

THU NHẬN KHUNG NGOẠI BÀO TỪ MÔ MỠ NGƯỜI ĐỊNH HƯỚNG ỨNG DỤNG TRONG KỸ NGHỆ MÔ

Nguyễn Thị Ngọc Mỹ^{1,2,3}, Đỗ Xuân Trường⁴, Trần Lê Bảo Hà^{1,2,3}

¹ Phòng thí nghiệm Kỹ nghệ mô và Vật liệu Y Sinh, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên

² Bộ môn Sinh lý học và Công nghệ Sinh học Động vật, Khoa Sinh học - CNSH, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên

³ Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

⁴ Thăm mỹ viện Xuân Trường, Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Các vật liệu sinh học bao gồm khung ngoại bào (ECM-Extracellular matrix) đã được ứng dụng thành công trong y học tái tạo nói chung và kỹ nghệ mô nói riêng. Mô mỡ giàu thành phần ECM, thể hiện tính tương hợp sinh học và tham gia vào các quá trình tái tạo mô *in vitro* và *in vivo*. Trong nghiên cứu này, quy trình xử lý mô mỡ người được khảo sát nhằm thu nhận ECM. Tiếp theo, mẫu khung ngoại bào được đánh giá độc tính và khả năng hỗ trợ sự bám dính của tế bào gốc mô mỡ người. Kết quả đánh giá mô học đã cho thấy mẫu được loại sạch lipid và vết nhân tế bào. Đồng thời, hàm lượng DNA tồn đọng trong mẫu đạt tiêu chuẩn xác nhận sạch tế bào. Mẫu khung ngoại bào không gây độc sau 24 giờ được đặt tiếp xúc trực tiếp với tế bào gốc mô mỡ. Ngoài ra, hình ảnh nhuộm DAPI và H&E cho thấy các tế bào gốc mô mỡ có khả năng bám dính trong khung ngoại bào. Các kết quả nghiên cứu đã cho thấy khung ngoại bào từ mô mỡ người đã được thu nhận thành công, không gây độc và hỗ trợ sự bám dính tế bào gốc mô mỡ người. Điều đó cho thấy khả năng ứng dụng trong kỹ nghệ mô của sản phẩm từ nghiên cứu này.

Từ khóa: Khung ngoại bào, kỹ nghệ mô, khử tế bào, mô mỡ, vật liệu sinh học.

MỞ ĐẦU

Khung nâng đỡ là một trong ba thành phần chính trong kỹ nghệ mô cùng với tế bào và các phân tử có hoạt tính sinh học góp phần vào việc tái tổ chức các mô mới và cơ quan mới (Deb *et al.*, 2018). Khung ngoại bào (ECM) từ mô động vật hoặc con người chính là nguồn vật liệu tự nhiên có đầy đủ các yếu tố để tạo nên khung nâng đỡ. Các thành phần quan trọng điển hình trong ECM như collagen, laminin, fibronectin và proteoglycan (Sano *et al.*, 2014; Hinderer *et al.*, 2016),... sẽ kích thích sự tăng sinh, biệt hóa và bám dính tế bào, thúc đẩy sự hình thành và phát triển mô, tiềm năng cho việc chế tạo các vật liệu sinh học trong nghiên cứu và điều trị (Hussey *et al.*, 2018).

Mô mỡ là một mô liên kết chuyên biệt, giàu thành phần ECM, điển hình là collagen loại I-VI, laminin, fibronectin và glycosaminoglycans (GAGs) (Sano *et al.*, 2014). Các nghiên cứu đã chỉ ra ECM thu nhận từ mô mỡ thể hiện tính tương hợp sinh học, tham gia cầm ứng biệt hóa mỡ và hỗ trợ hình thành mạch máu mới. Mô mỡ dễ dàng được thu nhận bằng phương pháp hút thăm mỹ, sau khi bị loại ra khỏi cơ thể được xem như chất thải y tế. Vì vậy, đây là nguồn vật liệu tiềm năng để thu nhận ECM. Trong chế tạo vật liệu sinh học từ nguồn mô của động vật hoặc người, việc loại bỏ các thành phần tế bào được xem là yêu cầu cốt lõi nhằm hạn chế tối đa yếu tố gây đáp ứng miễn dịch của vật ghép. Ngoài ra, lipid chiếm 80 - 90% thể tích mô mỡ nên quá trình xử lý mô cần thiết phải có giai đoạn khử lipid. Lipid tồn đọng trong mẫu làm gia tăng phản ứng miễn dịch, bao sợi hóa vật ghép (Mori *et al.*, 2014), ngăn cản sự xâm nhập và bám dính của tế bào (Curtis *et al.*, 1975; Moreau *et al.*, 2000), do đó hạn chế hiệu quả tái tạo mô.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi thiết lập quy trình thu nhận ECM từ mô mỡ. Trong đó, quá trình khử lipid và khử tế bào được khảo sát nhằm loại bỏ hoàn toàn lipid và tế bào trong mẫu. Sau khi thu nhận, ECM sẽ được thử nghiệm về độc tính *in vitro* và khả năng hỗ trợ sự bám dính của tế bào gốc mô mỡ. Các kết quả từ nghiên cứu này sẽ chỉ ra tiềm năng ứng dụng của ECM từ mô mỡ trong kỹ nghệ mô, qua đó, tạo tiền đề cho hướng nghiên cứu tạo ra các vật liệu có khả năng tái tạo sinh học, đáp ứng nhu cầu thực tiễn chăm sóc sức khỏe con người trong điều kiện khoa học công nghệ phát triển như hiện nay.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Mô mỡ người được thu từ quá trình hút mỡ thăm mỹ tại Thăm mỹ viện Xuân Trường (Quyết định chấp thuận số 2604/QĐ-TMXT). Mô mỡ được thu nhận vào dung dịch bảo quản Phosphate Buffer Saline 1X (PBS 1X) (Gibco, Hoa Kỳ) có bổ sung Penicillin 400 IU/mL và Streptomycin 400 µg/mL (Sigma, Hoa Kỳ), được rửa sạch máu bằng cách ly tâm trong dung dịch PBS 1X và được dự trữ ở nhiệt độ -86°C.

Dòng tế bào sử dụng là tế bào gốc từ mô mỡ người (human Adipose derived Stem Cell - hADSC), ở thể hệ thứ tư, được cung cấp từ Phòng thí nghiệm Kỹ nghệ mô và Vật liệu Y Sinh. Tế bào đã được phân lập và nuôi cấy theo quy trình đã công bố của nhóm nghiên cứu. Tế bào hADSC được nuôi ở 37°C, 5% CO₂, bằng môi trường đầy đủ (gọi tắt là CM10) có thành phần môi trường cơ bản DMEM-F12 (Sigma, Hoa Kỳ) được bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò (FBS, Sigma, Hoa Kỳ), Penicilin 100 IU/mL và Streptomycin 100 µg/mL (Sigma, Hoa Kỳ).

Phương pháp khử lipid

Mô mỡ được rửa đông ở nhiệt độ 37°C bằng bể ổn nhiệt và rửa bằng dung dịch PBS 1X. Việc loại bỏ lipid trong mô mỡ được thực hiện bằng cách ủ mô mỡ trong Isopropanol kết hợp lắc cơ học với tốc độ 80 vòng/phút. Isopropanol được thay mới sau mỗi 8 giờ. Sau khi ủ trong Isopropanol, mẫu mô được rửa sạch bằng dung dịch PBS 1X. Thời gian ủ mẫu trong Isopropanol được khảo sát nhằm thu được mẫu sạch lipid, và được đánh giá bằng cách nhuộm với thuốc nhuộm Oil Red O.

Phương pháp khử tế bào

Sau khi được loại bỏ lipid, mẫu mô được tiếp tục ủ trong dung dịch Tris-HCl (iNtRON, Hoa Kỳ) và Sodium Dodecyl Sulfate (SDS, Sigma, Hoa Kỳ) để khử tế bào. Quy trình khử tế bào được kế thừa từ công bố đã có của nhóm nghiên cứu (Tran, 2016). Trong đó, mẫu mô được ủ trong dung dịch Tris-HCl 10 mM, tiếp theo được ủ trong dung dịch SDS. Thời gian và nồng độ tác nhân khử tế bào được khảo sát nhằm thu nhận được ECM. Tiêu chí sạch tế bào được đánh giá thông qua tiêu chí sạch vết nhân tế bào trong tiêu bản nhuộm Hematoxyline và Eosin (nhuộm H&E) và lượng DNA tồn đọng dưới 50 ng/mg mẫu khô (Crapo *et al.*, 2011).

Phương pháp đánh giá độc tính trong điều kiện *in vitro*

ECM từ mô mỡ (Adipose Tissue derived Extracellular Matrix - ATECM) được khử trùng bằng khí Ethylene Oxide (EtO) trước khi sử dụng cho các thí nghiệm trên tế bào. Tế bào hADSC được sử dụng cho đánh giá tính độc của mẫu ATECM. hADSC được bổ sung vào đĩa 35 mm và nuôi cấy đến khi đạt mật độ che phủ 70-80% diện tích bề mặt đĩa. Mẫu ATECM được được cắt tạo diện tích bề mặt bằng 1/10 diện tích đĩa nuôi cấy (theo ISO 10993, phần 12) và được ngâm trong môi trường nuôi cấy trong 5 phút. Mẫu ATECM được đặt lên trên lớp đơn tế bào và ở trung tâm của đĩa tế bào. hADSC được tiếp xúc trực tiếp với mẫu ATECM trong 24 giờ ở điều kiện nuôi cấy. Hình thái tế bào hADSC xung quanh và bên dưới mẫu ATECM được quan sát và nhuộm với thuốc nhuộm Crystal Violet.

Phương pháp cấy và đánh giá sự bám dính của tế bào hADSC trong khung ngoại bào

Mẫu ATECM được được cắt tạo khối (kích thước 0,5 mm × 0,5 mm × 0,5 mm) và ngâm trong môi trường nuôi cấy trong 5 phút. 10µL dung dịch tế bào được bổ sung vào mẫu ATECM (10⁴ tế bào/mẫu) và ủ trong 30 phút. Phức hợp ATECM – tế bào được nuôi cấy bằng 500 µL môi trường tăng trưởng trong 2 ngày tiếp theo. Sự bám dính của tế bào trong mẫu ATECM được xác định bằng phương pháp nhuộm H&E và DAPI.

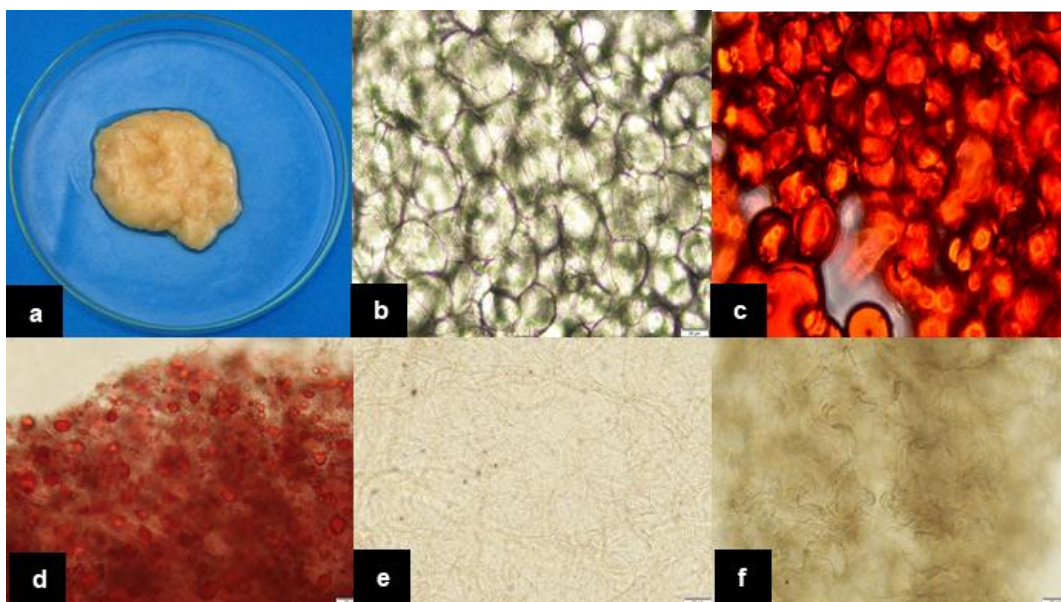
Phương pháp xử lý số liệu

Các đánh giá được thực hiện với độ lặp lại 3 lần. Đồ thị được thể hiện ở dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, và phân tích thống kê bằng phần mềm Prism 6 (GraphPad Software, Mỹ). Khác biệt so sánh có ý nghĩa thống kê khi giá trị $p < 0,05$.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Khử lipid mô mỡ

Mô mỡ thô (Native adipose tissue - NAT) có màu vàng tươi và căng bóng (Hình 1a). Dưới kính hiển vi, các tế bào mỡ to và xếp chặt chẽ được quan sát rõ (Hình 1b). Sau khi được nhuộm với Oil Red O, lipid trong tế bào mỡ bắt màu đỏ của Oil Red O, do đó, giúp hiển thị rõ hình thái của các tế bào mỡ (Hình 1c), cũng như sự tồn tại với lượng lớn của lipid trong mô mỡ. Isopropanol 99,99% được sử dụng để hòa tan và loại bỏ lipid trong mô mỡ. Thời gian ủ kéo dài mô mỡ trong Isopropanol có tác dụng loại bỏ hiệu quả lipid. Ở nhóm ủ Isopropanol trong 6 giờ, phần lớn lipid vẫn còn tồn dư trong mẫu, được thể hiện qua sự bắt màu thuốc nhuộm của lipid. Trong mẫu này, các tế bào đã bị vỡ ra không còn hình dạng căng tròn như lúc đầu, giọt lipid có thu nhỏ lại nhưng hàm lượng lipid trong tế bào vẫn còn khá cao (Hình 1d). Việc xử lý mẫu trong Isopropanol trong 24 giờ đã có hiệu quả loại lipid đáng kể. Trong mẫu nhuộm Oil Red O không thể hiện các vết lipid bắt màu đỏ (Hình 1e). Thời gian ủ với Isopropanol trong 48 giờ cho hiệu quả khử lipid tương tự (Hình 1f). Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Flynn (2010) (Flynn, 2010), đã dùng Isopropanol để khử lipid trong mô mỡ trong 48 giờ. Isopropanol hòa tan lipid tốt, kết hợp với lắc rung cơ học nên làm tăng hiệu quả xử lý, đồng thời rút ngắn thời gian tác động của hóa chất đến ECM của mô.



Hình 1. Thử nghiệm khử lipid mô mỡ

a. Hình ảnh quan sát đại thể của mô mỡ thô. b. Hình thái mô mỡ dưới kính hiển vi. c. Hình thái mô mỡ được nhuộm với Oil Red O. d. Mẫu nhuộm Oil Red O sau khi ủ với Isopropanol trong 6 giờ. e. Mẫu nhuộm Oil Red O sau khi ủ với Isopropanol trong 24 giờ. f. Mẫu nhuộm Oil Red O sau khi ủ với Isopropanol trong 48 giờ. b-f: độ phóng đại 200 lần.

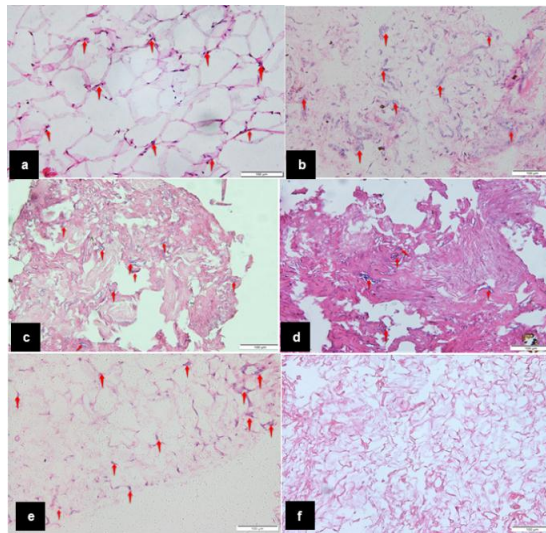
Khử tế bào mô mỡ

Để ECM có thể sử dụng an toàn cần loại bỏ tế bào, là thành phần chủ yếu gây nên phản ứng miễn dịch, nhưng vẫn đảm bảo yêu cầu giữ được các đặc tính đặc trưng của ECM. Phương pháp khử tế bào sử dụng được kế thừa từ quy trình của nhóm nghiên cứu (Tran, 2016), trong đó sử dụng Tris-HCl 10mM trong 8 giờ và SDS 0,1% trong 12 giờ. Tuy nhiên, đặc điểm của từng mô khác nhau nên cần tối ưu hóa quy trình để đạt hiệu quả khử tế bào tốt nhất như việc tăng nồng độ SDS hoặc tăng thời gian xử lý với Tris-HCl. Tiến hành khảo sát với các nồng độ SDS 0,1%, 0,3%, 0,5% và/hoặc tăng thời gian xử lý với Tris-HCl từ 8 giờ lên 16 và 24 giờ. Hiệu quả khử tế bào được đánh giá bằng cách nhuộm H&E và đánh giá lượng DNA tồn đọng.

Ở kết quả nhuộm H&E, mô mỡ thô có cấu trúc ECM bắt màu hồng tím, bao xung quanh các tế bào mỡ với nhân bắt màu tím và bị đẩy sát ra màng tế bào do thể tích lipid cao trong bào tương (Hình 2a, mũi tên đỏ chỉ nhân tế bào). Sau khi được xử lý bằng quy trình đã công bố, Tris-HCl 10mM 8 giờ và SDS 0,1% 12 giờ (mẫu T8S0,1), mẫu nhuộm HE cho thấy được cấu trúc ECM và các vết nhân tế bào vẫn còn khá nhiều (Hình 2b, mũi tên đỏ chỉ nhân tế bào). Việc tăng nồng độ SDS từ 0,1% lên đến 0,3% (mẫu T8S0,3) (Hình 2c) và 0,5% (mẫu T8S0,5) (Hình 2d) không làm tăng hiệu quả khử tế bào, được chứng minh qua tiêu bản của mẫu xử lý vẫn còn vết nhân tế bào. Ngược lại, nồng độ SDS gây ra sự biến tính ECM, có nhiều sợi bị đứt gãy, xáo trộn không còn giữ được cấu trúc đặc trưng. Do đó, SDS 0,1% được xem là nồng độ tối đa, thích hợp để xử lý mẫu mô. Tuy nhiên, SDS có bản chất là chất tẩy rửa có khả năng hòa tan nhân, và loại bỏ những protein trong tế bào chất và ECM. Để tăng tác dụng khử tế bào, việc kéo dài thời gian ủ với SDS cần được cân nhắc.

Bên cạnh đó, Tris-HCl là dung dịch nhược trương, thường được dùng để phá hủy màng tế bào và nhân, giải phóng các thành phần tế bào. Vì vậy, việc sử dụng Tris-HCl cho hiệu quả hỗ trợ quá trình khử tế bào tại bước SDS. Kết quả đánh giá mô học cho thấy, so với thời gian 8 giờ, việc gia tăng giai đoạn ủ trong Tris-HCl lên 16 giờ (mẫu T16S0,1) và 24 giờ (mẫu T24S0,1) đã góp phần loại sạch vết nhân tế bào. Tại mốc thí nghiệm 16 giờ (Hình 2e), vết nhân tế bào trong mẫu đã giảm đáng kể, mật độ xuất hiện thấp so với mẫu xử lý 8 giờ trong Tris-HCl. Hiệu quả khử tế bào hoàn toàn được xác nhận tại nhóm mẫu sau 24 giờ ủ trong Tris-HCl. Cụ thể, tiêu bản nhuộm H&E của mẫu không còn xuất hiện các vết nhân tế bào, đáng ghi nhận là ECM được bảo toàn (Hình 2f).

Để đánh giá hiệu quả khử tế bào của quy trình Tris-HCl 10mM trong 24 giờ và SDS 0,1% trong 12 giờ, mẫu xử lý T24S0,1 được tách chiết và định lượng DNA tồn đọng. Hàm lượng DNA trong mẫu mỡ thô đạt $112,48 \pm 2,48$ ng/mg trọng lượng khô. Trong khi đó, sau khi xử lý, hàm lượng DNA trong mẫu T24S0,1 giảm đáng kể và đạt khoảng 1,86 - 2,64 ng/mg trọng lượng khô, thấp hơn tiêu chí 50 ng/mg. Kết quả này không khác biệt ở 3 lần xử lý khác nhau (Bảng 1). Từ các kết quả nêu trên, phương pháp xử lý Tris-HCl 10 mM trong 24 giờ và SDS 0,1% trong 12 giờ được xác định là phương pháp tối ưu để khử tế bào mô mỡ và thu nhận ECM (ATECM).



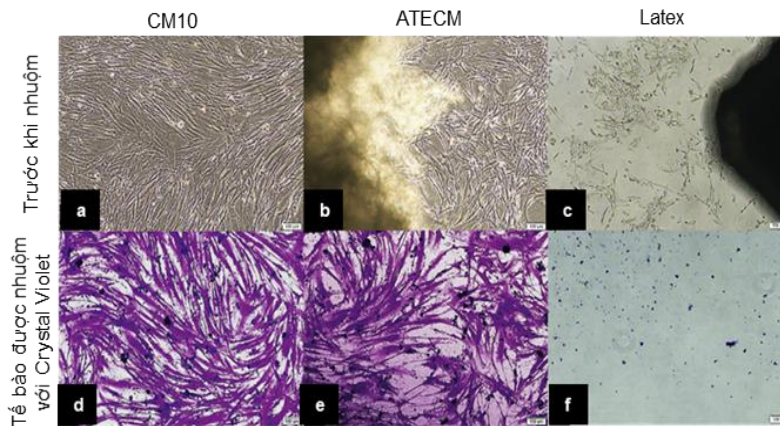
Hình 2. Hình ảnh nhuộm HE của mẫu mỡ thô và các mẫu xử lý
a. Mô mỡ thô. b. Mẫu T8S0,1. c. Mẫu T8S0,3. d. Mẫu T8S0,5. e. T16S0,1. f. T24S0,1. Độ phóng đại 200 lần.
 Mũi tên đỏ chỉ nhân tế bào.

Bảng 1. Hàm lượng DNA tồn đọng trong mẫu sau xử lý T24S0,1

	NAT	T24S0,1 lần 1	T24S0,1 lần 2	T24S0,1 lần 3
Trung bình ± SD (ng/mg)	112,48 ± 2,480	1,86 ± 0.094	1,82 ± 0,059	2,64 ± 0,603
Mức yêu cầu 50 ng/mg	Không thỏa	Thỏa	Thỏa	Thỏa

Đánh giá tính độc của ATECM đến tế bào hADSC

Thử nghiệm được thực hiện trên dòng tế bào hADSC theo hướng dẫn của ISO 10993-5:2009 với 3 nghiệm thức: CM10 - đối chứng âm; màng cao su Latex - mẫu chứng dương (Nguyen *et al.*, 2019) và mẫu ATECM. Màng Latex và mẫu ATECM đều được đặt tiếp xúc trực tiếp với lớp đơn tế bào (Li *et al.*, 2015; Nguyen *et al.*, 2019). Kết quả cho thấy sau khi ủ 24 giờ, xung quanh mẫu ATECM (Hình 3b) các tế bào hADSC có hình thái tương tự các tế bào trong nghiệm thức đối chứng với CM10 (Hình 3a). Ở nhóm màng Latex, là mẫu gây độc, tế bào xung quanh màng có hiện tượng co tròn, bị biến dạng và tách khỏi bề mặt nuôi cấy (Hình 3c).



Hình 3.5. Kết quả đánh giá độc tính tiếp xúc trực tiếp

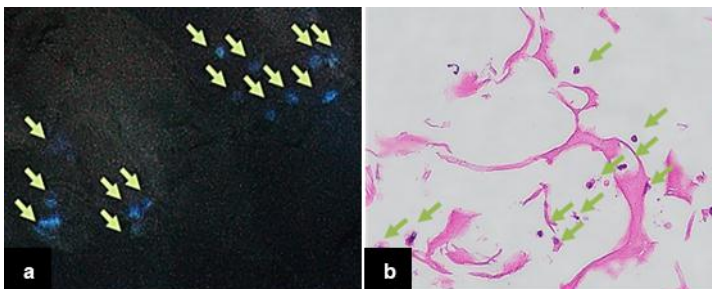
a, d. Tế bào hADSC được nuôi cấy bằng môi trường đầy đủ CM10. b, e. Tế bào hADSC được tiếp xúc trực tiếp với mẫu ATECM. c, f. Tế bào hADSC được tiếp xúc trực tiếp với mẫu màng Latex - đối chứng gây độc. Độ phóng đại 100 lần.

Nhằm xác nhận hình thái tế bào, các đĩa thí nghiệm được nhuộm với Crystal Violet. Ở nhóm môi trường đầy đủ CM10, tế bào thể hiện hình thái thuôn dài đặc trưng và đạt mật độ che phủ cao (Hình 3d). Ở nhóm hADSC được tiếp xúc trực tiếp với mẫu ATECM, hình thái và mật độ bám của tế bào không bị ảnh hưởng, ngay cả khu vực bên dưới mẫu (Hình 3e). Tại nhóm đặt màng Latex, hầu như không còn tồn tại của tế bào trong đĩa nuôi sau khi

kết thúc quá trình nhuộm (Hình 3f), do màng Latex gây độc, dẫn đến sự chết và bong tróc tế bào khỏi bề mặt đĩa nuôi cấy.

Đánh giá sự bám dính của tế bào hADSC trong mẫu ATECM

hADSC được cấy vào khung ATECM và nuôi cấy trong 2 ngày. Sự bám dính của tế bào trong khung được đánh giá bằng cách nhuộm mẫu với DAPI và nhuộm H&E. Sự hiện diện của hADSC trong khung ATECM được phát hiện bởi thành phần nhân tế bào được nhuộm DAPI và phát màu huỳnh quang xanh dương (Hình 4a). Đồng thời, hình ảnh nhuộm H&E (Hình 3.7.c) thể hiện hADSC phân bố dọc theo khung nền sợi collagen (Hình 4b). Kết quả này chỉ ra khung ATECM có khả năng hỗ trợ sự bám dính của các tế bào hADSC.



Hình 4. Đánh giá sự bám dính của tế bào hADSC trong khung ATECM
a. Mẫu nhuộm DAPI. b. Mẫu nhuộm H&E. Độ phóng đại 400 lần.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi đã thiết lập được quy trình thu nhận khung ngoại bào từ mô mỡ người. Mẫu khung nền được xác nhận sạch vết nhân và có hàm lượng DNA đạt tiêu chí xác nhận sạch thành phần tế bào. Khung ngoại bào từ mô mỡ thể hiện tính tương hợp trong điều kiện *in vitro* và hỗ trợ sự bám dính của các tế bào gốc mô mỡ người. Các kết quả thu nhận từ nghiên cứu này chứng minh khung ngoại bào từ mô mỡ là một loại vật liệu có tiềm năng ứng dụng trong kỹ nghệ mô.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh (ĐHQG-HCM) trong khuôn khổ Đề tài mã số C2019-18-20.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Crapo P, Gilbert T, Badylak S (2011) An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomater* 32: (12) 3233-3243.
- Curtis A, Chandler C, Picton N (1975) Cell surface lipids and adhesion. III. The effects on cell adhesion of changes in plasmalemmal lipids. *J Cell Sci* 18: (3) 375-384.
- Deb P, Deoghare A, Borah A, Barua E, Das Lala S (2018) Scaffold Development Using Biomaterials: A Review. *Mat Today: Proc* 5(part 2): 12909-12919.
- Flynn LE (2010) The use of decellularized adipose tissue to provide an inductive microenvironment for the adipogenic differentiation of human adipose-derived stem cells. *Biomater* 31(17): 4715-4724.
- Hinderer S, Layland S, Schenke-Layland K (2016) ECM and ECM-like materials — Biomaterials for applications in regenerative medicine and cancer therapy. *Adv Drug Deliv Rev* 97: 260-269.
- Hussey G, Dziki J, Badylak S (2018) Extracellular matrix-based materials for regenerative medicine. *Nat Rev Mater* 3(7): 159-173.
- Li W, Zhou J, Xu Y (2015) Study of the *in vitro* cytotoxicity testing of medical devices. *Biomed Rep* 3(5): 617-620.
- Moreau M, Gallois Y, Baslé M, Chappard D (2000) Gamma irradiation of human bone allografts alters medullary lipids and releases toxic compounds for osteoblast-like cells. *Biomater* 21(4): 369-376.
- Mori D, Kreisel D, Fullerton J, Gilroy D, Goldstein D (2014) Inflammatory triggers of acute rejection of organ allografts. *Immunol Rev* 258(1): 132-144.
- Nguyen MTN, Doan VN, Tran HLB (2019) *In vitro* study on chondrogenic differentiation of human adipose-derived stem cells on treated bovine pericardium. *Turk J Biol* 43(6): 360-370.
- Sano H, Orbay H, Terashi H, Hyakusoku H, Ogawa R (2014) Acellular adipose matrix as a natural scaffold for tissue engineering. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 67(1): 99-106.
- Tran H (2016) Preparation and characterization of acellular porcine pericardium for cardiovascular surgery. *Turk J Biol* 40: 1-8.

PREPARATION OF EXTRACELLULAR MATRIX FROM HUMAN ADIPOSE TISSUE FOR TISSUE ENGINEERING APPLICATIONS

Nguyen Thi Ngoc My^{1,2,3}, Do Xuan Truong⁴, Tran Le Bao Ha^{1,2,3}

¹ Laboratory of Tissue Engineering and Biomedical Materials, University of Science, Ho Chi Minh City

² Department of Human Physiology and Animal Biotechnology, Faculty of Biology – Biotechnology, University of Science, Ho Chi Minh City

³ Vietnam National University, Ho Chi Minh City

⁴ Xuan Truong Paradise Plastic Aesthetic, Ho Chi Minh City

SUMMARY

Extracellular matrix (ECM)-derived biomaterials have been used successfully in regenerative medicine and tissue engineering. Adipose tissue is a rich source of ECM which has been demonstrated for their biocompatibility and contribution to *in vitro* and *in vivo* tissue regeneration. In this study, a method of ECM preparation from human adipose tissue was investigated. The prepared ECM was then examined for *in vitro* cytotoxicity and the ability to support the attachment of human adipose-derived stem cells. Histological evaluation showed that cellular lipids and nuclei were completely eliminated. Additionally, the residual DNA contents of treated samples were found to satisfy the acellular criterion. The samples were proved to have no cytotoxic effect on human adipose-derived stem cells after 24-hour direct contact. Furthermore, DAPI and H&E staining exhibited that hADSCs were able to attach to the ECM samples. These results indicated that ECM was successfully prepared from adipose tissue and presented potential applications in tissue engineering.

Keywords: Adipose tissue, biomaterials, extracellular matrix, decellularization, tissue engineering.