

Tổng quan

Bảo quản mô cuống rốn người: cập nhật phương pháp và tiềm năng ứng dụng lâm sàng

Nguyễn Phương Thảo Tiên^{1,2*}, Võ Thị Hạnh Thảo^{1,2}, Nguyễn Thị Hiếu Dung³, Bùi Mạnh Hùng³

¹Bộ môn Mô Phôi - Giải phẫu bệnh - Pháp y, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

²Đơn vị Bảo quản tế bào và mô, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế

³Bộ môn Sinh lý, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

Tác giả liên hệ: Nguyễn Phương Thảo Tiên, email: npttien@huemed-univ.edu.vn; npttien@hueuni.edu.vn

Ngày nhận bài (Received): 11/09/2025; Ngày duyệt đăng (Accepted): 06/10/2025; Ngày xuất bản (Published): 30/03/2026

Doi: 10.34071/jmp.2026.1.600

Tóm tắt

Mô cuống rốn người, đặc biệt là thạch Wharton (Wharton's jelly - WJ), là nguồn mô giàu tế bào gốc trung mô (mesenchymal stem cells - MSCs), các yếu tố tăng trưởng và chất nền ngoại bào, với tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong y học tái tạo và điều trị lâm sàng. Nhờ khả năng biệt hóa đa dòng, điều hòa miễn dịch và tiết các yếu tố sinh học, MSCs từ cuống rốn được xem là nguồn tế bào triển vọng trong điều trị các bệnh lý viêm, mạn tính, thoái hóa cũng như tổn thương cấp tính.

Việc bảo quản mô cuống rốn hiệu quả đóng vai trò then chốt trong việc duy trì chất lượng tế bào và cấu trúc mô phục vụ cho nghiên cứu và ứng dụng điều trị. Bài tổng quan này trình bày các phương pháp bảo quản mô cuống rốn hiện đang được áp dụng, bao gồm bảo quản lạnh ngắn hạn, bảo quản lạnh sâu dưới dạng nguyên mô hoặc mô cắt lát, thủy tinh hóa và sấy đông khô. Đồng thời, các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả bảo quản như thời gian thu nhận mô, điều kiện vô trùng và tốc độ đông – rã đông cũng được phân tích.

Bên cạnh đó, bài viết cập nhật các ứng dụng lâm sàng của mô cuống rốn sau bảo quản trong điều trị các bệnh lý viêm, tự miễn, tổn thương thần kinh, vô sinh và hỗ trợ tái tạo mô, cũng như tiềm năng nghiên cứu trong phát triển các giá đỡ sinh học, exosome và các chế phẩm sinh học thế hệ mới. Bảo quản mô cuống rốn được xem là lĩnh vực có ý nghĩa chiến lược trong y học tái tạo và cá thể hóa, trong đó việc chuẩn hóa các phương pháp bảo quản và xây dựng hệ thống ngân hàng mô là cần thiết nhằm đáp ứng nhu cầu ứng dụng lâm sàng và nghiên cứu trong tương lai.

Từ khóa: mô cuống rốn, thạch Wharton, bảo quản mô, bảo quản lạnh sâu, tế bào gốc trung mô, y học tái tạo.

Human umbilical cord tissue preservation: Updated methods and clinical application potential

Nguyen Phuong Thao Tien^{1,2*}, Vo Thi Hanh Thao^{1,2}, Nguyen Thi Hieu Dung³, Bui Manh Hung³

¹Dept. Of Histology, Embryology, Pathology and Forensic Medicine,
University of Medicine and Pharmacy, Hue University

²Cells and Tissue Preservation Unit, Hue University of Medicine and Pharmacy Hospital

³Department of Physiology, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Abstract

Human umbilical cord tissue, particularly Wharton's jelly (WJ), is a rich source of mesenchymal stem cells (MSCs), growth factors, and extracellular matrix components, with broad potential applications in regenerative medicine and clinical therapy. Owing to their multilineage differentiation capacity, immunomodulatory properties, and ability to secrete bioactive factors, umbilical cord-derived MSCs are considered a promising cell source for the treatment of inflammatory, chronic, degenerative, and acute injury-related diseases.

Effective preservation of umbilical cord tissue plays a pivotal role in maintaining cellular quality and tissue architecture for both research and therapeutic applications. This review summarizes current approaches for umbilical cord tissue preservation, including short-term cold storage, long-term cryopreservation of whole tissue or tissue slices, vitrification, and lyophilization. In addition, key factors influencing preservation outcomes, such as tissue procurement time, sterile conditions, and freezing-thawing rates, are analyzed.

Furthermore, the review updates the clinical applications of preserved umbilical cord tissue in the management of inflammatory and autoimmune diseases, neural injuries, infertility, and tissue regeneration support, as well as its research potential in the development of biological scaffolds, exosomes, and next-

generation biologic products. Umbilical cord tissue preservation is considered a strategic field in regenerative and personalized medicine, in which the standardization of preservation protocols and the establishment of tissue banking systems are essential to meet future clinical and research demands.

Keywords: *umbilical cord tissue, Wharton's jelly, tissue preservation, deep freezing, mesenchymal stem cells, regenerative medicine.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, sự phát triển mạnh mẽ của y học tái tạo và liệu pháp miễn dịch đã làm gia tăng nhu cầu tìm kiếm nguồn tế bào gốc có đặc tính sinh học vượt trội, an toàn và dễ tiếp cận. Mô cuống rốn người, đặc biệt là thạch Wharton giàu tế bào gốc trung mô (MSCs), đang được chứng minh là một nguồn nguyên liệu sinh học đầy tiềm năng [1].

So với tế bào gốc trung mô phân lập từ tủy xương hoặc mô mỡ, MSCs có nguồn gốc từ thạch Wharton (WJ-MSCs) có nhiều ưu điểm vượt trội. Quy trình thu nhận WJ-MSCs hoàn toàn không xâm lấn, không gây đau cho mẹ hoặc trẻ sơ sinh. Đặc biệt, WJ-MSCs có tốc độ tăng sinh cao, độ ổn định di truyền tốt trong nuôi cấy dài hạn, và khả năng tương thích miễn dịch nổi trội. Những đặc tính này khiến WJ-MSCs trở thành nguồn tế bào tiềm năng cho liệu pháp tế bào [2–4]. Trong bối cảnh nghiên cứu và ứng dụng y học tái tạo, việc bảo quản mô cuống rốn hiệu quả và lâu dài nhằm duy trì chức năng sinh học là yêu cầu thiết yếu. Các phương pháp hiện được áp dụng bao gồm bảo quản lạnh ngắn hạn, bảo quản lạnh sâu toàn bộ mô, bảo quản lạnh sâu mô đã cắt lát, hoặc bảo quản riêng phần thạch Wharton. Mỗi phương pháp đều có những ưu và nhược điểm riêng, tác động trực tiếp đến khả năng phục hồi và hoạt tính sinh học của tế bào sau rã đông [4].

Bài tổng quan này nhằm hệ thống hóa các phương pháp bảo quản mô cuống rốn người hiện nay, tập trung vào bảo quản lạnh sâu thạch Wharton, đồng thời đánh giá hiệu quả bảo tồn mô và tế bào sau quá trình bảo quản, cập nhật các ứng dụng lâm sàng và tiềm năng nghiên cứu trong lĩnh vực y học tái tạo và liệu pháp miễn dịch. Bài viết được thực hiện bằng cách tổng hợp các nghiên cứu được công bố trong giai đoạn 2010–2025 trên PubMed, Scopus và Google Scholar, với các từ khóa liên quan đến bảo quản mô cuống rốn, thạch Wharton, bảo quản lạnh sâu và thủy tinh hóa.

2. TỔNG QUAN VỀ MÔ CUỐNG RỐN NGƯỜI

Cuống rốn dài khoảng 50–60 cm và có đường kính từ 1,5 đến 2,0 cm [5]. Về mặt mô học, mặt ngoài của cuống rốn được bao phủ bởi màng ối, trong khi phần bên trong là mô liên kết nhầy biệt hóa từ trung mô, được gọi là thạch Wharton, giàu proteoglycan,

collagen typ I, III và IV, fibronectin và laminin. Các thành phần này tạo nên một chất nền ngoại bào (ECM) có chức năng bảo vệ các mạch máu và hỗ trợ hoạt động trao đổi chất [1,6]. Cuống rốn chứa hai động mạch và một tĩnh mạch phát sinh từ trung mô tại chỗ và được bao bọc bởi lớp thạch Wharton có tác dụng chống lại các áp lực cơ học [4].

Các tế bào gốc trung mô từ cuống rốn, đặc biệt là từ thạch Wharton, thể hiện tiềm năng biệt hóa đa dòng thành nhiều loại tế bào khác nhau như tế bào xương, sụn, mỡ, cơ, nội mô và thần kinh [1,2,6]. Bên cạnh khả năng biệt hóa, MSCs còn đóng vai trò quan trọng trong điều hòa miễn dịch. Chúng có khả năng ức chế hoạt động của các tế bào T và tế bào NK, làm giảm sự tiết các cytokine tiền viêm như interleukin-2 (IL-2) và interferon-gamma (IFN- γ), đồng thời thúc đẩy sản xuất các cytokine kháng viêm như interleukin-10 (IL-10) [5]. Đặc điểm miễn dịch nổi bật của MSCs cuống rốn là không biểu hiện phân tử phức hợp hòa hợp mô chính (MHC) lớp II và các phân tử đồng kích thích như CD80 và CD86, từ đó làm giảm nguy cơ thải ghép khi cấy ghép dị gen [3]. Ngoài ra, MSCs cuống rốn còn tiết ra nhiều yếu tố tăng trưởng quan trọng như yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (VEGF), yếu tố tăng trưởng tế bào gan (HGF), yếu tố tăng trưởng biến đổi beta (TGF- β) và yếu tố tăng trưởng giống insulin (IGF), góp phần thúc đẩy quá trình sửa chữa mô và tân sinh mạch [1,2,6]. Đặc biệt, các MSCs phân lập từ thạch Wharton có khả năng tiết ra các túi ngoại bào (exosomes) chứa nhiều phân tử hoạt tính sinh học như cytokine, chemokine và các yếu tố tăng trưởng. Những túi ngoại bào này đóng vai trò thiết yếu trong việc điều hòa đáp ứng miễn dịch, ức chế viêm và kích thích tái tạo mô thông qua các cơ chế truyền tín hiệu cận tiết và tương tác tế bào–tế bào [7–10].

So với MSCs có nguồn gốc từ tủy xương và mô mỡ, MSCs phân lập từ thạch Wharton sở hữu nhiều ưu thế nổi bật về mặt sinh học và kỹ thuật. Việc thu nhận cuống rốn sau sinh là quy trình không xâm lấn, không gây nguy cơ cho người hiến và cung cấp nguồn mô ổn định, ít chịu ảnh hưởng bởi tuổi hay tình trạng sức khỏe của mẹ [6]. WJ-MSCs cho tỷ lệ tách chiết cao, tốc độ tăng sinh mạnh và duy trì đặc điểm hình thái cùng kiểu hình miễn dịch ổn định qua nhiều lần cấy chuyền, tạo thuận lợi cho việc mở rộng tế bào ở quy mô phòng thí nghiệm và ứng dụng lâm sàng [11,12].

Nhờ đặc tính này, MSCs cuống rốn đã được khai thác trong nhiều lĩnh vực, từ điều trị các bệnh lý viêm – thoái hóa, tổn thương cơ quan, rối loạn miễn dịch cho đến các hướng tiếp cận tiên tiến như kỹ thuật mô, in sinh học 3D và liệu pháp tế bào thể hệ mới [10,13].

Xu hướng bảo quản mô cuống rốn hiện nay là giữ lại toàn bộ mô hoặc riêng phần thạch Wharton, thay vì chỉ tập trung vào việc tách và nuôi cấy các tế bào gốc trung mô. Phương pháp này giúp bảo tồn cấu trúc mô học và hệ vi môi trường ngoại bào nguyên vẹn, đồng thời phục hồi nhiều loại tế bào như MSCs, nguyên bào sợi và tế bào nội mô [5,14]. Việc bảo tồn mô nguyên vẹn còn góp phần giảm thiểu nguy cơ nhiễm khuẩn và sai sót phương pháp trong quá trình mở rộng tế bào in vitro và cho phép sử dụng trực tiếp mô bảo quản trong nghiên cứu hoặc điều trị mà không cần trải qua quy trình nuôi cấy mở rộng, giúp tiết kiệm thời gian và hạn chế sự biến đổi chức năng tế bào [14,15].

Việc thiết lập quy trình bảo quản tối ưu mô cuống rốn đóng vai trò then chốt trong việc đảm bảo chất lượng mô cũng như giá trị sử dụng trong dài hạn. Phương pháp bảo quản lạnh sâu là phương pháp tiêu chuẩn để bảo tồn mô và tế bào ở nhiệt độ rất thấp (-80°C đến -196°C) giúp duy trì tính toàn vẹn về cấu trúc và đặc tính sinh học của mô trong thời gian nhiều năm, Phương pháp này cho phép lưu trữ mô cuống rốn lâu dài đến hàng chục năm mà vẫn duy trì tính toàn vẹn về cấu trúc và đặc tính sinh học của mô, tạo điều kiện cho việc ứng dụng mô trong điều trị cá thể hóa và ghép tự thân trong tương lai.

3. CẬP NHẬT CÁC PHƯƠNG PHÁP BẢO QUẢN MÔ CUỐNG RỐN NGƯỜI

Việc bảo quản mô cuống rốn có vai trò quan trọng trong lĩnh vực y học tái tạo, đặc biệt nhằm duy trì nguyên vẹn các đặc tính mô học, khả năng sống và chức năng sinh học của tế bào gốc trung mô được phân lập từ thạch Wharton. Một quy trình bảo quản hiệu quả cần đảm bảo hạn chế tối đa các tổn thương do nhiệt độ thấp, ngăn chặn sự hình thành tinh thể đá nội bào là yếu tố có thể gây chết tế bào hoặc làm mất chức năng của MSCs sau rã đông [4, 5]. Đặc biệt, việc duy trì các marker bề mặt đặc trưng như CD90, CD105 và CD73, cũng như khả năng biệt hóa thành tế bào xương, sụn và mỡ, là tiêu chí then chốt để đánh giá tính toàn vẹn chức năng của MSCs sau bảo quản [1,11]. Ngoài ra, yếu tố an toàn sinh học cũng cần được đặt lên hàng đầu. Các mô và tế bào lưu trữ trong thời gian dài có nguy cơ nhiễm khuẩn hoặc nhiễm chéo, do đó quy trình bảo quản phải được thực hiện trong môi trường vô trùng và có kiểm soát chất lượng nghiêm ngặt [6,15]. Các nghiên cứu gần đây cũng nhấn mạnh tầm quan trọng của việc chuẩn hóa quy trình xử lý,

đông lạnh và rã đông để đảm bảo hiệu suất cao và tính ứng dụng lâm sàng lâu dài [5,14]. Việc tối ưu hóa điều kiện bảo quản không chỉ giúp duy trì chất lượng tế bào mà còn góp phần tạo nền tảng cho các liệu pháp điều trị dựa trên tế bào như các bệnh thần kinh, miễn dịch hoặc tổn thương mô [10].

Trong lĩnh vực bảo tồn nguồn tế bào gốc từ cuống rốn, nhiều phương pháp bảo quản đã và đang được ứng dụng nhằm duy trì tính toàn vẹn cấu trúc và chức năng sinh học của mô. Các phương pháp phổ biến hiện nay bao gồm: bảo quản lạnh ngắn hạn ở nhiệt độ từ 2 đến 8°C , bảo quản lạnh sâu nguyên mô trong nitơ lỏng ở -196°C , bảo quản lạnh sâu mô cắt lát, cũng như các phương pháp mới như thủy tinh hóa (vitrification) và sấy đông khô (lyophilization), những công nghệ đang được nghiên cứu và ứng dụng trong các bối cảnh tiền lâm sàng và nghiên cứu dịch tế bào [4, 5]. Mỗi phương pháp bảo quản có những ưu nhược điểm riêng, liên quan đến mục tiêu bảo quản (ngắn hạn hay dài hạn), quy trình xử lý mô (nguyên khối hay lát mỏng), cũng như khả năng phục hồi chức năng tế bào sau quá trình rã đông. Các nghiên cứu chỉ ra rằng mặc dù bảo quản lạnh sâu giúp làm chậm quá trình chết tế bào theo chương trình, nhưng vẫn có thể gây tổn thương tiềm ẩn ở mức độ vi mô, dẫn đến suy giảm khả năng sống và chức năng sinh học sau rã đông, điều này có thể không được biểu hiện ngay trong giai đoạn đầu [4,5,15-18].

Trong bối cảnh nhu cầu ứng dụng tế bào gốc tăng cao, việc lựa chọn phương pháp bảo quản phù hợp trở nên đặc biệt quan trọng nhằm cân bằng giữa hiệu quả lưu trữ dài hạn và duy trì chất lượng sinh học tối ưu của tế bào [1,15].

Bảo quản lạnh ngắn hạn (2–8 °C)

Bảo quản lạnh ngắn hạn ở nhiệt độ từ 2 đến 8°C là một phương pháp đơn giản và thường được sử dụng để lưu giữ mô cuống rốn tươi trong khoảng thời gian từ 24 đến 72 giờ. Phương pháp này đặc biệt hữu ích trong các tình huống cần vận chuyển mô hoặc lưu trữ tạm thời trước khi tiến hành phân lập tế bào hoặc chuyển giao đến cơ sở xử lý chuyên biệt [5].

Các dung dịch bảo quản thường sử dụng trong phương pháp này bao gồm dung dịch PBS có bổ sung kháng sinh, HypoThermosol®, hoặc Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) có bổ sung glucose và albumin người, nhằm duy trì tính ổn định về mặt sinh lý của mô trong điều kiện hạ nhiệt [4,5]. Mặc dù phương pháp này không yêu cầu trang thiết bị phức tạp và có thể giữ cho mô cuống rốn không bị phân hủy đáng kể trong 48 giờ đầu, nhiều nghiên cứu cho thấy hiệu quả bảo tồn giảm mạnh sau 48 - 72 giờ. Tỷ lệ sống của tế bào gốc trung mô cũng bị ảnh hưởng đáng kể khi thời gian bảo quản vượt quá ngưỡng 48 giờ [16,17]. Do

giới hạn về thời gian và độ ổn định chức năng tế bào, phương pháp bảo quản lạnh ngắn hạn không được xem là phương án thích hợp cho lưu trữ dài hạn hoặc ứng dụng lâm sàng trực tiếp [5,16].

Bảo quản lạnh sâu nguyên mô cuống rốn (-196 °C)

Bảo quản lạnh sâu toàn bộ mô cuống rốn ở nhiệt độ -196 °C là phương pháp được ứng dụng rộng rãi hiện nay để lưu trữ dài hạn nguồn mô gốc tế bào gốc trung mô (MSCs). Phương pháp này cho phép kéo dài thời gian bảo quản lên đến hàng chục năm mà vẫn duy trì được đặc điểm mô học và chức năng sinh học của MSCs [5]. Không giống như bảo quản tế bào đơn lẻ, phương pháp này lưu trữ toàn bộ đoạn mô cuống rốn (thường dài 2–5 cm) mà không qua bước bóc tách hay xử lý tách tế bào trước. Quy trình bảo quản gồm các bước chính: cắt mô thành đoạn ngắn, loại bỏ phần máu dư, sau đó ngâm trong dung dịch dung dịch bảo quản lạnh (cryoprotectant agents – CPAs), phổ biến là 10% dimethyl sulfoxide (DMSO) pha với huyết thanh bào thai (FBS) hoặc các dung dịch có bổ sung trehalose, một loại đường bảo vệ màng tế bào trong điều kiện lạnh sâu [16]. Mô được làm lạnh theo tốc độ kiểm soát khoảng 1 °C/phút đến -80 °C trước khi chuyển sang bảo quản lâu dài trong nitơ lỏng ở -196 °C, giúp giảm thiểu hình thành tinh thể đá gây tổn thương tế bào [4,16].

Ưu điểm nổi bật của phương pháp bảo quản nguyên mô là khả năng lưu giữ đồng thời cả MSCs và hệ thống chất nền ngoại bào, tạo điều kiện thuận lợi cho việc duy trì vi môi trường gốc của tế bào sau rã đông. Nhiều nghiên cứu ghi nhận tỷ lệ sống sót của MSCs sau rã đông đạt khoảng 60–70%, và các tế bào vẫn duy trì được các marker đặc hiệu như CD90, CD105, CD73, cũng như khả năng biệt hóa thành tế bào xương, mỡ và sụn [1,15]. Tuy nhiên, phương pháp này vẫn tồn tại một số hạn chế nhất định. Do tính chất nguyên khối của mô cuống rốn, khả năng thẩm thấu CPA vào sâu trong cấu trúc mô có thể bị giới hạn. Điều này dẫn đến nguy cơ hình thành tinh thể đá nội mô tại các vùng trung tâm không được bảo vệ hiệu quả, gây tổn thương cục bộ và làm giảm chất lượng tế bào sau rã đông [4,16]. Ngoài ra, việc kiểm soát đồng đều tốc độ làm lạnh trong toàn bộ khối mô cũng là một yếu tố phương pháp cần được tối ưu nhằm hạn chế tối đa sự biến đổi về mặt cấu trúc và chức năng của tế bào sau bảo quản [18].

Bảo quản lạnh sâu thạch Wharton/mảnh mô cắt nhỏ

Phương pháp bảo quản lạnh sâu các mảnh nhỏ của thạch Wharton hoặc mô cuống rốn đã được cắt lát là một chiến lược cải tiến nhằm nâng cao hiệu quả bảo tồn và phục hồi tế bào sau rã đông. Trước khi bảo quản, mô cuống rốn được xử lý sơ bộ bằng cách

tách riêng phần thạch Wharton khỏi hệ mạch máu, sau đó cắt nhỏ thành các mảnh có kích thước khoảng 0,5–1 cm³. Các mảnh này sau đó được ngâm trong dung dịch bảo quản lạnh như 10% DMSO phối hợp với FBS hoặc trehalose, và được làm lạnh theo quy trình đông lạnh chậm tương tự như với bảo quản mô nguyên khối [4,5]. Việc cắt nhỏ mô giúp giảm đáng kể độ dày khối mô, từ đó tạo điều kiện thuận lợi cho các chất bảo quản lạnh thẩm thấu đồng đều vào toàn bộ mô, hạn chế hiện tượng hình thành tinh thể đá và hoại tử tại các vùng trung tâm, điều thường gặp trong bảo quản nguyên khối mô [4,16]. Nhờ đặc điểm này, tỷ lệ sống sót của các tế bào gốc trung mô sau rã đông thường đạt mức cao, khoảng 80–90%, cho phép sử dụng trực tiếp trong nuôi cấy sơ cấp mà không cần trải qua các bước mở rộng tế bào trung gian [15,16]. Tuy nhiên, do quy trình tách mô và xử lý mẫu chủ yếu được thực hiện thủ công, phương pháp này đòi hỏi tiêu chuẩn nghiêm ngặt về điều kiện vô trùng và tay nghề của kỹ thuật viên. Nếu không kiểm soát tốt, nguy cơ nhiễm khuẩn trong quá trình thao tác và bảo quản là một thách thức đáng lưu ý, đặc biệt trong bối cảnh ứng dụng lâm sàng [19,20].

Thủy tinh hóa

Thủy tinh hóa (vitrification) là một xu hướng mới trong bảo quản mô thạch Wharton, được xem là một chiến lược thay thế đầy tiềm năng cho phương pháp đông lạnh chậm truyền thống. Phương pháp này sử dụng tốc độ làm lạnh siêu nhanh, thường đạt 10.000 - 20.000°C/phút, trong môi trường chứa nồng độ cao các chất bảo vệ lạnh. Mục tiêu chính của thủy tinh hóa là tránh sự hình thành tinh thể đá nội bào, yếu tố chính gây tổn thương cấu trúc tế bào trong các phương pháp đông lạnh thông thường [16,18]. Trong quy trình thủy tinh hóa, các mảnh mô nhỏ (thường < 0,5 cm³) được xử lý bằng cách ngâm vào dung dịch CPAs đậm đặc như dimethyl sulfoxide (DMSO), ethylene glycol và trehalose với nồng độ tăng dần, sau đó nhanh chóng được nhúng trực tiếp vào nitơ lỏng hoặc hơi nitơ để chuyển mô từ thể lỏng sang trạng thái thủy tinh hóa [4,18]. Phương pháp này đã được ứng dụng thành công trong bảo quản trứng, phôi người, và gần đây được thử nghiệm trên mô cuống rốn, đặc biệt là thạch Wharton cho thấy tiềm năng lớn trong việc cải thiện tỷ lệ sống và chất lượng mô sau rã đông [18]. Một số nghiên cứu ghi nhận tỷ lệ sống sót của tế bào sau rã đông lên đến >90% ở các mảnh mô nhỏ, đồng thời duy trì tốt cấu trúc mô học và khả năng biệt hóa của tế bào gốc trung mô [15]. Tuy nhiên, việc sử dụng các CPAs ở nồng độ cao cũng làm gia tăng nguy cơ độc tính tế bào, đòi hỏi kỹ thuật viên phải có kỹ năng xử lý chính xác và sử dụng thiết bị chuyên dụng nhằm kiểm soát hiệu quả quá trình [4,18].

Dù có tiềm năng lớn trong việc tối ưu hóa chất lượng tế bào sau bảo quản, thủy tinh hóa hiện vẫn chủ yếu được ứng dụng trong các nghiên cứu thực nghiệm. Việc triển khai rộng rãi trong ngân hàng mô

hoặc lâm sàng còn bị giới hạn do chi phí thiết bị cao, yêu cầu phương pháp nghiêm ngặt, và chưa có quy chuẩn đồng bộ cho các loại mô phức tạp như thạch Wharton [16,19].

Bảng 1. So sánh các phương pháp bảo quản mô cuống rốn người hiện nay

Tiêu chí	Bảo quản lạnh sâu nguyên mô	Bảo quản lạnh sâu thạch Wharton/ mảnh cắt	Bảo quản lạnh ngắn hạn	Thủy tinh hóa	TLTK
Nguyên liệu bảo quản	Cuống rốn nguyên đoạn (2 - 5 cm), không bóc tách	Mảnh thạch Wharton đã bóc tách, cắt nhỏ (~0,5 - 1 cm ³)	Mô nguyên vẹn hoặc mảnh tươi	Mảnh thạch Wharton nhỏ < 0,5 cm ³	[4,16]
Nhiệt độ bảo quản	-196°C (bình nitơ lỏng, lưu trữ sau đông chậm)	-196°C (lưu trữ ngâm chìm hoặc trong hơi nitơ lỏng sau đông chậm)	2 - 8°C (tủ lạnh thường)	-196°C (sau khi đông lạnh cực nhanh trong môi trường CPAs nồng độ cao)	[4,5,16,18]
Dung môi bảo quản	10% DMSO + FBS hoặc albumin trong môi trường DMEM hoặc se-rum-free	DMSO ± treha-lose, serum-free medium (đôi khi thay bằng albumin người)	PBS, Hy-poThermo-sol®, HBSS có glucose và kháng sinh	DMSO + eth-ylene glycol + trehalose nồng độ cao (thay đổi tùy mô và tốc độ ngâm)	[16,17,18]

Xu hướng mới trong bảo quản mô cuống rốn người

Bên cạnh các phương pháp bảo quản lạnh ngắn hạn và bảo quản lạnh sâu truyền thống, hiện nay nhiều phương pháp cải tiến đang được phát triển nhằm nâng cao hiệu quả bảo tồn cấu trúc mô học và khả năng sống của tế bào trong mô cuống rốn người. Trong đó, một xu hướng nổi bật là bảo quản không huyết thanh (serum-free hoặc xeno-free cryopreservation), được xem là một bước tiến quan trọng hướng tới ứng dụng lâm sàng an toàn và tuân thủ tiêu chuẩn Thực hành sản xuất tốt (GMP) trong y học tái tạo [17,19,20]. Phương pháp này loại bỏ hoàn toàn các thành phần có nguồn gốc từ động vật, như huyết thanh bò (FBS) hoặc dung dịch PBS truyền thống và thay thế bằng các môi trường tổng hợp hoặc albumin người nhằm giảm nguy cơ gây phản ứng miễn dịch và lây nhiễm chéo [4]. Các nghiên cứu gần đây cũng chỉ ra rằng môi trường bảo quản không huyết thanh có thể duy trì tốt khả năng biệt hóa và biểu hiện marker của tế bào gốc trung mô, đồng thời giảm tỷ lệ chết tế bào sau rã đông [15,16]. Sự phát triển của các môi trường bảo quản xeno-free, đặc biệt là những công thức đã được cấp phép dùng trong người, không chỉ đáp ứng yêu cầu an toàn sinh học mà còn phù hợp với các quy định nghiêm ngặt về kiểm soát chất lượng trong sản xuất sinh phẩm và liệu pháp tế bào hiện đại [19].

Phương pháp thủy tinh hóa cải tiến, đặc biệt khi kết hợp áp lực cao hoặc điều chỉnh thành phần chất bảo quản cũng đang được nghiên cứu nhằm nâng cao tỷ lệ tế bào sống trong các mảnh mô dày. Bên

cạnh đó, công nghệ rã đông bằng hạt nano từ tính (nano-warming) giúp rã đông đồng đều và hạn chế tổn thương do tái kết tinh, được xem là bước tiến quan trọng trong bảo quản mô có kích thước lớn [16,18].

Ngoài ra, một hướng nghiên cứu khác là bảo quản lạnh sâu mô đã loại tế bào (decellularized Wharton's Jelly-dWJ), chỉ giữ lại chất nền ngoại bào, có thể dùng làm giá đỡ sinh học (scaffold) trong tái tạo phục hồi sụn, mạch máu và mô thần kinh [21]. Các nghiên cứu in vitro cho thấy d WJ duy trì khả năng kết dính, biệt hóa và di cư của tế bào gốc, đồng thời vẫn giữ được các protein ECM quan trọng như collagen, fibronectin, lumican, tenascin là các yếu tố giúp cải thiện hiệu quả tái sinh mô [14,21]. Tuy chưa được áp dụng phổ biến, các phương pháp này mở ra triển vọng lớn cho việc phát triển ngân hàng mô cuống rốn và sản phẩm y học tái tạo trong tương lai [7,14].

4. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN CHẤT LƯỢNG BẢO QUẢN MÔ CUỐNG RỐN NGƯỜI

Hiệu quả bảo quản mô cuống rốn phụ thuộc vào nhiều yếu tố liên quan đến đặc điểm mô, quy trình phương pháp, loại dung dịch bảo quản và điều kiện đông/rã đông [4,5]. Việc kiểm soát tốt những yếu tố này quyết định tỷ lệ sống và chức năng sinh học của tế bào sau bảo quản.

Kích thước và dạng mô

Độ dày mô ảnh hưởng đến khả năng thẩm của dung dịch cryoprotectant vào mô trong quá trình đông lạnh. Mô nguyên đoạn dày (≥ 5 mm) làm tăng nguy cơ hình thành tinh thể nội bào, giảm tỷ lệ tế

bào sống sau rã đông và dẫn đến mẫu mô có tính đồng nhất sinh học kém [4]. Do đó, nên cắt nhỏ mô (~0,5 - 1 cm³) hoặc bóc tách thạch Wharton trước khi bảo quản lạnh sâu nhằm tối ưu khả năng thẩm thấu cryoprotectant và nâng cao hiệu suất bảo quản [1,5].

Loại dung dịch bảo quản

Dung dịch bảo quản truyền thống là 10% dimethyl sulfoxide (DMSO) kết hợp với fetal bovine serum (FBS). Dung dịch này giúp giảm hình thành tinh thể nội bào nhưng lại gây độc tế bào, nên cần được loại bỏ kỹ sau khi rã đông [4]. Để khắc phục hạn chế này, các phương pháp hiện đại đã phát triển hỗn hợp DMSO với các chất bảo vệ bổ sung như trehalose hoặc hydroxyethyl starch (HES) – giúp ổn định màng tế bào và giảm độc tính tổng thể. Đặc biệt, các dung môi không chứa huyết thanh (serum-free) hoặc không có nguồn gốc động vật (xeno-free) đã chứng minh khả năng bảo tồn chức năng tế bào gốc trung mô tốt hơn sau rã đông, giảm tỷ lệ chết tế bào và phù hợp với tiêu chuẩn sản xuất sinh phẩm y tế trong môi trường lâm sàng [17].

Tốc độ đông và rã đông

Theo nguyên lý hai yếu tố hiện đại, tốc độ đóng băng tối ưu là cần thiết để đạt được tỷ lệ sống tế bào cao; nếu quá nhanh, chất bảo quản không kịp thẩm thấu vào nội bào và gây sốc tế bào; nếu quá chậm, nước sẽ thoát quá mức và tinh thể đá ngoại bào hình thành, làm tổn thương tế bào. Do đó, quy trình lý tưởng thường là hạ nhiệt từ 0 °C đến -80 °C với tốc độ khoảng 1 °C/phút, sau đó chuyển mẫu nhanh vào nitơ lỏng ở -196 °C để lưu trữ dài hạn. Khi rã đông, nâng nhiệt độ nhanh (37 °C) giúp ngăn cản quá trình tái kết tinh tinh thể để bảo vệ cấu trúc màng tế bào và tối ưu hóa hiệu quả phục hồi chức năng tế bào sau rã đông [16,22]. Tốc độ đóng băng bằng không tối ưu có thể ảnh hưởng nghiêm trọng đến tỷ lệ sống còn và chức năng sinh học của tế bào [20].

Quy trình chuẩn hiện được áp dụng trong nhiều ngân hàng tế bào là làm lạnh chậm kết hợp rã đông nhanh, vừa đảm bảo ổn định cấu trúc mô học vừa tối ưu hiệu quả phục hồi chức năng tế bào sau bảo quản [16,20].

Thời gian và điều kiện lưu trữ

Thời điểm thu thập mô cuống rốn sau sinh có vai trò quyết định đến chất lượng bảo quản và hiệu quả phân lập tế bào. Mô nên được thu thập trong vòng 30 phút đến 2 giờ đầu sau sinh để đảm bảo cấu trúc và khả năng sống của tế bào gốc [15]. Trong điều kiện lưu trữ ngắn hạn, mô có thể được bảo quản ở 2-8 °C trong khoảng 48-72 giờ mà vẫn duy trì khả năng phân lập tế bào gốc trung mô; hiệu quả giảm rõ sau thời gian này [5,16]. Đối với lưu trữ dài hạn, mô được bảo quản trong môi trường nitơ lỏng ở -196 °C

và có thể giữ chất lượng trên 10 năm nếu nhiệt độ ổn định được duy trì; song cần hạn chế số lần đưa mẫu ra khỏi nitơ lỏng để tránh tổn hại do biến đổi nhiệt độ đột ngột [4,16].

Điều kiện vô trùng và thao tác phương pháp

Toàn bộ quy trình xử lý mẫu, từ khâu thu thập, tách mô, xử lý bằng cryoprotectant đến quá trình đông lạnh cần được thực hiện trong điều kiện vô trùng nghiêm ngặt, tuân thủ nguyên tắc Thực hành sản xuất tốt hoặc trong phòng sạch đạt tiêu chuẩn vô trùng phù hợp với quy định sản xuất sinh phẩm tế bào. Các nghiên cứu cho thấy, nhiễm khuẩn trong thao tác là một trong những nguyên nhân chính khiến mẫu bị loại bỏ hoàn toàn, ảnh hưởng trực tiếp đến tính an toàn sinh học và hiệu quả điều trị sau này. Việc duy trì chất lượng phòng thí nghiệm, kiểm soát môi trường thao tác và huấn luyện kỹ thuật viên là yếu tố then chốt giúp hạn chế nguy cơ này [19,20].

5. TIỀM NĂNG ỨNG DỤNG LÂM SÀNG CỦA MÔ CUỐNG RỐN NGƯỜI

Tế bào gốc trung mô từ thạch Wharton thể hiện ba cơ chế chính trong điều trị tái tạo. Thứ nhất, chúng có khả năng biệt hóa đa dòng thành các tế bào chức năng như nguyên bào xương, thần kinh và cơ tim [6,23]. Thứ hai, WJ-MSCs điều hòa miễn dịch thông qua ức chế tế bào T gây viêm và tăng cường Treg, với các exosome đóng vai trò điều phối đáp ứng miễn dịch [9,10]. Thứ ba, MSCs tiết ra exosome, cytokine và yếu tố tăng trưởng giúp phục hồi mô và kháng viêm và hỗ trợ vi môi trường tái tạo [10,24]. Ba cơ chế này tạo nền tảng cho cả liệu pháp dựa trên tế bào và liệu pháp không tế bào trong y học tái tạo.

Trong các bệnh lý tự miễn và viêm mạn, MSCs cuống rốn thường được ưu tiên lựa chọn hơn các nguồn MSCs từ tủy xương và mô mỡ nhờ mức biểu hiện HLA-DR và các phân tử đồng kích thích thấp, làm giảm nguy cơ kích hoạt miễn dịch khi sử dụng đồng loại [6]. WJ-MSCs cũng tiết lượng lớn cytokine và exosome kháng viêm, hỗ trợ ức chế tế bào T và điều hòa phản ứng miễn dịch mạnh hơn so với MSCs từ các nguồn trưởng thành khác [7-10]. Ngoài ra, khả năng tiết các yếu tố dinh dưỡng thần kinh của MSCs cuống rốn được ghi nhận cao hơn trong các nghiên cứu về tái tạo thần kinh, giúp chúng trở thành lựa chọn tiềm năng trong điều trị tổn thương tủy sống, bại não và các bệnh lý thần kinh khác [12]. Không giống MSCs tủy xương và mô mỡ vốn bị suy giảm chức năng theo tuổi và tình trạng bệnh nền của người hiến, WJ-MSCs ổn định hơn về mặt sinh học và do đó thường được sử dụng rộng rãi trong nhiều nghiên cứu và thử nghiệm lâm sàng điều trị bệnh tự miễn [3,10].

Ngay cả sau khi bảo quản lạnh sâu, mô cuống rốn, đặc biệt là thạch Wharton, vẫn duy trì đáng kể mật độ MSCs sống, các yếu tố tăng trưởng và cấu trúc chất nền ngoại bào [20]. Nhờ đó, nguồn mô này có thể được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực:

Liệu pháp điều hòa miễn dịch và điều trị bệnh lý viêm - mạn tính

MSCs từ thạch Wharton cho thấy khả năng điều hòa miễn dịch mạnh mẽ, thông qua việc ức chế hoạt động của tế bào T, B, tế bào diệt tự nhiên (NK) và đại thực bào, từ đó giúp giảm phản ứng viêm. Các nghiên cứu ứng dụng lâm sàng đã ghi nhận hiệu quả bước đầu của WJ-MSCs trong điều trị lupus ban đỏ hệ thống, bệnh Crohn, viêm khớp dạng thấp và các

thể COVID-19 nặng [10].

Tái tạo và phục hồi mô tổn thương

Nhờ tiềm năng biệt hóa đa dòng thành nguyên bào sợi, tế bào nội mô, tế bào sụn, xương và mỡ, các tế bào gốc trung mô cuống rốn được ứng dụng trong điều trị các tổn thương da (bỏng, vết loét mạn tính), thoái hóa khớp, và bệnh lý thần kinh như bại não hoặc đột quỵ [3,20]. Một số thử nghiệm lâm sàng tại Hoa Kỳ, Hàn Quốc và Trung Quốc đã sử dụng MSCs từ mô cuống rốn sau bảo quản lạnh để điều trị chấn thương tủy sống, bại não và phục hồi mô sau bỏng sâu. Kết quả cho thấy độ an toàn cao và có cải thiện chức năng ở các bệnh nhân [10,12,23].

Bảng 2. Ứng dụng lâm sàng tiềm năng của MSCs từ mô cuống rốn trong các nhóm bệnh lý khác nhau

Nhóm bệnh lý	Cơ chế chính	Tình trạng nghiên cứu/ ứng dụng	Tài liệu tham khảo
Thần kinh (bại não, tổn thương tủy sống, Alz-heimer)	Tái tạo neuron, tăng sinh mạch, điều hòa miễn dịch	Thử nghiệm pha I/II, cải thiện chức năng	[3,12]
Phổi (ARDS, COVID-19 nặng, COPD)	Giảm viêm phổi, tái tạo biểu mô, ức chế cytokine	Nghiên cứu lâm sàng trên bệnh nhân COVID-19 nặng	[10,23]
Tim mạch (thiếu máu cơ tim, suy tim)	Tái sinh cơ tim, tăng sinh mạch, chống xơ hóa	Nghiên cứu trên động vật, lâm sàng sơ bộ	[10,12]
Gan (xơ gan, viêm gan tự miễn)	Ức chế viêm, biệt hóa tế bào gan, phục hồi chức năng gan	Thử nghiệm lâm sàng kéo dài 12–24 tuần	[24]
Khớp / mô mềm (viêm, thoái hóa)	Chống viêm, kích thích tái tạo sụn và mô liên kết	Ứng dụng tại Trung Quốc, Mỹ, Hàn Quốc	[21,22]

Liệu pháp ghép đồng loại (Allogeneic MSC therapy)

MSCs từ thạch Wharton có mức biểu hiện HLA-DR thấp, hạn chế phản ứng thải ghép, do đó thích hợp cho sử dụng ghép đồng loại [6,10]. Đây là ưu thế nổi bật so với MSCs từ mô mỡ hoặc tủy xương, những nguồn ghép đòi hỏi mức độ tương hợp cao hơn.

Ứng dụng mới

Gần đây, nhiều hướng nghiên cứu mới đã được triển khai, góp phần mở rộng tiềm năng ứng dụng lâm sàng của mô cuống rốn bảo quản. Trong điều trị hội chứng hậu COVID-19 (Long COVID), exosome chiết xuất từ MSCs cuống rốn cho thấy hiệu quả trong việc cải thiện chức năng hô hấp và giảm phản ứng viêm mạn tính [10,23]. Trong lĩnh vực hỗ trợ sinh sản, giá đỡ sinh học (scaffold) từ thạch Wharton đang được nghiên cứu như một chiến lược tái tạo nội mạc tử cung ở các trường hợp vô sinh thứ phát [3,12]. Bên cạnh đó, sự kết hợp giữa ECM của mô cuống rốn và công nghệ in 3D cũng đang được thử nghiệm nhằm tạo ra vật liệu ghép sinh học cho sụn và mô mềm [21,22]. Một hướng đi tiên tiến khác là sử dụng exosome từ MSCs đã được kích hoạt trước

(preconditioning), nhằm tăng cường hoạt tính sinh học và hiệu quả điều trị trong các tổn thương thần kinh [12,16].

Phát triển vật liệu sinh học và scaffold

Một trong những hướng đi nổi bật là phát triển giá đỡ (scaffold) sinh học từ mô cuống rốn. Sau quá trình khử tế bào (decellularization), cấu trúc nền ngoại bào còn lại giàu collagen, glycosaminoglycan và fibronectin, có thể được sử dụng như một giá đỡ tự nhiên cho tái tạo mô sụn, da, mạch máu nhỏ và thần kinh ngoại biên [14,21]. Đặc biệt, phương pháp sấy đông khô áp dụng cho mô cuống rốn đã khử tế bào đang được nghiên cứu như một giải pháp tạo ra sản phẩm sinh học ổn định ở nhiệt độ phòng. Mặc dù không duy trì được tế bào sống, phương pháp này vẫn bảo tồn được cấu trúc ECM, giúp thuận lợi cho việc nghiên cứu scaffold và các ứng dụng trong phương pháp mô hiện đại [5,21].

Nghiên cứu cơ bản và phát triển chế phẩm sinh học

WJ-MSCs, với độ ổn định di truyền cao và ít biến đổi dòng trong nuôi cấy, là mô hình chuẩn để nghiên cứu cơ chế miễn dịch, biệt hóa tế bào và quá trình

chữa lành tổn thương [1,2,20]. Ngoài ra, secretome của WJ-MSCs, gồm exosome, cytokine và các yếu tố tăng trưởng đang được phát triển thành chế phẩm sinh học thế hệ mới, tiềm năng ứng dụng trong điều trị viêm, tái tạo mô và liệu pháp chống lão hóa [7–9].

6. THÁCH THỨC VÀ ĐỊNH HƯỚNG TƯƠNG LAI

Mặc dù các kỹ thuật bảo quản mô cuống rốn đã đạt nhiều tiến bộ, việc ứng dụng rộng rãi vẫn đối mặt với một số thách thức lớn. Thứ nhất, chi phí đầu tư và vận hành hệ thống bảo quản lạnh sâu, bao gồm thiết bị, nitơ lỏng và kiểm soát an toàn dài hạn, vẫn là rào cản lớn đối với nhiều cơ sở y tế [22]. Thứ hai, các vấn đề đạo đức y sinh như sự đồng thuận của người hiến, quyền sở hữu mô sau lưu trữ và quản lý dữ liệu dài hạn cần được chuẩn hóa trong khuôn khổ pháp lý rõ ràng [25]. Thứ ba, dữ liệu về chất lượng mô và tế bào sau lưu trữ kéo dài trên 10–15 năm còn hạn chế; sự không đồng nhất giữa các lô bảo quản và nguy cơ tổn thương vi mô tăng dần theo thời gian đặt ra yêu cầu phát triển các tiêu chí đánh giá chất lượng chặt chẽ hơn [26]. Bên cạnh đó, một số kỹ thuật mới như thủy tinh hóa cải tiến và công nghệ rã đông bằng hạt nano từ tính cho thấy tiềm năng nâng cao chất lượng mô sau bảo quản, nhưng vẫn cần nghiên cứu thêm để chuẩn hóa và đánh giá tính khả thi trong thực hành [18]. Cuối cùng, hầu hết các ứng dụng lâm sàng hiện nay mới dừng ở mức thử nghiệm quy mô nhỏ; do đó, cần các thử nghiệm đối chứng ngẫu nhiên với cỡ mẫu lớn và theo dõi dài hạn để xác định hiệu quả và độ an toàn của các sản phẩm từ mô cuống rốn bảo quản [27]. Trong tương lai, các hướng phát triển quan trọng bao gồm tối ưu hóa môi trường bảo quản xeno-free đạt chuẩn GMP, ứng dụng công nghệ rã đông tiên tiến, chuẩn hóa hệ thống ngân hàng mô và mở rộng nghiên cứu lâm sàng nhằm đưa các sản phẩm từ mô cuống rốn vào ứng dụng thực tiễn.

7. KẾT LUẬN

Mô cuống rốn người, đặc biệt là thạch Wharton, là nguồn giàu tế bào gốc trung mô, yếu tố tăng trưởng và chất nền ngoại bào mang tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong y học tái tạo và liệu pháp cá thể hóa. Các đặc tính sinh học vượt trội như khả năng biệt hóa đa dòng, điều hòa miễn dịch và tiết yếu tố tăng trưởng đã khiến MSCs từ mô cuống rốn trở thành lựa chọn triển vọng cho điều trị nhiều bệnh lý mạn tính, thoái hóa, tự miễn và tổn thương cấp tính. Sự hoàn thiện của các kỹ thuật bảo quản, đặc biệt là bảo quản lạnh sâu nguyên mô và mô cắt lát, đã giúp duy trì khả năng sống và chức năng sinh học của mô, mở ra các hướng ứng dụng từ điều trị hội chứng

hậu COVID-19, vô sinh thứ phát, tổn thương thần kinh đến phát triển giá đỡ sinh học và chế phẩm từ exosome. Mặc dù lĩnh vực này còn mới ở nhiều quốc gia đang phát triển, việc thúc đẩy nghiên cứu, chuẩn hóa quy trình bảo quản và xây dựng hệ thống ngân hàng mô sẽ là bước đi chiến lược để khai thác tối đa nguồn mô quý giá này. Những định hướng này không chỉ có ý nghĩa trong thực tiễn lâm sàng hiện tại, mà còn tạo nền tảng vững chắc cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm tối ưu hóa hiệu quả và mở rộng phạm vi ứng dụng của mô cuống rốn trong y học tái tạo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kim DW, Staples M, Shinozuka K, Pantcheva P, Kang SD, Borlongan CV. Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells: phenotypic characterization and optimizing their therapeutic potential for clinical applications. *Int J Mol Sci.* 2013;14(6):11692–712.
2. Wang Y, Chen X, Cao W, Shi Y. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications. *Nat. Immunol.* 2014;15(11):1009–16.
3. Xie Q, Liu R, Jiang J, Peng J, Yang C, Zhang W, et al. What is the impact of human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation on clinical treatment? *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):519.
4. Mallis P, Eleni G, Efstathios M, Stavropoulos-Giokas, C. Comprehensive evaluation of different cryopreservation methods used for the successful storage of human Wharton's Jelly tissue. *Biomed Res Clin Prac.* 2018;3(1):1–9.
5. Arutyunyan I, Fatkhudinov T, Sukhikh G. Umbilical cord tissue cryopreservation: a short review. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):236.
6. Fong CY, Chak LL, Biswas A, Tan JH, Gauthaman K, Chan WK, et al. Human Wharton's jelly stem cells have unique transcriptome profiles compared to human embryonic stem cells and other mesenchymal stem cells. *Stem Cell Rev Rep.* 2011;7(1):1–16.
7. Keshtkar S, Azarpira N, Ghahremani MH. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: novel frontiers in regenerative medicine. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):63.
8. Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, Schneider J, Perez-Fernandez R. Mesenchymal stem cell secretome: toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine. *Int J Mol Sci.* 2017;18(9):1852.
9. Drobiova H, Sindhu S, Ahmad R, Haddad D, Al Mulla F, Al Madhoun A. Wharton's jelly mesenchymal stem cells: a concise review of their secretome and prospective clinical applications. *Front Cell Dev Biol.* 2023; 11:1211217.
10. Patel, A. A., Asma'a, H. M., Rizaev, J., Mallick, A. K., Qasim, M. T., Al Abdulmonem, W. et al. Application of mesenchymal stem cells derived from the umbilical cord or Wharton's jelly and their extracellular vesicles

- in the treatment of various diseases. *Tissue Cell*. 2024; 89:102415.
11. El Omar R, Beroud J, Stoltz JF, Menu P, Velot E, Decot V. Umbilical cord mesenchymal stem cells: the new gold standard for mesenchymal stem cell-based therapies? *Tissue Eng Part B Rev*. 2014;20(5):523–44.
 12. Shin YH, Choi SJ, Kim JK. Mechanisms of Wharton's Jelly-derived MSCs in enhancing peripheral nerve regeneration. *Sci Rep*. 2023;13(1):21214.
 13. da Rosa, N. N., Appel, J. M., Irioda, A. C., Mogharbel, B. F., de Oliveira, N. B., Perussolo, M. C. et al. Three-dimensional bioprinting of an in vitro lung model. *Int J Mol Sci*. 2023;24(6):5852.
 14. Gamba, L. K., Ribeiro, V. S. T., Simeoni, R. B., Gamba, L. K., Graf, E. C. B., Denk, M. A., et al. Decellularized Wharton's Jelly: biomaterial potential for regenerative medicine applications. *Braz Arch Biol Technol*. 2023;66: e23220292.
 15. Todtenhaupt, P., Franken, L. A., Groene, S. G., van Hoolwerff, M., van der Meeren, L. E., van Klink, J. M. et al. A robust and standardized method to isolate and expand mesenchymal stromal cells from human umbilical cord. *Cytotherapy*. 2023;25(10):1057–68.
 16. Wang J, Li R. Effects, methods and limits of the cryopreservation on mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther*. 2024;15(1):337.
 17. Al-Saqi SH, Saliem M, Quezada HC, Ekblad Å, Jonasson AF, Hovatta O, Götherström C. Defined serum- and xeno-free cryopreservation of mesenchymal stem cells. *Cell Tissue Bank*. 2015;16(2):181–93.
 18. Han, Z., Rao, J. S., Gangwar, L., Namsrai, B. E., Pasek-Allen, J. L., Etheridge, M. L. et al. Vitrification and nanowarming enable long-term organ cryopreservation and life-sustaining kidney transplantation in a rat model. *Nat Commun*. 2023; 14 (1):3407.
 19. Sensebé L, Bourin P, Tarte K. Good manufacturing practices production of mesenchymal stem/stromal cells. *Hum Gene Ther*. 2011;22(1):19–26.
 20. Chu, W., Zhang, F., Zeng, X., He, F., Shang, G., Guo, T., et al. A GMP-compliant manufacturing method for Wharton's jelly-derived mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Res Ther*. 2024;15(1):131.
 21. Guo, W. Y., Wang, W. H., Xu, P. Y., Kankala, R. K., & Chen, A. Z. Decellularized extracellular matrix-based injectable hydrogels for tissue engineering applications. *Biomater Transl*. 2024;5(2):114.
 22. Bai B, Xue C, Wen Y, Lim J, Le Z, Shou, Y. et al. Cryopreservation in the era of cell therapy: revisiting fundamental concepts to enable future technologies. *Adv Funct Mater*. 2023;33(40):2303373.
 23. Zheng S, Hu GY, Li JH, Li YK. Potential plausible role of Wharton's jelly mesenchymal stem cells for diabetic bone regeneration. *World J Stem Cells*. 2024;16(8):824.
 24. Torabi, S., Zarrabi, M., Shekari, F., Poorkazem, H., Lotfinia, M., Bencina, S., et al. Wharton's Jelly mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles induce liver fibrosis resolving phenotype in alternatively activated macrophages. *J Cell Mol Med*. 2024;28(18): e18507.
 25. Lo B, Parham L. Ethical issues in stem cell research. *Endocr Rev*. 2009;30(3):204–213.
 26. Trounson A, McDonald C. Stem cell therapies in clinical trials: progress and challenges. *Cell Stem Cell*. 2015;17(1):11–22.