

# Взаимодействие стромальных клеток с углеродными композиционными материалами в условиях культивирования

Ю.А. ПЕТРЕНКО<sup>1</sup>, И.В. ГУРИН<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

<sup>2</sup>Национальный научный центр "Харьковский физико-технический институт"

## Interaction of Stromal Cells with Carbon Composite Materials Under Culture Conditions

YU.A. PETRENKO<sup>1</sup>, I.V. GURIN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

<sup>2</sup>Kharkov Physical and Technical Institute

Углеродные композиционные материалы (УКМ) используются в медицине для остеосинтеза при переломах костей; из них изготавливают эндопротезы костей конечностей, а также имплантаты для пластики связок и свода черепа. В настоящее время большое внимание уделяется клеточной терапии, основанной на способности стволовых клеток замещать поврежденные клетки и ткани реципиента при трансплантации. При этом чаще всего клетки культивируются *ex vivo*, а затем уже вводятся пациенту. Использование углеродных композиций как носителей для выращивания клеток может послужить основой для создания трехмерных структур на основе стволовых клеток для замещения поврежденных тканей организма после трансплантации. Однако вопрос о биосовместимости данных композиционных материалов с клетками остается малоизученным.

В работе исследовали взаимодействие стромальных клеток человека с углеродными композиционными материалами в условиях культивирования *in vitro*.

Стромальные клетки (СК) культивировали в среде ДМЕМ, содержащей 15% эмбриональной сыворотки, L-глутамин, пенициллин и стрептомицин при наличии или отсутствии углеродных материалов. УКМ вносили в лунки пластиковых планшетов в виде отдельных нитей или сотканных из них плоских однослойных пластинок. Метаболическую и пролиферативную активность клеток определяли с использованием индикатора Alamar Blue (AB). Уровень восстановленности AB определяли флуориметрически. Микроскопические исследования проводили с использованием инвертированного микроскопа CETI, снабженного цифровой камерой Nikon CoolPix 4500. В некоторых случаях клетки фиксировали нейтральным формалином и окрашивали азур-эозином или гематоксилин-эозином.

Совместное культивирование СК и углеродными материалами в течение одной недели не приводило к изменениям метаболической или пролиферативной активности СК по сравнению с клетками, культивированными при отсутствии УКМ. Выявлена способность клеток адгезировать на УКМ. После 2-х недель культивирования происходило выселение клеток на УКМ, клетки пролиферировали и образовывали тяжи среди углеродных нитей. При последующем культивировании клетки были способны заполнять пространства между нитями УКМ.

Таким образом, углеродные композиционные материалы являются не токсичными для стромальных клеток и могут быть использованы в качестве носителей клеток для последующего создания 3-мерных структур.

Carbon composite materials (CCM) are used in medicine for the osteosynthesis after bone fractures, as the bone prosthetic devices. CCM are also used as implants for the tendon and skull plastics. Nowadays much attention is made to cell therapy, which is based on the ability of stem cells to replace damaged cells and tissues after transplantation. In this case cells are often cultured *ex vivo* and then infused to patient. The application of carbon materials as carriers for cells during culture could be the basis for the development of three-dimensional structures, contained stem cells for the replacement of damaged tissues after transplantation. However the question about biocompatibility of such composite materials with cells is still out of the way.

This study describes the interaction between human stromal cells with carbon composite materials during *in vitro* culture.

Stromal cells (SC) were cultured in DMEM, supplemented with 15% fetal serum, L-glutamine, penicillin and streptomycin in the presence or absence of carbon materials. CCM were added to multi-well plates as separate strings or flat, single-layered fabrics. Metabolic and proliferative activity of cells was determined by Alamar Blue (AB). The level of AB reduction was assessed by fluorescent measurements. Microscopic investigations were made with the application of inverted microscope CETI, supplied with digital camera Nikon CoolPix 4500. In several cases cells were fixed in neutral formalin and stained by azur-eosine or hematoxylin-eosine.

The co-culture of SC with carbon materials during one week did not cause changes in metabolic and proliferative activity of SC, compared to cells, cultured in the absence of CCM. Cell had the ability to adhere to CCM. After 2 weeks of culture, the migration of cells on the CCM was observed. Cell proliferated and formed cords between carbon fibres. During followed culture cells could fill the space between CCM strings.

Therefore, carbon composite materials are non-toxic to stromal cells and could be used as a carrier for the development of three-dimensional structures.