

Chế tạo và đánh giá một số đặc tính của chế phẩm gel trung bì da hướng ứng dụng trong y học tái tạo

Trần Lê Bảo Hà^{1*}, Đoàn Nguyên Vũ¹, Nguyễn Thị Ngọc Mỹ¹, Tô Minh Quân¹, Lê Thị Vĩ Tuyết¹, Nguyễn Thuần Nho¹, Trương Thanh Vy¹, Nguyễn Thị Hồng Thắm¹, Vũ Thị Thanh Tâm², Phan Hữu Hùng³, Lê Quang Trí²

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 227 Nguyễn Văn Cừ, phường 4, quận 5, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Bệnh viện Quân y 7A, 466 Nguyễn Trãi, phường 8, quận 5, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Bệnh viện Quân dân y miền Đông, 50 Lê Văn Việt, phường Hiệp Phú, quận 9, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 1/9/2023; ngày chuyển phân biện 5/9/2023; ngày nhận phân biện 25/9/2023; ngày chấp nhận đăng 28/9/2023

Tóm tắt:

Mục tiêu: Mối liên hệ chặt chẽ tế bào - khung ngoại bào (ECM - Extracellular matrix) là nền tảng của quá trình phát triển và sửa chữa của mô. Khung nâng đỡ mô phỏng những tính chất sinh học của ECM trong cơ thể sinh vật. ECM của lớp trung bì da là một loại vật liệu tự nhiên, chứa thành phần lý tưởng rất thích hợp cho việc tạo ra các sản phẩm thúc đẩy quá trình chữa lành mô. Nghiên cứu này tập trung chế tạo chế phẩm gel từ ECM trung bì da người. ECM da được tạo gel bằng cách hòa tan trong dung dịch enzyme pepsin. Phương pháp nghiên cứu: Quá trình tạo gel 3D bằng cách trung hòa dung dịch enzyme và ủ ở điều kiện sinh lý. Mẫu gel được đánh giá độ nhớt, khả năng định hình. Ngoài ra, chế phẩm gel từ trung bì da được đánh giá về ảnh hưởng lên sự sống và khả năng tăng sinh của nguyên bào sợi người *in vitro* bằng thử nghiệm độc tính và thử nghiệm tăng sinh trong 10 ngày. **Kết quả:** Đánh giá độc tính trực tiếp và dịch chiết đã cho thấy chế phẩm gel ECM an toàn đối với sự sống của nguyên bào sợi. Đồng thời, các nguyên bào sợi thể hiện đặc tính tăng sinh sau 10 ngày trong điều kiện nuôi cấy với dịch chiết chế phẩm gel. **Kết luận:** Các kết quả này chỉ ra chế phẩm gel ECM có khả năng ảnh hưởng tích cực đến đặc tính sinh học của tế bào và có tiềm năng ứng dụng vào lĩnh vực y học tái tạo.

Từ khóa: khung ngoại bào, nguyên bào sợi, trung bì da, y học tái tạo.

Chỉ số phân loại: 3.4

1. Đặt vấn đề

Y học tái tạo là một nhánh của y học, tập trung phát triển các phương pháp tái tạo, sửa chữa hoặc thay thế các tế bào, mô hoặc cơ quan bị tổn thương hay khuyết hỏng. Y học tái tạo bao gồm các ứng dụng liệu pháp phân tử, tế bào, mô hay cơ quan nhân tạo. Từ đó cung cấp các giải pháp thay thế cho ghép mô, tạng tự thân hay đồng loài. Đặc biệt, công nghệ chế tạo vật liệu sinh học đóng vai trò chủ chốt trong y học tái tạo, với mục tiêu tạo ra vật liệu mang các đặc tính gần với điều kiện mô *in vivo*, vật liệu có thành phần dinh dưỡng/nhân tố tín hiệu hỗ trợ quá trình tái tạo mô. ECM là nhân tố xương sống của mô, giúp duy trì cấu trúc mô, liên kết các tế bào và giữ chúng trong cấu trúc mô, đồng thời tham gia điều hòa các hoạt động chuyên hóa và phát triển của mô. Các thành phần có hoạt tính sinh học điển hình cấu tạo nên ECM được biết đến bao gồm collagen, elastin, laminin, fibronectin và glycosaminoglycan (GAG). Chính vì vậy, ECM đã được nghiên cứu làm vật liệu sinh học cho nhiều ứng dụng tái tạo. ECM có thể được thu nhận từ quá trình khử tế bào mô, cơ quan, do đó giảm thiểu nguy cơ bị thải loại sau cấy ghép [1, 2]. Các thành phần protein hoạt tính sinh học của ECM đóng vai trò cảm ứng cho quá trình sáp nhập và tái tạo mô mới.

Vật liệu sinh học có nguồn gốc từ ECM đã được chứng minh về vai trò cung cấp vi môi trường cho sự phát triển của tế bào, cho phép duy trì hình thái, sinh lý và chức năng của tế bào. Trong số này, các chế phẩm hydrogel, gọi tắt là chế phẩm gel đã trở thành một đối tượng tiềm năng trong ứng dụng y học tái tạo, nhờ vào tính

linh hoạt của các đặc điểm vật lý, sự tương đồng về cấu trúc với ECM tự nhiên và khả năng hỗ trợ sự kết dính, tồn tại và tăng sinh của tế bào [3, 4]. Các nghiên cứu cho thấy, ECM thu nhận từ mô đã khử tế bào có thể được hóa lỏng bằng enzyme pepsin và tạo thành dạng khối gel với các đặc tính cơ học và sinh lý tương thích với quá trình nuôi cấy tế bào [3-5]. Các chế phẩm gel từ ECM được hóa lỏng bằng enzyme giữ lại các protein kết dính tế bào (collagen và elastin), glycosaminoglycans và các yếu tố tăng trưởng [6]. ECM của lớp trung bì da là một loại vật liệu tự nhiên, chứa thành phần lý tưởng rất thích hợp cho việc tạo ra các sản phẩm thúc đẩy nhanh quá trình chữa lành các vết thương, vết bỏng. Ngoài ra, cấu trúc và chức năng của ECM đã được chứng minh qua nhiều nghiên cứu về khả năng hỗ trợ tăng sinh của tế bào.

Dựa trên các cơ sở nêu trên, nghiên cứu này tập trung chế tạo chế phẩm gel từ ECM trung bì da người. ECM trung bì da người được khảo sát khả năng hóa lỏng trong dung dịch enzyme và hiệu quả tạo gel *in vitro*. Ngoài ra, chế phẩm gel được đánh giá về ảnh hưởng lên sự sống và tăng sinh của các tế bào *in vitro* nhằm dự đoán về tiềm năng các ứng dụng trong y học tái tạo.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

ECM từ trung bì và nguyên bào sợi da người được cung cấp bởi Phòng Thí nghiệm Kỹ nghệ mô và Vật liệu y sinh, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.

*Tác giả liên hệ: Email: tlbha@hcmus.edu.vn

Fabrication and evaluation of some characteristics of the skin's dermis gel direction to application in regenerative medicine

Le Bao Ha Tran^{1*}, Nguyen Vu Doan¹, Thi Ngoc My Nguyen¹, Minh Quan To¹, Thi Vi Tuyet Le¹, Thuan Nho Nguyen¹, Thanh Vy Truong¹, Thi Hong Tham Nguyen¹, Thi Thanh Tam Vu², Huu Hung Phan³, Quang Tri Le²

¹University of Science, Vietnam National University - Ho Chi Minh City, 227 Nguyen Van Cu Street, Ward 4, District 5, Ho Chi Minh City, Vietnam

²7A Military Hospital,

466 Nguyen Trai Street, Ward 8, District 5, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Eastern People Military Hospital,

50 Le Van Viet Street, Hiep Phu Ward, District 9, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 1 September 2023; revised 25 September 2023; accepted 28 September 2023

Abstract:

Objective: The tight connection between the cell-extracellular matrix (ECM - Extracellular matrix) is the foundation of tissue development and repair. The extracellular framework simulates the biological properties of organism-based ECM. The ECM of the skin's dermis is a natural material, containing ingredients ideal for creating products that help tissue heal. This study focuses on the production of gel products from human skin ECM. The skin ECM is gelled by dissolving in a pepsin enzyme solution. **Method:** 3D gel formation process using neutral enzyme solution and incubation under physiological conditions. Gel samples were evaluated for speed and formability. Additionally, the dermal gel preparation was evaluated for its effects on the survival and proliferation of human fibroblasts *in vitro* by toxicity testing and proliferation testing, for 10 days. **Results:** Direct and extract toxicity assessments showed that the ECM gel regimen was safe for fibroblast survival. At the same time, fibroblasts had proliferation properties after 10 days in culture conditions with gel extract. **Conclusion:** These results showed that the ECM gel product regimen has the ability to positively impact the biological properties of cells and has the potential for application in the field of regenerative medicine.

Keywords: dermis, extracellular framework, fibroblasts, regenerative medicine.

Classification number: 3.4

Nguyên bào sợi được nuôi bằng môi trường nuôi cấy đầy đủ. Thành phần môi trường nuôi cấy đầy đủ bao gồm môi trường cơ bản DMEM-F12 (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ) được bổ sung thêm huyết thanh bào thai bò 10% (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ) và kháng sinh Penicilin 100 UI/ml, Streptomycin 100 µg/ml (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ).

2.2. Phương pháp tạo chế phẩm gel từ ECM trung bì da

Mẫu ECM ở dạng khô được nghiền bằng máy nghiền mẫu (Omni, Hoa Kỳ) và rây để tạo hạt ECM có kích thước dưới 250 µm. Hạt ECM (hàm lượng 20 mg/ml) được hóa lỏng bằng cách khuấy trong dung dịch pepsin/HCl (pepsin 4 mg/ml và HCl 0,01 N) (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ), kéo dài 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp ECM-pepsin được giữ lạnh 4°C trong 20 phút và bất hoạt bằng dung dịch NaOH 0,1 N (Merck, Đức) (theo tỷ lệ v/v là 10/1) và dung dịch muối đệm phosphat (Phosphate buffer saline - PBS, Merck, Đức) (pH 7,4-7,8). Dung dịch sau khi trung hòa được gọi là dung dịch tiền gel. Để tạo thành chế phẩm gel, dung dịch tiền gel được ủ ở điều kiện sinh lý 37°C (tủ âm Panasonic, Nhật Bản).

2.3. Thử nghiệm đảo ngược đánh giá hiệu quả chế tạo chế phẩm gel

Dung dịch tiền gel ECM sau khi tạo ra được chuyển vào các lọ thủy tinh và ủ ấm ở 37°C để khảo sát thời gian gel hóa trong 20 phút. Thử nghiệm đảo ngược được thực hiện để đánh giá hiệu quả tạo gel.

2.4. Phương pháp đánh giá độc tính gián tiếp

Thử nghiệm MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) được thực hiện nhằm xác định độc tính của dịch chiết chế phẩm gel đối với nguyên bào sợi người. Các nghiệm thức bao gồm: (1) Dịch chiết chế phẩm gel (chuẩn bị theo tiêu chuẩn ISO 10993-12 (3 cm²/ml môi trường nuôi cấy) [7]); (2) Môi trường nuôi cấy tế bào có bổ sung DMSO 20% được sử dụng là đối chứng dương; (3) Môi trường nuôi cấy là đối chứng âm.

Các tế bào được cấy vào đĩa 96 giếng với mật độ 10⁴ tế bào/giếng. Sau 24 giờ, khi tế bào phủ 80% bề mặt giếng nuôi, 100 µl dịch chiết (hoặc đối chứng âm, đối chứng dương) được bổ sung vào giếng và nuôi cấy ở điều kiện 37°C, 5% CO₂ (Panasonic, Nhật Bản). Sau 24 giờ, thử nghiệm MTT được tiến hành bằng cách ủ tế bào với 100 µl MTT 0,5 mg/ml (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ) trong 4 giờ ở điều kiện 37°C. Sự hình thành tinh thể formazan ở các giếng nuôi được quan sát và ghi nhận bằng kính hiển vi đảo ngược có liên kết hệ thống chụp ảnh (Olympus, Nhật Bản).

Tiếp theo, MTT được loại bỏ và 100 µl DMSO/Ethanol (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ) được bổ sung vào mỗi giếng. Dung dịch thử nghiệm được đo độ hấp thụ quang học (OD) ở bước sóng 570 nm (Biochrom EZ Read, Anh). Tốc độ tăng trưởng tương đối (RGR) được tính theo công thức: %RGR = (OD mẫu nghiệm thức)/(OD mẫu chứng âm) x 100%. Theo ISO 10993-5, mẫu thử nghiệm được cho là không gây độc cho tế bào khi giá trị % RGR từ 70% trở lên [8].

2.5. Phương pháp đánh giá độc tính trực tiếp

Chế phẩm gel được đánh giá độc tính trực tiếp bằng cách đặt mẫu tiếp xúc với các nguyên bào sợi. Các nhóm nghiệm thức bao gồm: (1) Màng cao su latex là đối chứng dương; (2) Chế phẩm gel; (3) Màng protein thương mại là đối chứng âm. Theo đó, tế bào được cấy vào đĩa 6 giếng với mật độ 5x10⁴ tế bào/giếng và nuôi 24 giờ ở điều kiện 37°C, 5% CO₂. Sau đó, chế phẩm gel được đặt trực tiếp lên bề mặt lớp tế bào (diện tích mẫu xấp xỉ 1/10 bề mặt đĩa) và

tiếp tục nuôi trong 24 giờ. Kết quả được ghi nhận bằng cách quan sát đĩa dưới kính hiển vi đảo ngược (Olympus, Nhật Bản). Mức độ gây độc tế bào dưới kính hiển vi dựa theo tiêu chuẩn ISO 10993-5:2009. Theo đó, phản ứng ở cấp độ 0-2, vật liệu xem như không gây độc đối với tế bào [2].

2.6. Phương pháp đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm gel đến khả năng tăng sinh của tế bào *in vitro*

Dịch chiết chế phẩm gel được chuẩn bị bằng ngâm ủ mẫu trong môi trường nuôi cấy tế bào không chứa huyết thanh (với tỷ lệ 0,2 g/ml) theo tiêu chuẩn ISO 10993-12 [7]. Nguyên bào sợi người được cấy vào các giếng của đĩa 96 giếng với mật độ 10^4 tế bào/cm², được ủ trong tủ ấm 37°C, 5% CO₂. Sau 24 giờ, môi trường trong các giếng được thay mới bằng dịch chiết chế phẩm gel và các nhóm đối chứng tương ứng. Sự tăng sinh của tế bào trong mỗi nghiệm thức vào các ngày 2, 4, 6, 8 và 10 được đánh giá bằng kính hiển vi đảo ngược và thử nghiệm MTT. Môi trường nuôi cấy có huyết thanh được sử dụng làm đối chứng dương (C+). Môi trường nuôi cấy không huyết thanh được dùng làm đối chứng âm (C-).

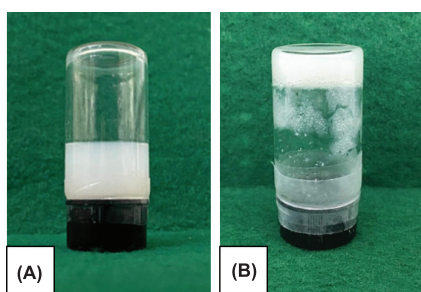
2.7. Xử lý thống kê

Tất cả các phân tích thống kê được thực hiện bởi phần mềm Graphpad prism 9.5.0. Dữ liệu được trình bày dưới dạng \pm độ lệch chuẩn. Sự khác biệt thống kê được chấp nhận là có ý nghĩa khi giá trị $p < 0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả thử nghiệm đảo ngược

Kết quả về sự chuyển đổi trạng thái lỏng - gel (sol-gel) được đánh giá trực tiếp bằng cách đảo ngược ống mẫu. Kết quả thử nghiệm đảo ngược cho thấy, sau 20 phút ủ ấm dung dịch tiền gel ECM, chế phẩm gel được hình thành. Bằng chứng là sản phẩm được ủ ấm không bị rơi sau thử nghiệm đảo ngược (hình 1) và có hình dạng của vật chứa. Sau khi được đưa trở về nhiệt độ phòng, sản phẩm vẫn bám chặt ở thành ống, chưa trở về trạng thái lỏng sau 30 phút khảo sát. Kết quả cho thấy, chế phẩm gel được hình thành sau tác động ủ ấm ở 37°C và hiện tượng tái chuyển đổi thành dạng lỏng xảy ra chậm và chưa thể đạt được trạng thái hóa lỏng sau 30 phút khảo sát. Điều này chứng minh rằng gel ECM có độ bền tốt và cấu trúc gel ổn định.



Hình 1. Kết quả thử nghiệm đảo ngược. (A) Dung dịch tiền gel (dạng lỏng trước khi ủ); (B) Chế phẩm gel (dạng gel sau khi ủ).

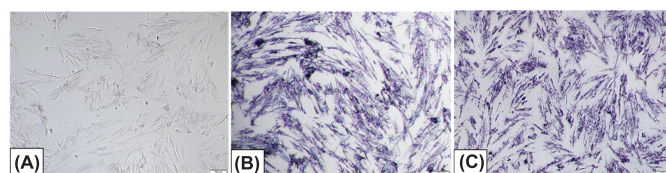
Thử nghiệm đảo ngược là phương pháp đơn giản nhất được sử dụng để nghiên cứu điểm tạo gel của dung dịch cũng như xem xét khả

năng duy trì khối gel theo thời gian [9]. Từ kết quả nghiên cứu có thể thấy, chế phẩm gel có nguồn gốc ECM trung bì da người được chế tạo thành công và duy trì cấu trúc này theo thời gian. Sự hình thành gel ECM là một quá trình tự lắp ráp dựa trên collagen được điều hòa một phần bởi sự hiện diện của các glycosaminoglycan, proteoglycan và protein ECM. Do đó, động học trùng hợp sẽ bị ảnh hưởng bởi đặc điểm sinh hóa tự nhiên của nguồn mô và của các protein còn lại sau quá trình khử tế bào thu ECM và hóa lỏng. ECM trung bì da người được cấu tạo chủ yếu từ collagen I và III, cùng với các thành phần khác như elastin, các glycoprotein và glycosaminoglycan [10]. Các thành phần này đã được chứng minh là giúp gia tăng đáng kể độ bền cơ học của gel [11].

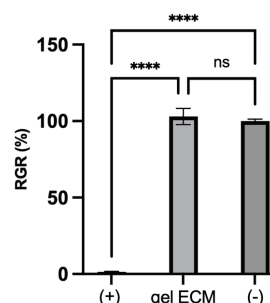
3.2. Kết quả đánh giá độc tính *in vitro*

Thử nghiệm độc tính tế bào là một trong những xét nghiệm đánh giá và sàng lọc vật liệu sinh học bằng cách sử dụng các tế bào *in vitro*. Thử nghiệm đánh giá gián tiếp thông qua dịch chiết và tiếp xúc trực tiếp là các thử nghiệm đánh giá tính độc phổ biến và được đề xuất trong tiêu chuẩn ISO 10993-5.

Trong thử nghiệm đánh giá độc tính gián tiếp thông qua dịch chiết, về mặt hình thái, tế bào được nuôi trong dịch chiết gel ECM bám trải giữ hình thái thuôn dài (hình 2B), hình thái đặc trưng của nguyên bào sợi. Hình thái này tương đồng với hình thái tế bào trong nghiệm thức đối chứng âm (hình 2C). Ngược lại, tế bào có hiện tượng bong tróc khỏi bề mặt nuôi cấy và co tròn ở nghiệm thức đối chứng dương. Hơn nữa, sự xuất hiện của tinh thể formazan cũng giúp khẳng định sự sống sót của tế bào. Cụ thể, ở nghiệm thức đối chứng âm và mẫu dịch chiết chế phẩm gel, tinh thể formazan màu tím được hình thành với mật độ cao (hình 2B và 2C); ngược lại, ở nhóm dịch chiết DMSO 20% (đối chứng dương) không xuất hiện tinh thể formazan (hình 2A). Mặt khác, kết quả tốc độ RGR cho thấy, cả chế phẩm gel và đối chứng âm đều cho tỷ lệ RGR cao trên 70% ($p < 0,05$) (hình 3). Kết quả này trái ngược với nghiệm thức đối



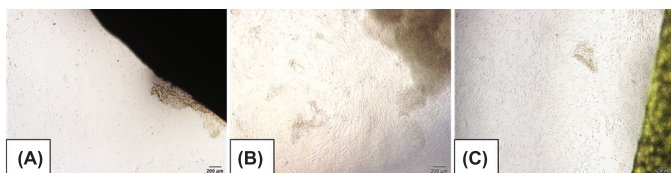
Hình 2. Hình thái tế bào sau khi nhuộm MTT. (A) Nghiệm thức đối chứng dương; (B) Nghiệm thức chế phẩm gel; (C) Nghiệm thức đối chứng âm.



Hình 3. Đồ thị tỷ lệ RGR của tế bào ở các nghiệm thức. (+): đối chứng dương; (-): đối chứng âm.

chứng dương. Từ đó có thể nhận định rằng, gel ECM không gây độc cho tế bào nguyên bào sợi người ở đánh giá độc tính gián tiếp thông qua dịch chiết.

Bên cạnh đó, đánh giá độc tính trực tiếp cũng đã được thực hiện, kết quả một lần nữa khẳng định tính an toàn của chế phẩm gel. Kết quả thử nghiệm cho thấy, sau 24 giờ tế bào tiếp xúc với vật liệu, tế bào tại vị trí tiếp xúc, xung quanh và ngay bên dưới vật liệu vẫn tiếp tục bám dính, không bong tróc ở 2 nghiệm thức đối chứng âm và chế phẩm gel. Về mặt hình thái, tế bào có hình dạng thuôn dài, thể hiện tế bào vẫn phát triển tốt sau khi tiếp xúc trực tiếp với gel hay đối chứng âm (hình 4B và 4C). Điều này tương đồng với mức phản ứng 0 theo tiêu chuẩn ISO 10993-5. Ngược lại, ở nghiệm thức đối chứng dương, tế bào xung quanh vật liệu có hiện tượng bong tróc. Ngay tại vị trí tiếp xúc với màng latex đối chứng dương, mật độ tế bào dần thưa sau 24 giờ, chủ yếu phân bố ở những vị trí không tiếp xúc gần với vật liệu (mức phản ứng 4, ISO 10993-5) (hình 4A). Từ quan sát này có thể nhận định rằng, chế phẩm gel không độc đối với tế bào thông qua thử nghiệm đánh giá độc tính tiếp xúc trực tiếp.

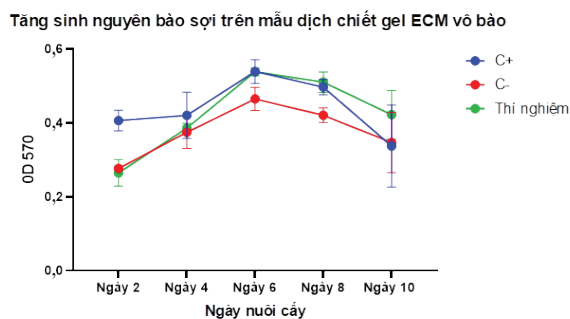


Hình 4. Thử nghiệm độc tính tiếp xúc trực tiếp. (A) Nghiệm thức đối chứng dương; (B) Nghiệm thức chế phẩm gel; (C) Nghiệm thức đối chứng âm.

Kết quả nghiên cứu này cho thấy, chế phẩm gel không gây độc cho nguyên bào sợi người *in vitro* trong cả 2 thử nghiệm đánh giá tính độc của vật liệu, bao gồm gián tiếp thông qua dịch chiết và tiếp xúc trực tiếp. Trên cơ sở này, chế phẩm gel được đánh giá là đạt tính an toàn trong thử nghiệm *in vitro* và tiếp tục được ứng dụng cho các nghiên cứu, đánh giá tiếp theo.

3.3. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm gel đến khả năng tăng sinh của tế bào

Kết quả được thể hiện ở hình 5 với mật độ quang tăng dần từ ngày 2 đến ngày 6 và giảm dần đến ngày 10 ở tất cả các mẫu. Ở ngày 2, mẫu đối chứng dương (C+) cho thấy sự tăng sinh tế bào tốt hơn 2 mẫu còn lại, do mẫu này có huyết thanh hỗ trợ tăng sinh.



Hình 5. Đồ thị biểu thị sự tăng sinh của nguyên bào sợi trong dịch chiết chế phẩm gel.

Tuy nhiên, sự tăng sinh tế bào của mẫu thí nghiệm cũng diễn ra khá nhanh và tương đương với giá trị mẫu đối chứng dương (C+) ở ngày 6 và 8 ($p > 0,05$). Trong khi đó, mẫu chứng âm (C-) có sự tăng sinh tế bào thấp hơn mẫu chứng dương (C+) và mẫu thí nghiệm ở ngày 6 và 8. Nghiên cứu của S. Uriel và cs (2009) [12] cũng cho thấy, việc tăng sinh của tế bào dưới tác động của dịch chiết gel từ ECM mô mềm trong khoảng ngày 5 đến 7 của quá trình nuôi cấy. Điều này cho thấy chế phẩm gel đã hỗ trợ cho sự tăng sinh của nguyên bào sợi người.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã chế tạo thành công chế phẩm gel từ ECM trung bì da người. Chế phẩm gel có khả năng định hình khi được ủ ở điều kiện sinh lý với nhiệt độ 37°C. Chế phẩm gel không gây độc và có tác động tích cực đến sự tăng sinh của các nguyên bào sợi người *in vitro*. Các kết quả này chỉ ra chế phẩm gel ECM trung bì da người có tiềm năng ứng dụng vào lĩnh vực y học tái tạo.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Bộ Quốc phòng trong khuôn khổ Đề tài mã số 46.46.22. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J.M. Aamodt, D.W. Grainger (2016), "Extracellular matrix-based biomaterial scaffolds and the host response", *Biomaterials*, **86**, pp.68-82, DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.02.003.
- [2] T.K. Rajab, T.J. O'Malley, V. Tchanchaleishvili (2020), "Decellularised scaffolds for tissue engineering: Current status and future perspective", *Artif Organs*, **44**(10), pp.1031-1043, DOI: 10.1111/aor.13701.
- [3] L.T. Saldin, M.C. Cramer, S.S. Velankar, et al. (2017), "Extracellular matrix hydrogels from decellularized tissues: Structure and function", *Acta Biomaterialia*, **49**, pp.1-15, DOI: 10.1016/j.actbio.2016.11.068.
- [4] R.S. Stowers (2022), "Advances in extracellular matrix-mimetic hydrogels to guide stem cell fate", *Cells Tissues Organs*, **211**(6), pp.703-720, DOI: 10.1159/000514851.
- [5] X. Li, Q. Sun, Q. Li, et al. (2018), "Functional hydrogels with tunable structures and properties for tissue engineering applications", *Frontiers in Chemistry*, **6**, pp.1-20, DOI: 10.3389/fchem.2018.00499.
- [6] J.A. Claudio-Rizo, J. Delgado, I.A. Quintero-Ortega, et al. (2018), "Decellularized ECM-derived hydrogels: Modification and properties", *Hydrogels*, **1**, pp.1-22, DOI: 10.5772/intechopen.78331.
- [7] R.F. Wallin (1998), "A practical guide to ISO 10993-12: Sample preparation and reference materials", *Medical Device Diagnostic Industry*, <https://www.mddionline.com/materials/a-practical-guide-to-iso-10993-12-sample-preparation-and-reference-materials>, accessed 2 October 2023.
- [8] R.F. Wallin, E. Arscott (1998), "A practical guide to ISO 10993-5: Cytotoxicity", *Medical Device Diagnostic Industry*, <https://www.mddionline.com/testing/a-practical-guide-to-iso-10993-5-cytotoxicity>, accessed 2 October 2023.
- [9] M. Djabourov (1991), "Gelation - A review", *Polymer International*, **25**, pp.135-143, DOI: 10.1002/pi.4990250302.
- [10] P.S. Briquez, J.A. Hubbell, M.M. Martino (2015), "Extracellular matrix-inspired growth factor delivery systems for skin wound healing", *Advances in Wound Care*, **4**(8), pp.479-489, DOI: 10.1089/wound.2014.0603.
- [11] B. Patel, Z. Xu, C.B. Pinnock, et al. (2018), "Self-assembled collagen-fibrin hydrogel reinforces tissue-engineered adventitia vessels seeded with human fibroblasts", *Scientific Reports*, **8**(1), DOI: 10.1038/s41598-018-21681-7.
- [12] S. Uriel, E. Labay, M.F. Sedlak, et al. (2009), "Extraction and assembly of tissue-derived gels for cell culture and tissue engineering", *Tissue Engineering Part C: Methods*, **15**(3), pp.309-321, DOI: 10.1089/ten.tec.2008.0309.