

Nghiên cứu thành phần tế bào và cấu trúc mô học của fibrin giàu tiểu cầu

Nguyễn Thanh Tùng^{1,2*}, Nguyễn Trần Bảo Song³

(1) Khoa Cơ Bản, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(2) Viện Y Sinh học, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(3) Bộ môn Mô Phôi – Giải phẫu bệnh – Pháp y, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Fibrin giàu tiểu cầu (PRF) là một vật liệu sinh học có bộ khung sườn là mạng lưới sợi fibrin chứa các tế bào từ máu ngoại vi và các yếu tố tăng trưởng. Vật liệu sinh học PRF có tiềm năng to lớn ứng dụng trong y học tái tạo, đặc biệt trong phẫu thuật răng hàm mặt và chấn thương chỉnh hình. Mục đích của nghiên cứu này là khảo sát đặc tính tế bào và mô học của PRF nhằm cung cấp các kiến thức nền tảng cho các nghiên cứu ứng dụng PRF. **Phương pháp nghiên cứu:** Máu ngoại vi từ 10 con thỏ được thu thập qua động mạch tai được sử dụng để tạo huyết tương giàu tiểu cầu và fibrin giàu tiểu cầu. Mẫu máu với chất chống đông được ly tâm để thu các phân đoạn huyết tương giàu tiểu cầu (PRP), huyết tương giàu tiểu cầu và bạch cầu (L-PRP). Huyết tương được fibrin hóa bằng Calcium chloride (CaCl₂) để tạo ra fibrin giàu tiểu cầu (PRF), fibrin giàu tiểu cầu và bạch cầu (L-PRF). Thành phần tế bào của PRP và L-PRP được khảo sát bằng máy phân tích huyết học thú y tự động. Cấu trúc mô học của PRF và L-PRF được khảo sát bằng nhuộm mô học Hematoxylin-Eosin và nhuộm Sirius Red. **Kết quả:** Kết quả khảo sát thành phần tế bào cho thấy PRP gần như không chứa thành phần tế bào như bạch cầu và hồng cầu, thành phần tiểu cầu thấp hơn máu ngoại vi. Trong khi đó L-PRP chứa lượng lớn các thành phần tế bào đặc biệt là mật độ bạch cầu và tiểu cầu cao. Kết quả khảo sát mô học cho thấy PRF có mạng lưới các sợi fibrin dày đặc và không có sự hiện diện tế bào. Trong khi đó, L-PRF có mạng lưới fibrin dày đặc, các tế bào máu được bắt giữ trong bộ khung sườn fibrin. **Kết luận:** Vật liệu sinh học PRF và L-PRF có cấu trúc không gian phù hợp là một giá thể sinh học tự nhiên. Hơn nữa, L-PRF có thành phần tế bào phong phú có tiềm năng lớn trong thúc đẩy quá trình tái tạo mô.

Từ khóa: Vật liệu sinh học, huyết tương giàu tiểu cầu (PRP), fibrin giàu tiểu cầu (PRF), y học tái tạo mô, cấu trúc mô học.

Abstract

Cytology and histology characteristics of platelet-rich fibrin

Nguyen Thanh Tung^{1,2*}, Nguyen Tran Bao Song³

(1) Faculty of Basic Science, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) Institute of Biomedicine, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(3) Dept. of Histology, Embryology, Pathology and Forensic, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Background: Platelet-rich fibrin (PRF) is a biomaterial whose frame is a network of fibrin fibers containing cells from peripheral blood and growth factors. PRF biomaterials have great potential for application in regenerative medicine, especially in maxillofacial surgery and orthopedic trauma. The purpose of this study is to investigate the cytological and histological properties of PRF in order to provide the background knowledge for the applied studies of PRF. **Materials and Methods:** Peripheral blood from 10 rabbits collected via the ear artery was used to generate platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin. Blood samples with anticoagulant are centrifuged to obtain fractions of platelet-rich plasma (PRP) and Platelet rich and white blood cell rich plasma (L-PRP). Plasma is fibrinated with Calcium chloride (CaCl₂) to produce platelet-rich fibrin (PRF), Platelet rich and white blood cell rich fibrin (L-PRF). The cellular composition of PRP and L-PRP was investigated using an automated veterinary hematology analyzer. The histological structures of PRF and L-PRF were examined by Hematoxylin-Eosin and Sirius Red staining. **Results:** The results of cell composition showed that PRP almost did not contain cellular components such

as white blood cells and red blood cells, and the platelet concentration was lower than that of peripheral blood. Meanwhile, L-PRP contains a large number of cellular components, especially a high density of white blood cells and platelets. Histological examination results showed that PRF had a dense network of fibrin fibers and lacked the presence of cells. **Conclusions:** The PRF and L-PRF biomaterials have a suitable spatial structure as a natural biological substrate. Furthermore, L-PRF has a rich cellular component that has great potential in promoting tissue regeneration.

Keywords: Biomaterials, Platelet-rich plasma (PRP), platelet rich and white blood cell rich plasma (L-PRP), tissue regenerative medicine, histological structure.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chất cô đặc tiểu cầu tự thân đầu tiên được mô tả đầu tiên năm 1970 được gọi là huyết tương giàu tiểu cầu (PRP) [1]. Choukroun tối ưu hóa quy trình tạo thể hệ thứ hai của tiểu cầu cô đặc được gọi là fibrin giàu tiểu cầu (PRF) bằng cách ly tâm máu không có chất chống đông máu. Tiểu cầu khởi xương quá trình sửa chữa vết thương bằng cách giải phóng các yếu tố tăng trưởng khác nhau và thu hút một số loại tế bào cần thiết để chữa lành vết thương. Nhiều nghiên cứu đã tập trung vật liệu sinh học fibrin giàu tiểu cầu tự thân để thúc đẩy quá trình tái tạo mô [2-4].

Vật liệu sinh học đóng vai trò quan trọng trong y học tái tạo mô, cung cấp giá đỡ cho cả quá trình tăng sinh tế bào và phục hồi mô. Để đáp ứng các yêu cầu này, vật liệu sinh học có các đặc tính quan trọng như tính tương thích sinh học, khả năng phân hủy sinh học, tính chất cơ học và kiến trúc khung sườn thích hợp. Cấu trúc xốp của vật liệu sinh học đảm bảo sự di chuyển của tế bào và phân phối chất dinh dưỡng của tế bào trong mạng lưới. Vật liệu sinh học cần tránh sự đào thải của cơ thể vật chủ và phải có khả năng phân hủy sinh học để cho phép các tế bào của cơ thể sản xuất chất nền ngoại bào thay thế của chúng [5-7].

Vật liệu sinh học PRF là chất nền tự thân và dễ dàng điều chế từ máu toàn phần với chi phí thấp. Một số loại PRF có thể được điều chế bằng cách sử dụng các phương pháp khác nhau cho phép tính linh hoạt trong các ứng dụng của vật liệu sinh học này trong y học tái tạo [8, 9]. PRF có một khung sườn mạng lưới fibrin được hình thành bởi quá trình trùng hợp tự nhiên, tương tự như quá trình hình thành cục máu đông. Dưới kính hiển vi điện tử quét, cấu trúc nano của màng PRF tương tự như của một miếng gạc y tế, với mạng lưới sợi fibrin dính chặt vào nhau, bắt giữ nhiều tế bào bên trong, đồng thời giải phóng các yếu tố tăng trưởng [10, 11]. Fibrin giàu tiểu cầu tự thân đã được chứng minh là một vật liệu sinh học tái tạo hiệu quả, chi phí thấp với khả năng kích thích quá trình chữa lành vết thương và đẩy nhanh quá trình hình thành mạch [12, 13].

Trong y học tái tạo mô lâm sàng, vật liệu sinh học PRF đang được nghiên cứu và ứng dụng trong nhiều loại mô khác nhau [14, 15]. Trong lĩnh vực tái tạo xương và sụn, PRF kích thích sự tăng sinh, di chuyển, kết dính, biệt hóa của tế bào, làm tăng một số chất trung gian liên quan đến viêm, hỗ trợ thêm cho việc chữa lành vết thương và tái tạo mô trong xương và sụn [16-18]. Trong tái tạo gân, vật liệu sinh học PRF đang mở đường cho các chiến lược điều trị mới có thể vượt qua các giới hạn của phẫu thuật tái tạo gân hiện tại [19-21]. Trong da liễu, vật liệu sinh học PRF được ứng dụng trong nhiều phương pháp điều trị cho nhiều chứng rối loạn da khác nhau [22, 23]. Trong nha khoa hiện đại, ứng dụng PRF cho tỷ lệ thành công cao trong phẫu thuật răng hàm mặt, sửa chữa khiếm khuyết xương ổ răng, nâng xoang và ổn định implant [24, 25].

Mặc dù vật liệu sinh học PRF đã được ứng dụng rộng rãi trong lâm sàng, các dữ liệu về đặc tính cấu trúc không gian và thành phần tế bào của PRF vẫn còn hạn chế. Nghiên cứu này nhằm mục đích làm rõ các đặc điểm tế bào và cấu trúc mô học của PRF để cung cấp cái nhìn cơ bản về đặc tính của PRF để ứng dụng trong lâm sàng.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành trên 10 con thỏ trắng đực, thuần chủng, khỏe mạnh, trọng lượng $2,5 \pm 0,2$ kg, 8-10 tuần tuổi. Thỏ được xử dụng để lấy máu bằng cách xử dụng syringe 10 mL thu máu qua động mạch tai thỏ. Mẫu máu thỏ được sử dụng trong thí nghiệm tạo huyết tương giàu tiểu cầu và fibrin giàu tiểu cầu.

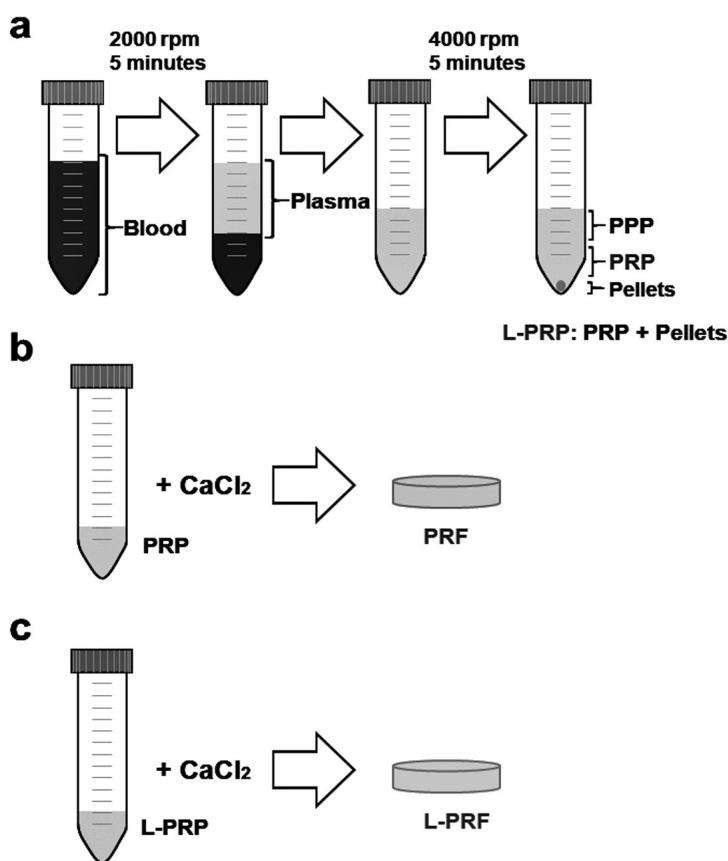
2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tạo huyết tương giàu tiểu cầu và fibrin giàu tiểu cầu

Huyết tương giàu tiểu cầu và fibrin giàu tiểu cầu được chuẩn bị từ máu ngoại vi thỏ dựa theo các quy trình đã được công bố trước đây [2, 26]. Đầu tiên, 9 mL máu thỏ ngoại vi được thu từ tai thỏ được chuyển vào các ống lấy máu có chứa chất chống đông ethylenediamine axit tetra-acetic

(EDTA). Các ống được nghiêng nhẹ từ đầu đến cuối để đảm bảo máu được trộn đều với EDTA. Sau đó, máu có chất chống đông được chuyển vào một ống polypropylene 15 mL và ly tâm với tốc độ 2000 vòng/phút trong 5 phút. Sau lần ly tâm đầu tiên, máu toàn phần tách thành ba lớp riêng biệt: lớp trên gồm huyết tương, tiểu cầu và bạch cầu; một lớp giữa (buffy coat) mỏng chủ yếu là các tế bào bạch cầu; và một lớp dưới cùng (hematocrit) chủ yếu là các tế bào hồng cầu. Lớp trên và lớp giữa được chuyển vào một ống mới và được ly tâm với tốc độ 4000 vòng/phút trong 5 phút. Sau lần ly tâm thứ hai, mẫu

được tách thành 2 phần huyết tương và một pellet bạch cầu. Huyết tương ở lớp $\frac{1}{2}$ phía trên được gọi là huyết tương nghèo tiểu cầu (PPP) sẽ bị loại bỏ. Huyết tương lớp 1/2 phía dưới được chuyển vào ống mới mà không có pellet bạch cầu được gọi là huyết tương giàu tiểu cầu (PRP). Huyết tương giàu tiểu cầu (PRP) được trộn đều với pellet để tạo huyết tương giàu tiểu cầu và bạch cầu (L-PRP). Sau đó giai đoạn trùng hợp fibrin được thực hiện bằng cách thêm canxi clorua (10%) để đạt nồng độ cuối cùng là 0,1% trong huyết tương để tạo ra vật liệu sinh học PRF từ PRP hay L-PRF từ L-PRP (Hình 1).



Hình 1. Quy trình thí nghiệm tạo huyết tương giàu tiểu cầu (PRP, L-PRP) và Fibrin giàu tiểu cầu (PRF, L-PRF)

a. Quy trình tạo huyết tương giàu tiểu cầu (PRP), huyết tương giàu tiểu cầu và bạch cầu (L-PRP), **b.** Quy trình tạo fibrin giàu tiểu cầu (PRF), **c.** Quy trình tạo fibrin giàu tiểu cầu và bạch cầu (L-PRF).

2.2.2. Phương pháp phân tích các chỉ số tế bào máu

Mẫu máu với chất chống đông EDTA và các phân đoạn được phân tích các chỉ số huyết học bằng máy phân tích huyết học thú y tự động (BC-2800 Vet, Mindray, Milano, Italy). Các chỉ số huyết học được phân tích bao gồm: hồng cầu, tiểu cầu, bạch cầu, tế bào lympho, bạch cầu đơn nhân, bạch cầu hạt.

2.2.3. Phương pháp nhuộm Hematoxylin-Eosin

Mẫu mô học được xử lý theo quy trình của Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Đại học Y Dược Huế. Các mẫu PRF thu được cố định bằng formalin đậm trung tính 10% trong 48 giờ, sau đó được xử lý tự động bằng máy xử lý mô Shandon Citadel 1000 và đúc trong parafin. Các khối mẫu đã xử lý được cắt lát mỏng 5 μ m và được chuyển lên lam kính phủ gelatin. Quá trình nhuộm H&E được tiến hành theo quy trình của Bộ y tế. Các tiêu bản PRF được khử parafin bằng xylen và được bù nước qua etanol nồng độ giảm dần và nước, sau đó được nhuộm trong hematoxylin và eosin. Các lam kính đã được nhuộm màu được khử nước và dán lamen. Các đặc điểm mô học được quan sát dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 400-6300 lần.

2.2.4. Phương pháp nhuộm Sirius Red

Tiêu bản được nhuộm Sirius Red bằng thuốc Picrosirius Red (Abcam, ab 246832) theo quy trình của nhà sản xuất để quan sát đặc trưng của mạng lưới sợi collagen. Các tiêu bản đã khử paraffin được nhuộm trong dung dịch đỏ Picrosirius ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Các mẫu được rửa hai lần bằng dung dịch axit axetic 0,5% (Sigma-Aldrich), và sau đó được khử nước trong dung dịch etanol nồng độ tăng dần và làm sạch trong xylen. Sau đó tiêu bản được gắn bằng nhựa resinous (Sigma-Aldrich).

2.3. Xử lý số liệu: Dữ liệu được phân tích bằng

phần mềm IBM SPSS statistics 20. Sử dụng kiểm định phi tham số (nonparametric test) – kiểm định Mann – Whitney để kiểm định các giả thiết về 2 mẫu độc lập không có phân phối chuẩn. Mức độ ý nghĩa thống kê được xác định khi $p < 0,05$.

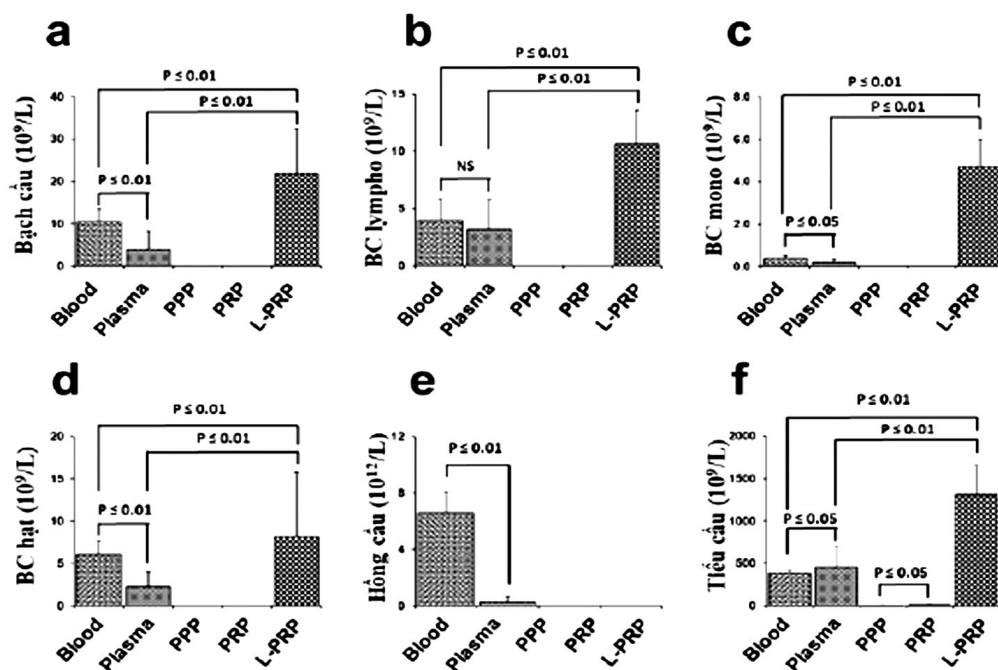
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm thành phần tế bào của fibrin giàu tiểu cầu

Thành phần tế bào của các phân đoạn trong quy trình tạo huyết tương giàu tiểu cầu được phân tích bằng máy huyết học thú y tự động, kết quả được trình bày ở Bảng 1 và Hình 2. Máu toàn phần thô có thành phần tế bào máu bình với chỉ số bạch cầu $10,4 \pm 3,2$ ($10^9/L$), bạch cầu Lympho $4,0 \pm 1,9$ ($10^9/L$), bạch cầu mono $0,4 \pm 0,1$ ($10^9/L$), bạch cầu hạt $6,1 \pm 1,7$ ($10^9/L$), hồng cầu $6,6 \pm 1,5$ ($10^{12}/L$), tiểu cầu $38,6 \pm 2,8$ ($10^{10}/L$). Huyết tương thu được sau ly tâm 2000 vòng/phút trong 5 phút giảm tất cả các chỉ số so với máu toàn phần, ngoại trừ chỉ số tiểu cầu ($45,8 \pm 23,8$) tăng có ý nghĩa thống kê so với máu toàn phần. Phần huyết tương nghèo tiểu cầu (PPP) gần như không chứa bất cứ thành phần tế bào nào ngoại trừ một phần nhỏ tiểu cầu ($0,5 \pm 0,4$). Huyết tương giàu tiểu cầu cũng không chứa bất cứ thành phần tế bào nào ngoại trừ một tiểu cầu ($1,5 \pm 0,4$) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với huyết tương nghèo tiểu cầu. Huyết tương giàu tiểu cầu và bạch cầu được tạo ra bằng cách hòa huyết tương giàu tiểu cầu và pellet tế bào sau ly tâm có thành phần các loại bạch cầu cao hơn có ý nghĩa thống kê so với máu ngoại vi cũng như huyết tương sau ly tâm (Bạch cầu $21,8 \pm 10,7$; bạch cầu lympho $10,7 \pm 3,0$; bạch cầu mono $4,7 \pm 1,3$; bạch cầu hạt $8,1 \pm 7,6$). Trong khi đó chỉ số hồng cầu ($0,5 \pm 0,6$) giảm mạnh có ý nghĩa thống kê so với máu toàn phần. Đặc biệt, chỉ số tiểu cầu trong L-PRP ($131,1 \pm 34,7$) tăng mạnh có ý nghĩa thống kê so với tất cả các nhóm khác.

Bảng 1. Thành phần tế bào của các phân đoạn trong quy trình tạo huyết tương giàu tiểu cầu

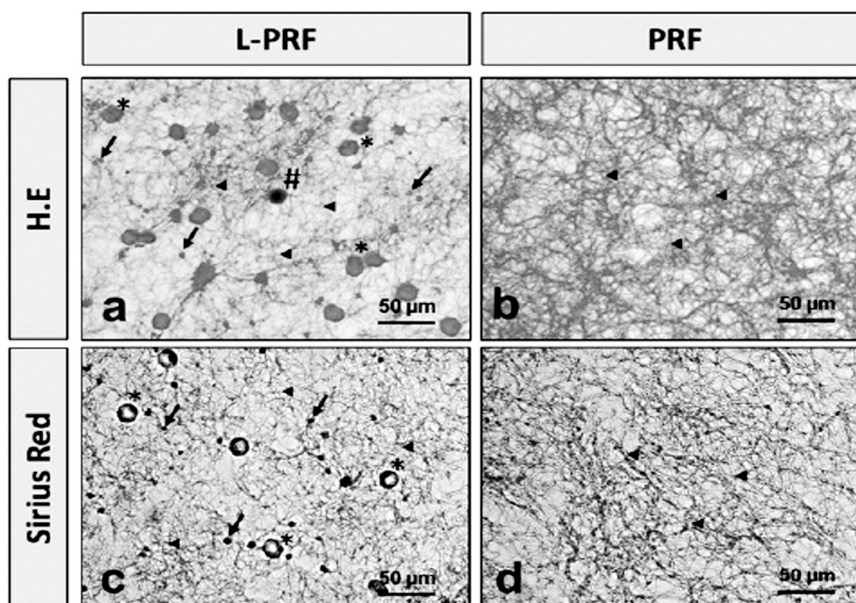
Thành phần tế bào	Máu toàn phần	Huyết tương	PPP	PRP	L-PRP
Bạch cầu ($10^9/L$)	$10,4 \pm 3,2$	$3,9 \pm 4,4$	0,0	0,0	$21,8 \pm 10,7$
Bạch cầu Lympho ($10^9/L$)	$4,0 \pm 1,9$	$3,2 \pm 2,5$	0,0	0,0	$10,7 \pm 3,0$
Bạch cầu mono ($10^9/L$)	$0,4 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$	0,0	0,0	$4,7 \pm 1,3$
Bạch cầu hạt ($10^9/L$)	$6,1 \pm 1,7$	$2,3 \pm 1,8$	0,0	0,0	$8,1 \pm 7,6$
Hồng cầu ($10^{12}/L$)	$6,6 \pm 1,5$	$0,3 \pm 0,4$	0,0	0,0	$0,5 \pm 0,6$
Tiểu cầu ($10^{10}/L$)	$38,6 \pm 2,8$	$45,8 \pm 23,8$	$0,5 \pm 0,4$	$1,5 \pm 0,4$	$131,1 \pm 34,7$



Hình 2. So sánh thành phần tế bào các phân đoạn trong quá trình tạo huyết tương giàu tiểu cầu
a. Tế bào bạch cầu, b. Bạch cầu Lympho, c. Bạch cầu mono, d. Bạch cầu hạt, e. Hồng cầu, f. Tiểu cầu

3.2. Cấu trúc mô học của fibrin giàu tiểu cầu

Cấu trúc mô học của 2 loại fibrin L-PRF và PRF được khảo sát bằng kỹ thuật nhuộm H.E và Sirius red. Hình ảnh cấu trúc mô học được trình bày ở Hình 3. Hình ảnh mô học nhuộm H.E ở nhóm L-PRF cho thấy mạng lưới sợi fibrin có gắn nhiều tế bào máu như bạch cầu, hồng cầu và tiểu cầu (Hình 3a). Trong khi đó, với nhóm PRF, trên hình ảnh tiêu bản nhuộm H.E chỉ quan sát thấy cấu trúc mạng lưới khung sườn fibrin (Hình 3b). Cấu trúc mạng lưới sợi fibrin của L-PRF và PRF được quan sát rõ hơn trên tiêu bản nhuộm Sirius Red (Hình 3.c,d).



Hình 3. Cấu trúc mô học fibrin giàu tiểu cầu

a. Cấu trúc mô học L-PRF nhuộm H.E, b. Cấu trúc mô học PRF nhuộm H.E, c. Cấu trúc mô học L-PRF nhuộm Sirius Red, d. Cấu trúc mô học PRF nhuộm Sirius Red; **Mũi tên:** tiểu cầu, **đầu mũi tên:** sợi fibrin, **dấu hoa thị:** hồng cầu, **dấu thẳng:** bạch cầu

4. BÀN LUẬN

Rất nhiều vật liệu được nghiên cứu ứng dụng trong kỹ thuật tái tạo mô, bao gồm các polyme tự nhiên và tổng hợp và các tổ hợp lai của chúng. Trong số này, vật liệu sinh học bắt chước các cấu trúc tự nhiên với độ ổn định cơ học, độ xốp và tốc độ phân hủy được kiểm soát, có khả năng đáp ứng các yêu cầu của y học tái tạo mô [27-29]. PRF là một vật liệu sinh học tự nhiên dựa trên chất nền ngoại bào với mạng lưới sợi fibrin. Vì vậy, PRF đóng vai trò như một khung sườn mô phỏng cấu trúc sinh học tự nhiên có chứa tiểu cầu, bạch cầu, cytokine miễn dịch và tế bào gốc tuần hoàn [8]. Ngoài ra, vật liệu PRF còn lưu trữ và giải phóng nhiều yếu tố tăng trưởng và tín hiệu có lợi cho quá trình sửa chữa mô. Những đặc tính này của PRF đã được ứng dụng trong nhiều ngành lâm sàng như một vật liệu hỗ trợ phẫu thuật để sửa chữa mô [30].

Fibrin giàu tiểu cầu thể hệ thứ hai được xác định là một vật liệu sinh học có khung sườn fibrin, giàu tiểu cầu và bạch cầu, có khả năng thúc đẩy miễn dịch và phóng thích các cytokine. Tiểu cầu là thành phần chính của PRF, chịu trách nhiệm chính cho hoạt động sinh học của PRF. Tiểu cầu có vai trò quan trọng trong việc hình thành cục máu đông. Ngoài ra, chúng chứa nhiều phân tử protein có nguồn gốc từ tiểu cầu khác nhau có liên quan đến các con đường tín hiệu làm lành vết thương. Tất cả những chất này được lưu trữ bởi ba loại hạt (α , δ và λ) nằm bên trong tiểu cầu. Hạt α là nguồn dự trữ chính của các yếu tố tăng trưởng và là hạt tiểu cầu dồi dào nhất. Các hạt này chứa các yếu tố tăng trưởng khác nhau chịu trách nhiệm tái tạo mô mềm và mô cứng sau khi bị thương, được giải phóng thông qua quá trình xuất bào khi các tiểu cầu được kích hoạt. Một số yếu tố tăng trưởng quan trọng nhất của PRF, bao gồm yếu tố tăng trưởng biến đổi β (TGF- β), yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu (PDGF), yếu tố tăng trưởng giống insulin 1 (IGF1), yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (VEGF) và biểu bì yếu tố tăng trưởng (EGF). Hơn nữa, trong số các yếu tố tăng trưởng được giải phóng từ tiểu cầu, PRF chứa các cytokine miễn dịch như interleukin (IL) -1 β , IL-6, IL-4, và yếu tố hoại tử khối u (TNF) - α [3, 31].

Fibrin giàu tiểu cầu được coi là một vật liệu sinh học fibrin. Cấu trúc phân tử của nó với nồng độ thrombin thấp là một chất nền tối ưu cho sự di trú của các tế bào nội mô và nguyên bào sợi. PRF cho phép tạo mạch nhanh chóng và tái cấu trúc fibrin dễ dàng hơn. PRF có tất cả các thông số cần thiết cho phép tái tạo, sửa chữa mô tối ưu. PRF bao gồm một ma trận chất nền fibrin được trùng hợp trong các cấu trúc phân tử protein bậc bốn, kết hợp với tiểu

cầu, bạch cầu và cytokine, và sự hiện diện của các tế bào gốc tuần hoàn trong máu ngoại vi [32].

Fibrin giàu tiểu cầu được sử dụng rộng rãi trong phẫu thuật răng hàm mặt. Màng PRF thường xuyên được sử dụng kết hợp với vật liệu ghép xương để giảm thời gian lành thương và thúc đẩy quá trình tái tạo xương. Choukroun và cộng sự cho thấy PRF kết hợp với xương đồng khô làm tăng sự hình thành xương trong các thủ thuật nâng xoang [31]. Đây là phương pháp hiệu quả để giảm bớt các biến chứng sau phẫu thuật của thủ thuật này. Mức độ gắn kết cao của PRF và chất làm đầy xương là tính chất quan trọng trong ứng dụng tái tạo các khuyết hổng xương lớn. Những cải thiện tương tự về kết quả của bệnh nhân cũng được quan sát thấy đối với khuyết tật rãnh răng hàm dưới hoặc khuyết tật tụt nướu cũng như hoại tử xương hàm [33].

Một ứng dụng phổ biến khác của fibrin giàu tiểu cầu là lĩnh vực phẫu thuật chỉnh hình. Nghiên cứu được thực hiện bởi Wright-Carpenter và các đồng nghiệp đã đánh giá tác động của PRF đối với chấn thương căng cơ ở người. Bệnh nhân được điều trị bằng PRF cho thấy thời gian hồi phục giảm xuống so với bệnh nhân chỉ được điều trị bằng phương pháp điều trị chống viêm [34]. Trong một phân tích hồi cứu của những bệnh nhân được phẫu thuật vì đứt cấp tính của gân Achilles có và không có sử dụng PRF cho thấy những cải thiện chức năng đáng kể về đặc điểm cơ sinh học và hiệu quả của chuyển động trong chu kỳ đáng đi ở nhóm điều trị PRF. Nghiên cứu cho thấy, PRF có hiệu quả tiềm năng trong việc hỗ trợ chữa lành gân, tái tạo lại sự kéo dài của gân và sự trở lại linh hoạt cũng như hiệu lực hoạt động của cơ trong quá trình phục hồi hậu phẫu [35].

Trong phẫu thuật tạo hình và tái tạo, Pinto và cộng sự đã nghiên cứu ảnh hưởng của PRF đối với loét chi dưới bằng cách làm sạch vết thương sau đó đặt màng PRF lên toàn bộ vùng vết thương và phủ bằng băng gạc không dính. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tất cả các vết thương đều cho thấy những cải thiện đáng kể, không có sự tái phát của vết thương trong năm đầu tiên sau khi điều trị [36]. Chignon-Sicard và cộng sự đã nghiên cứu việc chữa lành vết thương tươi trên lòng bàn tay bằng cách đặt màng PRF lên vết thương và phủ màng này bằng băng gạc không dính. Kết quả cho thấy so với nhóm đối chứng, nhóm PRF ít than phiền đau hơn, ít tiết dịch và chảy máu và ít cần thay băng hơn. Quan trọng hơn, vết thương của nhóm PRF lành sớm hơn nhóm chứng [37].

Trong y học tái tạo mô sụn khớp, PRF có nhiều tiềm năng để điều trị chấn thương sụn khớp. Takuya Kinoshita và các đồng nghiệp đã nghiên cứu tái tạo

mô sụn khớp ở thỏ bằng màng fibrin giàu tiểu cầu tự thân. Kết quả nghiên cứu cho thấy quy trình phẫu thuật có sử dụng màng PRF hiệu quả hơn khi đánh giá đại thể và mô học [38]. PRF thúc đẩy sự biểu hiện glycosaminoglycan ngoại bào của các tế bào sụn nuôi cấy [39]. Haleem và cộng sự đã báo cáo việc cấy ghép tế bào gốc trung mô tủy xương tự thân (BM-MSC) kết hợp fibrin giàu tiểu cầu như một giá thể tế bào là một cách tiếp cận hiệu quả để thúc đẩy quá trình sửa chữa toàn bộ độ sâu ổ khuyết sụn khớp của đầu gối, đặc biệt ở những bệnh nhân có tổn thương với kích thước lớn ($> 4 \text{ cm}^2$) [40].

5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy fibrin giàu tiểu cầu kết hợp với bạch cầu hay không đều có cấu

trúc khung sườn fibrin phù hợp như một giá thể của vật liệu sinh học tiềm năng. Ngoài ra, fibrin giàu tiểu cầu và bạch cầu chứa thành phần tế bào phong phú có tiềm năng trong thúc đẩy quá trình tái tạo mô. Các nghiên cứu sâu hơn về cấu trúc nano của khung sườn fibrin, thành phần tế bào như tế bào gốc trong máu ngoại vi, và các yếu tố tăng trưởng của fibrin giàu tiểu cầu nên được tiến hành để bổ sung thêm các bằng chứng vững chắc cho các ứng dụng trong lâm sàng

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài khoa học công nghệ cấp Bộ Giáo dục và đào tạo, mã số B2020-DHH-12. Các tác giả cảm ơn sự hỗ trợ của Nhóm nghiên cứu mạnh Y học tái tạo, Đại học Huế (NCM.DHH.2022.02).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] E. Kobayashi, L. Flückiger, M. Fujioka-Kobayashi, K. Sawada, A. Sculean, B. Schaller, R.J. Miron, Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF, *Clin Oral Investig*, 20 (2016) 2353-2360.
- [2] J. Choukroun, A. Diss, A. Simonpieri, M.O. Girard, C. Schoeffler, S.L. Dohan, A.J. Dohan, J. Mouhyi, D.M. Dohan, Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101 (2006) 299-303.
- [3] V. Pavlovic, M. Ciric, V. Jovanovic, M. Trandafilovic, P. Stojanovic, Platelet-rich fibrin: Basics of biological actions and protocol modifications, *Open Medicine*, 16 (2021) 446-454.
- [4] D.M. Dohan, J. Choukroun, A. Diss, S.L. Dohan, A. Dohan, J. Mouhyi, B. Gogly, Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution, *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101 3 (2006) e37-44.
- [5] F.J. O'Brien, *Biomaterials & scaffolds for tissue engineering*, *Materials Today*, 14 (2011) 88-95.
- [6] G.I. Im, *Biomaterials in orthopaedics: the past and future with immune modulation*, *Biomaterials research*, 24 (2020) 7.
- [7] Y. Kang, *Cell Biological Techniques and Cell-Biomaterial Interactions*, *Cells*, 9 (2020).
- [8] V. Pavlovic, M. Ciric, V. Jovanovic, M. Trandafilovic, P. Stojanovic, Platelet-rich fibrin: Basics of biological actions and protocol modifications, *Open medicine*, 16 (2021) 446-454.
- [9] D.H. Rosero Salazar, R.E.M. van Rheden, M. van Hulzen, P.L. Carvajal Monroy, F. Wagener, J.W. Von den Hoff, Fibrin with Laminin-Nidogen Reduces Fibrosis and Improves Soft Palate Regeneration Following Palatal Injury, *Biomolecules*, 11 (2021).
- [10] M.-Y. Bai, C.-W. Wang, J.-Y. Wang, M.-F. Lin, W.P. Chan, Three-dimensional structure and cytokine distribution of platelet-rich fibrin, *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*, 72 (2017) 116-124.
- [11] G. Sam, R.J. Vadakketkuttal, N.V. Amol, In vitro evaluation of mechanical properties of platelet-rich fibrin membrane and scanning electron microscopic examination of its surface characteristics, *J Indian Soc Periodontol*, 19 (2015) 32-36.
- [12] G. Durán, A. Luzo, W. Fávoro, N. Duran, Nanostructured platelet-rich plasma: State of art in dental treatments, *Brazilian Dental Science*, 23 (2020).
- [13] E. Torreggiani, F. Perut, L. Roncuzzi, N. Zini, S.R. Baglio, N. Baldini, Exosomes: novel effectors of human platelet lysate activity, *European cells & materials*, 28 (2014) 137-151; discussion 151.
- [14] S. Al-Maawi, K. Becker, F. Schwarz, R. Sader, S. Ghanaati, Efficacy of platelet-rich fibrin in promoting the healing of extraction sockets: a systematic review, *International journal of implant dentistry*, 7 (2021) 117.
- [15] K. Egle, I. Salma, A. Dubnika, From Blood to Regenerative Tissue: How Autologous Platelet-Rich Fibrin Can Be Combined with Other Materials to Ensure Controlled Drug and Growth Factor Release, *International journal of molecular sciences*, 22 (2021) 11553.
- [16] F.J. Strauss, J. Nasirzade, Z. Kargarpour, A. Stahli, R. Gruber, Effect of platelet-rich fibrin on cell proliferation, migration, differentiation, inflammation, and osteoclastogenesis: a systematic review of in vitro studies, *Clinical oral investigations*, 24 (2020) 569-584.
- [17] M. Lo Monaco, P. Gervois, J. Beaumont, P. Clegg, A. Bronckaers, J.-M. Vandeweerdt, I. Lambrichts, Therapeutic Potential of Dental Pulp Stem Cells and Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin for Osteoarthritis, *Cells*, 9 (2020) 980.

[18] A.R. Farmani, M.H. Nekoofar, S. Ebrahimi Barough, M. Azami, N. Rezaei, S. Najafipour, J. Ai, Application of Platelet Rich Fibrin in Tissue Engineering: Focus on Bone Regeneration, *Platelets*, 32 (2021) 183-188.

[19] S. Barbon, E. Stocco, V. Macchi, M. Contran, F. Grandi, A. Borean, P.P. Parnigotto, A. Porzionato, R. De Caro, Platelet-Rich Fibrin Scaffolds for Cartilage and Tendon Regenerative Medicine: From Bench to Bedside, *International journal of molecular sciences*, 20 (2019) 1701.

[20] S. Padilla, M. Sanchez, V. Vaquerizo, G.A. Malanga, N. Fiz, J. Azofra, C.J. Rogers, G. Samitier, S. Sampson, R. Seijas, R. Elorriaga, J. Taunton, F. Boehm, R. Prado, R. Cugat, E. Anitua, Platelet-Rich Plasma Applications for Achilles Tendon Repair: A Bridge between Biology and Surgery, *International journal of molecular sciences*, 22 (2021).

[21] X. Liu, R. Zhang, B. Zhu, Y. Li, X. Liu, S. Guo, C. Wang, D. Wang, S. Li, Effects of leukocyte- and platelet-rich plasma on tendon disorders based on in vitro and in vivo studies (Review), *Experimental and therapeutic medicine*, 21 (2021) 639.

[22] S. Dashore, K. Chouhan, S. Nanda, A. Sharma, Platelet-Rich Fibrin, Preparation and Use in Dermatology, *Indian Dermatol Online J*, 12 (2021) S55-S65.

[23] B. Shashank, M. Bhushan, Injectable Platelet-Rich Fibrin (PRF): The newest biomaterial and its use in various dermatological conditions in our practice: A case series, *Journal of cosmetic dermatology*, 20 (2021) 1421-1426.

[24] S. Arshad, F. Tehreem, M. Rehab Khan, F. Ahmed, A. Marya, M.I. Karobari, Platelet-Rich Fibrin Used in Regenerative Endodontics and Dentistry: Current Uses, Limitations, and Future Recommendations for Application, *Int J Dent*, 2021 (2021) 4514598-4514598.

[25] R.J. Miron, V. Moraschini, M. Fujioka-Kobayashi, Y. Zhang, T. Kawase, R. Cosgarea, S. Jepsen, M. Bishara, L. Canullo, Y. Shirakata, R. Gruber, D. Ferenc, M.D. Calasans-Maia, H.-L. Wang, A. Sculean, Use of platelet-rich fibrin for the treatment of periodontal intrabony defects: a systematic review and meta-analysis, *Clinical oral investigations*, 25 (2021) 2461-2478.

[26] S.M. O'Connell, T. Impeduglia, K. Hessler, X.J. Wang, R.J. Carroll, H. Dardik, Autologous platelet-rich fibrin matrix as cell therapy in the healing of chronic lower-extremity ulcers, *Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 16 (2008) 749-756.

[27] S. Pina, V.P. Ribeiro, C.F. Marques, F.R. Maia, T.H. Silva, R.L. Reis, J.M. Oliveira, Scaffolding Strategies for Tissue Engineering and Regenerative Medicine Applications, *Materials*, 12 (2019).

[28] J. Qi, T. Yu, B. Hu, H. Wu, H. Ouyang, Current Biomaterial-Based Bone Tissue Engineering and Translational Medicine, *International journal of molecular sciences*, 22 (2021).

[29] A. Khanna, M. Zamani, N.F. Huang, Extracellular Matrix-Based Biomaterials for Cardiovascular Tissue Engineering, *Journal of cardiovascular development and disease*, 8 (2021).

[30] M. Damsaz, C.Z. Castagnoli, M. Eshghpour, D.H. Alamdari, A.H. Alamdari, Z.E.F. Noujeim, Z.S. Haidar,

Evidence-Based Clinical Efficacy of Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin in Maxillary Sinus Floor Lift, Graft and Surgical Augmentation Procedures, *Frontiers in surgery*, 7 (2020) 537138.

[31] J. Choukroun, A. Diss, A. Simonpieri, M.O. Girard, C. Schoeffler, S.L. Dohan, A.J. Dohan, J. Mouhyi, D.M. Dohan, Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101 (2006) e56-60.

[32] F.J. Strauss, J. Nasirzade, Z. Kargarpour, A. Stähli, R. Gruber, Effect of platelet-rich fibrin on cell proliferation, migration, differentiation, inflammation, and osteoclastogenesis: a systematic review of in vitro studies, *Clin Oral Investig*, 24 (2020) 569-584.

[33] A.F. Grecu, L. Reclaru, L.C. Ardelean, O. Nica, E.M. Ciucă, M.E. Ciurea, Platelet-Rich Fibrin and Its Emerging Therapeutic Benefits for Musculoskeletal Injury Treatment, *Medicina*, 55 (2019) 141.

[34] T. Wright-Carpenter, P. Klein, P. Schäferhoff, H.J. Appell, L.M. Mir, P. Wehling, Treatment of muscle injuries by local administration of autologous conditioned serum: a pilot study on sportsmen with muscle strains, *Int J Sports Med*, 25 (2004) 588-593.

[35] F. Alviti, M. Gurzi, V. Santilli, M. Paoloni, R. Padua, A. Bernetti, M. Bernardi, M. Mangone, Achilles Tendon Open Surgical Treatment With Platelet-Rich Fibrin Matrix Augmentation: Biomechanical Evaluation, *J Foot Ankle Surg*, 56 (2017) 581-585.

[36] N.R. Pinto, M. Ubilla, Y. Zamora, V. Del Rio, D.M. Dohan Ehrenfest, M. Quirynen, Leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) as a regenerative medicine strategy for the treatment of refractory leg ulcers: a prospective cohort study, *Platelets*, 29 (2018) 468-475.

[37] B. Chignon-Sicard, C.A. Georgiou, E. Fontas, S. David, P. Dumas, T. Ihrli, E. Lebreton, Efficacy of leukocyte- and platelet-rich fibrin in wound healing: a randomized controlled clinical trial, *Plast Reconstr Surg*, 130 (2012) 819e-829e.

[38] T. Kinoshita, Y. Hashimoto, K. Orita, Y. Nishida, K. Nishino, H. Nakamura, Autologous Platelet-Rich Fibrin Membrane to Augment Healing of Microfracture Has Better Macroscopic and Histologic Grades Compared With Microfracture Alone on Chondral Defects in a Rabbit Model, *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*, (2021).

[39] C.C. Wong, K.L. Ou, Y.H. Lin, M.F. Lin, T.L. Yang, C.H. Chen, W.P. Chan, Platelet-Rich Fibrin Facilitates One-Stage Cartilage Repair by Promoting Chondrocytes Viability, Migration, and Matrix Synthesis, *International journal of molecular sciences*, 21 (2020).

[40] A.M. Haleem, A.A. Singergy, D. Sabry, H.M. Atta, L.A. Rashed, C.R. Chu, M.T. El Shewy, A. Azzam, M.T. Abdel Aziz, The Clinical Use of Human Culture-Expanded Autologous Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Transplanted on Platelet-Rich Fibrin Glue in the Treatment of Articular Cartilage Defects: A Pilot Study and Preliminary Results, *Cartilage*, 1 (2010) 253-261.