Đánh giá sự biến đổi về cấu trúc vi thể của mô mỡ sau bảo quản lạnh sâu

***Võ Thị Hạnh Thảo*[1,2], *Nguyễn Phương Thảo Tiên* [1,2*],**
***Trần Anh Hùng*[1,2], *Nguyễn Phan Quỳnh Anh*[1,2],**
***Đào Thị Na*[1,2], *Nguyễn Phạm Phước Toàn*[1,2]**
(1) Bộ môn Mô phôi, Giải phẫu bệnh- Pháp Y, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế
(2) Đơn vị Bảo quản Tế bào và Mô, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Ghép mỡ tự thân được sử dụng trong lĩnh vực phẫu thuật thẩm mỹ và y học tái tạo đang trở nên ngày càng phổ biến. Do đó, tối ưu phương pháp bảo quản cũng như việc sử dụng loại chất bảo quản lạnh nào để đảm bảo chất lượng mô mỡ sau bảo quản là chủ đề đang được các nhà nghiên cứu trên thế giới đặc biệt quan tâm. Mục đích của nghiên cứu này là hoàn thiện quy trình bảo quản và đánh giá sự biến đổi về cấu trúc vi thể của mô mỡ sau bảo quản lạnh sâu. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 60 mẫu mô mỡ thỏ, mỗi mẫu có thể tích 1 ml được chia làm 3 lô: Lô 1 (lô chứng) gồm 12 mẫu mô mỡ tươi; Lô 2 (không có chất bảo quản(CBQ)): 24 mẫu; Lô 3 (có CBQ): 24 mẫu. Lô 2 và lô 3 được chia thành 2 nhóm bằng nhau và bảo quản trong mốc thời gian lần lượt là 8 tuần và 12 tuần. Chất bảo quản được sử dụng là hỗn hợp của DMSO 0.5 M và Trehalose 0.2 M. **Kết quả:** Cấu trúc vi thể của mô mỡ không sử dụng chất bảo quản sau thời gian bảo quản lạnh 8 tuần và 12 tuần có biến đổi đáng kể so với cấu trúc mô mỡ tươi. Ở nhóm có sử dụng chất bảo quản, sau 8 tuần và 12 tuần, cấu trúc vi thể không có biến đổi so với mô mỡ tươi. Không có sự biến đổi cấu trúc mô học đáng kể ở nhóm có sử dụng chất bảo quản trong 8 tuần so với nhóm bảo quản 12 tuần. **Kết luận:** Không có sự biến đổi cấu trúc vi thể của mô mỡ sau BQL sâu sử dụng hỗn hợp chất bảo quản Trehalose và DMSO sau các khoảng thời gian bảo quản.

Từ khóa: *mô mỡ thỏ, CPA, DMSO, trehalose.*

Abstract

Evaluate the changes in microstructure of adipose tissue after cryopreservation

Vo Thi Hanh Thao[1,2], Nguyen Phuong Thao Tien[1,2],*
Tran Anh Hung[1,2], Nguyen Phan Quynh Anh[1,2],
Dao Thi Na[1,2], Nguyen Pham Phuoc Toan[1,2]
(1) Dept. Of Histology, Embryology, Pathology and Forensic Medicine, University of Medicine and Pharmacy, Hue University
(2) Cells and Tissue Preservation Unit, Hue University of Medicine and Pharmacy Hospital

Background: Autologous fat grafting used in the fields of cosmetic surgery and regenerative medicine has become increasingly popular. Therefore, optimizing preservation methods as well as choosing which type of cryoprotective agents to ensure the quality of fat tissue after cryopreservation is a unique topic of interest to researchers around the globe. The aims of this study are to complete the preservation process and evaluate the morphological changes in the microstructure of adipose tissue after cryopreservation. **Subjects and methods:** Sixty rabbit adipose samples, each a volume of 1 ml, were divided into three plots: plot 1 (control) includes twelve fresh samples; plot 2 (without cryoprotective agents (CPAs)): twenty-four samples; plot 3 (CPAs are added): twenty-four samples. Plot 1 and plot 2 continue to be divided into two equal groups which were preserved during two different periods, eight weeks and twelve weeks. CPAs used in our research are the mixture of DMSO 0.5M and trehalose 0.2M. **Results:** The microstructure of adipose tissue without CPAs after cryopreservation periods of eight weeks and twelve weeks was significantly different compared to fresh discipline. In the group using CPAs, after eight weeks and twelve weeks, there were no transformations in the microstructure compared to fresh adipose tissue. There were no significant histological changes observed in the group using CPAs for eight weeks compared to the group using

Tác giả liên hệ: Nguyễn Phương Thảo Tiên - Email: npttien@huemed-univ.edu.vn
Ngày nhận bài: 24/8/2023; Ngày đồng ý đăng: 15/10/2023; Ngày xuất bản: 4/11/2023

CPAs for twelve weeks. **Conclusion:** There are no morphological changes observed in the adipose tissue microstructure after deep cryopreservation using a mixture of trehalose and DMSO within various storage intervals.

Keywords: *rabbit's adipose samples, CPAs, DMSO, trehalose.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sau tuổi 30, da bắt đầu quá trình lão hóa, cấu trúc tế bào mô mỡ cũng có sự thay đổi, cho nên các bác sĩ phẫu thuật thẩm mỹ đã sử dụng các chất làm đầy hoặc ghép các vật liệu thay thế để cải thiện các vấn đề trên. Với sự phát triển của y học tái tạo, việc ghép mô mỡ tự thân là lựa chọn có tính ưu việt bởi sự hòa hợp sinh học, độ an toàn và hiệu quả cao [1]. Ngoài việc phân lập tế bào gốc từ mỡ, kết hợp với các tế bào mỡ thông thường được sử dụng để làm đầy trong thẩm mỹ như nâng ngực, làm đầy khuôn mặt, các tế bào gốc từ mỡ còn có thể được sử dụng để điều trị chống lão hoá, hồi phục các thương tổn của da…[2] [3]. Bên cạnh đó, việc ứng dụng tế bào gốc từ mỡ còn được mở rộng ra trong lĩnh vực phẫu thuật thần kinh ngoại vi [4] và bệnh lý về xương khớp [5]... Nếu thực hiện ghép mô mỡ tự thân tiến hành trực tiếp ngay trong một cuộc mổ, bệnh nhân sẽ chịu hai cuộc mổ cùng lúc. Ngoài ra, các cuộc phẫu thuật cấy ghép mô mỡ tự thân thường được tiến hành nhiều lần. Do đó, để giảm thiểu sự đau đớn, tối ưu chi phí, tiết kiệm thời gian, đặc biệt là các nguy cơ có thể xảy ra trong phẫu thuật, việc bảo quản mô mỡ là vấn đề cấp thiết được đặt ra. Tuy nhiên, quy trình bảo quản cần phải tối ưu hóa để đảm bảo chất lượng mô mỡ sau bảo quản, nhằm đem lại hiệu quả cao nhất sau cấy ghép mô. Một số nghiên cứu chứng minh rằng cấy ghép mô mỡ đã bảo quản lạnh (BQL) ít gây ra phù nề và biến đổi màu sắc hơn so với sử dụng mô mỡ tươi [6].

Cho đến nay, một số nghiên cứu thực nghiệm đã chứng minh được vai trò quan trọng của BQL trong bảo quản ngắn hạn mô mỡ thu được bằng cách hút mỡ ở nhiệt độ âm. Vào năm 2001, Shoshani O và cộng sự đã nhận thấy rằng sau khi hút mô mỡ và BQL ở nhiệt độ -18˚C trong vòng 2 tuần, mô mỡ sau khi rã đông được tiêm vào chuột, với nhóm chứng là chuột được tiêm mỡ không bảo quản ngay sau khi hút. Kết quả cho thấy không có sự khác biệt đáng kể nào giữa các nhóm về trọng lượng, khối lượng hoặc mô mỡ được ghép [7].

Wolter TP công bố rằng: sự trao đổi chất của tế bào mỡ sau BQL giảm 92,7% đối với mô mỡ không có CBQ, nhưng thời gian đấy nếu cho thêm CBQ thì khả năng trao đổi chất của tế bào mỡ được bảo tồn 60%, điều đó cho thấy nên sử dụng CBQ trong BQL để cải thiện chức năng của tế bào mỡ [8].

Vào năm 2020, Dong Yeon Kim và cộng sự đã nghiên cứu và cho ra kết quả: sự sống của tế bào mỡ và chức năng của các tế bào gốc từ mô mỡ được duy trì tốt nhất sau khi được BQL ở nhiệt độ -80˚C khi so sánh ở các nhiệt độ khác nhau [9]. Gần đây nhất, vào năm 2023, Francesca Favaretto và cộng sự cũng chỉ ra rằng bảo quản mô mỡ có sử dụng CBQ là DMSO 10% bảo quản ở nhiệt độ -80˚C trong vòng 3 tháng là hiệu quả và cho phép bác sĩ lâm sàng lưu trữ mô trong thời gian này trước khi cấy ghép [10].

Từ những nghiên cứu đã đưa ra, việc tối ưu phương pháp bảo quản cũng như việc sử dụng loại chất bảo quản lạnh nào để đảm bảo chất lượng mô mỡ sau bảo quản là cần thiết, từ đó đem lại hiệu quả cao nhất trong công nghệ cấy ghép mô hoặc các ứng dụng lâm sàng khác. Hay nói cách khác, nghiên cứu về tính hiệu quả trong việc bảo quản mô mỡ trên thực nghiệm với quy trình tối ưu là thật sự cần thiết. Đề tài nghiên cứu của chúng tôi hướng tới hai mục tiêu sau:

1. Hoàn thiện quy trình bảo quản mô mỡ trên thực nghiệm.

2. Đánh giá sự biến đổi hình thái vi thể mô mỡ sau bảo quản.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mô mỡ thỏ: lấy từ thỏ khỏe mạnh (không phân biệt đực, cái), trọng lượng khoảng 2 kg/con.

Tiêu chuẩn chọn mẫu: chọn vào nhóm nghiên cứu các mẫu mô mỡ có cấu trúc vi thể bình thường: tế bào mỡ là tế bào hình cầu, nhân dẹt nằm sát màng đáy, bào tương nhạt màu, nhiều tế bào mỡ tập trung thành các thùy mỡ.

Kích thước của mỗi mẫu mô mỡ sau khi hút khoảng 2 mm x 2 mm.

2.2. Cỡ mẫu: 60

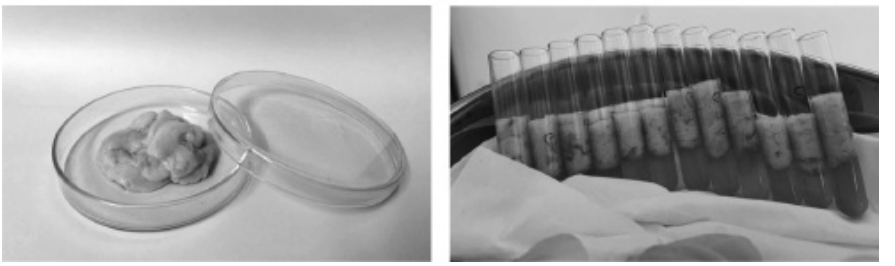
2.3. Phân lô nghiên cứu

Lô 1: Mô mỡ tươi (12 mẫu).

Lô 2: Mô mỡ được BQL không dùng CBQ (24 mẫu).

Lô 3: Mô mỡ được BQL có dùng CBQ (24 mẫu).

Trong đó, lô 2 và lô 3 tiếp tục chia thành 2 nhóm bằng nhau: nhóm thứ nhất được BQL trong thời gian 8 tuần và nhóm thứ hai được BQL trong thời gian 12 tuần.



Hình 1. Thu thập và xử lý mô mỡ thỏ.

2.4. Phương pháp nghiên cứu: nghiên cứu thực nghiệm.

2.4.1. Quy trình bảo quản mô mỡ

(1) Lấy mô mỡ tươi

Việc thu hoạch mô mỡ được thực hiện theo phương pháp Coleman [14], các dụng cụ lấy mô phải được tiệt trùng.

Các mẫu mô mỡ thu được có kích thước khoảng 2 mm x 2 mm.

(2) Chuẩn bị hoá chất

Môi trường bảo quản: 50% PBS + 40% DMEM + 3,3% DMSO + 7,6% Trehalose.

Đệm cơ bản: 80% DMEM + 20% FBS + 1% penicillin/streptomycin.

(3) Cách tiến hành

Chia mô mỡ tươi vào các tube falcon đáy nhọn có bổ sung thêm đệm cơ bản.

Ly tâm lực 50 g trong vòng 3 phút với vận tốc 3000 vòng/phút, thu gom mỡ ở đoạn giữa chia vào các vial chứa môi trường bảo quản theo tỷ lệ 1:1.

Lắc đều, để 10 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó cho vào ngăn mát tủ lạnh thường 4°C trong vòng 30 phút.

Hạ nhiệt độ bằng phương pháp hạ nhiệt từ từ trong hơi nitơ lỏng [11], phương pháp này cho phép nhiệt độ giảm 1 - 2 °C/phút cho đến khi đạt tới -30 °C thì giữ ổn định 10 phút, sau đó cho vào tủ lạnh sâu ở -80 °C để bảo quản lâu dài.

Thời gian bảo quản: 8 tuần, 12 tuần.

Rã đông nhanh: cho các vial trong bể ấm 37°C, lắc nhẹ cho đến khi tan hoàn toàn. Loại bỏ DMSO và Trehalose bằng cách ly tâm, tiếp tục rửa mô mỡ bằng môi trường cơ bản, sau đó ủ trong môi trường đó rồi cho vào tủ ấm 37 °C, 5% CO_2.

2.4.2. Phương pháp nghiên cứu mô học

Kỹ thuật làm tiêu bản mô học: áp dụng quy trình làm tiêu bản mô học thường quy tại Bộ môn Mô Phôi, GPB và Pháp Y, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế.

Đánh giá cấu trúc vi thể của mô mỡ thỏ trước và sau bảo quản lạnh được thực hiện bởi 2 bác sĩ có trình độ chuyên môn và kinh nghiệm trong lĩnh vực mô học của Bộ môn Mô Phôi, Giải phẫu bệnh, Pháp y, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế. Quan sát và chụp ảnh vi thể bằng kính hiển vi truyền hình chụp ảnh Nikon, sử dụng các vật kính x 10, x 20 và x 40.

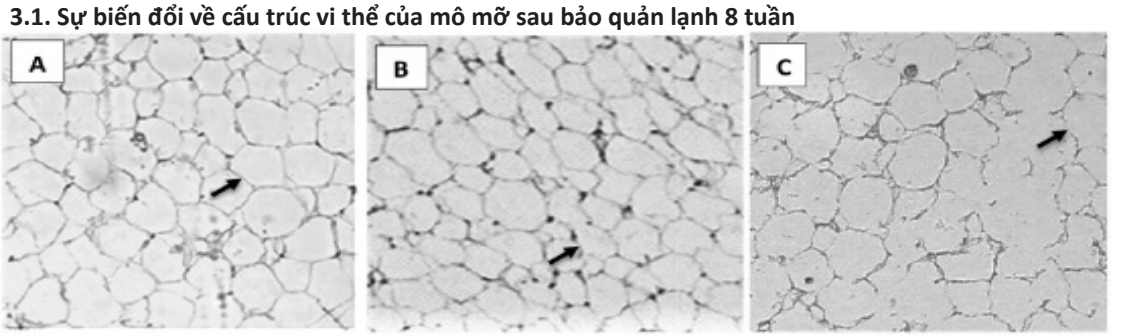
Cấu trúc vi thể của mô mỡ được đánh giá là bất thường khi tế bào mỡ có sự biến đổi hình dạng, to hoặc nhỏ hơn bình thường. Màng bào tương tế bào nhăn nhúm hoặc mất tính liên tục. Nhân tế bào biến mất. Mô mỡ có các đám tế bào hoại tử.

2.4.3. Chỉ tiêu nghiên cứu

Cấu trúc vi thể của mô mỡ thỏ trước và sau bảo quản lạnh 8 tuần và 12 tuần, có và không có sử dụng chất bảo quản.

3. KẾT QUẢ

3.1. Sự biến đổi về cấu trúc vi thể của mô mỡ sau bảo quản lạnh 8 tuần



Hình 2. Cấu trúc vi thể mô mỡ tươi và mô mỡ sau BQL 8 tuần, nhuộm HE X20
A. Mô mỡ tươi; B. Mô mỡ BQL có CBQ; C. Mô mỡ BQL không có CBQ;
Mũi tên: Màng bào tương tế bào mỡ

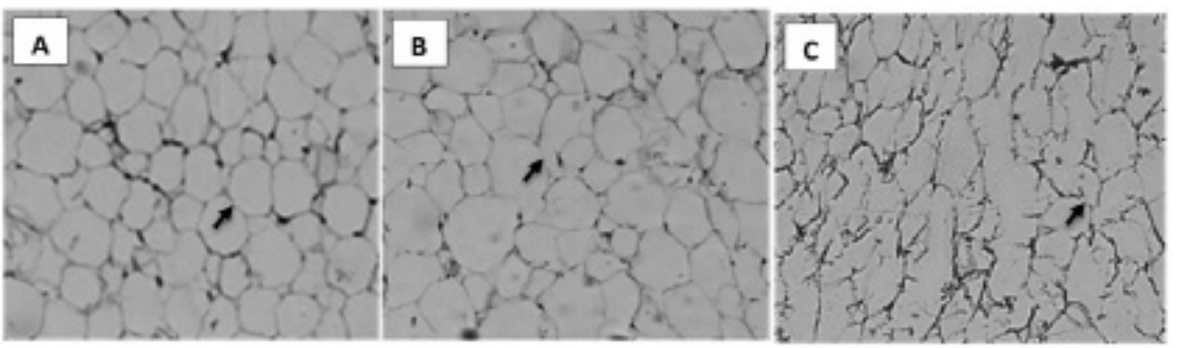
Kết quả: Chúng tôi đều nhận thấy ở lô thực nghiệm, các tế bào mỡ có sự co lại so với mô tươi, cụ thể:

+ Lô không có CBQ: màng bào tương của tế bào co lại, méo mó, không liên tục.

+ Lô có CBQ: màng tế bào co nhẹ nhưng vẫn liên tục, không có các đám tế bào hoại tử, tùy vị trí cắt có thể quan sát rõ nhân tế bào mỡ hay không.

Như vậy, quan sát cấu trúc mô mỡ có sử dụng CBQ được BQL sâu -80°C sau 8 tuần không phát hiện thấy các tổn thương mô và tế bào ở mức độ vi thể.

3.2. Sự biến đổi về cấu trúc vi thể của mô mỡ sau bảo quản lạnh 12 tuần



Hình 3. Cấu trúc vi thể mô mỡ tươi và mô mỡ sau BQL 12 tuần, nhuộm HE X20
A. Mô mỡ tươi; B. Mô mỡ có CBQ; C. Mô mỡ không có CBQ
Mũi tên: Màng bào tương tế bào mỡ

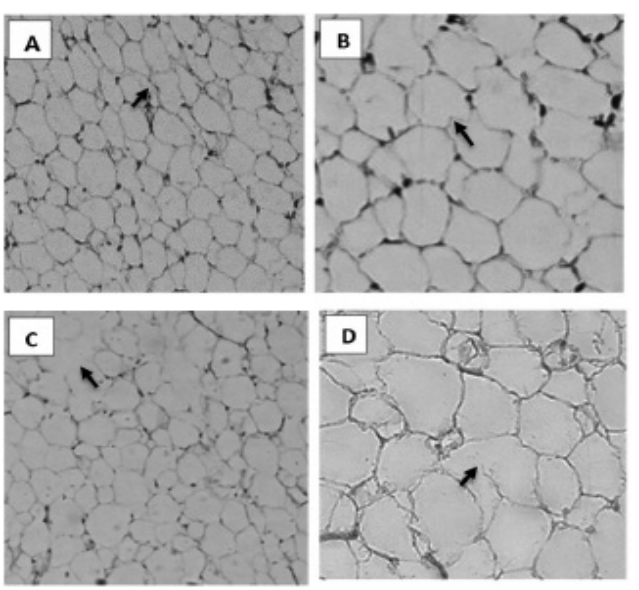
Kết quả: Chúng tôi đều nhận thấy các thay đổi như sau:

+ Lô không có CBQ: có biến đổi hình thái tế bào rõ rệt, màng tế bào co lại, méo mó, một số vị trí màng tế bào mất liên tục, tùy vị trí cắt có thể quan sát thấy nhân hay không.

+ Lô có CBQ, mô mỡ có biến đổi hình thái tương tự nhưng chỉ xảy ra một vài vị trí trên tiêu bản, phần còn lại tế bào co nhẹ, không có các đám tế bào hoại tử, tùy vị trí cắt có thể quan sát rõ nhân tế bào mỡ hay không.

Như vậy, quan sát cấu trúc mô mỡ được BQL sâu ở nhiệt độ -80 °C trong thời gian 12 tuần nhận thấy có sự xuất hiện các tổn thương mô và tế bào về mặt vi thể.

3.3. So sánh cấu trúc vi thể của mô mỡ có CBQ sau bảo quản lạnh 8 tuần và 12 tuần



Hình 4. Hình ảnh vi thể mô mỡ có CBQ nhuộm HE sau 2 mốc thời gian khác nhau
Sau BQL 8 tuần: (A) X10, (B) X40
Sau BQL 12 tuần: (C) X10; (D) X40
Mũi tên: Màng bào tương tế bào mỡ

Kết quả: cấu trúc vi thể mô mỡ BQL có sử dụng CBQ không có sự khác biệt đáng kể giữa lô bảo quản lạnh 8 tuần và 12 tuần. Ở cả 2 lô bảo quản, chúng tôi đều quan sát thấy màng bào tương tế bào mỡ có sự co nhẹ so với mô chứng. Tuy nhiên, màng tế bào vẫn liên tục và không có các đám tế bào hoại tử. Ở lô bảo quản lạnh 12 tuần, rải rác một vài tế bào có sự mất liên tục của màng bào tương.

4. BÀN LUẬN

4.1. Về quy trình bảo quản mô mỡ

DMSO là một CBQ lạnh thẩm thấu nhằm làm giảm sự hình thành của tinh thể đá, do đó ngăn chặn sự phá hủy của tế bào trong quá trình đông lạnh. Tuy nhiên, nếu chỉ dùng DMSO để bảo quản lạnh mô mỡ thì nồng độ thường sử dụng lên đến 10%. Hơn nữa, DMSO có thể gây độc tế bào ở nhiệt độ cao (nhiệt độ cơ thể hay nhiệt độ phòng) nếu không được loại bỏ sau bảo quản.

Trehalose là CBQ không thẩm thấu có khả năng làm giảm lượng nước tế bào, từ đó làm giảm sự hình thành tinh thể đá nội bào.

Cho nên, việc phối hợp hai CBQ trên sẽ làm giảm nồng độ DMSO mặc dù trước khi sử dụng trong lâm sàng, các CBQ này sẽ được loại bỏ bằng cách ly tâm và các mẫu mô sau đó cần phải được rửa sạch nhiều lần. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ của hai CBQ này được sử dụng dựa trên nghiên cứu trước đó của Cui XD và cộng sự năm 2007: DMSO 0.5M và Trehalose 0.2M [12]. Hơn nữa, Pu và cộng sự cũng đã nghiên cứu về sự phối hợp Trehalose và DMSO trong bảo quản lạnh có thể bảo tồn mô mỡ trên 90% so với mô mỡ tươi [13].

Cụ thể, nồng độ của các dung dịch được sử dụng như sau: PBS 50% + DMEM 40% + DMSO 3,3% (0.5M) + Trehalose 7,6% (0.2M). Sau khi thu hoạch, mô mỡ được rửa 3 lần với đệm cơ bản, sau đó ly tâm lực 50 g trong vòng 3 phút với vận tốc 3000 vòng/ phút (2), vận tốc này cho phép thu gom đoạn giữa là phần chỉ chứa mô mỡ và đã loại bỏ máu, dầu hoà tan.

Chúng tôi sử dụng quy trình làm lạnh bằng cách hạ nhiệt từ từ trong hơi nitơ lỏng (hạ nhiệt ở cổ bình trữ ni tơ lỏng) [11]. Phương pháp này cho phép giảm 1 - 2°C/phút cho đến khi đạt -30°C, giữ ở nhiệt độ đó trong vòng 10 phút, sau đó tiếp tục cho mẫu vào tủ lạnh sâu với nhiệt độ -80°C để bảo quản lâu dài.

Moscatello và cộng sự đã nghiên cứu về lưu trữ mô mỡ ở nhiệt độ -20°C và nitơ lỏng, và đề xuất nên bảo quản trong nitơ lỏng [14]. Ở một nghiên cứu khác Pu, Cui và cộng sự, các mẫu mô mỡ có CBQ sau khi xử lý sẽ được làm lạnh chậm có kiểm soát đó là hạ 1 - 2 °C/phút cho đến khi đạt -30 °C thì cho vào bể nitơ lỏng để bảo quản lâu dài [14], [15]. Tuy nhiên, bảo quản trong nitơ lỏng trong thời gian dài đòi hỏi cơ sở hạ tầng phức tạp, chi phí tốn kém, và thực tế lâm sàng khó có thực hiện được, nên -80°C là nhiệt độ dễ dàng thực hiện hiệu quả hơn. Hơn nữa, hạ nhiệt kinh nghiệm bằng hơi nitơ lỏng kết quả tương đương với sử dụng máy hạ nhiệt độ tự động nhưng thời gian ngắn và chi phí thấp hơn [11].

Trong hầu hết các nghiên cứu trước đây, các tác giả cho rằng thời gian bảo quản trong nitơ lỏng 20 phút sẽ tương đương với bảo quản dài hạn, do đó cần phải có những nghiên cứu tiến hành trong thời gian thực. Thêm vào đó, đối với cấy ghép mô mỡ tự thân, sự tái hấp thu mô mỡ thường xảy ra khoảng 3 tháng sau ghép [16], nên việc nghiên cứu mô mỡ phải được tiến hành trong thời gian tương đương, đó là lý do chúng tôi nghiên cứu mốc thời gian 8 tuần và 12 tuần.

4.2. Về sự biến đổi cấu trúc vi thể của mô mỡ sau bảo quản lạnh sâu ở các khoảng thời gian khác nhau

Trong nghiên cứu của chúng tôi, mô mỡ của cả lô chứng và lô thực nghiệm đều được bảo quản lạnh sâu ở nhiệt độ -80 ºC trong 8 tuần và 12 tuần. Quan sát cấu trúc vi thể của mô mỡ có CBQ sau bảo quản 8 tuần thấy hình dạng tế bào mỡ ổn định là những tế bào hình cầu, màng bào tương liên tục, nhân dẹt, nằm sát màng bào tương. Trong khi đó, ở lô bảo quản sau thời gian 12 tuần, rải rác một vài tế bào có sự mất liên tục của màng bào tương.

Điều này cũng hoàn toàn hợp lý vì thời gian bảo quản càng lâu thì chất lượng và hình thái tế bào mô mỡ sẽ bị tổn thương và có sự thay đổi. Tuy nhiên, sự thay đổi đó không đáng kể, nên phần mô mỡ còn lại cho phép sử dụng được để cấy ghép bổ sung cho phần mô mỡ tái hấp thu sau lần ghép đầu tiên, nhằm giảm sự đau đớn, chi phí và thời gian cho bệnh nhân nếu phải tiến hành thêm một cuộc mổ thu hoạch mô mỡ khác [17]. Lee LQ cũng đã tiến hành nghiên cứu bảo quản mô mỡ sử dụng chất bảo quản DMSO và trehalose với nồng độ tương tự trong nitơ lỏng, kết quả mô học của mô mỡ sau bảo quản cũng tương tự với kết quả thu được trong nghiên cứu của chúng tôi [18], đó là ở nhóm có CBQ, màng bào tương của tế bào co nhẹ và được xem gần giống với mô mỡ tươi (nhóm chứng); và ở nhóm không có CBQ, màng bào tương của tế bào mỡ co lại rõ ràng, thậm chí là sự vỡ của tế bào.

Về các lô không có CBQ sau 8 tuần và 12 tuần đều quan sát thấy có sự biến đổi rõ rệt về hình thái tế bào so với mẫu chứng: màng bào tương của tế bào co lại, méo mó, không liên tục, xảy ra với mật độ thường xuyên hơn. Hiện tượng được giải thích là do có sự tạo thành tinh thể đá làm phá vỡ cấu trúc màng bào tương tế bào, dẫn đến chất lượng mô mỡ thay đổi một cách đáng kể. Nghiên cứu của chúng tôi

phù hợp với kết quả nghiên cứu của Mashiko T [19].

Cấu trúc vi thể mô mỡ BQL có sử dụng CBQ không có sự khác biệt đáng kể giữa lô bảo quản lạnh 8 tuần và 12 tuần. Ở cả 2 lô bảo quản, chúng tôi đều quan sát thấy màng bào tương tế bào mỡ có sự co nhẹ so với mô chứng. Ở lô bảo quản lạnh 12 tuần, rải rác một vài tế bào có sự mất liên tục của màng bào tương. Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Badowski, M. S khi cho rằng: chất lượng của mô mỡ không phụ thuộc vào thời gian bảo quản [20].

Tóm lại, có thể kết luận rằng: tế bào mỡ ở lô có CBQ (trehalose và DMSO) ổn định sau thời gian bảo quản lạnh 8 tuần và 12 tuần. Điều đó cho thấy việc ứng dụng quy trình bảo quản mô mỡ trong nghiên cứu của chúng tôi cùng với sự thiết lập của quá trình làm lạnh có kiểm soát và rã đông nhanh là hiệu quả sau hai mốc thời gian bảo quản.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chưa có điều kiện để đánh giá khả năng sống của tế bào mỡ, thông qua các kỹ thuật nhuộm đặc biệt. Chúng tôi mong muốn thực hiện những đề tài nghiên cứu tiếp theo để có những đánh giá sâu hơn về chất lượng của mô mỡ sau bảo quản lạnh sâu.

5. KẾT LUẬN

- Hoàn thiện quy trình bảo quản lạnh mô mỡ trên thực nghiệm với chất bảo quản là hỗn hợp của DMSO 0.5M và trehalose 0.2M, theo phương pháp hạ nhiệt từ từ trong hơi ni tơ lỏng và bảo quản lạnh sâu ở -80ºC.

- Không có sự biến đổi cấu trúc vi thể của mô mỡ sau bảo quản lạnh sâu (-80 ºC) có sử dụng hỗn hợp chất bảo quản Trehalose và DMSO sau các khoảng thời gian bảo quản 8 tuần và 12 tuần.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Broelsch GF, Könneker S, Ipaktchi R, Vogt PM. Current German and American guidelines for autologous fat grafting - A transatlantic comparison. Handchirurgie · Mikrochirurgie · Plast Chir. 2017 Dec;49(6):408-414.

2. Coleman SR. Structural fat grafting: more than a permanent filler. Plast Reconstr Surg. 2006 Sep;118(3 Suppl):108S-120S.

3. Conese M, Annacontini L, Carbone A, Beccia E, Cecchino LR, Parisi D, et al. The role of adipose-derived stem cells, dermal regenerative templates, and platelet-rich plasma in tissue engineering-based treatments of chronic skin wounds. Stem Cells Int. 2020; doi: 10.1155/2020/7056261.

4. Saffari TM, Saffari S, Vyas KS, Mardini S, Shin AY. Role of adipose tissue grafting and adipose-derived stem cells in peripheral nerve surgery. Neural Regen Res. 2022 Oct;17(10):2179–84.

5. De Fenu E, Di Paola B, Ruggiero M, Carlesimo B, Conversi A, Adriani E. Fat Tissue's Graft in Osteoarthritis Treatment: Indications, Preparations, and Results. In: Osteoarthritis Biomarkers and Treatments. IntechOpen; 2019. doi: 10.5772/intechopen.82566.

6. Shauly O, Gould DJ, Ghavami A. Fat Grafting: Basic Science, Techniques, and Patient Management. Plast Reconstr Surg - Glob Open. 2022 Mar 18;10(3)

7. Shoshani O, Ullmann Y, Shupak A, Ramon Y, Gilhar A, Kehat I, et al. The role of frozen storage in preserving adipose tissue obtained by suction-assisted lipectomy for repeated fat injection procedures. Dermatologic Surg. 2001 July;27(7):645-647.

8. Wolter TP, Von Heimburg D, Stoffels I, Groeger A, Pallua N. Cryopreservation of mature human adipocytes: In vitro measurement of viability. Ann Plast Surg. 2005 oct;55(4):408-13.

9. Kim DY, Kim E, Kim KJ, Jun YJ, Rhie JW. Cryopreservation of lipoaspirates: in vitro measurement of the viability of adipose-derived stem cell and lipid peroxidation. Int Wound J. 2020 Oct;17(5):1282-1290.

10. Favaretto F, Compagnin C, Cogliati E, Montagner G, Dell'Antonia F, Berna G, et al. Characterization of Human Subcutaneous Adipose Tissue and Validation of the Banking Procedure for Autologous Transplantation. Int J Mol Sci. 2023 May 3;24(9):1-18

11. Nguyễn HT, Nguyễn VT. Khả năng sống sót của tinh trùng người sau trữ lạnh bằng nitơ lỏng đơn thuần. TC Phụ sản [Internet]. 1 Tháng 12 2013; 11(4): 30-34

12. Cui XD, Gao DY, Fink BF, Vasconez HC, Pu LLQ. Cryopreservation of human adipose tissues. Cryobiology. 2007 Dec;55(3):269–78.

13. Pu LLQ, Cui X, Fink BF, Gao D, Vasconez HC. Adipose aspirates as a source for human processed lipoaspirate cells after optimal cryopreservation. Plast Reconstr Surg. 2006 May;117(6):1845–50.

14. Pu LLQ, Coleman SR, Cui X, Ferguson REHJ, Vasconez HC. Cryopreservation of autologous fat grafts harvested with the Coleman technique. Ann Plast Surg. 2010 Mar;64(3):333–7.

15. Pu LLQ, Cui X, Fink BF, Cibull ML, Gao D. Cryopreservation of adipose tissues: The role of trehalose. Aesthetic Surg J. 2005 Mar;25(2):126–31.

16. Shih L, Davis MJ, Winocour SJ. The Science of Fat Grafting. Semin Plast Surg. 2020 Feb;34(1):5–10.

17. Li BW, Liao WC, Wu SH, Ma H. Cryopreservation of fat tissue and application in autologous fat graft: In vitro and in vivo study. Aesthetic Plast Surg. 2012;36(3):714–22.

18. Pu LLQ. Cryopreservation of adipose tissue. Organogenesis. 2009;5(3):138–42.

19. Mashiko T, Wu S-H, Kanayama K, Asahi R, Shirado T, Mori M, et al. Biological Properties and Therapeutic Value of Cryopreserved Fat Tissue, Plast Reconstr Surg. 2018 Jan; 141(1):104-15.

20. Badowski MS, Muise A, Harris DT. Long-term biobanking of intact tissue from lipoaspirate. Journal of Clinical Medicine, 2019; 8(3), 327.