

# ỨNG DỤNG CHẤT TIẾT TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ TRONG DA LIỄU THẨM MỸ

Lê Hà Phương<sup>✉</sup>, Kim Ngân

Trường Đại học Y Hà Nội

Lão hóa là một quá trình sinh học tất yếu ở mọi sinh vật sống. Trong những năm gần đây, các phương pháp chống lão hóa đã nhanh chóng phát triển để đáp ứng nhu cầu làm đẹp, tế bào gốc và các dẫn xuất của chúng đã trở thành một xu hướng tiềm năng trong lĩnh vực này. Tế bào gốc tiết ra các yếu tố tăng trưởng, cytokine, chemokine, yếu tố tạo mạch, peptide kháng khuẩn... đã được chứng minh là có tác động tích cực đến quá trình lão hóa da. Trong bài đánh giá này, chúng tôi tóm tắt cơ chế của các chất tiết từ tế bào gốc trong việc ngăn ngừa lão hóa da, phân lập và nuôi cấy tế bào gốc trung mô cũng như các quy trình chuẩn bị chất tiết. Ngoài ra, chúng tôi đề cập đến hiệu quả, hệ thống phân phối, khuyến nghị và triển vọng của các sản phẩm có nguồn gốc từ tế bào gốc. Tóm lại, so với các phương pháp điều trị chống lão hóa hiện có khác, chất tiết tế bào gốc có hiệu quả và tiềm năng vượt trội hơn. Tuy nhiên, việc sử dụng rộng rãi các sản phẩm này chưa được khuyến khích do thiếu các thử nghiệm lâm sàng trên người về tính an toàn và ổn định của chúng.

**Từ khóa:** Tế bào gốc trung mô, chất tiết tế bào gốc, tái tạo da, trẻ hoá da, chế phẩm tế bào gốc.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ứng dụng tế bào gốc trong y học tái tạo là một lĩnh vực mới đầy hứa hẹn đặc biệt là sau khi nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng chất tiết từ tế bào gốc mang lại hiệu quả vượt trội trong điều trị đồng thời cải thiện đáng kể những khuyết điểm của liệu pháp tế bào trước đây. Mặc dù vậy, cơ chế tác động cũng như tính ổn định và an toàn của các chế phẩm này vẫn chưa hoàn toàn được hiểu rõ dẫn tới một thực tế rằng tác dụng của tế bào gốc và các chế phẩm từ chúng đang được phóng đại quá mức nhằm mục đích thương mại. Vì vậy, chúng tôi đã tập hợp các nghiên cứu lâm sàng, tiền lâm sàng và các bài đánh giá từ các nền tảng Nature, Sci-hub, Frontiers... để đưa ra cái nhìn tổng quan nhất về cơ chế tác động, ưu điểm,

nhược điểm cũng như tiềm năng nghiên cứu tiếp diễn các sản phẩm này trong tương lai.

## II. NỘI DUNG TỔNG QUAN

### 1. Tế bào gốc, tế bào gốc trung mô và chất tiết của chúng

Tế bào gốc (Stem cells - SCs) được định nghĩa là một loại tế bào chưa biệt hoá; có khả năng tự làm mới và bảo tồn sự không biệt hoá thông qua các thế hệ tế bào đồng thời có khả năng biệt hoá tạo thành bất kì loại tế bào chuyên biệt nào trong điều kiện kích thích nhất định; dung nạp miễn dịch và ức chế sinh miễn dịch.<sup>1-4</sup>

Tế bào gốc trung mô (Mesenchymal stem cells - MSCs) là tế bào đa năng tồn tại trong các mô trưởng thành ở người và một số loài sinh vật khác như chuột, khỉ dơi... MSCs được phân lập và nuôi cấy lần đầu tiên vào năm 1968 bởi A. J. Friedenstein nhưng phải đến năm 1991, thuật ngữ "tế bào gốc trung mô" mới được Caplan trình bày sau những nghiên cứu của

Tác giả liên hệ: Lê Hà Phương

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: lehaphuongb2@gmail.com

Ngày nhận: 04/06/2024

Ngày được chấp nhận: 12/07/2024

ông về tủy xương người.<sup>5</sup> Chúng có khả năng tự tái tạo, đa năng, dễ tiếp cận, có thể nhân lên trong ống nghiệm với sự ổn định về gen và đặc biệt là có thể giải quyết một số vấn đề về đạo đức trong nghiên cứu. Những ưu điểm trên góp phần đánh dấu tầm quan trọng của MSCs trong liệu pháp tế bào, y học tái tạo và sửa chữa mô.<sup>6,7</sup> Ngoài ra, MSCs có khả năng sinh miễn dịch thấp, khả năng điều hòa miễn dịch và ngăn ngừa thải ghép nên có nhiều tiềm năng trong việc ứng dụng điều trị các bệnh cấp tính và mãn tính.<sup>8-10</sup> Do từng xuất hiện khó khăn trong quy trình phân lập và xác minh MSCs, năm 2006 Hiệp hội Trị liệu Tế bào Quốc tế đã thiết lập một số tiêu chí để xác định một tế bào là MSC, bao gồm: khả năng biệt hóa thành ba dòng tế bào (tạo xương, tạo mỡ và tạo sụn), sự có mặt của thụ thể CD90, CD105 và CD73 trên bề mặt tế bào, và không có thụ thể CD45, CD34, CD14, CD79 và HLA-DR.<sup>11</sup> Sau phát hiện đầu tiên về MSCs có nguồn gốc từ tủy xương (BM-MSCs), một số nguồn MSCs khác đã được báo cáo, cụ thể là nội mạc tử cung, mô tủy răng, cơ xương, nhau thai, mô mỡ, máu cuống rốn, thạch Wharton và cả máu kinh nguyệt.<sup>5,12-18</sup>

Ba cơ chế chính của MSCs liên quan đến tiềm năng điều trị bao gồm di chuyển đến các vị trí bị tổn thương, biệt hóa để thay thế các mô bị tổn thương và tiết ra các yếu tố có hoạt tính sinh học.<sup>19-21</sup> Để đạt được hiệu quả điều trị cần hàng trăm triệu MSCs trong khi tổng số lượng MSCs trong cơ thể rất khan hiếm dẫn đến cần quy trình nhân lên *in vitro* để có đủ số lượng tế bào trước khi cấy ghép. Tuy nhiên, quy trình nhân lên hoặc kích thích biệt hóa *in vitro* có thể ảnh hưởng đến chất lượng của tế bào như độ lão hóa, khả năng biệt hóa và khả năng sống sót của MSCs *in vivo*, từ đó ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị của chế phẩm MSCs.<sup>22,23</sup>

May mắn thay, những nghiên cứu gần đây đã tiết lộ rằng cơ chế hoạt động chính mang

lại hiệu quả của việc cấy ghép tế bào gốc là do tác dụng điều hòa cận tiết của chúng thay vì thay thế hoàn toàn các tế bào bị tổn thương.<sup>24</sup> MSCs tiết ra các chất tiết (secretomes) - một loạt các yếu tố hoạt tính sinh học như cytokine, chemokine, yếu tố tăng trưởng, chất trung gian lipid, hormone, exosome và bọc chúng trong các túi ngoại bào (EVs).<sup>25</sup> Các chất tiết này di chuyển tới vị trí mô tổn thương, thúc đẩy quá trình làm lành vết thương thông qua tái tạo mô và tăng sinh mạch.

Các chất tiết có nguồn gốc từ MSCs cho thấy khả năng sinh học gần như tương đương với việc cấy ghép tế bào gốc tự tiếp mặt khác lại loại bỏ được các rủi ro liên quan đến các liệu pháp tế bào như đào thải qua trung gian miễn dịch, bất thường về gen và di truyền gây ra do quá trình nhân lên *in vitro* hoặc do bản thân MSCs của người hiến và cuối cùng là giải quyết được các vấn đề liên quan đến đạo đức.

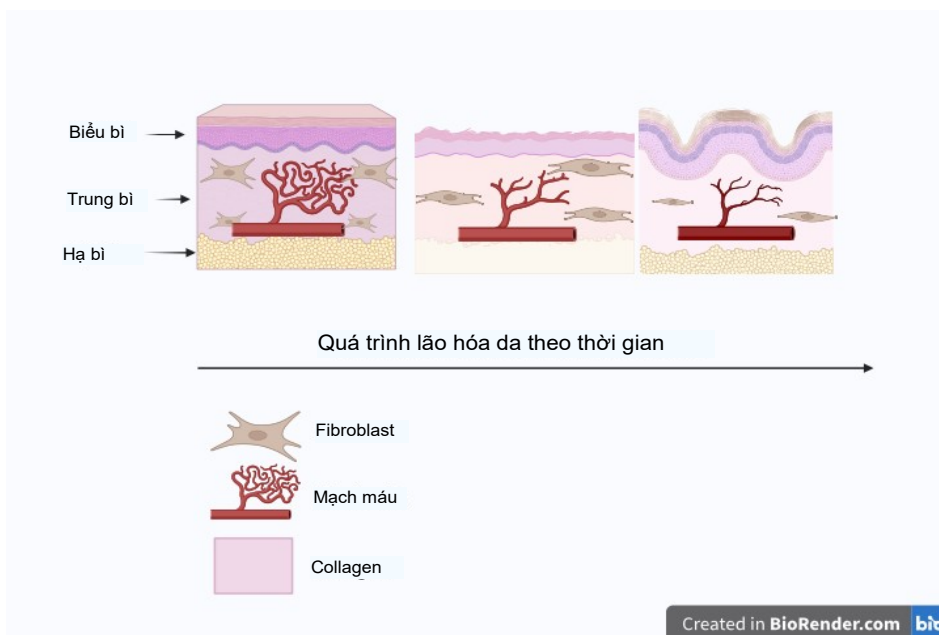
## 2. Cấu trúc da và quá trình lão hóa

Da là cơ quan lớn nhất của cơ thể con người, bao gồm ba lớp: Thượng bì, trung bì và hạ bì. Thượng bì (hay biểu bì) là lớp ngoài cùng của da, đóng vai trò như lớp phòng thủ chính.<sup>26</sup> Chức năng chính của lớp này là cung cấp một hàng rào bảo vệ chống lại vi khuẩn, các yếu tố có hại từ môi trường và bức xạ cực tím (UV). Lớp này không có mạch máu và chủ yếu bao gồm nhiều lớp tế bào sừng ở các mức độ biệt hóa khác nhau và cũng là cấu trúc chính cung cấp sức bền cho da.<sup>27,28</sup> Các tế bào Langerhans tham gia vào phản ứng miễn dịch và bảo vệ da khỏi các tác nhân vi khuẩn.<sup>29</sup> Các tế bào hắc tố nằm ở lớp đáy của thượng bì sản xuất và phân phối sắc tố melanin cho các tế bào sừng xung quanh, đảm bảo hấp thụ một phổ rộng các bước sóng chiếu xạ mặt trời và do đó bảo vệ khỏi bức xạ UV.<sup>30</sup> Các tế bào Merkel hoạt động như các thụ thể cảm giác đối với các kích thích,

bao gồm đau, nhiệt độ và xúc giác.<sup>31</sup> Lớp kế tiếp là lớp hạ bì bao gồm các tuyến bã nhờn, nang lông, đầu dây thần kinh, máu, mạch bạch huyết và các tế bào miễn dịch, bao gồm đại thực bào, tế bào dạng sợi, tế bào tiêu diệt tự nhiên, tế bào lympho và tế bào mast được bao trong mô liên kết.<sup>27,32,33</sup> Mô liên kết chủ yếu được cấu trúc bởi các nguyên bào sợi, chịu trách nhiệm tổng hợp các protein elastin và collagen.<sup>32</sup> Các sợi collagen mang lại sức bền cho mô và elastin giúp da đàn hồi.<sup>27,34</sup> Các tế bào miễn dịch có trách nhiệm bảo vệ cơ thể khỏi các vi sinh vật, chất gây dị ứng và chấn thương vật lý.<sup>35</sup> Lớp sâu nhất của da là lớp hạ bì kết nối da với cơ và chủ yếu bao gồm các tế bào mỡ.<sup>36</sup>

Có rất nhiều giả thuyết đã được đặt ra

để giải thích con đường tín hiệu dẫn tới sự lão hoá da. Hầu hết, chúng bắt đầu bằng sự Stress oxy hóa phản ứng (Reactive Oxidative Stress - ROS) gây ra bởi các yếu tố bên ngoài và bên trong, cuối cùng dẫn đến tổn thương DNA và thay đổi các thành phần cấu trúc ngoại bào (Extra Cellular Matrix - ECM).<sup>37</sup> Hình thái da phụ thuộc vào ECM: Da ở người trẻ có lớp biểu bì mịn màng với tốc độ tăng sinh cao của nguyên bào sợi, collagen và mạch máu.<sup>38</sup> Trong quá trình lão hóa, hoạt động của nguyên bào sợi giảm, chức năng của chúng kém dần dẫn đến giảm tổng hợp collagen và làm giảm độ dày mạch máu. Những thay đổi của ECM làm cho lớp biểu bì mỏng đi, các nếp nhăn bắt đầu xuất hiện.<sup>39</sup> (Hình 1)



**Hình 1. Quá trình lão hoá da ở người**

*Sự sụt giảm số lượng tế bào fibroblast dẫn tới giảm collagen của thành phần cấu trúc ngoại bào của da, từ đó dẫn tới giảm độ bền và tính dẻo dai của da. Giảm độ dày mạch máu làm giảm máu đến nuôi mô, làm suy yếu mô liên kết dưới da. Hình ảnh được tạo bởi phần mềm Biorender*

### 3. Cơ chế trị liệu của MSC

Như đã đề cập ở phần trước, cơ chế trị liệu chính của MSCs là dựa vào các chất tiết ra môi trường ngoại bào. Các chất này đóng vai

trò quan trọng trong con đường tín hiệu giữa các tế bào và các mô xung quanh nhằm kích thích sửa chữa và tái tạo mô.<sup>40</sup> MSCs tiết ra nhiều loại EVs khác nhau về kích thước, nguồn

gốc, thành phần và chức năng.<sup>41</sup> EVs là các túi màng nhỏ có nguồn gốc từ con đường nội tiết, có đường kính từ 30 đến 150nm và sinh ra từ các túi màng lớn hơn có đường kính từ 150 đến 1000nm nhô ra khỏi màng sinh chất.<sup>42</sup> Lớp lipid kép của EVs bao bọc các thành phần

hoạt tính sinh học, bảo vệ chúng khỏi sự phân hủy của enzyme đồng thời thúc đẩy quá trình truyền tín hiệu tự tiết hoặc cận tiết.<sup>43,44</sup> EVs đã được chứng minh có khả năng tác động đến tế bào đích thông qua các phân tử sinh học được mang bên trong.<sup>45</sup> (Bảng 1)

**Bảng 2. Các yếu tố tăng trưởng và vai trò của chúng trong da liễu**

Yếu tố	Vai trò
Vascular endothelial growth factor (VEGF)	Kích thích tăng sinh mạch. <sup>46,47</sup>
Hepatocyte growth factor (HGF)	Thúc đẩy quá trình tái tạo biểu bì. <sup>46,47</sup>
Epidermal Growth Factor (EGF)	Kích thích các nguyên bào sợi tạo ra Collagen và Elastin giúp làm sáng da, làm dày và săn chắc da. <sup>46,47</sup>
Transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ )	Tham gia vào giai đoạn viêm và tăng sinh, thúc đẩy phân bào để hình thành mô hạt. <sup>46,47</sup>
Platelet-derived growth (PDGF)	Điều chỉnh quá trình tái tạo mô da khi da bị tổn thương. <sup>46-49</sup>
Prostaglandin E2 (PGE2)	Hoạt hoá và điều hướng sự di chuyển của các tế bào đại thực bào. <sup>48</sup>
Fibroblast growth factor (FGF)	Làm giảm sự xuất hiện của các nếp nhăn trên da thông qua thúc đẩy hoạt động của các tế bào da mới. <sup>46,47,50</sup>
Interleukin 6 (Il-6)	Thúc đẩy quá trình tạo máu, phản ứng miễn dịch đặc biệt là các phản ứng trong giai đoạn cấp nhằm bảo vệ cơ thể. <sup>51,52</sup>
Nuclear factor erythroid 2-(Nrf2)	Tham gia trong con đường phản ứng của tế bào đối đáp ứng với sự stress oxi hoá. <sup>51,52</sup>
Insulin-like growth factor (IGF)	Kích thích sự phân chia của nguyên bào sợi và các tế bào biểu bì của da. <sup>46,47</sup>

Ngoài ra, EVs có nguồn gốc từ MSCs đã được báo cáo rằng không chỉ mang các yếu tố tăng trưởng mà còn cả miRNA. Vì miRNA là phân tử điều chỉnh biểu hiện gen mạnh mẽ nên tín hiệu thông qua miRNA-EV là một cơ chế hiệu quả được MSCs sử dụng để điều chỉnh sự hình thành mạch.<sup>52</sup> Sự có mặt của miRNA trong MSC-EVs đã được chứng minh là có tác dụng thúc đẩy quá trình tạo mạch trong cả điều

kiện *in vivo* và *in vitro*. miRNA có thể hoạt động như chất ức chế biểu hiện gen bằng cách liên kết với vùng 3'-UTR của các mRNA nhằm ức chế sự dịch mã và/hoặc thúc đẩy sự thoái hóa của chúng.<sup>53</sup> Đã có báo cáo rằng miRNA điều chỉnh sự biểu hiện của các gen mã hoá cho các cytokine, yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi (FGF), yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGF) và các chất tân sinh mạch khác.<sup>54</sup> Ferguson và

cộng sự đã mô tả sơ lược các miRNA có trong EVs được phân lập từ các BM-MSCs và xác định các quá trình sinh học được điều chỉnh bởi các miRNA này, cho thấy rằng MSC-EVs có khả năng bảo vệ tế bào cơ tim khỏi sự chết tế bào và tăng sự hình thành mạch trong các tế bào nội mô tĩnh mạch rốn của con người (HUVEC).<sup>55</sup> tRNA và piRNA góp phần duy trì hiệu lực của SCs, thúc đẩy sự sống của SCs, ức chế sự biệt hóa tế bào và điều chỉnh quá trình sửa chữa mô.<sup>56-59</sup>

Một cơ chế khác của MSCs liên quan đến sự chết tế bào theo chương trình là gây giảm sự biểu hiện của protein gây độc tế bào. Li và cộng sự đã báo cáo một nghiên cứu chứng minh rằng SCs làm giảm quá trình tự hủy của đại thực bào phế nang khi chúng được nuôi cấy trong môi trường cụ thể.<sup>60</sup> Một nghiên cứu khác năm 2009 của Aina He và cộng sự cho thấy sự chết theo chương trình của tế bào cơ tim đã giảm đáng kể khi điều trị bằng sản phẩm có nguồn gốc từ MSCs.<sup>61</sup> Những bằng chứng này cho thấy khả năng chống lại sự chết tế bào của MSCs rất tiềm năng để áp dụng trong việc trẻ hóa da.

Tác dụng điều hòa miễn dịch của chất tiết MSCs là một trong những cơ chế đáng được đề cập trong chủ đề này. Đặc tính ức chế miễn dịch của MSCs trong ống nghiệm đã được báo cáo lần đầu tiên từ năm 1998.<sup>62</sup> Do không có các phân tử bề mặt tế bào gây kích thích, MSCs hiếm khi tạo ra phản ứng miễn dịch ở vật chủ nhận cấy ghép.<sup>63</sup> MSCs thể hiện khả năng ức chế miễn dịch thông qua ba cơ chế chính: làm trung gian cho sự tương tác giữa các tế bào, thông qua hoạt động của các yếu tố hòa tan và điều chỉnh hoạt động của các tế bào lympho T.<sup>24,57</sup>

#### 4. Phân lập và nuôi cấy MSCs

Trong những năm gần đây, tế bào gốc trung mô có nguồn gốc từ mỡ (AD-MSCs) trở thành

một nguồn tế bào gốc tiềm năng do số lượng MSCs cao hơn so với các nguồn khác, khả năng biệt hóa đa dạng hơn đồng thời có thể kết hợp với các thủ thuật thẩm mỹ khác như hút mỡ.<sup>64</sup> Một nghiên cứu được trên chuột bởi Liu và cộng sự năm 2017 cho thấy rằng việc điều trị bằng tế bào gốc từ tuỷ xương (BM-MSCs) làm giảm sự oxy hóa bằng cách giảm hàm lượng malondialdehyd (MDA), tăng hoạt động superoxide dismutase (SOD) và hàm lượng Glutathione-peroxidase (GSP-Px).<sup>65</sup> Phôi thai là một nguồn ít phổ biến hơn do kể cả khi đã có đồng ý của người hiến thì điều này vẫn gây ra tranh cãi về vấn đề đạo đức.<sup>66</sup> Tế bào gốc trung mô có nguồn gốc từ tế bào gốc đa năng cảm ứng (iPSC) lần đầu tiên được giới thiệu vào năm 2006 bởi Takahashi và Yamanaka và đã trở thành một phương pháp giải quyết được các vấn đề đạo đức y học so với các loại tế bào gốc khác, nhưng việc phát triển loại tế bào này vẫn còn gặp nhiều khó khăn do quy trình nuôi cấy phức tạp cùng những rủi ro liên quan đến khả năng sinh khối u sau khi được cấy ghép vào cơ thể.<sup>67,68</sup> Ưu nhược điểm của từng nguồn được tóm tắt trong bảng sau. (Bảng 3)

Nhiều công nghệ đã được nghiên cứu và phát triển để tăng số lượng và chất lượng của các chất tiết MSCs trong môi trường nuôi cấy *in vitro*: nuôi cấy trong điều kiện thiếu oxy và nuôi cấy trong môi trường 2D hoặc 3D.<sup>72-74</sup> Sun và cộng sự đã chứng minh rằng mức protein trong môi trường nuôi cấy thiếu oxy cao hơn 15 lần so với nuôi cấy thông thường và có sự tăng tái sinh biểu mô dẫn tới lành vết thương nhanh hơn khi tế bào được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy 3D so với nuôi cấy thông thường.<sup>75,76</sup> Ngoài ra, sự can thiệp chỉnh sửa gen có thể mang lại chức năng mới cho MSCs. MSCs nguồn gốc từ cuống rốn được truyền các vec tơ mang gen JAM-A ở người giúp cải thiện sự hình thành mạch máu và tăng cường sửa chữa

**Bảng 3. Ưu điểm và Nhược điểm của các nguồn tế bào gốc hiện nay**

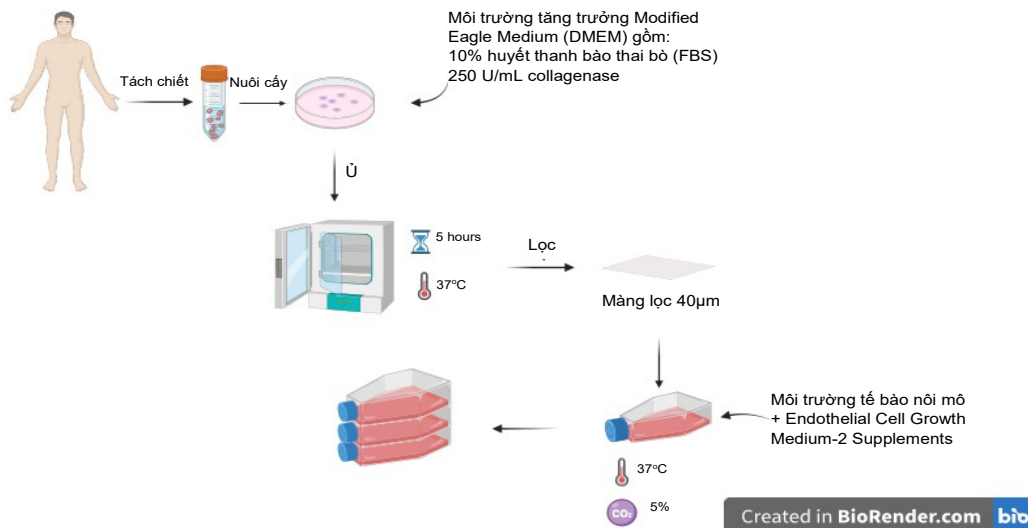
<b>Nguồn tế bào gốc</b>	<b>Ưu điểm</b>	<b>Nhược điểm</b>
Mỡ	Quy trình lấy tế bào gốc an toàn, dễ dàng hơn. Số lượng tế bào gốc thu được trong mỗi 1g tế bào mỡ cao gấp 1000 lần so với lấy từ tuỷ xương Có thể kết hợp cùng các phương pháp thẩm mỹ khác như hút mỡ làm đẹp.	Số lượng tế bào gốc thu được thấp. Thủ thuật xâm lấn nhiều, gây đau đớn cùng nhiều nguy cơ của cuộc phẫu thuật.
Tuỷ xương	Là nguồn tế bào gốc đầu tiên, phổ biến nhất. Cho thấy khả năng chống oxy hoá cao trong thử nghiệm chống lão hoá da.	Số lượng tế bào gốc thu được rất thấp. Thủ thuật xâm lấn nhiều, gây đau đớn cùng nhiều nguy cơ của cuộc phẫu thuật.
Máu ngoại vi	Quy trình lấy mẫu an toàn, dễ dàng và ít gây đau đớn cho bệnh nhân.	Số lượng tế bào gốc thu được rất thấp (thấp nhất trong các nguồn). Quy trình tách chiết phức tạp.
Mô phôi thai	Lượng tế bào gốc cao hơn các nguồn khác. Khả năng thu được nhiều các tế bào gốc đầu dòng.	Quy trình lấy mẫu phức tạp, nguy hiểm, cần sự đồng ý cao của tình nguyện viên. Nguy cơ cao khi lấy mẫu trong thai kì.
Đa năng cảm ứng (iPSCs)	Tế bào gốc cảm ứng từ tế bào soma. Cho phép nhân lên lượng lớn tế bào gốc với một mô nhỏ ban đầu Ít đau đớn hơn trong khi lấy mẫu Giải quyết được các vấn đề liên quan đến đạo đức y học.	Nguy cơ tiến triển thành ung thư cao do chưa kiểm soát chính xác được quá trình biệt hoá ngược của tế bào. Quy trình phức tạp và đắt đỏ.

vết thương ở bệnh nhân tiểu đường thông qua tăng biểu hiện PDGF-BB và VEGF hoặc gen hCAP-18/LL-37 tăng khả năng kháng khuẩn và thúc đẩy quá trình sửa chữa vết thương.<sup>77,78</sup>

### 5. Chuẩn bị chất tiết

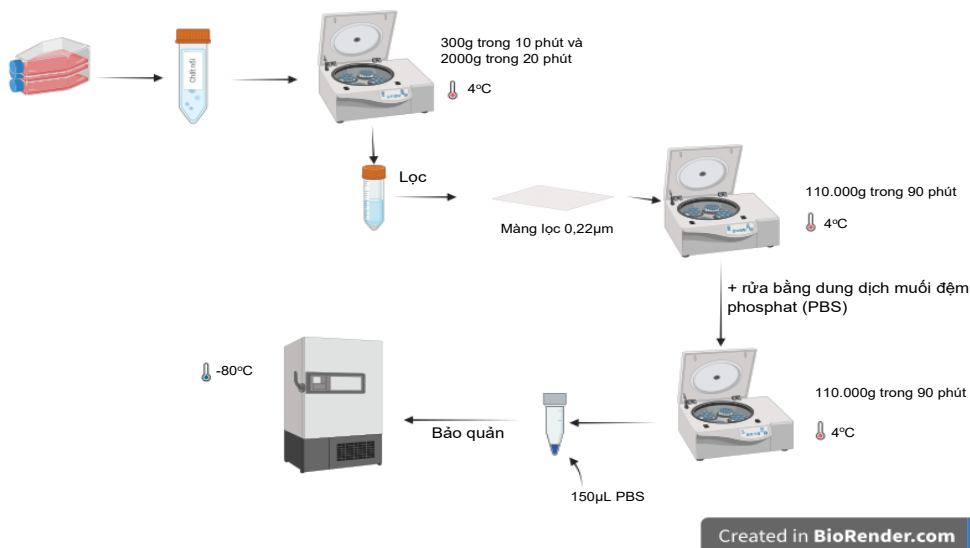
Việc chuẩn bị chất tiết được thực hiện khi số lượng MSCs đạt 80 - 90% bề mặt nuôi cấy.<sup>79</sup>

Có hai phương pháp chính để tách các chất tiết có nguồn gốc từ MSCs khỏi môi trường: siêu ly tâm (UC) và lọc dòng chảy (TFF). Một số thí nghiệm kết hợp hai phương pháp này để cải thiện độ tinh khiết của sản phẩm.<sup>80</sup> Một số công nghệ cao như sóng siêu âm có thể được sử dụng để phá hủy tế bào và thu được chất tiết.<sup>81</sup>



**Hình 2. Quá trình nuôi cấy SCs**

Sau khi phân lập, tế bào được thực hiện bằng cách ủ trong 5 giờ ở nhiệt độ 37°C trong môi trường tăng trưởng sử dụng Modified Eagle Medium (DMEM) của Dulbecco, chứa 10% huyết thanh bào thai bò (FBS), để cung cấp nhu cầu dinh dưỡng của tế bào và 250 U/mL collagenase loại 1. Sau đó được lọc bằng các màng lọc 40µm và trồng trong môi trường tăng trưởng (môi trường tế bào nội mô được trang bị chất bổ sung EGM-2 ở 37°C và 5% CO<sub>2</sub>).<sup>69-71</sup> Môi trường nuôi cấy có thể được điều chỉnh tùy từng phòng thí nghiệm khác nhau ví dụ như thêm 4% hPL hoặc 1% penicillin-streptomycin.<sup>47</sup> Hình ảnh được tạo bởi phần mềm BioRender



**Hình 3. Chuẩn bị và bảo quản chất tiết**

Chất nổi trên bề mặt nuôi cấy tế bào được thu thập để tách dịch tiết bằng cách ly tâm ở 300g trong 10 phút và ở 2000g trong 20 phút ở 4°C để loại bỏ các mảnh vỡ của tế bào, sau đó lọc bằng bộ lọc 0,22µm và ly tâm ở 110.000g trong 90 phút ở 4°C. Sản phẩm thu được được rửa bằng dung dịch muối đệm phosphat (PBS) và ly tâm ở 110.000g trong 90 phút ở 4°C và treo trong 150µL PBS và được bảo quản ở -80°C. Hình ảnh được tạo bởi phần mềm BioRender

Nồng độ protein trong mẫu được đo bằng bộ xét nghiệm protein BCA (Solarbio, PC0020). Các chất tiết được chụp ảnh bằng kính hiển vi điện tử, kích thước và số lượng của chúng được phân tích bằng các phân tích theo dõi hạt nano và xác minh bằng cách đánh giá sự biểu hiện của các dấu hiệu như CD63, CD81 và Calnexin bằng Western blot.<sup>82</sup> Các phương pháp khác như ELISA hay chọn lọc ghép kênh cũng được sử dụng để xác định một số yếu tố tăng trưởng và cytokine.<sup>83-85</sup> Chất tiết/EVs có thể được lưu trữ bằng cách đông khô ở -20°C và -80°C trong tối đa 4 -6 tuần mà vẫn duy trì được các chức năng của nó.<sup>86</sup>

Thực tế, các chất tiết chứa rất nhiều yếu tố không mong muốn có thể gây ra tác dụng phụ.<sup>87</sup> Môi trường nuôi cấy phải được kiểm soát để giữ mức độ các yếu tố này ở mức thấp hoặc phải có hệ thống lọc bằng màng thẩm chọn lọc.<sup>88</sup>

## 6. Chế phẩm từ MSCs và ứng dụng trong da liễu thẩm mỹ

Các sản phẩm liên quan đến MSCs có thể được chia thành 2 nhóm: liệu pháp tế bào và liệu pháp không tế bào. Mặc dù, nhiều thử nghiệm lâm sàng và tiền lâm sàng đã xác nhận tính an toàn của MSCs, nhưng vẫn có nhiều lo ngại rằng việc sử dụng MSCs trên người có thể mang lại một số rủi ro như xơ hóa, viêm và ung thư.<sup>89</sup> Ngoài ra, Chiara và cộng sự đã chứng minh rằng MSCs sẽ chết trong vòng vài giờ sau khi được truyền vào cơ thể người.<sup>90</sup> Trong khi đó, liệu pháp không có tế bào sử dụng các chất tiết MSCs để điều chỉnh các quá trình sinh học bao gồm dẫn các tế bào nội sinh và tế bào tiền thân đến các vị trí bị tổn thương, làm trung gian cho quá trình apoptosis, tăng sinh, di cư và hình thành mạch từ đó mang lại những lợi ích đáng kể, bao gồm giảm sự đào thải, gây khối u và truyền mầm bệnh.<sup>91</sup> Ngoài ra, một lần nuôi cấy MSCs có thể cho ra lượng lớn chất tiết đủ cho điều trị, đồng thời phương pháp bảo quản

cũng đơn giản hơn.<sup>87</sup>

### **Hệ thống phân phối chất tiết MSCs**

Sử dụng trực tiếp chất tiết từ MSCs có hiệu quả tương đối kém do các chất chất này bị phân huỷ nhanh chóng bởi các enzym của cơ thể hoặc được đưa đến các mô ngoài mô đích nên chúng thường được điều trị với liều cao hoặc nhiều liều lặp lại.<sup>92</sup> Trên thực tế, sử dụng liều cao có thể gây độc tế bào do khó kiểm soát sự lan truyền của các yếu tố sinh học đến các mô/cơ quan khác.<sup>93</sup> Tác dụng phụ có thể xuất hiện ở gan, phổi, lá lách, thận, tim, cơ và cả não trong vòng 30 phút sau khi tiêm.<sup>94</sup> Do đó, cần có phương pháp được kiểm soát chặt chẽ để đảm bảo khả năng lưu giữ và hiệu quả của thuốc trong mô đích.<sup>87</sup> Việc sử dụng chất nền thích hợp cũng có thể làm tăng hiệu quả của liệu pháp thông qua cơ chế tác dụng hiệp đồng với chất tiết, do đó việc lựa chọn chất nền phù hợp cần phải được cân nhắc kỹ lưỡng.<sup>95</sup>

Mặc dù, EVs được hấp thụ qua da một phần khi bôi tại chỗ, nhưng khả năng thâm nhập của chúng bị giới hạn ở lớp sừng và chỉ khoảng 1% thuốc xuyên qua lớp sừng để ngấm vào lớp hạt.<sup>96</sup> Nhiều công nghệ vật lí, hoá học đã được nghiên cứu và ứng dụng nhằm tăng khả năng hấp thụ các hoạt chất này vào da ví dụ như vi kim, chất nền dạng hydrogel hay giá đỡ sinh học.<sup>97</sup>

Gần đây, vi kim là thiết bị y tế phổ biến để tiêm thuốc một cách chính xác vào da hoặc dưới da. Vi kim cấu tạo bởi các đầu polyme hòa tan có chiều dài vài trăm micromet, tương ứng với độ dày của lớp hạ bì. Đặc tính này tạo điều kiện cho việc đưa thuốc vào da nhanh chóng, thuận tiện và ít đau đớn từ đó cải thiện đáng kể sức ảnh hưởng của chế phẩm đến các nguyên bào sợi trong mô da.<sup>98</sup> Hiện nay, máy phun tia không kim cũng có thể được sử dụng để đưa thuốc vào sâu vào lớp hạ bì bằng cách sử dụng các tia thuốc ở dạng lỏng áp suất cao.<sup>99</sup> Công



nghe tiềm mới này được đánh giá là vượt trội hơn so với kỹ thuật tiêm thông thường do ít đau hơn đồng thời mang lại khả năng thâm nhập và hấp thụ thuốc tốt hơn so với bôi thuốc tại chỗ.<sup>97,100</sup>

EVs có thời gian bán hủy ngắn khi bôi trên da do bị đào thải nhanh chóng bởi mồ hôi, các chất rửa trôi hoặc tác động bên ngoài. Hydrogel có độ xốp cao, có khả năng chứa các chất dược phẩm với nồng độ cao và giải phóng từ từ các chất này vào mô đích.<sup>101</sup> Các nghiên cứu gần đây đã cho thấy tiềm năng của việc sử dụng hydrogel tự nhiên và tổng hợp như alginate (Alg), chitosan (CS), fibrin, gelatin, poloxamer 407 và polyethylene glycol (PEG) như các chất mang nhằm nâng cao hiệu quả của sản phẩm chất tiết tế bào gốc.<sup>97,102-105</sup>

Một phương pháp mới được sử dụng

trong những năm gần đây là giá đỡ sinh học HydroMatrix. HydroMatrix là giá đỡ từ sợi nano peptide tổng hợp được phát triển để nuôi cấy tế bào và mô, có hình dạng 3D chịu được những thay đổi về nhiệt độ và cường độ ion.<sup>97</sup> HydroMatrix vừa thúc đẩy sự tăng sinh tế bào đồng thời được sử dụng làm chất mang để giữ thuốc cố định tại vị trí mong muốn.<sup>106</sup> Mặc dù, hydrogel hoặc giá đỡ sinh học đã được sử dụng trong các thí nghiệm trên động vật để tạo điều kiện thuận lợi cho việc phân phối và lưu giữ chất tiết có kiểm soát tại vùng mục tiêu, nhưng chúng vẫn chưa được khuyến khích sử dụng trong thực hành lâm sàng vì số lượng các thử nghiệm lâm sàng ở người vẫn còn quá ít để đảm bảo tính ổn định và an toàn của các phương pháp này.<sup>97</sup>

#### Mỹ phẩm từ MSCs

**Bảng 4. Một số sản phẩm từ tế bào gốc và tác dụng của chúng<sup>107</sup>**

Nhà sản xuất	Sản phẩm	Nguồn gốc	Chức năng
	Luminesce Cellular rejuvenation serum	AD-SCM	Chống nhăn; Chống lão hóa, Làm săn chắc, Phục hồi làn da
Jaunesse Global, USA	Luminesce advance night repair	AD-SCM	Chống nhăn, chống lão hóa, làm săn chắc da, dưỡng ẩm cho da, làm giảm sự xuất hiện của các đốm đồi mồi, làm đều màu da
	Luminesce essential body renewal	AD-SCM	Phục hồi da khô và hư tổn, lão hóa da, độ đàn hồi của da
	Luminesce daily moisturizing complex	AD-SCM	Chống nhăn, chống lão hoá
Invitrix, USA	Reluma skin illuminating serum	AD-SCM	Chống lão hoá
	Reluma skin illuminating stem cell anti-ageing cleanser	AD-SCM	Rửa mặt
	Reluma advance stem cell facial moisturizer	AD-SCM	Chống lão hoá
	Reluma Lash	AD-SCM	Dưỡng mi
	Reluma Pserene stem cell cream	AD-SCM	Dành cho da khô và nhạy cảm, bệnh chàm, bệnh vẩy nến

Nhà sản xuất	Sản phẩm	Nguồn gốc	Chức năng
Invitrix, USA	Reluma hair complex for men	AD-SCM	Trị hói
	Reluma hair complex for women	AD-SCM	Trị hói
	Reluma stem cell hair complex original formula	AD-SCM	Trị hói
RNL Bio, USA	Cellure restart skin cleanser	AD-SCM	Rửa mặt
	Cellure recode balancing toner	AD-SCM	Cấp ẩm và làm săn chắc da
	Cellure regenerate serum booster	AD-SCM	Chống nhăn, chống lão hoá
	Cellure rework eye treatment	AD-SCM	Vết nhăn khoé mắt
	Cellure rebuild AM day cream	AD-SCM	Dưỡng da
	Cellure recover PM night cream	AD-SCM	Dưỡng da
CyGenX, USA	Luminessce anti-ageing skin serum	AD-SCM and iPS-CM	Chống lão hoá
	Regenrxx hair serum	HFB-CM, AD-SCM and iPS-CM	Mọc tóc
Cole Martin Inc, USA	Stemulation facial cream	HMSC-CM	Chống lão hoá
	Stemulation elevate eye cream	HMSC-CM	Chống nhăn, chống lão hoá
	Stemulation Relance body lotion	HMSC-CM	Chống lão hoá
Osmosis Pur medical Skincare, USA	Osmosis stem factor serum	MSC-CM	Chống lão hoá
Suneva Medical, USA	Regenica advance rejuvenation day repair	HFB-CM	Chống lão hoá
	Regenica advance rejuvenation overnight repair	HFB-CM	Chống lão hoá
	Regenica facial rejuvenation complex post procedure	HFB-CM	Chống lão hoá
Medon Co. Ltd, South Korea	Dr Mary stem cell whitening	BM-SCM	Chống lão hoá
	Dr Mary stem cell wrinkle	BM-SCM	Chống lão hoá
	Dr Mary stem cell renew	BM-SCM	Chống lão hoá

Nhà sản xuất	Sản phẩm	Nguồn gốc	Chức năng
International Stem Cell Corporation, USA	Recovery night moisture serum	HNE-SCE	Chống lão hoá, cấp ẩm
	Defensive day moisture serum SPF 15	HNE-SCE	Chống nhăn, chống lão hoá
Skin Medica, USA	TNS essential serum	HFB-CM	Chống nhăn, chống lão hoá
	TNS recovery complex	HFB-CM	Chống nhăn, chống lão hoá
	TNS eye repair	HFB-CM	Vết nhăn khoé mắt
	TNS line refine	HFB-CM	Chống nhăn
	TNS Lip plump system	HFB-CM	Chống nhăn
	TNS illuminating eye cream	HFB-CM	Vết nhăn khoé mắt
Carecell, South Korea	Carecell gold nourishing cream	SC-CM	Chống lão hoá
	Carecell perfect skin 3 in 1 lotion & Essence	SC-CM	Chống lão hoá
	20% men hair and skin cell conditioned media	SC-CM	Chống lão hoá
Caregen Co. Ltd, South Korea	Dermaheal stem C'rum HL	AD-SCM	hồng rụng tóc
Stempeutics, India	Cutisera	BM-SCM	Chống lão hoá

*AD-SCM-Môi trường tế bào gốc có nguồn gốc từ mỡ, BM-SCM-Môi trường tế bào gốc có nguồn gốc từ tủy xương, iPS-CM – Môi trường tế bào gốc đa năng cảm ứng, HFB-CM-Môi trường nguyên bào sợi ở người, HMSC-CM- Môi trường tế bào gốc trung mô người, PL&UC-SCM- Môi trường tế bào gốc từ nhau thai và cuống rốn*

Số lượng các mỹ phẩm từ MSCs đang tăng lên nhanh chóng nhưng đa số nhà sản xuất không công bố quy trình kỹ thuật và các minh chứng về thử nghiệm lâm sàng cần thiết cho các sản phẩm này và chưa có sản phẩm nào được Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) chấp thuận sử dụng trong thẩm mỹ.

## 7. Hạn chế

Mặc dù nhiều nghiên cứu cho thấy các liệu pháp từ MSCs có hiệu quả và có thể ứng dụng vào làm đẹp, vẫn có rất nhiều rào cản trong việc

mở rộng thương mại của chúng. Vấn đề đầu tiên là phương pháp sản xuất và lưu trữ các chất tiết từ MSCs. Như đã đề cập ở trên, các kỹ thuật khác nhau như nuôi cấy 3D, kích thích vật lý/hóa học, tác động di truyền đang được phát triển để nâng cao khả năng sản xuất chất tiết từ MSCs (108) nhưng các kỹ thuật này nhìn chung có chi phí rất cao, thời gian kéo dài và hiệu suất kém ổn định.<sup>108,109</sup> Việc bảo quản các chế phẩm này là một trở ngại nữa, vì EVs không ổn định ở nhiệt độ phòng mà ổn định hơn ở -80°C dẫn tới tăng chi phí bảo quản và vận chuyển.<sup>110</sup> Khó

khăn tiếp theo là xác định liều tối ưu của các sản phẩm này. Mặc dù, người ta đã chứng minh rằng các chất tiết của tế bào gốc an toàn khi bôi tại chỗ, không gây viêm và mẫn cảm da, nhưng vẫn cần xác định liều tối ưu để đảm bảo an toàn khi sử dụng thường xuyên mà không gây tác dụng phụ.<sup>97,111</sup> Ngoài ra, các sản phẩm MSCs có khả năng thẩm thấu qua da kém khi bôi tại chỗ. Vi kim được sử dụng để đưa thuốc vào da nhưng đây vẫn là một thủ thuật xâm lấn có thể dẫn đến tổn thương và gây đau.<sup>112</sup> Thêm vào đó, thử nghiệm lâm sàng ở người còn ít dẫn đến hiểu biết về vai trò của chất tiết MSCs trong quá trình tái tạo và trẻ hóa da cũng như tác dụng phụ của chúng còn nhiều hạn chế.

### III. KẾT LUẬN

Nghiên cứu và ứng dụng các sản phẩm có nguồn gốc từ MSCs trong làm đẹp đang trở thành một lĩnh vực mới đầy hứa hẹn của y học tái tạo. Mỹ phẩm từ MSCs được xem như một phương pháp mới giúp chống lão hóa và tái tạo da và đã được chứng minh là hiệu quả và an toàn qua các nghiên cứu tiền lâm sàng và lâm sàng. Chúng tôi nhấn mạnh rằng mặc dù thị trường mỹ phẩm gắn mác SCs đang nhộn nhịp hơn bao giờ hết nhưng vẫn chưa có bất cứ chế phẩm nào được FDA chấp thuận sử dụng trong thẩm mỹ. Trong suốt nghiên cứu này, chúng tôi xác nhận rằng chất tiết từ MSCs có hiệu quả đáng kể trong làm đẹp da, tuy nhiên chúng tôi đề xuất cần gia tăng các thử nghiệm lâm sàng trên người để xác minh tính an toàn và ổn định của các sản phẩm này trước khi được bày bán và sử dụng rộng rãi trên thị trường.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Reya T, Morrison S J, Clarke M F, et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*. 2001;414(6859):105-111.
2. Biehl J K, Russell B. Introduction to stem cell therapy. *Journal of Cardiovascular*

*Nursing*. 2009;24(2):98-103.

3. Kim W, Park E, Yoo H S, et al. Recent advances in monitoring stem cell status and differentiation using nanobiosensing technologies. *Nanomaterials*. 2022;12(17):2934.

4. Vojnits K, Li Y. The current knowledge of immune privilege in stem cells. *J Transplant Stem Cell Biol*. 2014;1(1):4.

5. Hoang D M, Pham P T, Bach T Q, et al. Stem cell-based therapy for human diseases. *Signal transduction and targeted therapy*. 2022;7(1):1-41.

6. Ullah I, Subbarao R B, Rho G J. Human mesenchymal stem cells-current trends and future prospective. *Bioscience reports*. 2015;35(2):e00191.

7. Horwitz E M, Le Blanc K, Dominici M, et al. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2005;7(5):393-395.doi: 10.1080/14653240500319234.

8. Vagaska B, New S E P, Alvarez-Gonzalez C, et al. MHC-class-II are expressed in a subpopulation of human neural stem cells in vitro in an IFN $\gamma$ -independent fashion and during development. *Scientific reports*. 2016;6(1):24251.

9. Machado C D V, Telles P D D S, Nascimento I L O. Immunological characteristics of mesenchymal stem cells. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*. 2013;35:62-67.

10. Franquesa M, Herrero E, Torras J, et al. Mesenchymal stem cell therapy prevents interstitial fibrosis and tubular atrophy in a rat kidney allograft model. *Stem cells and development*. 2012;21(17):3125-3135.

11. Dominici M L B K, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position

statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-317.

12. Prianishnikov V A. On the concept of stem cell and a model of functional-morphological structure of the endometrium. *Contraception*. 1978;18(3):213-223.

13. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, et al. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2000;97(25):13625-13630. doi: 10.1073/pnas.240309797.

14. Qu-Petersen Z, Deasy B, Jankowski R, et al. Identification of a novel population of muscle stem cells in mice: potential for muscle regeneration. *The Journal of cell biology*. 2002;157(5):851-864. doi: 10.1083/jcb.200108150.

15. In't Anker P S, Scherjon S A, Kleijburg-van der Keur C, et al. Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. *Stem cells*. 2004;22(7):1338-1345. doi: 10.1634/stemcells.2004-0058.

16. Zuk P A, Zhu M I N, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue engineering*. 2001;7(2):211-228. doi: 10.1089/107632701300062859.

17. Doi H, Kitajima Y, Luo L, et al. Potency of umbilical cord blood- and Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells for scarless wound healing. *Scientific Reports*. 2016;6(1):18844. doi: 10.1038/srep18844.

18. McElreavey K D, Irvine A I, Ennis K T, et al. Isolation, culture and characterisation of fibroblast-like cells derived from the Wharton's jelly portion of human umbilical cord. *Biochem Soc Trans*. 1991;19(1):29S. doi: 10.1042/bst019029s.

19. Teo G S, Ankrum J A, Martinelli R, et al. Mesenchymal stem cells transmigrate between and directly through tumor necrosis factor- $\alpha$ -activated endothelial cells via both

leukocyte-like and novel mechanisms. *Stem cells*. 2012;30(11):2472-2486.

20. Deans R J, Moseley A B. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Experimental hematology*. 2000;28(8):875-884.

21. Gneccchi M, Zhang Z, Ni A, et al. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circulation research*. 2008;103(11):1204-1219.

22. Parekkadan B, Milwid J M. Mesenchymal stem cells as therapeutics. *Annual review of biomedical engineering*. 2010;12:87-117.

23. Eggenhofer E, Benseler V, Kroemer A, et al. Mesenchymal stem cells are short-lived and do not migrate beyond the lungs after intravenous infusion. *Frontiers in immunology*. 2012;3:32434.

24. Xia J, Minamino S, Kuwabara K, et al. Stem cell secretome as a new booster for regenerative medicine. *Bioscience Trends*. 2019;13(4):299-307.

25. Kumar P, Kandoi S, Misra R, et al. The mesenchymal stem cell secretome: A new paradigm towards cell-free therapeutic mode in regenerative medicine. *Cytokine & growth factor reviews*. 2019;46:1-9.

26. Hsu Y C, Li L, Fuchs E. Emerging interactions between skin stem cells and their niches. *Nature medicine*. 2014;20(8):847-856. doi: 10.1038/nm.3643.

27. Papaccio F, D'Arino A, Caputo S, et al. Focus on the contribution of oxidative stress in skin aging. *Antioxidants*. 2022;11(6):1121.

28. Bragulla H H, Homberger D G. Structure and functions of keratin proteins in simple, stratified, keratinized and cornified epithelia. *Journal of anatomy*. 2009;214(4):516-559. doi: 10.1111/j.1469-7580.2009.01066.x.

29. Clayton K, Vallejo A F, Davies J, et al. Langerhans cells - programmed by

- the epidermis. *Frontiers in immunology*. 2017;8:316131.doi: 10.3389/fimmu.2017.01676.
30. Nielsen K P, Zhao L, Stamnes J J, et al. The importance of the depth distribution of melanin in skin for DNA protection and other photobiological processes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2006;82(3):194-198.
31. Haeberle H, Lumpkin E A. Merkel cells in somatosensation. *Chemosensory perception*. 2008;1:110-118. doi: 10.1007/s12078-008-9012-6.
32. Prost-Squarcioni C, Fraitag S, Heller M, et al. Functional histology of dermis. In *Annales de dermatologie et de venerologie*. 2008;135(1Pt2):1S5-20. doi: 10.1016/S0151-9638(08)70206-0.
33. Tsepkolenko A, Tsepkolenko V, Dash S, et al. The regenerative potential of skin and the immune system. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol*. 2019;12:519-532.
34. Grinnell F. Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices. *Trends in cell biology*, 2003;13(5):264-269. doi: 10.1016/S0962-8924(03)00057-6.
35. Muiznieks L D, Keeley F W. Molecular assembly and mechanical properties of the extracellular matrix: A fibrous protein perspective. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2013;1832(7), 866-875. doi: 10.1016/j.bbdis.2012.11.022.
36. Moon T C, Befus A D, Kulka M. Mast cell mediators: their differential release and the secretory pathways involved. *Frontiers in immunology*. 2014;5:119335. doi: 10.3389/fimmu.2014.00569.
37. Stecco C, Hammer W, Vleeming A, et al. *Functional Atlas of the Human Fascial System*. Churchill Livingstone; London, UK. 2015:21-49.
38. Lee H, Hong Y, Kim M. Structural and functional changes and possible molecular mechanisms in aged skin. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(22):12489.
39. Hani R, Khayat L, Rahman A A, et al. Effect of stem cell secretome in skin rejuvenation: a narrative review. *Molecular Biology Reports*. 2023;50(9):7745-7758.
40. Yusharyahya S N, Japranata V V, Sitohang I B S, et al. A comparative study on adipose-derived mesenchymal stem cells secretome delivery using microneedling and fractional CO<sub>2</sub> laser for facial skin rejuvenation. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*. 2023;387-395. Madrigal M, Rao K S, Riordan N H. A review of therapeutic effects of mesenchymal stem cell secretions and induction of secretory modification by different culture methods. *Journal of translational medicine*. 2014;12:1-14.
41. Colombo M, Raposo G, Théry C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annual review of cell and developmental biology*. 2014;30:255-289. doi: 10.1146/annurev-cellbio-101512-122326.
42. Colombo M, Giannandrea D, Lesma E, et al. Extracellular vesicles enhance multiple myeloma metastatic dissemination. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(13):3236. doi: 10.3390/ijms20133236.
43. Record M, Carayon K, Poirot M, et al. Exosomes as new vesicular lipid transporters involved in cell-cell communication and various pathophysiological. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2014;1841(1):108-120. doi: 10.1016/j.bbalip.2013.10.004.

44. Tkach M, Théry C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. *Cell*. 2016;164(6):1226-1232. doi: 10.1016/j.cell.2016.01.043.
45. Kim Y J, Ahn H J, Lee S H, et al. Effects of conditioned media from human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in the skin immune response. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020;131:110789.
46. Kim SN, Lee C J, Nam J, et al. The effects of human bone marrow-derived mesenchymal stem cell conditioned media produced with fetal bovine serum or human platelet lysate on skin rejuvenation characteristics. *International Journal of Stem Cells*. 2021;14(1):94.
47. Fraile M, Eiro N, Costa L A, et al. Aging and mesenchymal stem cells: basic concepts, challenges and strategies. *Biology*. 2022;11(11):1678.
48. Ahangar P, Mills S J, Cowin A J. Mesenchymal stem cell secretome as an emerging cell-free alternative for improving wound repair. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(19):7038.
49. Trzyna A, Banaś-Ząbczyk A. Adipose-derived stem cells secretome and its potential application in "stem cell-free therapy". *Biomolecules*. 2021;11(6):878.
50. Khanh V C, Yamashita T, Ohneda K, et al. Rejuvenation of mesenchymal stem cells by extracellular vesicles inhibits the elevation of reactive oxygen species. *Scientific Reports*. 2020;10(1):17315.
51. Maacha S, Sidahmed H, Jacob S, et al. Paracrine mechanisms of mesenchymal stromal cells in angiogenesis. *Stem cells international*. 2020;2020:4356359.
52. Ma T, Chen Y, Chen Y, et al. MicroRNA-132, delivered by mesenchymal stem cell-derived exosomes, promote angiogenesis in myocardial infarction. *Stem Cells International*. 2018;2018:3290372. doi: 10.1155/2018/3290372.3290372
53. Salinas-Vera Y M, Marchat L A, Gallardo-Rincón D, et al. MicroRNAs driving angiogenesis in cancer (Review) *Int. J. Mol. Med*. 2019;43:657-670. doi: 10.3892/ijmm.2018.4003.
54. Ferguson S W, Wang J, Lee C J, et al. The microRNA regulatory landscape of MSC-derived exosomes: a systems view. *Scientific reports*. 2018;8(1):1419. doi: 10.1038/s41598-018-19581-x.
55. Baglio S R, Rooijers K, Koppers-Lalic D, et al. Human bone marrow-and adipose-mesenchymal stem cells secrete exosomes enriched in distinctive miRNA and tRNA species. *Stem cell research & therapy*, 2015;6:1-20. doi: 10.1186/s13287-015-0116-z
56. De Luca L, Trino S, Laurenzana I, et al. MiRNAs and piRNAs from bone marrow mesenchymal stem cell extracellular vesicles induce cell survival and inhibit cell differentiation of cord blood hematopoietic stem cells: a new insight in transplantation. *Oncotarget*, 2016;7(6):6676. doi: 10.18632/oncotarget.6791.
57. Ounzain S, Crippa S, Pedrazzini T. Small and long non-coding RNAs in cardiac homeostasis and regeneration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2013;1833(4):923-933. doi: 10.1016/j.bbamcr.2012.08.010.
58. Ounzain S, Pedrazzini T. The promise of enhancer-associated long noncoding RNAs in cardiac regeneration. *Trends in cardiovascular medicine*. 2015;25(7):592-602. doi: 10.1016/j.tcm.2015.01.014.
59. Li B, Zhang H, Zeng M, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells protect alveolar macrophages from lipopolysaccharide-induced apoptosis partially by inhibiting the Wnt/

- $\beta$ -catenin pathway. *Cell Biology International*. 2015;39(2):192-200.
60. He A, Jiang Y, Gui C, et al. The antiapoptotic effect of mesenchymal stem cell transplantation on ischemic myocardium is enhanced by anoxic preconditioning. *Canadian Journal of Cardiology*. 2009;25(6):353-358.
61. Wang Y, Chen X, Cao W, et al. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications. *Nature immunology*. 2014;15(11):1009-1016.
62. Ryan J M, Barry F P, Murphy J M, et al. Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. *Journal of inflammation*. 2005;2:1-11.
63. Charles-de-Sá L, Gontijo-de-Amorim N F, Rigotti G, et al. Photoaged skin therapy with adipose-derived stem cells. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2020;145(6):1037e-1049e.
64. Liu Z, Hu G D, Luo X B, et al. Potential of bone marrow mesenchymal stem cells in rejuvenation of the aged skin of rats. *Biomedical reports*. 2017;6(3):279-284.
65. Brunet A, Goodell M A, Rando T A. Ageing and rejuvenation of tissue stem cells and their niches. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2023;24(1):45-62.
66. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861-872.
67. Zhong C, Liu M, Pan X, et al. Tumorigenicity risk of iPSCs in vivo: nip it in the bud. *Precision Clinical Medicine*. 2022;5(1):pbac004.
68. Park S R, Kim J W, Jun H S, et al. Stem cell secretome and its effect on cellular mechanisms relevant to wound healing. *Molecular Therapy*. 2018;26(2):606-617. doi: 10.1016/j.ymthe.2017.09.023
69. Aryan A, Bayat M, Bonakdar S, et al. Human bone marrow mesenchymal stem cell conditioned medium promotes wound healing in deep second-degree burns in male rats. *Cells Tissues Organs*. 2019;206(6):317-329.
70. Li M, Zhao Y, Hao H, et al. Umbilical cord-derived mesenchymal stromal cell-conditioned medium exerts in vitro antiaging effects in human fibroblasts. *Cytotherapy*. 2017;19(3):371-383.
71. Wiśniewska J, Styszewska M, Stałanowska K, et al. Effect of pig-adipose-derived stem cells' conditioned media on skin wound-healing characteristics in vitro. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(11):5469.
72. Hsiao S T, Lokmic Z, Peshavariya H, et al. Hypoxic conditioning enhances the angiogenic paracrine activity of human adipose-derived stem cells. *Stem cells and development*. 2013;22(10):1614-1623.
73. Santos J M, Camões S P, Filipe E, et al. Three-dimensional spheroid cell culture of umbilical cord tissue-derived mesenchymal stromal cells leads to enhanced paracrine induction of wound healing. *Stem cell research & therapy*. 2015;6:1-19. doi: 10.1186/s13287-015-0082-5
74. Sun B, Guo S, Xu F, et al. Concentrated hypoxia-preconditioned adipose mesenchymal stem cell-conditioned medium improves wounds healing in full-thickness skin defect model. *International Scholarly Research Notices*. 2014;2014:652713.
75. Collawn S S, Mobley J A, Banerjee N S, et al. Conditioned media from adipose-derived stromal cells accelerates healing in 3-dimensional skin cultures. *Annals of Plastic Surgery*. 2016;76(4):446-452.
76. Shu F, Lu J, Zhang W, et al. JAM-A overexpression in human umbilical cord-



derived mesenchymal stem cells accelerated the angiogenesis of diabetic wound by enhancing both paracrine function and survival of mesenchymal stem cells. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2023;19(5):1554-1575.

77. Sabzevari R, Roushbandeh A M, Mehdipour A, et al. SA/G hydrogel containing hCAP-18/LL-37-engineered WJ-MSCs-derived conditioned medium promoted wound healing in rat model of excision injury. *Life sciences*. 2020;261:118381.

78. Damayanti R H, Rusdiana T, Wathoni N. Mesenchymal stem cell secretome for dermatology application: a review. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*. 2021;1401-1412.

79. Zhou P, Li X, Zhang B, et al. A human umbilical cord mesenchymal stem cell-conditioned medium/chitosan/collagen/ $\beta$ -glycerophosphate thermosensitive hydrogel promotes burn injury healing in mice. *BioMed research international*. 2019;2019:5768285.

80. Wang L, Abhange K K, Wen Y, et al. Preparation of engineered extracellular vesicles derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells with ultrasonication for skin rejuvenation. *ACS omega*. 2019;4(27):22638-22645.

81. Liu P, Yang S, Shao X, et al. Mesenchymal Stem Cells-Derived Exosomes Alleviate Acute Lung Injury By Inhibiting Alveolar Macrophage Pyroptosis. *Stem Cells Translational Medicine*. 2024;13(4):371-386.

82. Amirthalingam M, Bhat S, Dighe P A, et al. Human mesenchymal stromal cells-derived conditioned medium based formulation for advanced skin care: in vitro and in vivo evaluation. *J Stem Cells Res Dev Ther*. 2019;5:1-8.

83. Kuljanin M, Elgamal R M, Bell G I, et al. Quantitative proteomics evaluation

of human multipotent stromal cell for  $\beta$  cell regeneration. *Cell reports*. 2018;25(9):2524-2536.

84. Wangler S, Kamali A, Wapp C, et al. Uncovering the secretome of mesenchymal stromal cells exposed to healthy, traumatic, and degenerative intervertebral discs: a proteomic analysis. *Stem Cell Research & Therapy*. 2021;12:1-17.

85. Levy D, Jeyaram A, Born L J, et al. Impact of storage conditions and duration on function of native and cargo-loaded mesenchymal stromal cell extracellular vesicles. *Cytotherapy*. 2023;25(5):502-509. doi: 10.1016/j.jcyt.2022.11.006

86. Umar A K. Stem cell's secretome delivery systems. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2023;13(2):244.

87. Zavala G, Ramos M P, Figueroa-Valdés A I, et al. Semipermeable cellulose beads allow selective and continuous release of small extracellular vesicles (sEV) from encapsulated cells. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:679.

88. Han Y, Li X, Zhang Y, et al. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Cells*. 2019;8(8):886. doi: 10.3390/cells8080886

89. Giacomini C, Granéli C, Hicks R, et al. The critical role of apoptosis in mesenchymal stromal cell therapeutics and implications in homeostasis and normal tissue repair. *Cellular & Molecular Immunology*. 2023;20(6):570-582.

90. Chou Y, Alfarafisa N M, Ikezawa M, et al. Progress in the development of stem cell-derived cell-free therapies for skin aging. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 2023;3383-3406.

91. Yim H E, Kim D S, Chung H C, et al. Controlled delivery of stem cell-derived trophic factors accelerates kidney repair after renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Stem Cells Translational Medicine*. 2019;8(9):959-970.

doi: 10.1002/sctm.18-0222.

92. Shoma Suresh K, Bhat S, Guru B R, et al. A nanocomposite hydrogel delivery system for mesenchymal stromal cell secretome. *Stem cell research & therapy*. 2020;11:1-14. doi: 10.1186/s13287-020-01712-9.

93. Lai C P, Mardini O, Ericsson M, et al. Dynamic biodistribution of extracellular vesicles in vivo using a multimodal imaging reporter. *ACS nano*. 2014;8(1):483-494. doi: 10.1021/nn404945r.

94. Ogle M E, Doron G, Levy M J, et al. Hydrogel culture surface stiffness modulates mesenchymal stromal cell secretome and alters senescence. *Tissue Engineering Part A*. 2020;26(23-24):1259-1271. doi: 10.1089/ten.tea.2020.0030.

95. Zhang B, Lai R C, Sim W K, et al. Topical application of mesenchymal stem cell exosomes alleviates the imiquimod induced psoriasis-like inflammation. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(2):720.

96. Kee L T, Ng C Y, Al-Masawa M E, et al. Extracellular vesicles in facial aesthetics: a review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(12):6742.

97. Bui V D, Son S, Xavier W, et al. Dissolving microneedles for long-term storage and transdermal delivery of extracellular vesicles. *Biomaterials*. 2022;287:121644.

98. Ravi A D, Sadhna D, Nagpaal D, et al. Needle free injection technology: A complete insight. *International journal of pharmaceutical investigation*. 2015;5(4):192.

99. Hu S, Li Z, Cores J, et al. Needle-free injection of exosomes derived from human dermal fibroblast spheroids ameliorates skin photoaging. *ACS nano*. 2019;13(10):11273-11282.

100. Bahram M, Mohseni N, Moghtader M. An introduction to hydrogels and some recent

applications. In: *Emerging concepts in analysis and applications of hydrogels*. IntechOpen. 2016.

101. Shafei S, Khanmohammadi M, Heidari R, et al. Exosome loaded alginate hydrogel promotes tissue regeneration in full-thickness skin wounds: An in vivo study. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2020;108(3):545-556.

102. Nooshabadi V T, Khanmohammadi M, Valipour E, et al. Impact of exosome-loaded chitosan hydrogel in wound repair and layered dermal reconstitution in mice animal model. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2020;108(11):2138-2149.

103. Li Q, Gong S, Yao W, et al. Exosome loaded genipin crosslinked hydrogel facilitates full thickness cutaneous wound healing in rat animal model. *Drug Delivery*. 2021;28(1):884-893.

104. Zhao D, Yu Z, Li Y, et al. GelMA combined with sustained release of HUVECs derived exosomes for promoting cutaneous wound healing and facilitating skin regeneration. *Journal of molecular histology*. 2020;51:251-263.

105. Nagy K, Láng O, Láng J, et al. A novel hydrogel scaffold for periodontal ligament stem cells. *Interventional Medicine and Applied Science*. 2018;10(3):162-170.

106. Amirthalingam M, Seetharam R N. Stem cell derived cosmetic products, an overview. *Manipal J. Med. Sci*. 2016;1:46-52.

107. Hahm J, Kim J, Park J. Strategies to enhance extracellular vesicle production. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2021;18(4):513-524.

108. Konoshenko M Y, Lekchnov E A, Vlassov A V, et al. Isolation of extracellular vesicles: general methodologies and latest trends. *BioMed research international*.

2018;2018:8545347.

109. Jeyaram A, Jay S M. Preservation and storage stability of extracellular vesicles for therapeutic applications. *The AAPS journal*. 2018;20:1-7.

110. HaDH, KimSD, LeeJ, et al. Toxicological evaluation of exosomes derived from human

adipose tissue-derived mesenchymal stem/stromal cells. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2020;115:104686.

111. Jeong W Y, Kwon M, Choi H E, et al. Recent advances in transdermal drug delivery systems: A review. *Biomaterials research*. 2021;25(1):24.

## Summary

### APPLICATION OF MESENCHYMAL STEM CELL SECRETOMES IN AESTHETIC DERMATOLOGY

Aging is an inevitable biological process affecting all living organisms. Recently, anti-aging methods have rapidly developed to meet beauty needs, with stem cells and their derivatives emerging as a potential trend in this field. Stem cells secrete growth factors, cytokines, chemokines, angiogenic factors, antimicrobial peptides, and more., which have been proven to positively influence the skin aging process. In this review, we summarize the mechanism of the secretome in preventing skin aging, mentioned mesenchymal stem cells' isolation and culture and secretome preparation procedures. Additionally, we investigated stem-cell-derived products, particularly their effectiveness, delivery systems, recommendation, and prospects. In conclusion, compared to other available anti-aging treatments, the secretome of mesenchymal stem cells is superior in effectiveness and potential. However, the widespread use of these products is not recommended due to the lack of human clinical trials on their safety and stability.

**Keywords:** Mesenchymal stem cells, stem cell secretion, aesthetic dermatology, skin rejuvenation, stem-cell-based products.