Khả năng phóng thích các GFs bao gồm PDGF-AB và VEGF-A từ PRP gel được thực hiện thông qua việc định lượng nồng độ của chúng ở dịch chiết gel tại các mốc thời gian cố định bao gồm sau 1, 3 và 7 ngày ủ. Kết quả cho thấy rằng, PRP gel có khả năng phóng thích cả hai yếu tố tăng trưởng (**Hình 1**). Tuy nhiên, tốc độ phóng thích của chúng khác nhau. Cụ thể, ở PDGF-AB, khả năng phóng thích cao nhất sau 1 ngày, đạt $2150,33 \pm 11,07$ pg/mL và có xu hướng giảm dần theo thời gian xuống còn $1982,50 \pm 15,91$ pg/mL sau 7 ngày ($p < 0,05$). Khác với PDGF-AB, thời điểm ghi nhận được tín hiệu phóng thích VEGF-A muộn hơn, vào cuối quá trình khảo sát và nồng độ GF này là $67,00 \pm 6,71$ pg/mL.



Hình 1. Đồ thị thể hiện nồng độ PDGF-AB và VEGF-A theo thời gian

Kết quả đánh giá khả năng tăng sinh tế bào nội mạc từ cung (hEnSCs) bằng thử nghiệm MTT

Kết quả thử nghiệm MTT chỉ ra rằng, PRP có khả năng kích thích tăng sinh tế bào hEnSCs (**Hình 2**). Tuy vậy, hiệu quả kích thích tăng sinh chậm, được ghi nhận tại thời điểm sau 5 ngày nuôi cấy và tiếp tục gia tăng kích thích đến ngày 7 ($p < 0,05$). Mặt khác, khi so sánh hiệu quả tác động của môi trường bổ sung 10% PRP so với bổ sung 10% FBS (M+), có thể thấy FBS (10%) có hiệu quả kích thích sinh trưởng tế bào cao hơn ($p < 0,05$).

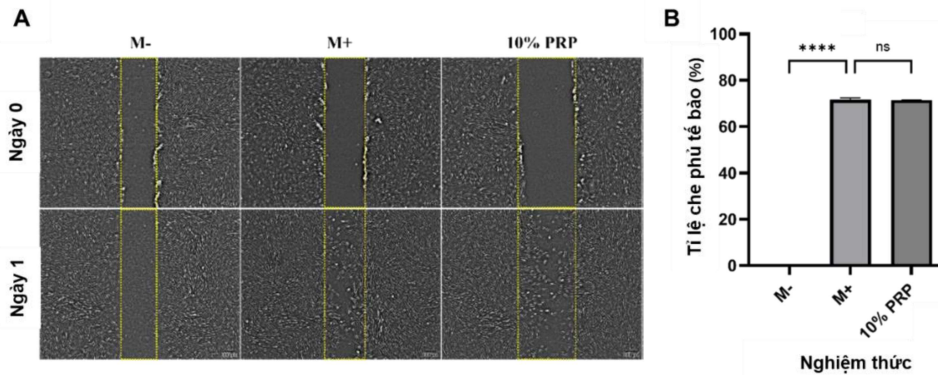


Hình 2. Đồ thị thể hiện khả năng tăng sinh của tế bào trong các môi trường theo thời gian

M-: Đối chứng âm, M+: Đối chứng dương.

Kết quả đánh giá khả năng di cư của tế bào nội mạc tử cung vào vết rạch

Thử nghiệm mô phỏng vết thương được thực hiện bằng cách tạo một vết rạch trên lớp đơn tế bào được nuôi cấy *in vitro* nhằm mục đích xác định khả năng di cư của hEnSC. Kết quả cho thấy, có sự di cư của tế bào vào vùng tổn thương ở nghiệm thức 10% PRP sau 1 ngày nuôi cấy, hiện tượng này được quan sát tương tự ở nhóm đối chứng dương (10% FBS). Không quan sát được sự di cư tế bào ở nhóm đối chứng âm (**Hình 3A**). Kết quả thống kê cũng chỉ ra rằng, tỷ lệ bao phủ của tế bào tại vị trí mô phỏng tổn thương không khác biệt giữa nghiệm thức 10% PRP ($71,47 \pm 0,08\%$) và đối chứng dương ($71,57 \pm 0,82\%$) ($p > 0,05$) (**Hình 3B**).

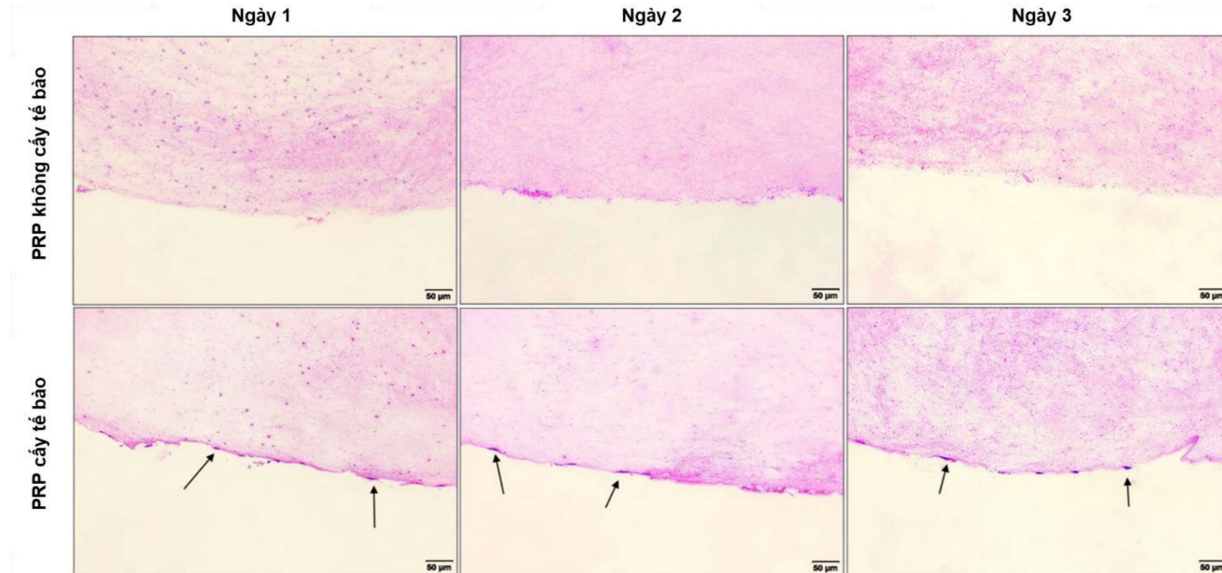


Hình 3. Kết quả di cư của tế bào hEnSCs vào vết rạch ở các nghiệm thức

A. Hình ảnh tế bào; B. Đồ thị thể hiện tỷ lệ che phủ tế bào vào vết rạch M-: Đối chứng âm, M+: Đối chứng dương, ns: Không khác biệt.

Kết quả đánh giá khả năng di cư của tế bào nội mạc tử cung vào khối PRP gel

Kết quả đánh giá khả năng di cư của hEnSCs vào khối PRP gel cho thấy rằng, chỉ có thể quan sát được tế bào bám dính trên bề mặt của PRP gel theo thời gian. Tế bào được ghi nhận là không có khả năng di cư vào sâu trong khối gel sau 3 ngày quan sát (**Hình 4**).



Hình 4. Kết quả đánh giá khả năng di cư của tế bào vào PRP gel theo thời gian

Mũi tên đen: Tế bào hEnSCs.

THẢO LUẬN

Huyết tương giàu tiểu cầu (PRP) được biết đến là vật liệu tái tạo mô. Một vài nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng, PRP thường được sử dụng ở trạng thái chưa hoạt hóa (nA-PRP) trong điều trị các bệnh lý liên quan đến tái tạo nội mạc tử cung. Nghiên cứu này đề xuất đánh giá vai trò của PRP gel, một trong những chế phẩm ở trạng thái đã hoạt hóa, lên tế bào nội mạc tử cung từ đó làm cơ sở cho các nghiên cứu sâu hơn ở mô hình động vật hoặc trên lâm sàng.

PDGF-AB và VEGF-A là hai yếu tố giữ vai trò quan trọng thúc đẩy sự tăng sinh, hình thành mạch máu mới trong quá trình tái tạo nội mạc tử cung theo chu kỳ (Guo et.al., 2021). Kết quả của nghiên cứu này cho thấy PRP gel có khả năng phóng thích cả hai yếu tố tăng trưởng là PDGF-AB và VEGF-A. Trong đó, thời gian ghi nhận bắt đầu có sự phóng thích VEGF-A muộn hơn so với PDGF-AB. Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng, VEGF-A có ái lực gắn kết cao với fibrin và fibrinogen, cũng như thời gian bán hủy dài hơn so với PDGF-AB. Những đặc điểm này có thể góp phần làm chậm thời gian phóng thích VEGF-A trong thời gian khảo sát và cũng là đặc điểm giúp VEGF-A phóng thích kéo dài hơn (Wang et.al., 2022). Bên cạnh đó, PRP gel khẳng định được hiệu quả thúc đẩy tăng sinh và di cư vào vết rạch khi tác động lên dòng tế bào nội mạc tử cung. Điều này một lần nữa khẳng định rằng, các yếu tố tăng trưởng từ PRP gel được phóng thích ra môi trường bên ngoài và có tác động lên tế bào nội mạc tử cung, dòng tế bào đã được chứng minh là biểu hiện thụ thể đặc hiệu của các yếu tố tăng trưởng này (Zhang et.al., 2020). Tuy nhiên, thử nghiệm đánh giá khả năng di cư qua PRP gel của tế bào hEnSCs khẳng định tế bào này không thể di cư vào sâu trong khối gel sau 3 ngày. Khẳng định này tương tự với một công bố của Sadeghi-Ataabadi và cộng sự năm 2017 khi khảo sát sự di cư của các tế bào gốc trung mô dây rốn với nồng độ $CaCl_2$ trong gel hóa PRP là 2,5% (gần như tương đồng với nghiên cứu này) (Sadeghi-Ataabadi et.al., 2017). Việc tế bào không thể di chuyển vào sâu bên trong PRP gel được lý giải bởi đặc tính cơ học của sợi fibrin được tạo ra bằng các hoạt hóa nA-PRP trong $CaCl_2$ (Carr Jr, Carr, 1995).

Có thể thấy rằng, PRP gel không phù hợp khi sử dụng như giá thể giúp làm dày trong quá trình di cư tái tạo nội mạc tử cung. Ngoài ra, hoạt tính của PRP gel trong kích thích tăng sinh tế bào nội mạc tử cung còn hạn chế so với huyết thanh bào thai bò (FBS). Do đó, việc nghiên cứu thêm chế phẩm từ PRP để gia tăng hoạt tính và đạt trạng thái dễ dàng ứng dụng hiệu quả là điều cần thiết trong tương lai.

KẾT LUẬN

PRP gel có khả năng phóng thích các yếu tố tăng trưởng bao gồm PDGF-AB và VEGF-A, thúc đẩy sự tăng sinh và di cư vào vết rạch của tế bào hEnSCs mặc dù hiệu quả kích thích tăng sinh chưa tương đồng với FBS. Mặt khác, ở thử nghiệm đánh giá vai trò làm giá thể, PRP gel được khẳng định là không hỗ trợ sự di cư vào bên trong của các tế bào hEnSCs sau 3 ngày khảo sát. Kết quả nghiên cứu này khẳng định được tiềm năng ứng dụng của PRP trong tái tạo nội mạc tử cung thông qua các tác động lên dòng tế bào nội mạc. Tuy nhiên, cần xem xét dạng hoạt động của chế phẩm PRP cho hiệu quả và tính khả thi cao hơn để ứng dụng.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được tài trợ bởi Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh trong khuôn khổ Đề tài mã số 615/QĐ-SKHCHN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Allahveisi A, Seyedoshohadaei F, et al. (2020). The effect of platelet-rich plasma on the achievement of pregnancy during frozen embryo transfer in women with a history of failed implantation, *Heliyon*, 6: e03577.
- Carr Jr M, and Carr S (1995). Fibrin structure and concentration alter clot elastic modulus but do not alter platelet mediated force development, *Blood coagulation fibrinolysis*, 6: 79.
- Gellersen B, and Brosens JJ (2014). Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure, *Endocrine reviews*, 35: 851-905.
- Guo X, Yi H, et al. (2021). Role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in human embryo implantation: clinical implications, *Biomolecules*, 11: 253.
- Guzeloglu-Kayisli O, Kayisli UA, and Taylor HS, editors. The role of growth factors and cytokines during implantation: endocrine and paracrine interactions. *Seminars in reproductive medicine*; 2009: © Thieme Medical Publishers.
- Javaheri A, Kianfar K, et al. (2020). Platelet-rich plasma in the management of Asherman's syndrome: An RCT, *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 18: 113.
- Nguyễn Huyền Minh Thụy, Phạm Văn Tài, et al. (2020). Đánh giá hiệu quả của huyết tương giàu tiểu cầu tự thân (PRP) trong cải thiện khả năng làm tổ của phôi, *Hội Nội tiết sinh sản và Vô sinh Thành phố Hồ Chí Minh*.
- Nguyen Thanh T, Hoang Van A, et al. (2022). Effect of autologous platelet-rich plasma treatment on patients with thin endometrium, *Rev cuba med mil*: e1802-e.
- Nguyễn Thanh Tùng, Đoàn Thị Hằng, et al. (2020). Kết quả bước đầu của huyết tương giàu tiểu cầu (PRP) tự thân điều trị trên các bệnh nhân thất bại làm tổ nhiều lần và nội mạc tử cung mỏng, *Hội Nội tiết sinh sản và Vô sinh Thành phố Hồ Chí Minh*.
- Sadeghi-Ataabadi M, Mostafavi-Pour Z, et al. (2017). Fabrication and characterization of platelet-rich plasma scaffolds for tissue engineering applications, *Materials Science Engineering: C*, 71: 372-80.
- Wang X, Fok MR, et al. (2022). In Vitro and Ex Vivo Kinetic Release Profile of Growth Factors and Cytokines from Leucocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) Preparations, *Cells*, 11: 2089.
- Zhang J, Zhang J, et al. (2020). The effects of platelet-rich and platelet-poor plasma on biological characteristics of BM-MSCs In vitro, *Analytical Cellular Pathology*, 2020: 8546231.

COLLECT AND EVALUATE THE EFFECT OF PLATELET-RICH PLASMA GEL ON HUMAN ENDOMETRIAL STROMAL CELLS *IN VITRO*

Tuyet Thi Vi Le^{1,2,3*}, Nghia Thi Hieu Phan^{1,2,3}, Tuyet Thi Diem Hoang⁴, Ha Le Bao Tran^{1,2,3}

¹*Department of Physiology and Animal Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, VNU-HCM, Vietnam*

²*Laboratory of Tissue Engineering and Biomedical Materials, University of Science, VNU-HCM, Vietnam*

³*Vietnam National University, Ho Chi Minh City, Vietnam*

⁴*Hung Vuong Hospital, Ho Chi Minh City, Vietnam*

SUMMARY

Human endometrial stromal cells (hEnSCs) play an essential role in the regeneration process related to the natural menstrual cycle or uterine dysfunction. This work aimed to collect platelet-rich plasma gel (PRP gel) that could release growth factors (GFs), and to confirm its impact on the growth of hEnSCs. Accordingly, PRP gel was collected and evaluated for the concentration of GFs (PDGF-AB and VEGF-A) in the extract after 1, 3, and 7 days of incubation at 37°C. The proliferation and migration of hEnSCs was examined in the presence of PRP gel extracts, via MTT, in vitro scratch, and migration into the PRP scaffold assays. The results showed that PRP gel could release PDGF-AB and VEGF-A. However, the release rates of these growth factors varied. PDGF-AB was detected from the extract after 1 day of incubation (2150.33 ± 11.07 pg/mL) before decreasing over time. In contrast, VEGF-A was released at day 7 (67.00 ± 6.71 pg/mL). Additionally, the PRP gel extract promoted the proliferation and migration of hEnSCs into the artificially induced scratch on monolayer cultures. However, cell migration into the PRP gel was not observed after 3 days of co-culture. It can be concluded that PRP can release GFs promoting tissue regeneration and the proliferation and migration of human endometrial stromal cells. PRP preparations have the potential for application in treating diseases related to endometrial regeneration. However, further work is needed to enhance treatment effectiveness.

Keywords: Endometrial stromal cells, gel, growth factors, platelet-rich plasma, regeneration.

* Author for correspondence: Tel: 0936738303; Email: lvtuyet@hcmus.edu.vn