

IMMUNOHISTOCHEMICZNA ANALIZA LUDZKICH I WOŁOWYCH CHONDROCYTÓW Z HODOWLI KOMÓRKOWEJ

**XI Zjazd Polskiego Towarzystwa Osteoartrologii i Polskiej
Fundacji Osteoporozy
V Krakowskie Sympozjum Osteoporozy
Kraków 27-29.09.2001**

Streszczenia:

wersja polska

Materiały kongresowe: STRESZCZENIA, s81-82.

Druk: Drukarnia Skinder, ISBN – 83-904008-5-5

wersja angielska

Osteoporosis International 2001; vol. 12 (Suppl 1), s17.

L55

**IMMUNOHISTOCHEMICZNA ANALIZA LUDZKICH I WOŁOWYCH CHONDROCYTÓW
Z HODOWLI KOMÓRKOWEJ**

J. Lorkowski, E. Czerwiński

*Klinika Ortopedii, Collegium Medicum, Uniwersytet
Jagielloński,*

ul. Kopernika 19, 31-501 Kraków.

Hodowla ludzkich chondrocytów oferuje nowe podejście do problemu leczenia degradacji chrząstki towarzyszącej wielu chorobom stawów włączając chorobę zwyrodnieniowa stawów. Hodowla chondrocytów stanowi użyteczny model do badania różnicowania chondrocytów i oceny wpływu cytokin oraz czynników wzrostu, kontrolujących utrzymanie lub supresję fenotypu zróżnicowanej chrząstki. Stosowanie w badaniach

ludzkich chondrocytów jest problematyczne ze względu na fakt, że nie łatwo jest uzyskać odpowiednią ilość komórek do hodowli z losowo wybranego zabiegu operacyjnego, a ponadto następuje szybka utrata stabilności fenotypowej dojrzałych ludzkich chondrocytów w hodowli. Celem naszej pracy było porównanie prawidłowych, niestransformowanych ludzkich i wołowych chondrocytów pochodzących z hodowli pierwotnych. Ludzka chrząstka stawowa pochodząca ze stawów kolanowych pozyskiwana była podczas zabiegu alloplastyki stawu kolanowego lub drogą autopsji. Wołowa chrząstka stawowa pochodziła z wołowych stawów kolanowych z miejscowej rzeźni. Izolacja chondrocytów została przeprowadzona metodą enzymatyczną z wykorzystaniem trypsyny i kolagenazy. Po okresie trawienia enzymatycznego zawiesina uzyskanych komórek została umieszczona w naczyniach hodowlanych zawierających podłoże hodowlane (podłoże Dulbecco MEM) wzbogacone płodową surowicą wołową (10%, FBS), Fungizonem (0,5 µg/ml) oraz gentamycyną (50 µg/ml). Hodowla prowadzona była w inkubatorze w temperaturze 37°C w atmosferze nawilżonego powietrza wzbogaconego dwutlenkiem węgla (5%). Podłoże hodowlane wymieniało się co 3-4 dni. Po uzyskaniu stanu konfluencji wykonywano pasaż. Żywotność komórek oceniana była na podstawie barwienia z zastosowaniem błękitu trypanu. Barwienie metachromatyczne substancji podstawowej z wykorzystaniem błękitu alcianu było dodatnie zarówno w przypadku ludzkich jak i wołowych chondrocytów. Obecność białka S-100 (przeciwciała poliklonalne anti-S100) została wykazana w obu typach chondrocytów- ludzkich i wołowych (detekcja z wykorzystaniem wtórnych przeciwciał sprzężonych z peroksydazą). Podsumowując, na podstawie immunohistochemicznej analizy hodowanych przez nas chondrocytów wydaje się, że hodowla wołowych chondrocytów może stanowić dobry model do analizy fizjologii i patologii chondrocytów.

L55

IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS OF HUMAN AND BOVINE CHONDROCYTES IN CULTURE

J. Lorkowski, E. Czerwinski,
*Department of Orthopaedics, Med. Coll. Jagiellonian
University, 31-501 Krakow, ul. Kopernika 19, Poland*

Human chondrocyte culture offers a new approach for treating chondrocyte-mediated cartilage degradation associated with various human arthropathies including osteoarthritis. Cultured chondrocytes have served as useful models for studying chondrocyte differentiation and the effect of cytokines and growth factors that control the maintenance or suppression of differentiated cartilage phenotype. The use of chondrocytes of human origin has been problematical, because the source of the cartilage cannot be controlled, sufficient numbers of cells are not readily obtained from random operative procedures and the phenotypic stability of adult human chondrocytes is lost quickly. The aim of our study was to compare normal, untransformed human and bovine chondrocytes from primary cell cultures. Human articular cartilage was obtained from knee joints after surgery for joint replacement or at autopsy. Bovine articular cartilage from knee joints was obtained from the local slaughter-house. The isolation of the chondrocytes was optimised by the use of trypsin and collagenase. After enzymatic digestion of both cartilage types cell suspensions were transferred in to culture