

IZOLAREA HEPATOCITELOR DE LA ȘOBOLANI ADULȚI PENTRU RECELULARIZAREA FICATULUI *IN VITRO*

Jian Mariana, Cobzac Vitalie, Macagonova Olga

(Conducător științific: Nacu Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ., Laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare)

Introducere. Actualmente obținerea hepatocitelor este o premisă în crearea condițiilor necesare de cercetare în domeniul medical, aceasta fiind un instrument important în dezvoltarea de noi strategii în domeniul ingineriei tisulare, ce presupune obținerea de organe funcționale în condiții de laborator.

Scopul lucrării. Izolarea hepatocitelor din ficat de șobolan adult necesare pentru studierea procesului de recelularizare a ficatului *in vitro*.

Material și metode. Studiu a fost efectuat pe ficate de șobolan adult Wistar cu masa corporală de $274,66 \pm 2,52$ g (n=3) din care au fost extrase hepatocitele prin perfuzarea prin vena cavă superioară cu colagenază de tip II și Hank's cu 0,9 mM MgCl₂, 0,5 mM EDTA și 25 mM HEPES (HiMedia, India).

Rezultate. Celulele au fost numărate la 1, 3 și a 5-a zi cu tripan albastru 0,25% în hemocitometru, determinată viabilitatea și au fost cultivate în mediu William E (HiMedia, India) cu 2 mM L-glutamină, 5% ser fetal bovin (Lonza, Belgia), soluție antibiotic antimicotic (HiMedia, India), 100 nM dezametazonă și 100 nM insulină, a câte $2,5 \times 10^5$ celule per godeu în plăci cu 12 godeuri. În urma izolării hepatocitelor au fost obținute $324,48 \times 10^6 \pm 1,25$, celule cu o viabilitate de $94,7 \pm 0,9$, % ceea ce denotă un randament înalt de celule viabile.

Concluzii. Metoda de izolare a hepatocitelor este una eficientă și necesită studii ulterioare pentru recelularizarea *in vitro* a ficatului.

Cuvinte cheie: hepatocite, izolare, viabilitate.

HEPATOCYTES ISOLATION FROM ADULT RAT FOR *IN VITRO* LIVER RECELLULARIZATION

Jian Mariana, Cobzac Vitalie, Macagonova Olga

(Scientific adviser: Nacu Viorel, PhD, university professor, Laboratory of tissue engineering and cell cultures)

Introduction. Currently hepatocytes obtaining is a prerequisite to create the necessary conditions for medical research, because it is an important tool in developing of new strategies in tissue engineering domain, which represent achievement of functional organs in laboratory conditions.

Objective of the study. Isolation of hepatocytes from adult rat liver that are necessary for studying *in vitro* liver recellularization.

Material and methods. The study was made on adult Wistar rat liver with body weight 274.66 ± 2.52 g (n=3) which were used for hepatocytes extraction by perfusion through the superior vena cava with collagenase type II and Hank's 0.9 mM MgCl₂, 0.5 mM EDTA and 25 mM HEPES (HiMedia, India).

Results. The cells were counted at the 1, 3 and 5 days with trypan blue 0.25% in hemocytometer and cultured in William's E medium (HiMedia, India) with 2 mM L-glutamine, 5% fetal bovine serum (Lonza, Belgium), antibiotic antimycotic solution (HiMedia, India), 100 nM dexamethasone and 100 nM insulin, with 2.5×10^5 cells per well in 12-well plates. After isolation were obtained $324.48 \pm 1.25 \times 10^6$ hepatocytes, with a viability of 94.7 ± 0.9 % which indicates a high yield of cells viability.

Conclusions. Hepatocyte isolation method is efficient and need further study for *in vitro* liver recellularisation.

Keywords: hepatocytes, isolation, viability.