

KHẢO SÁT ĐIỀU KIỆN BẢO QUẢN NGẮN HẠN TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ NUÔI CẤY CHO ỨNG DỤNG LÂM SÀNG

Nguyễn Xuân Hường¹, Trịnh Tuấn Việt¹, Nguyễn Thị Bích¹, Trần Thùy Dương¹, Lê Hoàng Hà¹,
Trịnh Thanh Thảo¹, Nguyễn Tâm Long¹, Trần Văn Bắc¹, Hoàng Vũ¹, Thẩm Thị Thu Nga¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ và môi trường bảo quản không chứa DMSO đến khả năng sống và đặc tính sinh học của tế bào gốc trung mô (TBGTM) từ dây rốn nuôi cấy trong điều kiện bảo quản ngắn hạn.

Đối tượng và phương pháp: TBGTM ở thể hệ thứ tư (P4) được điều chỉnh về mật độ 8×10^6 tế bào/mL và bảo quản trong ba môi trường gồm Ringer's Lactate (RL), RL bổ sung 2,5% Human Serum Albumin (HSA) và NutriStor® Cold Storage Solution, dưới các điều kiện nhiệt độ 2–8°C hoặc 22–25°C trong 0, 24, 48, 72 và 96 giờ. Chất lượng tế bào được đánh giá thông qua tỷ lệ sống, khả năng tăng sinh, kiểu hình miễn dịch và tiềm năng biệt hóa. Mỗi thí nghiệm được thực hiện độc lập 03 lần ($n = 3$).

Kết quả: Môi trường Ringer's Lactate bổ sung 2,5% HSA (nhóm D) giúp duy trì ổn định các đặc tính sinh học và tỷ lệ sống cao của TBGTM trong vòng 72 giờ đầu, đạt hiệu quả tiệm cận với môi trường thương mại NutriStor® Cold Storage Solution (Sartorius, Israel) (nhóm E). Ở mốc 96 giờ, nhóm D ghi nhận sự suy giảm đáng kể về tỷ lệ sống của tế bào, tuy nhiên các đặc tính kiểu hình và tiềm năng biệt hóa đa dòng vẫn được bảo tồn.

Kết luận: Môi trường Ringer's Lactate bổ sung 2,5% HSA ở nhiệt độ 4–8°C là điều kiện bảo quản ngắn hạn tối ưu cho TBGTM lên đến 96 giờ. Mặc dù kiểu hình và tiềm năng biệt hóa được bảo tồn đến 96 giờ, tỷ lệ sống của tế bào có xu hướng giảm sau 72 giờ. Do đó, nghiên cứu khuyến cáo nên sử dụng tế bào càng sớm càng tốt ngay sau khi thu hoạch; trường hợp bắt buộc phải lưu trữ hoặc vận chuyển, thời gian bảo quản tối đa

không quá 72 giờ trong điều kiện trên.

Từ khóa: Tế bào gốc trung mô; bảo quản ngắn hạn; Ringer's Lactate; Human Serum Albumin.

SUMMARY

INVESTIGATION OF SHORT-TERM STORAGE CONDITIONS FOR CULTURED MESENCHYMAL STEM CELLS FOR CLINICAL APPLICATION

Objective: To evaluate the effects of temperature and DMSO-free storage media on viability and biological properties of cultured umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (UC-MSCs) during short-term preservation.

Materials and methods: Fourth-passage (P4) umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (UC-MSCs) were adjusted to a concentration of 8×10^6 cells/mL and stored in three preservation media: Ringer's Lactate (RL), RL supplemented with 2.5% Human Serum Albumin (HSA), and NutriStor® Cold Storage Solution, at 2–8°C or 22–25°C for 0, 24, 48, 72, and 96 hours. Cell quality was assessed based on cell viability, proliferative capacity, immunophenotype, and differentiation potential. All experiments were performed independently in triplicate ($n = 3$).

Results: Ringer's Lactate solution supplemented with 2.5% HSA (Group D) effectively maintained the biological characteristics and high viability of MSCs within the first 72 hours, achieving an efficiency comparable to the commercial medium NutriStor® Cold Storage Solution (Sartorius, Israel) (Group E). At the 96-hour mark, Group D exhibited a significant decrease in cell viability; however, the phenotypic characteristics and trilineage differentiation potential were successfully preserved.

Conclusion: Ringer's Lactate medium supplemented with 2.5% HSA at 4–8°C is the optimal short-term preservation condition for MSCs. Although

¹Bệnh viện Đa khoa Tâm Anh Hà Nội
Chịu trách nhiệm chính: Thẩm Thị Thu Nga
Email: ngattt@tamanhhospital.vn
Ngày nhận bài: 4/6/2026
Ngày phản biện khoa học: 18/7/2026
Ngày duyệt bài: 1/8/2026

the phenotype and differentiation potential are preserved up to 96 hours, cell viability begins to decline after 72 hours. Therefore, it is recommended to use the cells as soon as possible after harvest; if storage or transport is mandatory, the maximum preservation time should not exceed 72 hours under the aforementioned optimal conditions.

Keywords: Mesenchymal stem cells, short-term storage, Ringer's Lactate, Human Serum Albumin.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tế bào gốc trung mô (TBGTM) từ dây rốn là nguồn tế bào tiềm năng trong y học tái tạo và liệu pháp tế bào nhờ khả năng tự làm mới, biệt hóa đa dòng và điều hòa miễn dịch mạnh mẽ. Hiện nay, TBGTM đã được nghiên cứu trong điều trị nhiều bệnh lý như tổn thương mô, bệnh tự miễn và các bệnh lý viêm mạn tính[1].

Phương pháp tiêu chuẩn hiện tại trong lưu trữ TBGTM là đông lạnh sâu với dimethyl sulfoxide (DMSO). Tuy nhiên, hiện tượng tồn dư DMSO tiềm ẩn độc tính tế bào và gây ra các phản ứng bất lợi trên lâm sàng. Quá trình đông - rã đông cũng làm suy giảm đáng kể tỷ lệ sống và chức năng sinh học của tế bào, đồng thời đòi hỏi hệ thống trang thiết bị đắt đỏ, gây khó khăn cho việc vận chuyển, ứng dụng nhanh[2].

Do đó, phát triển chiến lược bảo quản ngắn hạn không đông lạnh là cấp thiết để tối ưu hóa hiệu quả lâm sàng. Nhiệt độ và thành

phần môi trường là hai yếu tố quyết định. Một số nghiên cứu cho thấy hạ nhiệt độ kết hợp bổ sung protein như human serum albumin (HSA) giúp duy trì tính ổn định của tế bào. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát toàn diện ảnh hưởng của nhiệt độ và môi trường bảo quản không chứa DMSO đến chất lượng TBGTM nuôi cấy phục vụ mục tiêu ứng dụng lâm sàng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu TBGTM đông lạnh được phân lập từ cùng một mẫu mô dây rốn của sản phụ đủ tháng tại Bệnh viện Đa khoa Tâm Anh Hà Nội. Sau khi rã đông, tế bào được nuôi cấy tăng sinh đến thế hệ thứ tư (P4) trước khi sử dụng trong nghiên cứu.

2.2. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu này sử dụng các mẫu tế bào gốc trung mô dây rốn đã được thu thập trong nghiên cứu gốc. Văn bản đồng thuận ban đầu của người hiến đã cho phép sử dụng mẫu và dữ liệu liên quan cho mục đích nghiên cứu khoa học và công bố kết quả. Tất cả các mẫu đều được mã hóa trước khi chuyển giao cho nhóm nghiên cứu, không chứa thông tin định danh cá nhân. Nghiên cứu được thực hiện theo các nguyên tắc đạo đức của Tuyên bố Helsinki (Hiệp hội Y khoa Thế giới, 2013).

2.3. Thiết kế nghiên cứu

Bảng 1. Tóm tắt thiết kế nghiên cứu

Nhóm thử nghiệm	Dung dịch bảo quản	Điều kiện nhiệt độ	Mốc thời gian theo dõi (giờ)
Nhóm A	Ringer's Lactate (RL) đơn thuần	22–25°C	0, 24, 48, 72, 96
Nhóm B	Ringer's Lactate (RL) đơn thuần	4–8°C	0, 24, 48, 72, 96

Nhóm thử nghiệm	Dung dịch bảo quản	Điều kiện nhiệt độ	Mốc thời gian theo dõi (giờ)
Nhóm C	RL + 2.5% HSA (Human Serum Albumin)	22–25°C	0, 24, 48, 72, 96
Nhóm D	RL + 2.5% HSA (Human Serum Albumin)	4–8°C	0, 24, 48, 72, 96
Nhóm E	NutriStor® Cold Storage Solution (Sartorius)	4–8°C	0, 24, 48, 72, 96

Ghi chú: RL: Ringer Lactate; HSA: Human Serum Albumin; n: Số lượng mẫu độc lập cho mỗi mốc thời gian tại mỗi nhóm thử nghiệm (n = 3). Mốc 0 giờ được đánh giá ngay sau khi thu hoạch tế bào và trước khi đưa vào điều kiện bảo quản. Các chỉ số đánh giá bao gồm: Tỷ lệ tế bào sống, thời gian nhân đôi, tiềm năng biệt hóa và kiểu hình miễn dịch.

2.4. Nuôi cấy và bảo quản tế bào

TBGTМ được nuôi cấy trong điều kiện tiêu chuẩn (37°C, 5% CO₂) đến khi đạt 80–90% mật độ bề mặt. Tế bào được thu hoạch bằng enzyme TrypLE Select và huyền phù với mật độ 8×10^6 tế bào/mL trong các môi trường khảo sát.

2.5. Các chỉ tiêu đánh giá

Tỷ lệ sống của tế bào: Nhuộm Trypan Blue 0,4% sử dụng máy đếm tế bào tự động Countess II FL (Thermo Fisher Scientific, Mỹ).

Khả năng tăng sinh: Tế bào sau bảo quản được gieo lại (4.000 tế bào/cm²). Theo dõi hình thái và xác định thời gian nhân đôi quần thể (PDt) tại ngày 6 theo công thức:

$$PDt = (CT \times \ln(2)) / (\ln(N_f / N_i))$$

Trong đó CT là tổng thời gian nuôi cấy, N_i là số lượng tế bào ban đầu và N_f là số lượng tế bào thu hoạch tại ngày nuôi cấy thứ sáu.

Tiềm năng biệt hóa của tế bào: Đánh giá tại mốc 0, 48, 96 giờ theo hướng mỡ, xương, sụn bằng bộ kit MesenCult™ (Stemcell Technologies, Mỹ), nhuộm tương ứng với Oil Red O, Alizarin Red S và Alcian Blue.

Kiểu hình miễn dịch: Đo trên hệ thống Navios EX Flow Cytometer (Beckman Coulter, Mỹ) theo tiêu chuẩn ISCT: Các marker dương tính (CD73, CD90, CD105) và âm tính (CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, HLA-DR) [3].

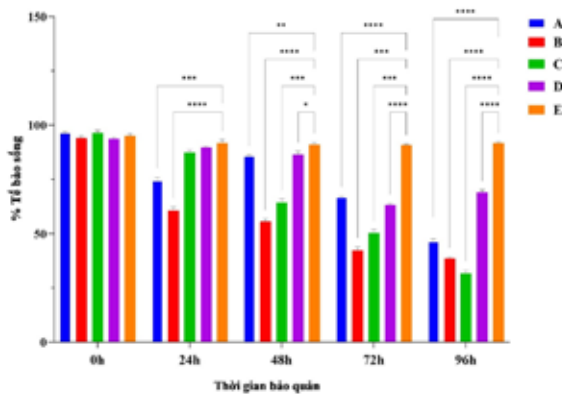
2.6. Xử lý số liệu

Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm GraphPad Prism 10.4.3 và trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ SEM (n = 3). So sánh giữa hai nhóm được thực hiện bằng phép kiểm Student's t-test hai phía, trong khi so sánh đa nhóm được thực hiện bằng two-way ANOVA. Giá trị p < 0,05 được xem là có ý nghĩa thống kê. Mức ý nghĩa thống kê được ký hiệu như sau: *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; ****p < 0,0001; ns: không có ý nghĩa thống kê p > 0,05.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tỷ lệ sống của tế bào

Tỷ lệ sống của TBGTМ được đánh giá tại các thời điểm 0, 24, 48, 72 và 96 giờ trong năm điều kiện bảo quản khác nhau. Kết quả được trình bày ở Hình 1.

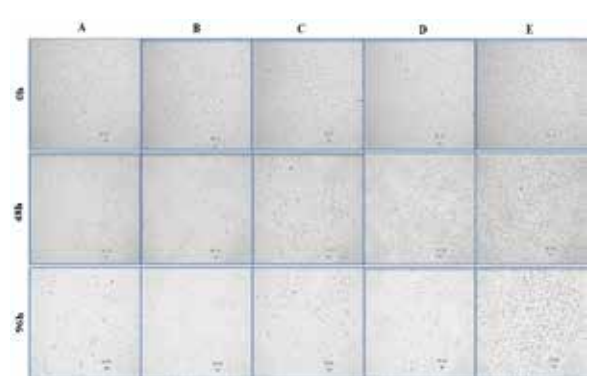


Hình 1. Biểu đồ tỷ lệ (%) sống của TBGTM trong các điều kiện và thời gian bảo quản khác nhau.

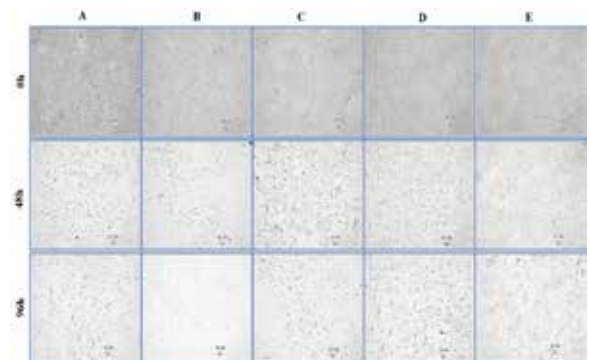
Tại thời điểm 0 giờ, tỷ lệ sống ở các nhóm đạt 94–96% ($p > 0,05$). Tỷ lệ sống giảm dần theo thời gian bảo quản. Nhóm E duy trì tỷ lệ sống cao nhất (>90% từ 24 đến 96 giờ). Nhóm D bảo tồn tế bào tốt thứ hai, nhưng giảm rõ từ sau 72 giờ. Các nhóm A, B, C giảm mạnh; tại mốc 96 giờ, nhóm B và C chỉ còn $39,3 \pm 2,4\%$ và $34,3 \pm 2,4\%$. Nhóm E có tỷ lệ sống cao vượt trội so với các nhóm còn lại ($p < 0,0001$).

3.2. Đánh giá tốc độ tăng trưởng của tế bào

Khả năng tăng sinh của TBGTM sau bảo quản được đánh giá thông qua hình thái tế bào, mật độ bám dính và thời gian nhân đôi sau nuôi cấy lại. Hình ảnh tế bào sau 3 ngày và 6 ngày gieo được trình bày tại Hình 2, kết quả thời gian nhân đôi được thể hiện ở Hình 3.



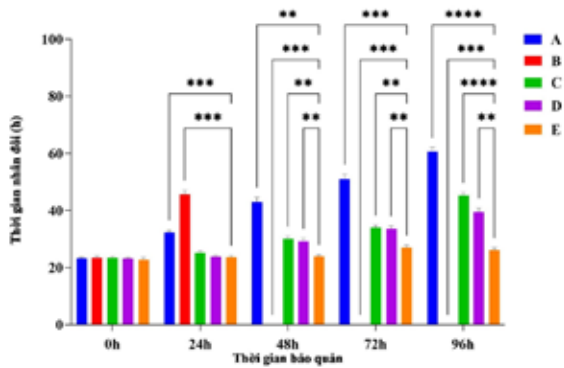
A



B

Hình 2. Hình thái và khả năng tăng sinh của TBGTM sau bảo quản dưới các điều kiện khác nhau. (A) Hình ảnh tế bào sau 3 ngày gieo lại; (B) Hình ảnh tế bào sau 6 ngày gieo lại dưới kính hiển vi soi ngược (4X).

Điều kiện bảo quản ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng bám dính và tăng sinh của TBGTM sau nuôi cấy lại. Nhóm E và D duy trì mật độ tế bào cùng mức độ phủ bề mặt tốt nhất sau 3 và 6 ngày, trong khi nhóm A và B ghi nhận mật độ thấp hơn đáng kể.



Hình 3. Thời gian nhân đôi của TBGTM với các điều kiện và thời gian bảo quản khác nhau

Mặc dù thời gian nhân đôi ban đầu tương đương giữa các nhóm (22–24 giờ) và có xu hướng kéo dài sau bảo quản, nhóm E vẫn duy trì tăng sinh ổn định sau 96 giờ. Ngược lại,

nhóm B mất hoàn toàn khả năng sống để nuôi cấy lại sau 48 giờ. Đáng chú ý, việc bổ sung HSA giúp cải thiện rõ rệt khả năng phục hồi tăng sinh. Kết quả khẳng định nhiệt độ và thành phần môi trường bảo quản là các yếu tố quyết định khả năng phục hồi của TBGTM sau lưu trữ ngắn hạn.

3.3. Kiểu hình miễn dịch

Kết quả phân tích kiểu hình miễn dịch TBGTM đời P4 tại thời điểm 0 giờ (Bảng 2) cho thấy tế bào biểu hiện dương tính cao với CD73, CD90, CD105 (>99%) và âm tính với CD19, CD11b, CD34, CD45, HLA-DR (<2%). Điều này khẳng định quần thể tế bào có độ thuần cao, đạt tiêu chuẩn nhận diện TBGTM trước khi bảo quản.

Bảng 2. Kết quả đánh giá kiểu hình miễn dịch của TBGTM sau khi bảo quản

Thời gian bảo quản	Mẫu	Tỷ lệ CD90 (+) (%)	Tỷ lệ CD73 (+) (%)	Tỷ lệ CD105 (+) (%)	Tỷ lệ marker âm tính (%)
0 giờ	Mẫu ban đầu	99,30 ± 0,06	99,02 ± 0,09	99,60 ± 0,06	0,10 ± 0,06
24 giờ	A1	98,90 ± 0,25 ^{ns}	95,70 ± 0,41 ^{**}	97,80 ± 0,30 [*]	0,40 ± 0,05 ^{ns}
	B1	98,20 ± 0,18 ^{ns}	99,00 ± 0,22 ^{ns}	99,00 ± 0,15 ^{ns}	0,30 ± 0,04 ^{ns}
	C1	96,80 ± 0,32 [*]	91,50 ± 0,55 ^{***}	95,40 ± 0,42 ^{**}	0,20 ± 0,03 ^{ns}
	D1	99,50 ± 0,12 ^{ns}	98,60 ± 0,31 ^{ns}	99,10 ± 0,20 ^{ns}	0,30 ± 0,05 ^{ns}
	E1	98,40 ± 0,21 ^{ns}	98,80 ± 0,28 ^{ns}	98,70 ± 0,25 ^{ns}	0,10 ± 0,02 ^{ns}
48 giờ	A2	92,20 ± 0,45 ^{***}	87,50 ± 0,62 ^{***}	91,90 ± 0,50 ^{***}	0,70 ± 0,08 ^{**}
	B2	97,80 ± 0,20 ^{ns}	98,90 ± 0,25 ^{ns}	98,20 ± 0,31 ^{ns}	0,70 ± 0,06 ^{**}
	C2	93,80 ± 0,38 ^{***}	79,60 ± 0,78 ^{***}	91,80 ± 0,55 ^{***}	0,80 ± 0,09 ^{***}
	D2	98,40 ± 0,15 ^{ns}	98,10 ± 0,30 ^{ns}	98,10 ± 0,28 ^{ns}	0,40 ± 0,05 ^{ns}
	E2	97,30 ± 0,22 [*]	96,50 ± 0,40 [*]	97,10 ± 0,35 [*]	0,40 ± 0,04 ^{ns}

Thời gian bảo quản	Mẫu	Tỷ lệ CD90 (+) (%)	Tỷ lệ CD73 (+) (%)	Tỷ lệ CD105 (+) (%)	Tỷ lệ marker âm tính (%)
72 giờ	A3	94,30 ± 0,35**	87,60 ± 0,58***	90,60 ± 0,48***	0,70 ± 0,07**
	B3	98,30 ± 0,19 ^{ns}	98,30 ± 0,24 ^{ns}	98,60 ± 0,22 ^{ns}	0,70 ± 0,06**
	C3	91,20 ± 0,42***	66,20 ± 0,95***	86,50 ± 0,70***	0,10 ± 0,02 ^{ns}
	D3	98,50 ± 0,16 ^{ns}	96,60 ± 0,35*	97,40 ± 0,30 ^{ns}	0,30 ± 0,04 ^{ns}
	E3	98,30 ± 0,20 ^{ns}	96,50 ± 0,38*	97,50 ± 0,32 ^{ns}	0,10 ± 0,03 ^{ns}
96 giờ	A4	86,20 ± 0,52***	72,10 ± 0,85***	78,30 ± 0,75***	0,20 ± 0,03 ^{ns}
	B4	98,70 ± 0,15 ^{ns}	99,00 ± 0,20 ^{ns}	98,60 ± 0,18 ^{ns}	0,40 ± 0,05 ^{ns}
	C4	86,50 ± 0,60***	46,20 ± 1,20***	76,40 ± 0,88***	0,10 ± 0,02 ^{ns}
	D4	98,70 ± 0,14 ^{ns}	95,20 ± 0,42**	98,00 ± 0,25 ^{ns}	0,20 ± 0,03 ^{ns}
	E4	98,70 ± 0,18 ^{ns}	96,60 ± 0,36*	98,20 ± 0,28 ^{ns}	0,10 ± 0,02 ^{ns}

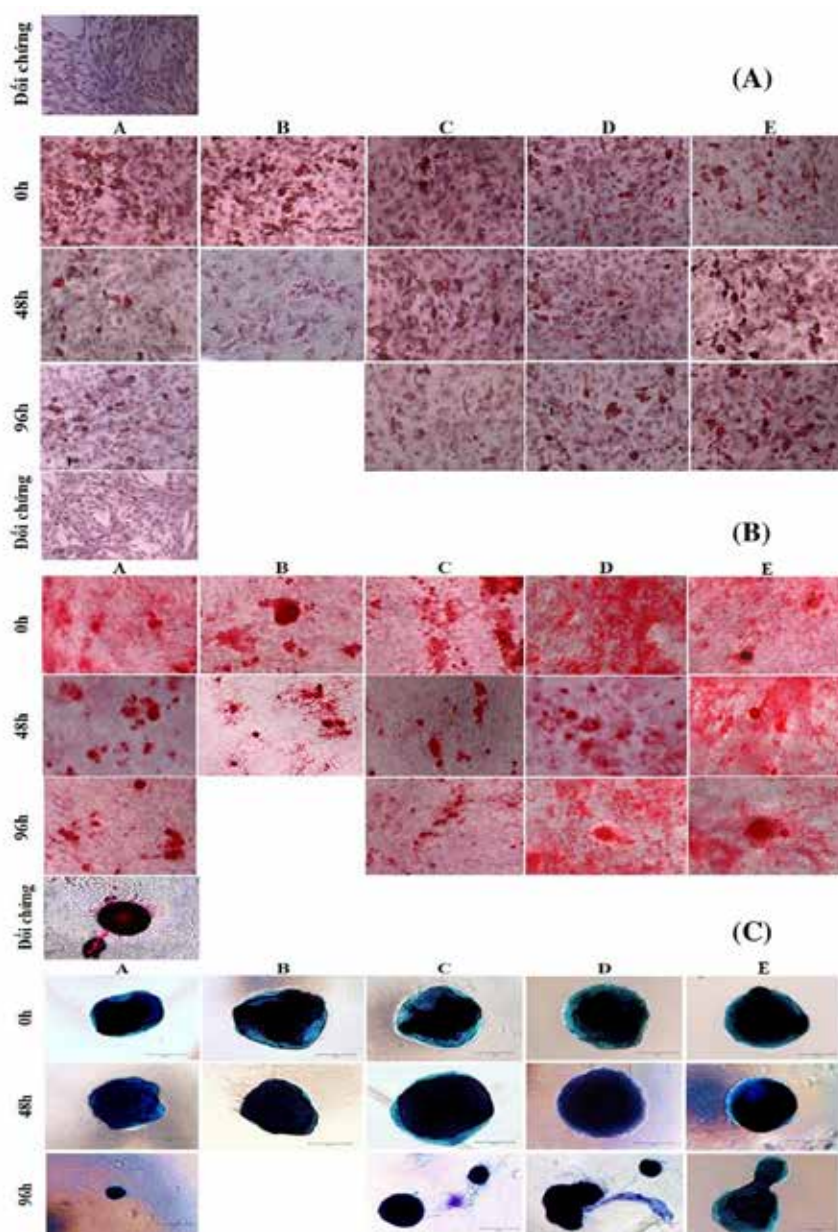
Ghi chú: Giá trị trình bày dưới dạng Trung bình ± Độ lệch chuẩn (Mean±SD) từ 3 lần lặp lại độc lập (n = 3). So sánh thống kê thực hiện so với mốc 0 giờ: *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; ns: không có ý nghĩa thống kê p > 0,05.

Mặc dù tất cả các nhóm duy trì ổn định marker đặc trưng của TBGTM sau 24 giờ, sự suy giảm các marker dương tính (đặc biệt là CD73) bắt đầu xuất hiện theo thời gian, rõ rệt nhất ở điều kiện nhiệt độ phòng (nhóm A và C). Ngược lại, nhóm D và E duy trì ổn định kiểu hình miễn dịch chuẩn: tỷ lệ biểu hiện CD73, CD90, CD105 cao và tỷ lệ marker âm tính thấp trong suốt 96 giờ. Đáng chú ý, một số nhóm dù bảo tồn được marker bề mặt nhưng

mất hoàn toàn khả năng phục hồi tăng sinh sau nuôi cấy lại, cho thấy việc duy trì kiểu hình miễn dịch không phản ánh đầy đủ trạng thái chức năng của TBGTM sau bảo quản.

3.4. Khả năng biệt hóa đa dòng

Khả năng biệt hóa đa dòng của TBGTM sau bảo quản được đánh giá thông qua quá trình biệt hóa *in vitro* theo ba hướng gồm mỡ, xương và sụn. Hình ảnh tế bào sau nhuộm chuyên biệt được trình bày ở Hình 4.



Hình 4. Khả năng biệt hóa đa dòng của TBGTM sau bảo quản dưới các điều kiện khác nhau. (A) Biệt hóa mỡ nhuộm Oil Red O (20X); (B) Biệt hóa xương nhuộm Alizarin Red S (20X); (C) Biệt hóa sụn nhuộm Alcian Blue (10X).

Kết quả quan sát dưới kính hiển vi cho thấy các mẫu TBGTM sau bảo quản vẫn duy trì khả năng biệt hóa dưới điều kiện cảm ứng thích hợp. Hiệu quả biệt hóa của TBGTM giữa các điều kiện sau 96 giờ bảo quản được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Đánh giá hiệu quả biệt hóa đa dòng của TBGTM sau 96 giờ bảo quản

Nhóm thử nghiệm	Dung dịch bảo quản	Nhiệt độ	Biệt hóa mỡ	Biệt hóa xương	Biệt hóa sụn
A	Ringer's Lactate (RL)	22–25°C	+	+	+
B	Ringer's Lactate (RL)	4–8°C	-	-	-
C	RL + 2,5% HSA	22–25°C	++	++	++
D	RL + 2,5% HSA	4–8°C	+++	+++	+++
E	NutriStor®	4–8°C	++++	++++	++++

Ghi chú: Hiệu quả biệt hóa đa dòng sau 96 giờ bảo quản được đánh giá bán định lượng dựa trên quan sát hình thái và ước lượng tỷ lệ diện tích bắt màu đặc hiệu của các cụm tế bào dưới kính hiển vi; trong đó: - Không ghi nhận sự biệt hóa (hoặc không có tế bào sống để thực hiện cảm ứng); + Biệt hóa yếu (màu nhuộm nhạt, diện tích cụm bắt màu rải rác); ++: Biệt hóa trung bình; +++: Biệt hóa tốt; ++++: Biệt hóa rất tốt (màu nhuộm đậm, các cụm biệt hóa bao phủ hầu hết vi trường).

Kết quả cho thấy nhóm E duy trì khả năng biệt hóa tốt và ổn định nhất sau 96 giờ bảo quản, tiếp theo là nhóm D. Nhóm C chỉ duy trì khả năng biệt hóa ở mức trung bình, trong khi các nhóm A và B ghi nhận hiệu quả biệt hóa thấp hơn rõ rệt.

IV. THẢO LUẬN

Nghiên cứu cho thấy điều kiện lạnh 4 – 8°C, đặc biệt khi kết hợp môi trường chuyên dụng NutriStor® hoặc dung dịch Ringer's Lactate bổ sung 2,5% HSA, có hiệu quả bảo vệ tốt các đặc tính sinh học cốt lõi của TBGTM trong thời gian bảo quản ngắn hạn lên đến 96 giờ.

Vai trò của nhiệt độ bảo quản

Tỷ lệ sống của tế bào giảm dần theo thời gian, trong đó nhiệt độ là yếu tố quyết định mức độ suy giảm. Ở 4 – 8°C, các nhóm bảo quản bằng NutriStor® (Nhóm E) và Ringer's Lactate + 2,5% HSA (Nhóm D) duy trì tỷ lệ sống ổn định nhất; ngược lại, bảo quản ở nhiệt độ phòng làm giảm tế bào sống nghiêm trọng sau 48 – 96 giờ. Về cơ chế, hạ nhiệt độ

xuống 4 – 8°C làm chậm chuyển hóa nội bào, hạn chế tiêu thụ ATP, giảm tích lũy sản phẩm chuyển hóa thứ cấp và stress oxy hóa, đồng thời ổn định cấu trúc màng lipid và hạn chế tổn thương ty thể. Kết quả này tương đồng với Fujita và cộng sự (2020), khẳng định bảo quản ở 4°C giúp bảo tồn chức năng ty thể và tính toàn vẹn màng tế bào[4].

Ảnh hưởng của thành phần môi trường đến chất lượng tế bào

Bên cạnh nhiệt độ, thành phần môi trường bảo quản cũng ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng tế bào. Bổ sung 2,5% HSA vào Ringer's Lactate (Nhóm D) giúp cải thiện rõ rệt tỷ lệ sống và khả năng tăng sinh so với dung dịch nền, nhờ HSA ổn định màng tế bào, duy trì áp suất keo, giảm stress cơ học và trung hòa gốc tự do (ROS). Nồng độ 2,5% là điểm cân bằng tối ưu giữa hiệu quả bảo vệ và độ nhớt môi trường, phù hợp với nghiên cứu của Falah và cộng sự (2014)[5]. Tuy nhiên, Nhóm E (NutriStor®) vẫn vượt trội hơn về tăng sinh, ổn định kiểu hình và tiềm năng biệt hóa sau

96 giờ, nhờ hệ ion, hệ đệm và chất ổn định màng chuyên biệt giúp kiểm soát tốt hơn áp suất thẩm thấu, pH và hạn chế apoptosis thứ phát. Dù vậy, trong 72 giờ đầu, Nhóm D gần tương đương với nhóm E và hoàn toàn đáp ứng tiêu chuẩn tế bào cho ứng dụng lâm sàng. Về mặt thực hành, Nhóm D còn có ưu thế lớn về khả năng tiếp cận và chi phí, do cả Ringer's Lactate và HSA đều là dược phẩm y khoa chuẩn, sẵn có tại bệnh viện, giúp chủ động nguồn cung và giảm chi phí so với các dung dịch bảo quản thương mại nhập khẩu. Vì vậy, trong khung thời gian ứng dụng an toàn (≤ 72 giờ), Nhóm D là lựa chọn tối ưu, hài hòa giữa hiệu quả sinh học và tính thực tiễn lâm sàng.

Tỷ lệ sống chưa phản ánh đầy đủ chức năng tế bào sau bảo quản

Một phát hiện đáng chú ý là tỷ lệ sống (viability) không hoàn toàn tương quan với khả năng duy trì chức năng sinh học sau bảo quản. Thực tế ghi nhận nhiều quần thể tế bào sau bảo quản vẫn giữ được tính toàn vẹn màng (cho thấy tỷ lệ sống cao khi nhuộm Trypan Blue) và biểu hiện đầy đủ các marker bề mặt đặc trưng ($CD73^+$, $CD90^+$, $CD105^+$) khi phân tích bằng flow cytometry. Tuy nhiên, chúng lại suy giảm mạnh hoặc mất hoàn toàn khả năng bám dính và tái tăng sinh sau khi nuôi cấy lại (điển hình ở nhóm B sau 48 giờ), phản ánh tổn thương dưới mức gây chết (rối loạn chức năng ty thể, stress oxy hóa tích tụ, apoptosis giai đoạn sớm). Do đó, đánh giá chất lượng TBGTM cần tích hợp các chỉ số chức năng động (thời gian nhân đôi, tiềm năng biệt hóa) thay vì chỉ dựa vào các chỉ số tĩnh như tỷ lệ sống hay marker bề mặt.

Sự bảo tồn kiểu hình miễn dịch và tiềm năng biệt hóa đa dòng

Dưới các điều kiện bảo quản tối ưu (Nhóm D và E), TBGTM vẫn bảo tồn nguyên vẹn kiểu hình miễn dịch theo tiêu chuẩn định ISCT ($CD73^+$, $CD90^+$, $CD105^+$ và âm tính với các marker dòng máu). Sự suy giảm mạnh $CD73^+$ ở nhóm nhiệt độ phòng không chỉ là dấu hiệu stress tế bào mà còn cảnh báo suy giảm chức năng điều hòa miễn dịch, do $CD73$ là enzyme chủ chốt trong chuyển hóa adenosine ngoại bào[6].

Khả năng biệt hóa thành các dòng mỡ, xương, và sụn vẫn được duy trì tốt ở nhóm D và E, chứng minh rằng các chương trình di truyền biệt hóa của TBGTM không bị ảnh hưởng tiêu cực trong điều kiện bảo quản phù hợp. Kết quả này củng cố các công bố trước đây của Zhang và cộng sự (2017)[7] cũng như Mohyeddin Bonab và cộng sự (2021)[8] về khả năng duy trì tính toàn vẹn chức năng sinh học của tế bào gốc trong các dung dịch bảo quản ngắn hạn không đông lạnh. Đáng chú ý, dù tỷ lệ sống nhóm D giảm sau 72 giờ, khả năng biệt hóa đa dòng và kiểu hình đặc trưng vẫn ổn định đến 96 giờ, cho thấy các tế bào sống sót vẫn bảo toàn chức năng sinh học cốt lõi, đảm bảo tính an toàn cho ứng dụng lâm sàng.

Hạn chế của nghiên cứu

Mặc dù đạt được những kết quả khả quan, nghiên cứu này vẫn tồn tại một số giới hạn nhất định. Nghiên cứu chưa làm rõ các cơ chế phân tử sâu hơn liên quan đến tổn thương tế bào (thay đổi secretome, con đường apoptosis cụ thể), đồng thời mới dừng ở điều kiện tĩnh phòng thí nghiệm, chưa mô phỏng các yếu tố động học thực tế khi vận chuyển (rung lắc cơ học, dao động nhiệt độ). Cần thêm các nghiên cứu mở rộng để đánh giá toàn diện hơn ảnh hưởng của bảo quản ngắn hạn đến chất lượng

và chức năng điều hòa miễn dịch của TBGTM trước khi ứng dụng rộng rãi trong điều trị.

V. KẾT LUẬN

Dung dịch Ringer's Lactate bổ sung 2,5% HSA ở 4–8°C là giải pháp bảo quản ngắn hạn khả thi và tối ưu cho tế bào gốc trung mô trong vòng 72 giờ phục vụ ứng dụng lâm sàng. Nghiên cứu khuyến cáo nên sử dụng tế bào càng sớm càng tốt sau thu hoạch; trường hợp bắt buộc phải lưu trữ hoặc vận chuyển, thời gian bảo quản không quá 72 giờ trong điều kiện trên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Han X., Liao R., Li X., et al.** – Mesenchymal stem cells in treating human diseases: molecular mechanisms and clinical studies. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 10 (2025) 262. doi.org/10.1038/s41392-025-02313-9.
2. **Niebergall-Roth E., Kluth M. A.** – Dimethyl sulfoxide in cryopreserved mesenchymal stromal cell therapy products: is there a safety risk to patients? *Journal of Translational Medicine*, 23 (2025) 932. doi.org/10.1186/s12967-025-06807-6.
3. **Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., et al.** – Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8 (2006) 315–317. doi.org/10.1080/14653240600855905.
4. **Fujita Y., Nishimura M., Komori N. W., et al.** A pair of cell preservation solutions for therapy with human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells. *Regenerative Therapy*, 14 (2020) 95–102. doi.org/10.1016/j.reth.2019.10.004.
5. **Falah M.** Albumin Supplementation to Cold Injection Solution increases Viability of Endothelial and Smooth Muscle Cells. *Journal of Cell Science & Therapy*, 05 (2014). doi.org/10.4172/2157-7013.1000177.
6. **Roh M., Wainwright D. A., Wu J. D., Wan Y., Zhang B.** Targeting CD73 to augment cancer immunotherapy. *Current Opinion in Pharmacology*, 53 (2020) 66–76. doi.org/10.1016/j.coph.2020.07.001.
7. **Zhang F., Ren H., Shao X., Zhuang C., Chen Y., Qi N.** Preservation media, durations and cell concentrations of short-term storage affect key features of human adipose-derived mesenchymal stem cells for therapeutic application: *PeerJ*, 5 (2017) e3301. doi.org/10.7717/peerj.3301.
8. **Mohyeddin Bonab M., Talebian F., Borzabadi A., et al.** A novel method for maintaining the stability of freshly cultured Mesenchymal stem cells in clinical grade injection ready state without cryopreservation. *Translational Medicine Communications*, 6 (2021) 24. doi.org/10.1186/s41231-021-00103-3.