

Kết quả phân lập, nuôi cấy, đánh giá và lưu trữ tế bào gốc trung mô từ mô mỡ trên chó phục vụ cho nghiên cứu y học thực nghiệm

Isolation, cultivation, evaluation, and storage of mesenchymal stem cells from canine adipose tissue for experimental medical research

Đặng Văn Huy^{1,2*}, Nguyễn Kim Anh²,
Lê Hữu Phương Anh², Phạm Công Nguyên²,
Nguyễn Hải Anh², Vũ Mạnh Hùng², Mai Đức Việt²,
Nguyễn Thế Hoàng², Ngô Thị Hạnh³,
Nguyễn Thị Hương³ và Trần Thị Huyền Trang²

¹Bệnh viện Quân y 110 - Quân khu 1,
²Bệnh viện Trung ương Quân đội 108,
³Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá chất lượng tế bào gốc trung mô (Mesenchymal stem cells - MSC) từ các phần phân lập, nuôi cấy, đánh giá và lưu trữ tế bào gốc trung mô từ mô mỡ của chó phục vụ cho nghiên cứu y học thực nghiệm. **Đối tượng và phương pháp:** Tế bào gốc trung mô được phân lập từ mô mỡ của động vật (chó) tại các vị trí khác nhau như dưới da, tử cung, vùng thượng thận, mô mỡ tuyến và được đánh giá về đặc điểm hình thái, khả năng biệt hóa, mức độ biểu hiện một số RNA đặc hiệu và sự ổn định của yếu tố di truyền qua các giai đoạn nuôi cấy. **Kết quả và kết luận:** Tế bào gốc trung mô được phân lập, nuôi cấy từ mô mỡ dưới da có khả năng tăng sinh, biệt hóa và biểu hiện RNA các dấu ấn bề mặt đặc trưng cũng như duy trì được tính ổn định di truyền qua các giai đoạn nuôi cấy.

Từ khóa: Tế bào gốc trung mô, mô mỡ, chó.

Summary

Objective: Production of mesenchymal stem cells from animal (canine) adipose tissue for experimental medical research. **Subject and method:** Mesenchymal stem cells (MSCs) were isolated from adipose tissue of animals (canine) at different locations of the body, such as subcutaneous and visceral (mesenteric, perirenal, and ovarian) surrounding fat, and were evaluated for morphological characteristics, differentiation ability, expression level of some specific RNAs and stability of genetic factors through the culture stages. **Result and conclusion:** Mesenchymal stem cells isolated and cultured from subcutaneous adipose tissue can proliferate, differentiate, and express RNA of specific surface markers and maintain genetic stability through the culture stages.

Keywords: Mesenchymal stem cells, adipose tissue, canine.

Ngày nhận bài: 08/11/2024, ngày chấp nhận đăng: 18/12/2024

* Tác giả liên hệ: huy150979@gmail.com - Bệnh viện Quân y 110 - Quân khu 1

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Y học tái tạo đã mang lại những tiến bộ vượt bậc cho nền y học Thế kỷ XX, trong đó bao gồm các liệu pháp trị liệu dựa trên ứng dụng của công nghệ tế bào gốc. Tế bào gốc là loại tế bào đặc biệt với khả năng tự đổi mới và biệt hóa thành các loại tế bào có các chức năng khác nhau trong cơ thể. Dựa vào nguồn gốc, khả năng tự đổi mới cũng như mức độ biệt hóa, tế bào gốc được chia làm nhiều loại: Tế bào gốc phôi, tế bào gốc vạn năng, tế bào gốc vạn năng cảm ứng và tế bào gốc trưởng thành¹. Tế bào gốc phôi (Embryonic Stem Cells – ESCs) có khả năng biệt hóa thành hầu như tất cả các loại tế bào của cơ thể và được xem là tế bào gốc toàn năng. Tuy nhiên do những rào cản trong vấn đề y đức nên những nghiên cứu ứng dụng lâm sàng sử dụng tế bào gốc phôi vẫn còn hạn chế. Sự phát triển của công nghệ sinh học hiện đại đã cho phép tái lập trình một tế bào trưởng thành để tạo ra tế bào gốc vạn năng cảm ứng (Induced Pluripotent Stem Cells – iPS Cells) và là nguồn tế bào gốc tiềm năng thay thế cho tế bào gốc phôi. Tuy nhiên tính an toàn, ổn định, mức độ biệt hóa cũng như khả năng ứng dụng lâm sàng của iPS vẫn đang được nghiên cứu. Tế bào gốc trưởng thành (Adult Stem Cells – ASCs) với các đặc tính vượt trội như đa dạng nguồn phân lập, có khả năng tự đổi mới và biệt hóa cao đang trở thành một trong những hướng nghiên cứu tiềm năng trong điều trị. MSC được phân lập đầu tiên trong tủy xương vào cuối những năm 1960 bởi Alexander Friedenstein và các cộng sự^{2, 3}. Các nghiên cứu sau đó đã phân lập được MSC từ nhiều loại mô khác trong cơ thể như mô cuống rốn, mô mỡ, răng sữa... Hàng loạt các bằng chứng đã cho thấy khả năng di chuyển đến các vị trí bị tổn thương, kích thích quá trình hồi phục tại các tổn thương của MSC^{4, 5}. Ngoài ra, các yếu tố tăng trưởng, các túi tiết ngoại bào của MSC cũng góp phần quan trọng trong điều biến miễn dịch, thúc đẩy quá trình tăng sinh mạch, ức chế quá trình chết theo chu trình của tế bào^{6, 7}. Với những tiềm năng quan trọng của nhóm tế bào này cho thấy tính cấp thiết trong việc mở rộng những nghiên cứu tiền lâm sàng trên động vật bên cạnh những nghiên cứu ở cấp độ tế bào (*in vitro*) từ đó

làm nền tảng cho đề xuất những ứng dụng của phương pháp điều trị này trên lâm sàng.

Nghiên cứu thực nghiệm trên động vật được coi là bước chuyển quan trọng để rút ngắn khoảng cách giữa các thí nghiệm lý thuyết và thử nghiệm lâm sàng, sau đó là ứng dụng y học⁸. Trong khi nhóm động vật nhỏ như chuột, thỏ có những hạn chế đáng kể vì kích thước và mức độ tiến hóa so với con người, thì các loài linh trưởng lại có những đặc điểm gần với tình trạng của con người hơn. Tuy nhiên những thử nghiệm trên loài linh trưởng bị hạn chế bởi các yếu tố liên quan tới chuẩn bị động vật, tài chính và đặc biệt là đạo đức nghiên cứu⁹. Do đó, mô hình nhóm động vật lớn như chó, lợn được coi là lựa chọn phù hợp để đánh giá các quá trình sinh lý, phục hồi, tái tạo trong các nghiên cứu thực nghiệm về tế bào gốc trong điều trị hàng loạt bệnh như sửa chữa xương/sụn, đứt tháo đường, tim mạch, rối loạn liên quan đến miễn dịch và thần kinh. Tại Việt Nam chưa có một nghiên cứu ứng dụng tế bào gốc nào được thực hiện trên nhóm động vật lớn, do đó dữ liệu đánh giá hiệu quả của liệu pháp tế bào MSC trên mô hình thực nghiệm gần với mô hình người rất hạn chế. Chính vì vậy chúng tôi thực hiện nghiên cứu với mục tiêu: *Phân lập, nuôi cấy, đánh giá tế bào gốc trung mô từ mô mỡ chó nhằm tạo một ngân hàng tế bào gốc từ động vật mang lại những thuận lợi cho thực hiện các nghiên cứu thực nghiệm về tế bào gốc trung mô.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng

Động vật thực nghiệm - giống chó Việt Nam khỏe mạnh trưởng thành, được tuyển chọn, cung cấp bởi Bệnh viện Thú Y - Khoa Thú y - Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Phân lập, nuôi cấy và định danh MSC tại Trung tâm Nghiên cứu Ứng dụng Tế bào gốc - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

Thời gian từ tháng 10 đến 12/2022.

2.2. Phương pháp

Phân lập tế bào gốc trung mô từ mô mỡ.

Động vật được gây mê với liều 0,1mg/kg zoletil 50 và 0,15mg/kg xylazine. Mô mỡ được thu thập từ

các vị trí dưới da, mô mỡ tuyến vú, vùng thượng thận và cạnh tử cung, buồng trứng. Các mẫu mô sau đó sẽ được rửa với nước muối sinh lý (NaCl 0,9%) có 1% penicillin/streptomycin (P/S) (Corning, Mỹ) và được phân giải bằng enzyme Collagenase type IV (Gibco, Hoa Kỳ) nồng độ 100U/mL trong 2 giờ ở 37°C có khuấy trộn nhẹ nhàng. Quá trình phân giải sẽ được vô hiệu hóa bằng cách bổ sung môi trường Dulbecco's Modified Eagle: Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F12) (Gibco, USA) bổ sung 10% Fetal Bovine Serum (FBS) (Sigma-Aldrich, MO) và 1% P/S. Huyền dịch tế bào được đưa vào ly tâm ở tốc độ 2000 vòng/phút trong 10 phút thu được dung dịch được phân tách thành ba lớp, lớp lipid nổi phía trên được loại bỏ, còn phần cụm tế bào (SVF) được giữ lại và rửa bằng dung dịch nước muối đệm photphat (Dulbecco's Phosphate Buffer Saline - DPBS) trước khi tạo huyền phù lại trong môi trường DMEM/F12 với 10% FBS và 1% P/S. Dung dịch huyền phù sau đó được dàn đều trên các bình nuôi cấy T25 và ủ ở 37°C, 5% CO₂. Sau 48 giờ các tế bào không bám dính được loại bỏ bằng cách rửa bình bằng DPBS và môi trường được thay mới sau mỗi 3 ngày. Các tế bào gốc trung mô có nguồn gốc từ mô mỡ (AD-MSC) được thu hoạch và cấy chuyển khi mật độ đạt 70-80% bằng cách sử dụng enzyme Trypsin/EDTA 0,25% (Gibco, Hoa kỳ) trong 3 phút ở 37°C. Sau đó các enzyme được bất hoạt bằng môi trường nuôi cấy và dung dịch chứa tế bào được ly tâm ở tốc độ 2000 vòng/phút trong 5 phút và rửa bằng DPBS trước khi tái huyền phù lại trong môi trường nuôi cấy và trải vào bình nuôi cấy mới.

Bảo quản và tái nuôi cấy thứ cấp AD-MSCs

Các tế bào sẽ được bảo quản lạnh ở -80°C sau khi tăng sinh đến giai đoạn 2 (Passage 2) và sẽ được rã đông và tái nuôi cấy theo kế hoạch của nghiên cứu. Quy trình thực hiện bao gồm các bước: (1) Thu hoạch tế bào, (2) Rửa tế bào, (3) Chuyển tế bào vào môi trường đông lạnh, (4) Hạ lạnh bằng hệ thống hạ lạnh bán tự động. Các tế bào sau khi thu hoạch sẽ được huyền phù lại trong 1mL Synth-A-Freeze (Gibco, Hoa Kỳ) với tỷ lệ 1×10^6 tế bào/ml/ống. Các ống lưu trữ tế bào được chuyển vào hệ thống hạ lạnh CryoMed™ (Thermo Fisher, Hoa Kỳ), thiết lập

chương trình với tốc độ hạ lạnh từ -1°C/phút cho đến -80°C. Sau khi quy trình hoàn thành các ống lưu trữ được chuyển sang Nitơ lỏng (LN2) và được lưu trữ cho đến bước tiếp theo. Để tái nuôi cấy, các ống tế bào sẽ được rã đông ở nhiệt độ 37°C, các tế bào sau khi rã đông được rửa bằng DPBS trước khi đưa lại vào nuôi trường nuôi cấy đã được làm ấm ở 37°C. Tế bào được trải lại vào bình nuôi cấy T25 với mật độ 5000 – 8000 tế bào/cm² và môi trường được thay mới 3 ngày/lần. Khi mật độ đạt khoảng 80 – 90%, các tế bào sẽ được thu hoạch, huyền phù lại trong NaCl 0,9% và được chuyển đến phòng phẫu thuật để tiêm nội khớp cho đối tượng nghiên cứu.

Đánh giá khả năng biệt hóa sụn của AD-MSCs

Các tế bào được đánh giá khả năng biệt hóa khi các tế bào tăng sinh đến giai đoạn 4 (Passage 4). Môi trường nuôi cấy được thay thế bằng môi trường biệt hóa sụn - Chondrogen StemPro™ (Gibco™, A1007101) để biệt hóa các tế bào gốc trung mô thành tế bào sụn. Tế bào được nuôi cấy trong điều kiện 37°C và 5% CO₂ trong khoảng 24 - 26 ngày, thay môi trường 3 ngày/lần. Cuối cùng, môi trường được loại bỏ và các tế bào được rửa bằng DPBS và cố định bằng dung dịch formalin 10% trong 30 phút, proteoglycan đặc hiệu của tế bào sụn được phát hiện bằng cách nhuộm với Safranin-O (0,1%) và được đánh giá sự biệt hóa tế bào sụn bằng kính hiển vi quang học.

Đánh giá sự ổn định di truyền bằng xét nghiệm Comet

Một phần tế bào thu hoạch từ mỗi giai đoạn được sử dụng để xác định độ ổn định của DNA thông qua xét nghiệm Comet. Các tế bào được trộn với 1% Certified™ Megabase Agarose (Bio-Rad, Tây Ban Nha) và trải đều trên các lam kính phủ agarose nóng chảy thông thường. Màng tế bào được ly giải bằng dung dịch đệm ly giải (Thermo Fisher Scientific, Hoa Kỳ) qua đêm ở 4°C, tránh ánh sáng. Sau đó, dung dịch đệm kiềm được áp dụng để cho phép DNA tháo xoắn ở nhiệt độ 4°C trong bóng tối sau 30 phút. Các lam kính chứa tế bào được điện di ở điện áp 24V trong 30 phút, và nhân tế bào sau đó được nhuộm bằng 1µg/mL DAPI tránh sáng. Đuôi

sao chổi được quan sát bằng kính hiển vi huỳnh quang (Olympus IX73, Nhật Bản).

Định lượng biểu hiện mRNA của các dấu ấn miễn dịch đặc hiệu bằng RT-qPCR

Sau khi các tế bào AD - MSC được tăng sinh đến giai đoạn 3 (Passage 3) sẽ được thu hoạch và đánh giá biểu hiện mRNA với mẫu đối chứng là các tế bào đơn nhân máu ngoại vi. RNA tổng số được tách chiết bằng dung dịch Trizol và có bổ sung Dnase I (QIAGEN, 79254), sau đó cDNA được tổng hợp bằng kit cDNA LunaScript RT SuperMix (NEB, E3010) theo quy trình của nhà sản xuất. Các phản ứng Realtime PCR được thực hiện bằng Hệ thống PCR AriaMx (Agilent Technologies, G8830A) với DNA Luminaris HiGreen qPCR Master Mix 2X (Thermo Scientific™, K0991). Các bộ mỗi được thiết kế đặc hiệu cho 8 marker bề mặt bao gồm CD14, CD34, CD45, CD73, CD90, CD105, CD146, CD166 và gen quản gia nội sinh, β -glucuronidase

(GUSB). Mức độ biểu hiện gen được định lượng tương đối dựa trên giá trị ngưỡng chu kỳ (Ct).

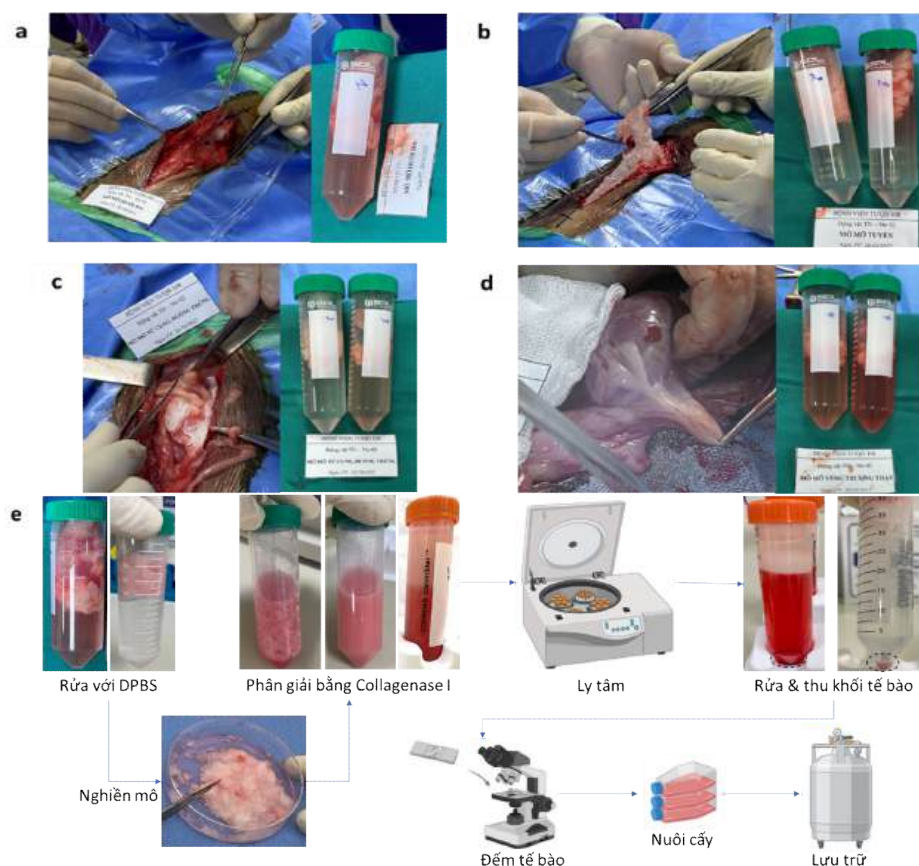
2.3. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng động vật thực nghiệm là loài chó nuôi nhằm mục đích giảng dạy và nghiên cứu khoa học, được thông qua Hội đồng chuẩn y sử dụng động vật trong nghiên cứu số VNUA-08/2022 của Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

III. KẾT QUẢ

3.1. Phân lập và nuôi cấy tế bào gốc trung mô từ mô mỡ của chó

Quá trình thu thập được thực hiện theo đúng quy trình phẫu thuật tiêu chuẩn và động vật thí nghiệm vẫn sống sót sau khi cuộc phẫu thuật hoàn tất. MSC được phân lập từ các vị trí mô mỡ khác nhau phục vụ đánh giá chất lượng MSC theo nguồn gốc phân lập ở vị trí dưới da, mô mỡ tuyến vú, vùng thượng thận và cạnh tử cung buồng trứng (Hình 1).

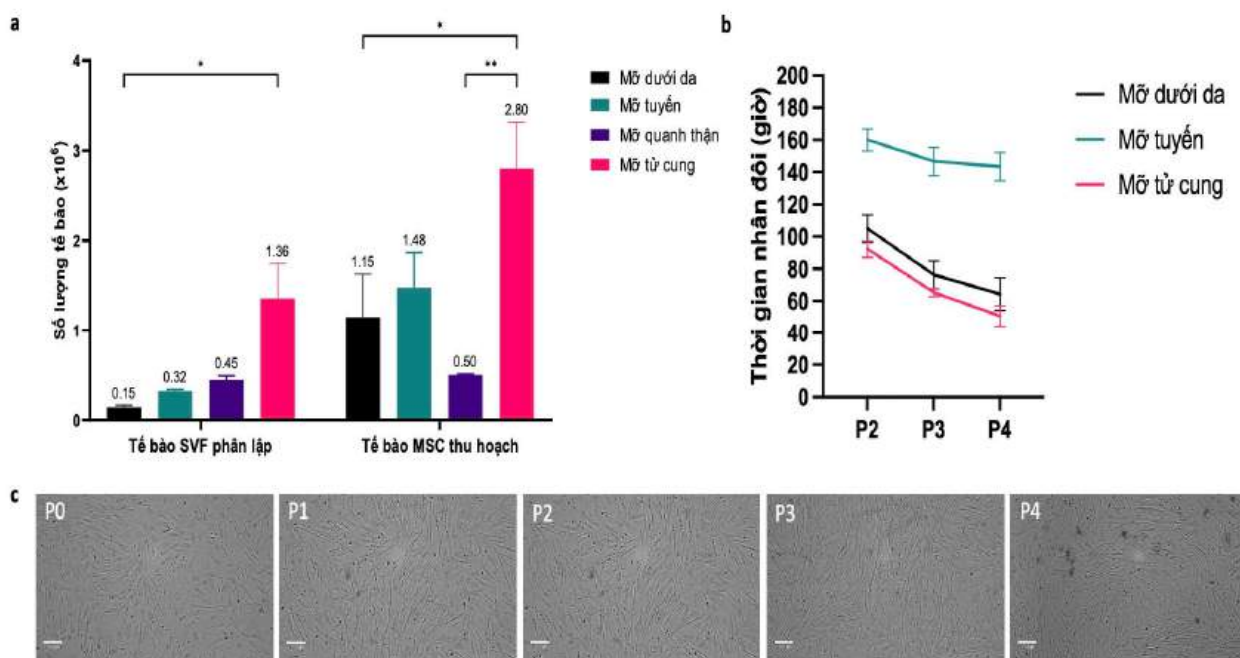


Hình 1. Mô tả quy trình thu thập, tách chiết, nuôi cấy tế bào gốc trung mô từ mô mỡ.

- (a) Phẫu thuật lấy mỡ tại vị trí mô mỡ dưới da; (b) Mô mỡ tuyến vú; (c) Mô mỡ tử cung, buồng trứng; (d) Mô mỡ tuyến thượng thận; (e) Quy trình phân lập, tăng sinh, lưu trữ tế bào gốc trung mô từ mô mỡ.

Sau quá trình phân giải các mô mỡ bằng enzyme, số lượng tế bào SVF thu thập được từ 1g mô mỡ tử cung ($1,36 \pm 0,5 \times 10^6$ tế bào/g) cao hơn đáng kể so với số lượng tế bào thu được từ mô mỡ tại các vùng khác. Chính vì vậy số lượng AD-MSCs từ mô mỡ tử cung sau thu thập cũng cao nhất sau đó là mỡ tuyến và mỡ dưới da (Hình 2A). Thời gian nhân đôi của AD-MSCs là 90 ± 12 và 105 ± 15 giờ đối với mô mỡ tử cung và mô mỡ dưới da sau giai đoạn 2 (passage 2) trong quá trình nuôi cấy thứ cấp và ít hơn đáng kể khi so sánh với thời gian nhân đôi của

các tế bào gốc từ mô mỡ tuyến (160 ± 12 giờ) (Hình 2B). Tuy có sự khác biệt về số lượng tế bào phân lập và thời gian nhân đôi, nhưng MSC có nguồn gốc từ mô mỡ ở các vị trí khác nhau đều duy trì được hình thái đặc trưng của tế bào gốc trung mô trong quá trình nuôi cấy (Hình 2C). Tuy nhiên với ưu điểm dễ thu thập và ít xâm lấn hơn nên nhóm nghiên cứu quyết định sử dụng các tế bào gốc trung mô từ mô mỡ dưới da để đánh giá các chỉ tiêu về sự ổn định yếu tố di truyền, mức độ biểu hiện một số mRNA đặc hiệu và khả năng biệt hóa sụn.

**Hình 2.** Đánh giá số lượng tế bào và thời gian nhân đôi trong quá trình phân lập và nuôi cấy TBG trung mô từ mô mỡ tại nhiều vị trí khác nhau.

- (a) Số lượng tế bào SVF phân lập được và MSC thu hoạch được sau khi nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy TBG trung mô. (b) Thời gian nhân đôi của tế bào qua 3 giai đoạn của quá trình nuôi cấy (bao gồm giai đoạn 2 - P2, giai đoạn 3 - P3, giai đoạn 4 - P4). (c) Tế bào gốc trung mô từ mô mỡ được nuôi cấy qua các giai đoạn.

3.2. Đánh giá đặc điểm và chất lượng tế bào gốc trung mô phân lập và nuôi cấy từ mô mỡ của chó

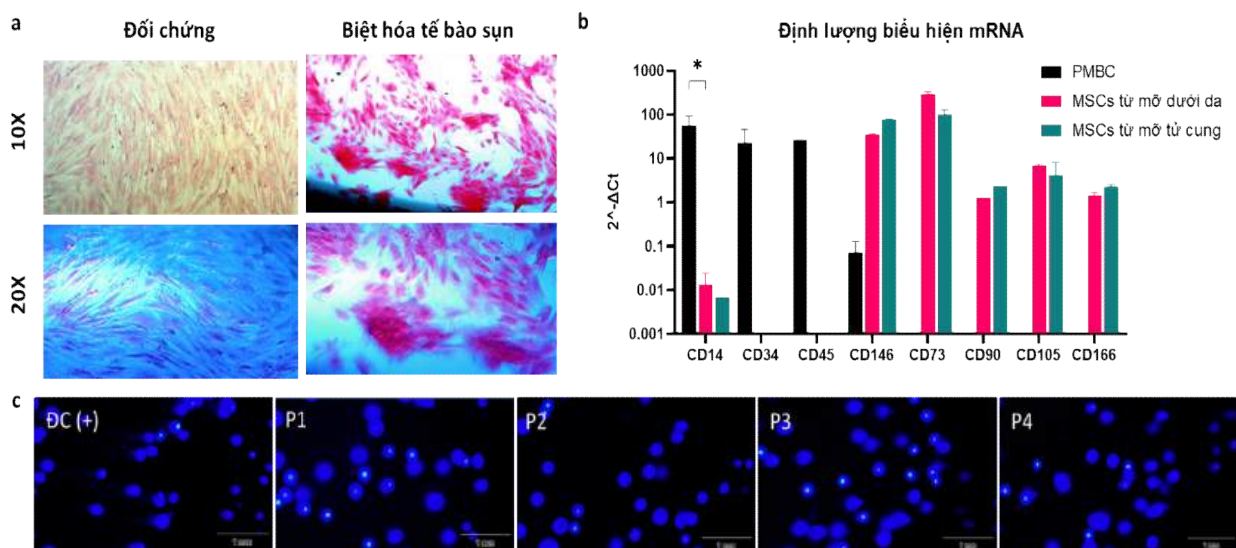
Khả năng biệt hóa MSC phân lập từ mô mỡ của chó được đánh giá thông qua thí nghiệm đánh giá khả năng biệt hóa sụn và nhuộm với thuốc nhuộm

Safranin O để phát hiện các proteoglycan đặc hiệu cho các tế bào sụn. Kết quả cho thấy sự hình thành các cụm tế bào sau 21 ngày nuôi cấy MSC trong môi trường biệt hóa đồng thời các cụm này đều bắt màu với thuốc nhuộm (Hình 3A).

Thí nghiệm RT-qPCR được thực hiện để định lượng tương đối biểu hiện của 8 dấu ấn bề mặt đặc hiệu với 3 mẫu (tế bào đơn nhân máu ngoại vi - Peripheral blood mononuclear cell - PMBC, tế bào gốc trung mô từ mô mỡ dưới da, tế bào gốc trung mô từ mô mỡ tử cung). Nhóm tế bào gốc trung mô từ cả mô mỡ dưới da và mô mỡ tử cung đều có biểu hiện cao CD146, CD73, CD90, CD105, CD166, biểu hiện yếu với CD14 và không có biểu hiện với CD34, CD45 (Hình 3B).

Mức ổn định về di truyền của tế bào MSC được phân lập từ mô mỡ chó được đánh giá qua xét

th nghiệm Comet. Kết quả của nghiên cứu cho thấy, tế bào MSC ổn định về mặt di truyền qua các lần cấy chuyển cho đến giai đoạn 4 (passage 4 - P4) khi so sánh với đối chứng dương - ĐC (+) là các tế bào có sự đứt gãy DNA và hình thành những đuôi sao chổi ở mỗi tế bào (Hình 3C). Kết quả của nghiên cứu cho thấy tế bào gốc trung mô được phân lập từ mô mỡ chó có khả năng biệt hóa sụn, biểu hiện RNA của các dấu ấn bề mặt đặc hiệu đối với tế bào MSC cũng như sự ổn định của các yếu tố di truyền qua 4 giai đoạn nuôi cấy.



Hình 3. Các phương pháp đánh giá đặc điểm và chất lượng tế bào gốc trung mô từ mô mỡ của chó.

(a) Đánh giá khả năng biệt hóa thành các tế bào sụn của tế bào gốc trung mô bằng cách nhuộm Safranin-O và so sánh với các tế bào không được biệt hóa, tỷ lệ 500µm; (b) Định lượng biểu hiện mRNA của 8 dấu ấn bề mặt đặc hiệu của tế bào gốc trung mô của chó với gen nội chuẩn là gen (GUBS) trong các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PMBC), $\pm$ SEM, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; (c) Đánh giá độ ổn định của yếu tố di truyền sau khi nuôi cấy và cấy chuyển qua các giai đoạn.

IV. BÀN LUẬN

Đây là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam thực hiện phân lập, nuôi cấy và đánh giá chất lượng MSC từ mô mỡ chó được lấy từ nhiều vị trí khác nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy kể cả khi MSC được phân lập từ một loại mô thì vị trí của các mô phân lập cũng ảnh hưởng nhất định đến tính chất của MSC. Mô mỡ dưới da và cạnh tử cung buồng trứng thu thập trên cá thể chó có hiệu suất thu hồi tế bào từ khối SVF cao hơn, thời gian tăng đôi số lượng tế bào

ngắn hơn so với mô tuyến. Tuy nhiên kết quả cũng cho thấy tiềm năng tận dụng mô mỡ tuyến cắt bỏ trong một số trường hợp phẫu thuật làm nguồn cung cấp mô mỡ cho phân lập MSC.

Hiệp hội Liệu pháp Tế bào Quốc tế (ISCT) đã cung cấp một danh sách các tiêu chí để xác định MSC. Nghiên cứu này cũng đã chỉ ra tế bào MSC phân lập từ mô mỡ chó có khả năng bám dính; dương tính với các dấu ấn bề mặt CD73, CD90 và CD105, CD166; âm tính với các dấu hiệu bề mặt tế bào CD34, CD45. Nghiên

cứu cũng chỉ ra MSC được phân lập từ mô mỡ chó có biểu hiện thấp CD14. Một vài nghiên cứu cũng đã phát hiện ra rằng kháng thể CD14 có thể nhuộm MSC phân lập từ người, nhưng không biểu hiện bản sao CD14 hoặc protein CD14. CD14 hoạt động như một thụ thể có ái lực cao đối với LPS (lipopolysaccharide) của vi khuẩn, đây là một phân tử quan trọng trong phản ứng miễn dịch bẩm sinh đối với nhiễm trùng do vi khuẩn. Cần có những nghiên cứu bổ sung để đánh giá mức độ biểu hiện cũng như vai trò của CD14 đối với giá trị trị liệu của MSC.

Ngoài khả năng tự làm mới, các đặc điểm hình thái học và biểu hiện các dấu ấn bề mặt, MSC phân lập từ mô mỡ chó trong nghiên cứu này cũng cho thấy khả năng biệt hóa cao thành tổ chức sụn. Đây là cơ sở để có thể tiến hành thử nghiệm đánh giá khả năng tái tạo sụn của MSC ứng dụng trong điều trị tổn thương sụn khớp. Bên cạnh đó MSC phân lập từ mô mỡ chó cũng duy trì sự ổn định về mặt di truyền qua các lần cấy chuyển. Sự ổn định về của MSC là yếu tố quan trọng để có thể tiến hành tạo ngân hàng tế bào phục vụ cho các nghiên cứu, thử nghiệm trị liệu đối với liệu pháp điều trị bằng MSC.

V. KẾT LUẬN

MSC có nguồn gốc từ mô mỡ có thể được phân lập bằng mô mỡ lấy từ các vị trí khác nhau trong cơ thể. Nghiên cứu lần đầu tiên phân lập, tăng sinh và tạo nguồn MSC có nguồn gốc từ mô mỡ chó có biểu hiện các mRNA đặc trưng, khả năng tăng sinh và biệt hóa, ổn định về mặt di truyền trong quá trình nuôi cấy. Đây là tiền đề cho các nghiên cứu thực nghiệm đánh giá liệu pháp trị liệu bằng MSC đối với hàng loạt các bệnh lý.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chagastelles PC, Nardi NB (2011) *Biology of stem cells: an overview*. Kidney Int Suppl 1(3): 63-67. doi:10.1038/kisup.2011.15.
2. Friedenstein AJ, Piatetzky S, Petrakova KV (1966) *Osteogenesis in transplants of bone marrow cells*. J Embryol Exp Morphol 16(3): 381-390.
3. Spees JL, Lee RH, Gregory CA (2016) *Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function*. Stem Cell Res Ther 7(1): 125. doi: 10.1186/s13287-016-0363-7.
4. Kean TJ, Lin P, Caplan AI, Dennis JE (2013) *MSCs: delivery routes and engraftment, cell-targeting strategies, and immune modulation*. Stem Cells Int" 732742. doi:10.1155/2013/732742.
5. Vilquin JT, Rosset P (2006) *Mesenchymal stem cells in bone and cartilage repair: current status*. Regen Med 1(4): 589-604. doi: 10.2217/17460751.1.4.589.
6. Caplan AI, Dennis JE, Jockb (2006) *Mesenchymal stem cells as trophic mediators*. J Cell Biochem 98(5): 1076-1084.
7. Fan XL, Zhang Z, Ma CY, Fu QL (2019) *Mesenchymal stem cells for inflammatory airway disorders: promises and challenges*. Biosci Rep 39(1). doi: 10.1042/BSR20182160.
8. Mukherjee P, Roy S, Ghosh D, Nandi SK (2022) *Role of animal models in biomedical research: A review*. Lab Anim Res 38(1): 18. doi: 10.1186/s42826-022-00128-1.
9. Chu CR, Szczodry M, Bruno S (2010) *Animal models for cartilage regeneration and repair*. Tissue Eng Part B Rev 16(1): 105-115. doi:10.1089/ten.TEB.2009.0452.