

chitosan sponge, pore size varies between 30 and 100 μ .

Conclusion. The obtaining method of a hybrid collagen/chitosan scaffold for cell seeding is effective. The sponge size and microscopic structure allow its utilisation in filling tissue defects and tissue engineering.

Keywords: collagen, chitosan, hybrid, sponge.

CULTIVAREA DE CONDROCITE AUTOLOGE PENTRU TERAPIA CELULARĂ



COBZAC V, JIAN M, CROITOR G, NACU V

Laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare, USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova

Scop. Izolarea condrocitelor din cartilaj hialin și expansionarea acestora în culturi celulare pentru transplantarea ulterioară în defectul de cartilaj.

Material și metode. Studiul s-a efectuat pe 9 iepuri de rasa neozeelandeză de 6 luni. În condiții sterile s-a prelevat cartilajul hialin de la nivelul regiunii neportante a articulației genunchiului, după care s-a tratat cu tripsină-EDTA de 0,25% timp de 30 min, apoi cu colagenază de 0,6% timp de 6 ore. Celulele au fost cultivate în flacoane de cultură celulară a câte 10000 \pm 500 cel/cm² în mediu de nutriție DMEM cu 10% FBS în incubator cu 5% CO₂ la temperatura de 37°C. Celulele s-au expansionat în culturi până la o confluență de 80%, timp de 21 de zile. Numărarea celulelor s-a efectuat cu hemocitometru. Condrocitele s-au colorat cu Safranin O și albastru de tuloidină/fast green.

Rezultate. Din aproximativ 50 \pm 10 mg de cartilaj prelevat s-au izolat 4x10⁵ \pm 5x10⁴ celule. La colorarea condrocitelor cu Safranin O, nucleii celulelor erau de culoare întunecată, citoplasma sur-verzuie, iar mucina și cartilajul oranj spre roșu. La colorarea cu albastru de tuloidină/fast green nucleii au apărut de culoare albastru închis, cartilajul albastru-violet intens iar fundalul verde.

Concluzii. Metoda de izolare a condrocitelor din cartilaj hialin este una eficientă și a fost confirmată prin intermediul colorării celulelor *in vitro* cu Safranin O și albastru de tuloidină/fast green. În continuare este necesară implantarea *in vitro* a condrocitelor pe suport tridimensional și transplantarea lor în defectul osteocondral.

Cuvinte cheie: condrocite, cartilaj, obținere

AUTOLOGOUS CHONDROCYTE CULTURE FOR CELL THERAPY

COBZAC V, JIAN M, CROITOR G, NACU V

Laboratory of tissue engineering and cells cultures, SMPPhU “Nicolae Testemitsanu”, Chisinau, Republic of Moldova

Purpose. Isolation of chondrocytes from articular hyaline cartilage and their expansion in cell cultures for further transplantation in a cartilage defect.

Materials and methods. The study was performed on 9 New Zealand White rabbit 6 months old. Under sterile conditions, slices of hyaline cartilage were harvested from unbearing area of knee joint, followed by 0,25% tripsină-EDTA treatment for 30 min and 0,6% collagenase for 6 hours. The cells were cultivated in cell culture flasks by 10000 \pm 500 cell/cm² and incubated at 37 ° C with 5% CO₂ in DMEM with 10% FBS. The cells were expanded in culture up to 21 days to a confluence of 80%. The cells were counted by a hemocytometer. The chondrocytes were stained with Safranin O and toluidine blue/fast green.

Results. From approximately 50 \pm 10 mg of cartilage were isolated 4x10⁵ \pm 5x10⁴ cells. At staining chondrocytes with Safranin O, the nuclei were black, the cytoplasm gray-green and and cartilage, mucin were orange to red. At staining chondrocytes with toluidine blue/fast green, the nuclei appeared dark blue, the cartilage blue, deep purple and background green.

Conclusion. The method of chondrocytes isolation from hyaline cartilage is efficient and it was confirmed by *in vitro* cell staining with Safranin O and toluidine blue/fast green. Our further purpose is implantation *in vitro* of expanded chondrocytes on tridimensional scaffold and their transplantation in an osteochondral defect.

Keywords: chondrocyte, isolation, hyaline, cartilage