

Разработка перфузионной термостатируемой системы для культивирования стромальных клеток в составе трехмерных пористых носителей

Е.А. ЛЕБЕДА, Ю.А. ПЕТРЕНКО

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Development of Thermostatted Perfusion System for Stromal Cell Culture Within Three-Dimensional Porous Scaffolds

E.A. LEBEDA, YU.A. PETRENKO

Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Тканевая инженерия – молодая мультидисциплинарная область биотехнологии, включающая культивирование клеток в составе трехмерных носителей на основе различных биоматериалов и направленная на создание *in vitro* функционирующих тканей для последующей имплантации. Обеспечение питания клеток в объеме носителя является сложной задачей, поскольку для ее решения необходимо использовать трехмерные структуры с заданной пористостью и механическими свойствами. В статичных условиях носители, покрываясь поверхностной пленкой из клеток, не заселяются полностью, что связано с недостаточной циркуляцией субстрата в глубине конструкции. На современном этапе применяют множество методик культивирования трехмерных биоинженерных конструкций с динамическими системами перемешивания или перфузии. Наиболее перспективным типом биореакторов для культивирования клеток в трехмерных пористых носителях являются перфузионные системы, позволяющие достигать более равномерного роста клеток по всему объему носителя, не влияя при этом на их жизнеспособность.

Цель работы – разработка перфузионной термостатируемой системы для культивирования стромальных клеток в трехмерных пористых носителях.

Разработанная модель биореактора основана на перфузии среды между двумя емкостями через пористый образец под действием собственного веса. Уровни жидкости поддерживаются с помощью перфузионного насоса, управляемого магнитными переключателями и магнитным поплавком. Применение управляющей системы позволило снизить нагрузку на перфузионный насос и использовать очень маленькие скорости перфузии среды сквозь образец. Стерильность системы обеспечивается полностью замкнутым циклом и одноразовыми составляющими. Стабильная температура поддерживается с помощью термостата, представляющего собой теплоизолированную камеру со встроенным нагревательным элементом с терморегулятором и системой принудительной конвекции.

Испытания перфузионной системы показали ее бактериальную безопасность и отсутствие негативного влияния на механические свойства трехмерного пористого носителя. При этом распределение клеток в объеме носителя при культивировании с использованием данной системы, оцененное с помощью индикатора метаболической активности клеток МТТ, было более полноценным, чем в статичных условиях. Показана возможность проведения с помощью разработанной модели перфузионной термостатируемой системы эффективного культивирования стромальных клеток в объемных носителях для тканевой инженерии.

Tissue engineering is a young multidisciplinary area of biotechnology, which includes the cultivation of cells in the three-dimensional carriers based on various biomaterials and directed to the creation of functioning tissues *in vitro* for subsequent implantation. Taking into account the need to use three-dimensional structures with a given porosity and mechanical properties, the maintaining of optimal media supply for cells in the volume of the carrier is a difficult task. In static conditions, due to lack of circulation of the substrates at whole volume of the carrier, cells do not fully populate the scaffold, forming a capsule on its outer surfaces. Nowadays there is a wide range of methods for cultivation of cells within bioengineered three-dimensional structures with the application of dynamic mixing or perfusion systems. The most promising types of bioreactors that allow cultivating cells in three-dimensional porous carriers are perfusion systems. These systems allow to obtain more uniform cell distribution and growth throughout the volume of the carrier, while not affecting the viability of cells.

This study was directed on the development of perfusion, thermostatically controlled system for the culturing of stromal cells within three-dimensional porous scaffolds.

The model developed is based on the perfusion of the culture medium between two tanks through the porous sample under its own weight. Fluid levels are maintained with the help of perfusion pump and controlled by magnetic switches and magnetic float. Application of the control system allows reducing the load on the perfusion pump and using a very small rate of perfusion medium through the sample. Sterility was maintained by a fully closed-loop and the use of disposable components. A stable temperature was maintained with a thermostat with thermally insulated chamber and controlled built-in heating element.

Experimental testing of this perfusion system has shown its bacterial safety and the absence of negative effects on the mechanical properties of three-dimensional porous scaffolds. Additionally, the distribution of cells within the volume of the carrier when cultured using this system and estimated using cells metabolic activity indicator MTT, was more uniform than in static conditions. Thus, the developed model of thermostatically controlled perfusion system showed the possibility of its application for the effective cultivation of stromal cells in three-dimensional scaffolds for tissue engineering.