

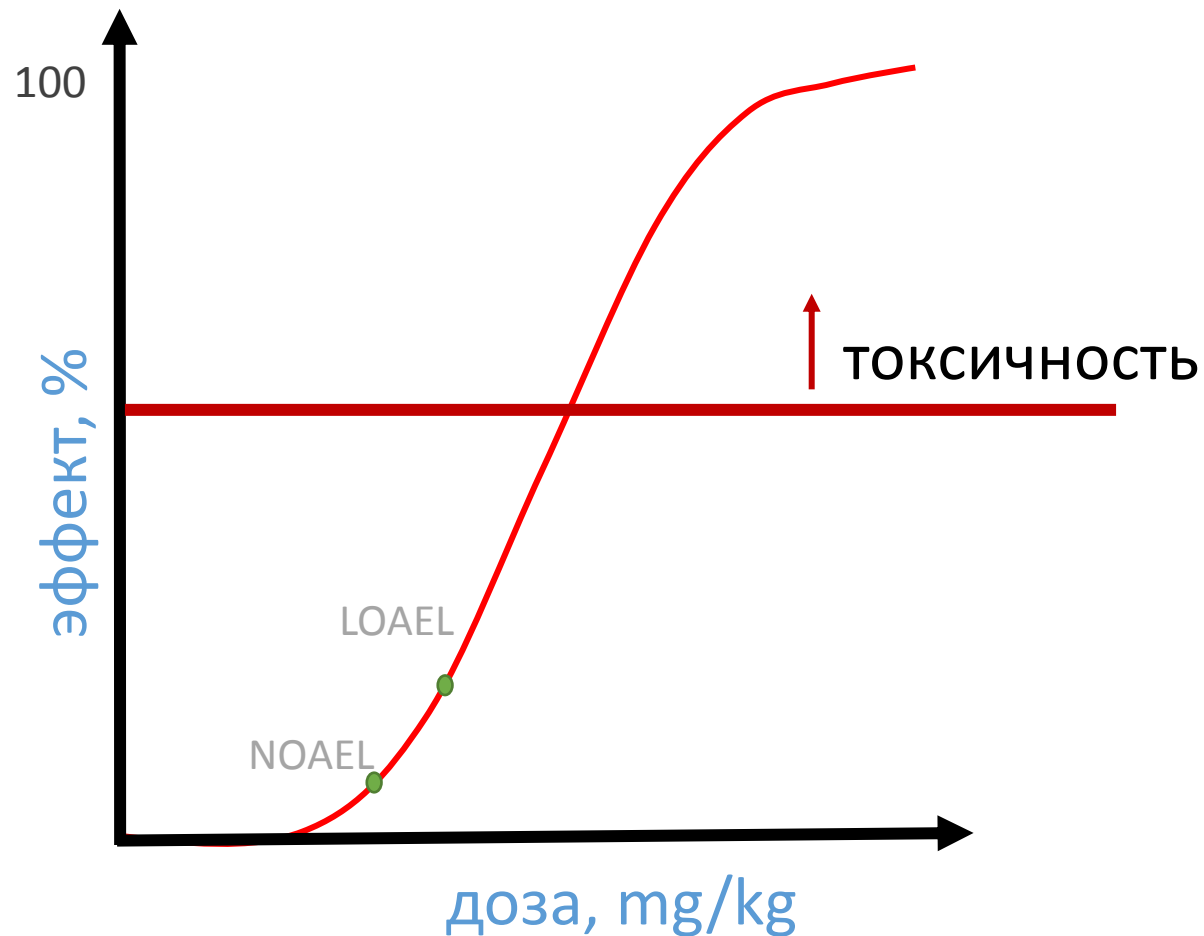


Разработка платформы внутриклеточной доставки лекарственных средств на основе многослойных полиэлектролитных микро и нанокапсул

Кирилл Викторович Лепик

Первый Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет имени ак. И.П. Павлова

Актуальность

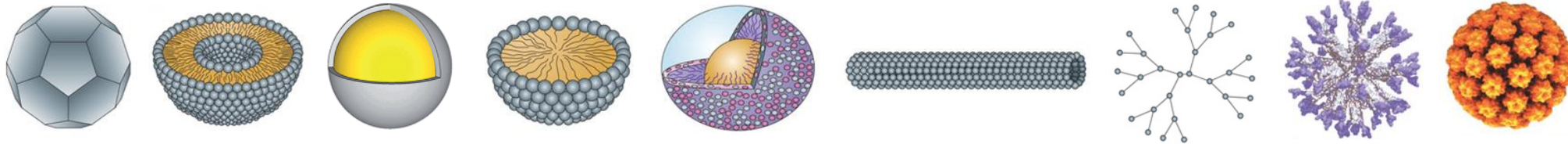


Проблемы традиционных лекарственных форм

- Направленность действия
- Устойчивость препарата
- Распределение
- Стабильность концентрации
- Биосовместимость

Нано- и микроформуляции

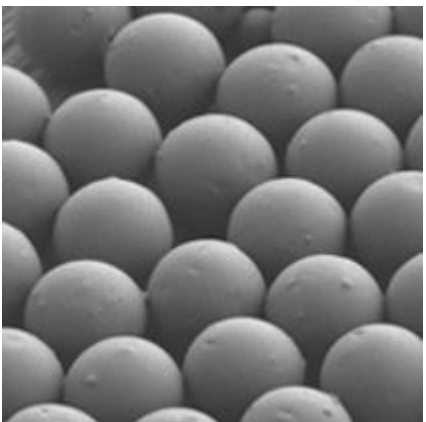
На сегодняшний день создан широкий спектр нано- и микроразмерных носителей, способных оптимизировать доставку лекарственного препарата



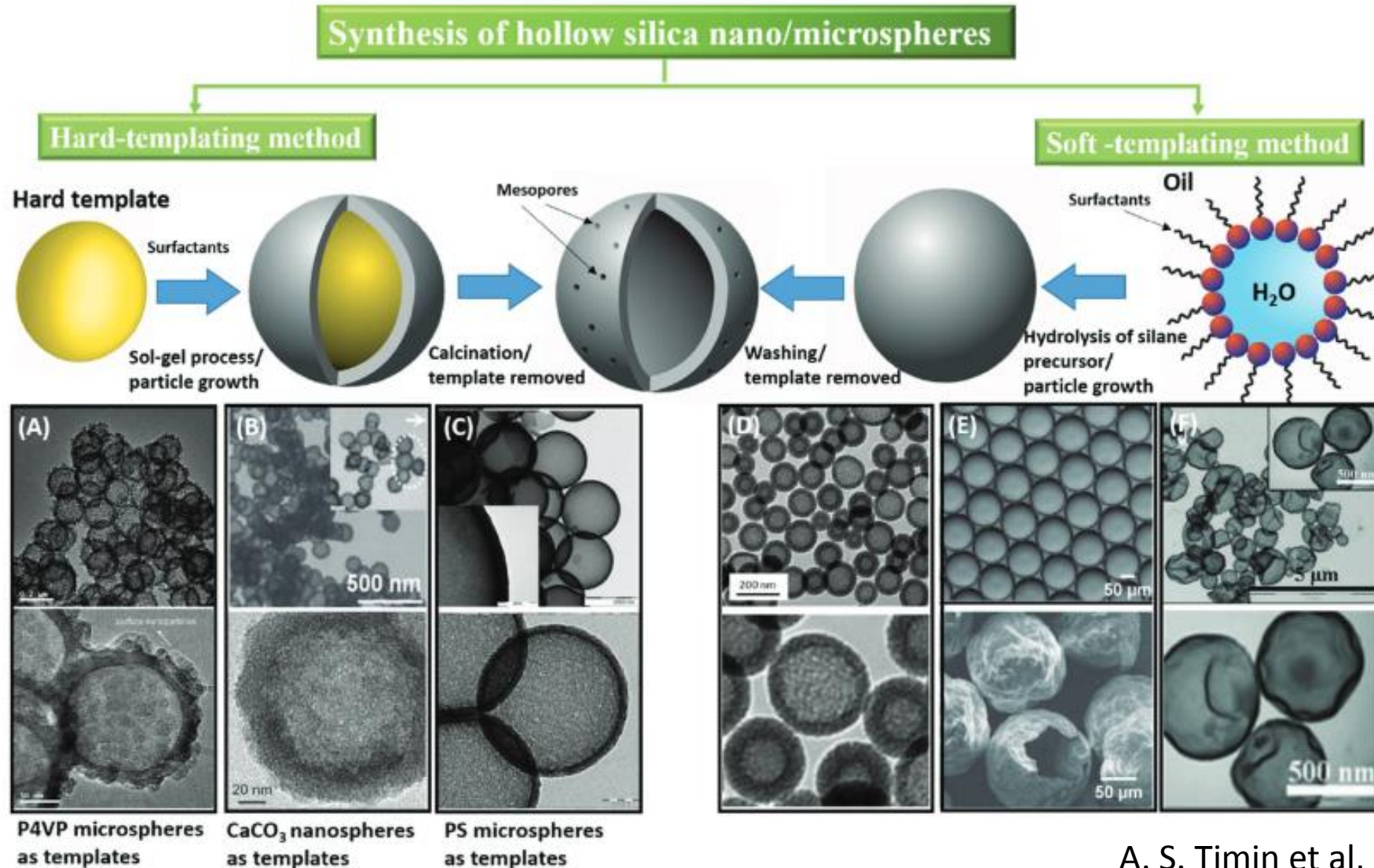
Многослойные
полиэлектролитные
микрокапсулы

Основные преимущества:

- Произвольный размер, форма, толщина стенки
- Биodeградируемые
- Возможности функционализации: магнитные частицы, антитела, чувствительность к pH, контролируемая проницаемость, чувствительность к физическим факторам (свет, ультразвук)
- Простое и не дорогое производство

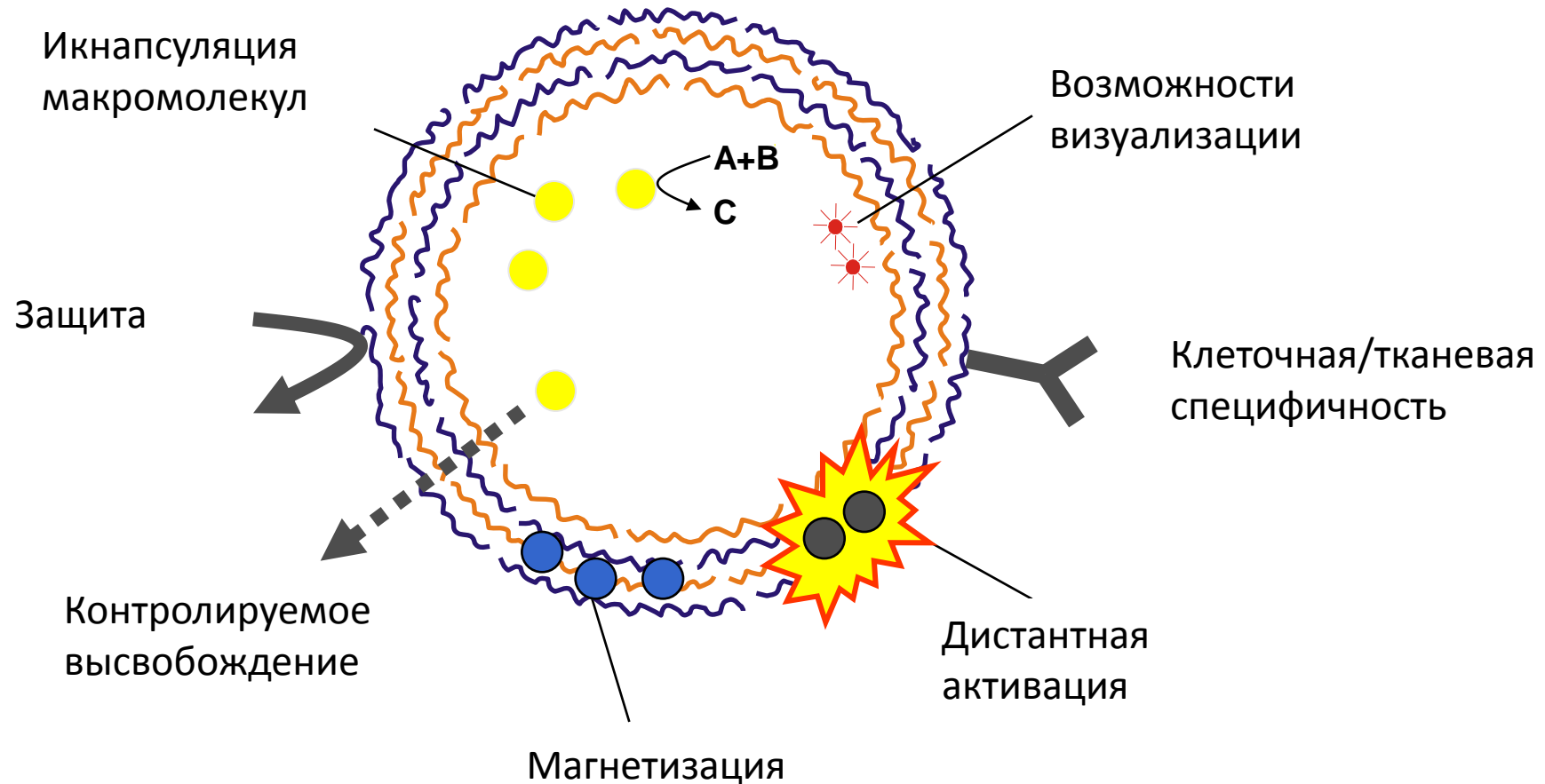


Золь-гель технология получения и функционализации микрокапсул



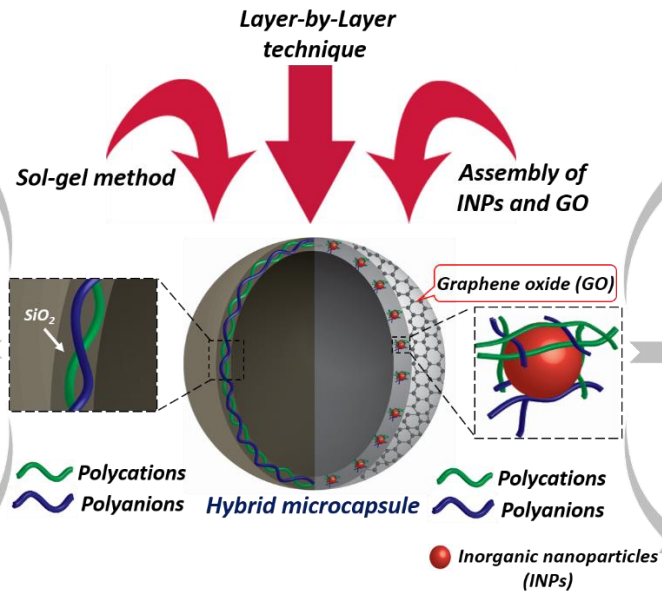
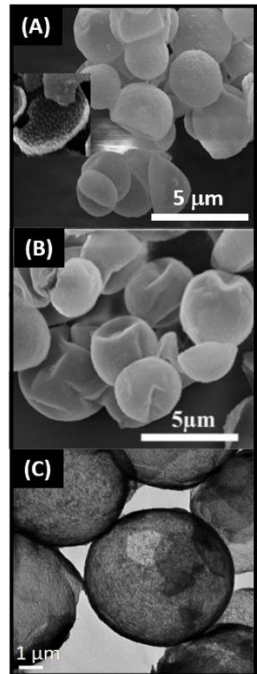
Наша технология

Широкие возможности модификации

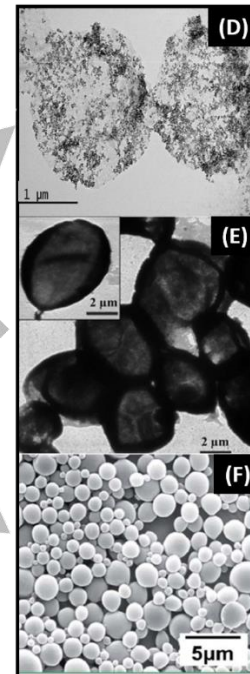


Функционализация капсул

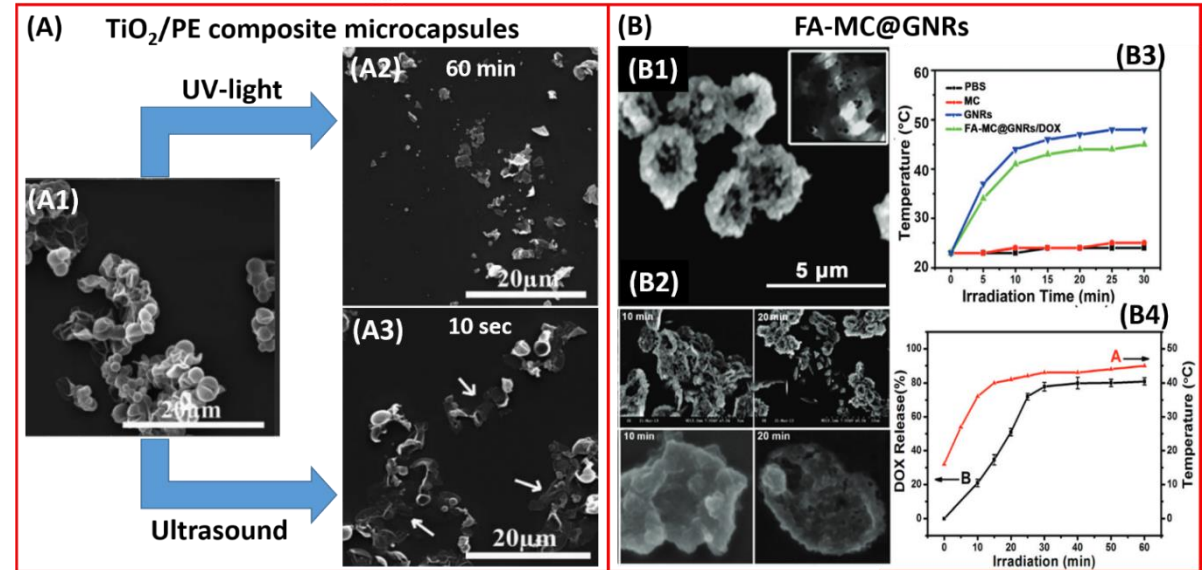
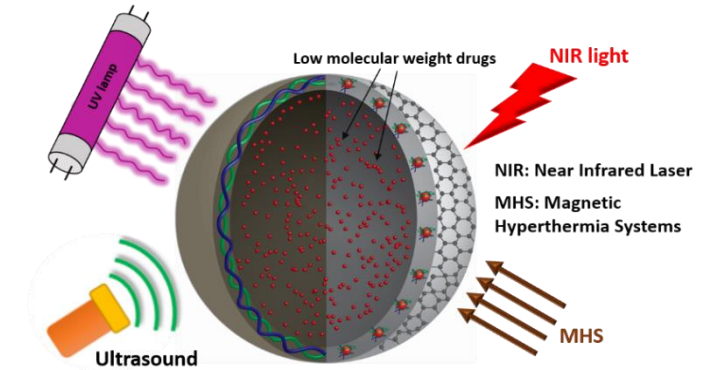
Hybrid microcapsules after sol-gel coating



Hybrid microcapsules assembled by polymers, INPs and GO

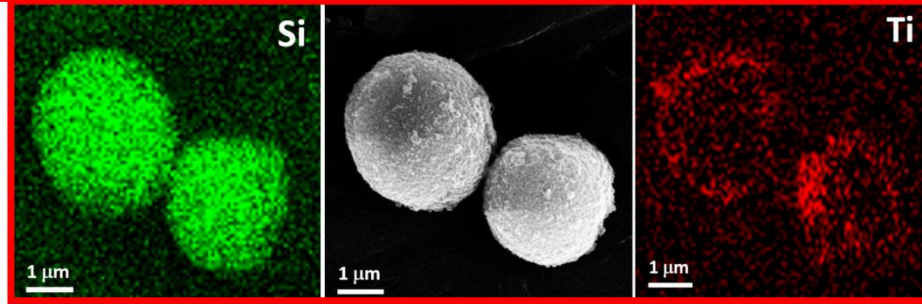


Multi-stimuli responsive controlled drug release from hybrid microcapsule

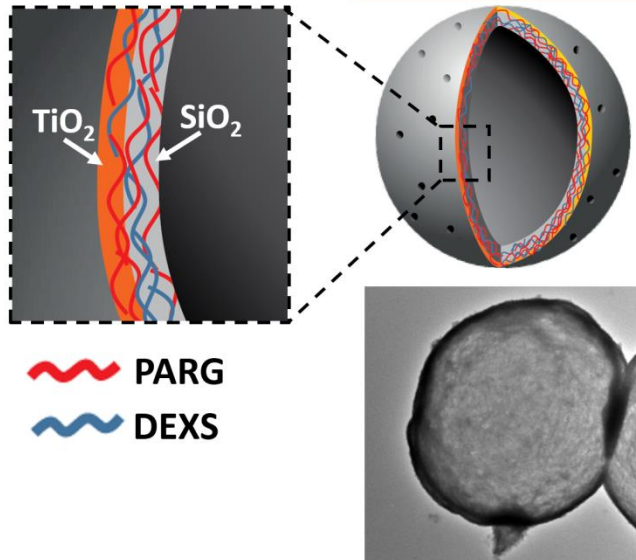


Triple-sensitive microcapsules for delivery of small molecules

SEM image of $\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$ -coated capsules with elemental mapping



$\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$ -coated capsule



— PARG
— DEXS

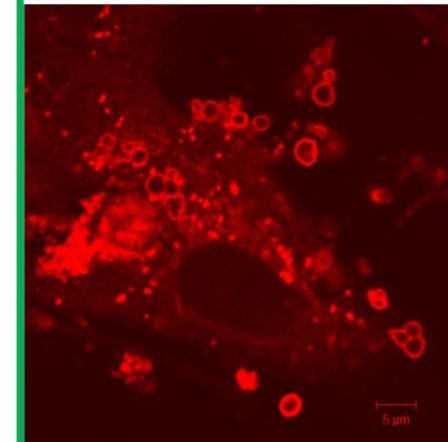
Intracellular degradation of capsules

UV-light

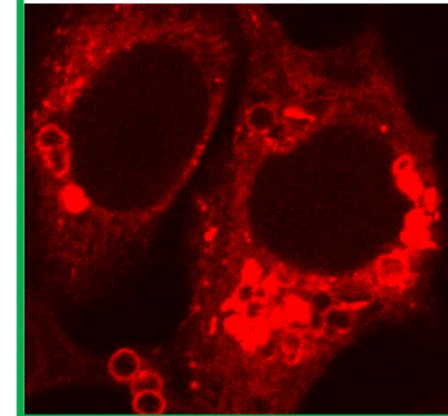
Ultrasound

Enzymatic treatment

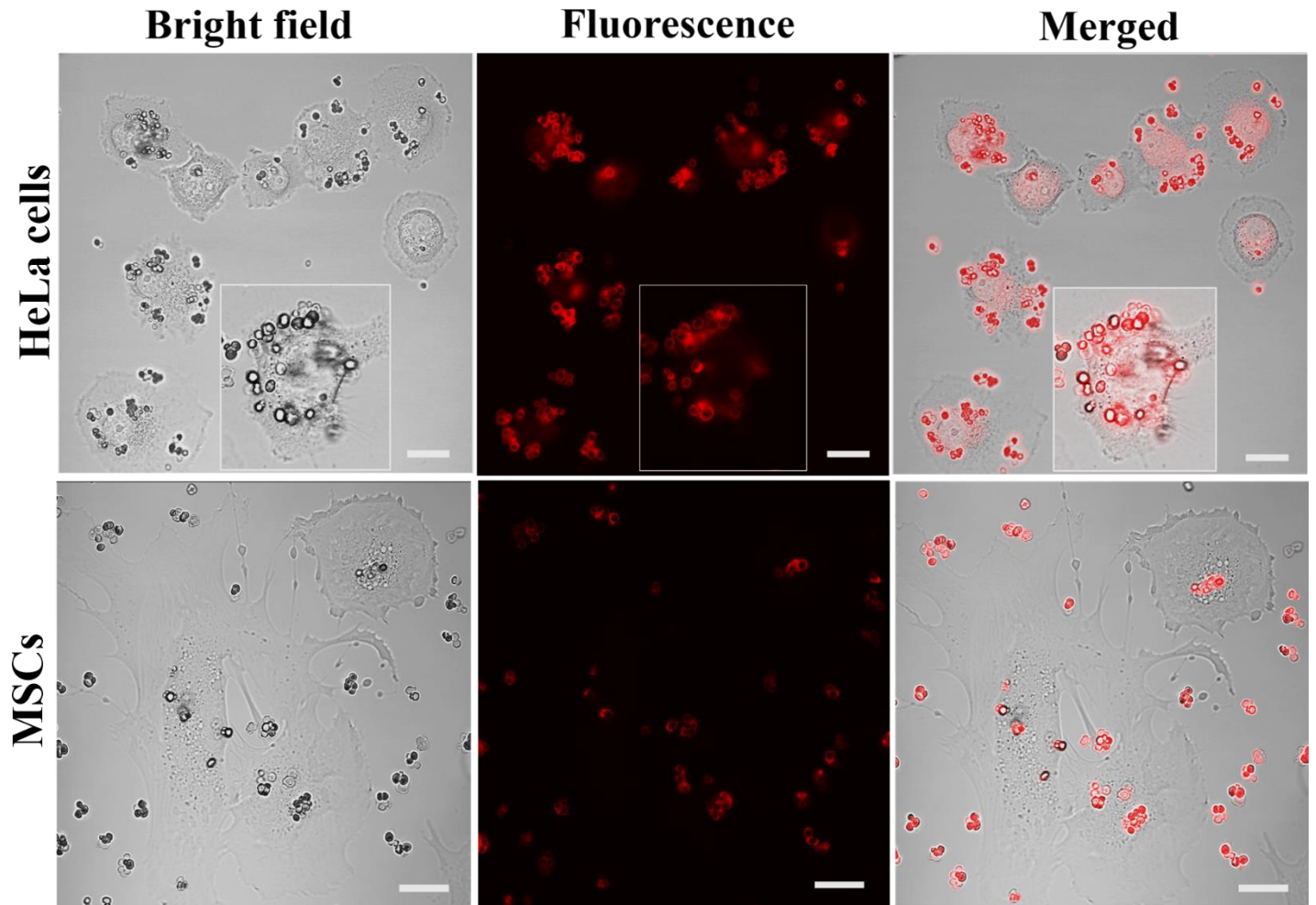
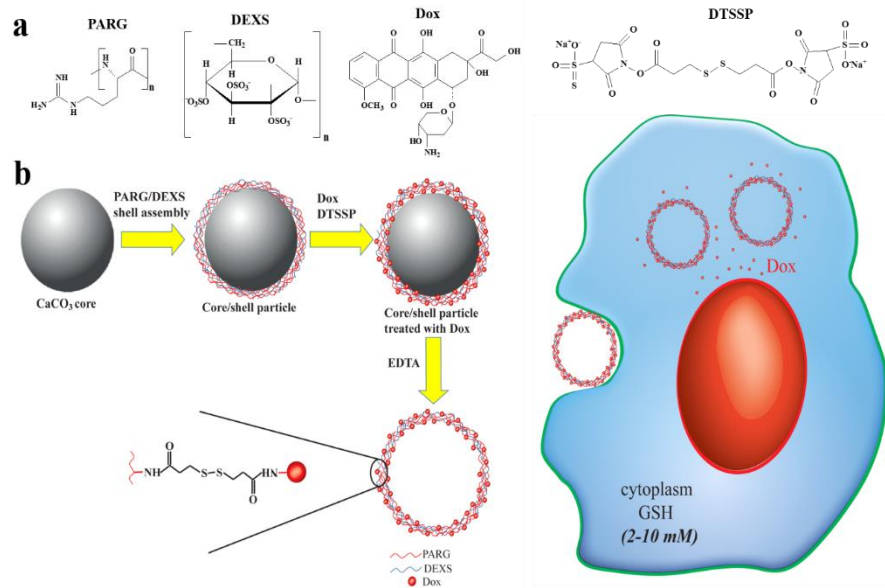
MSCs



HeLa cells

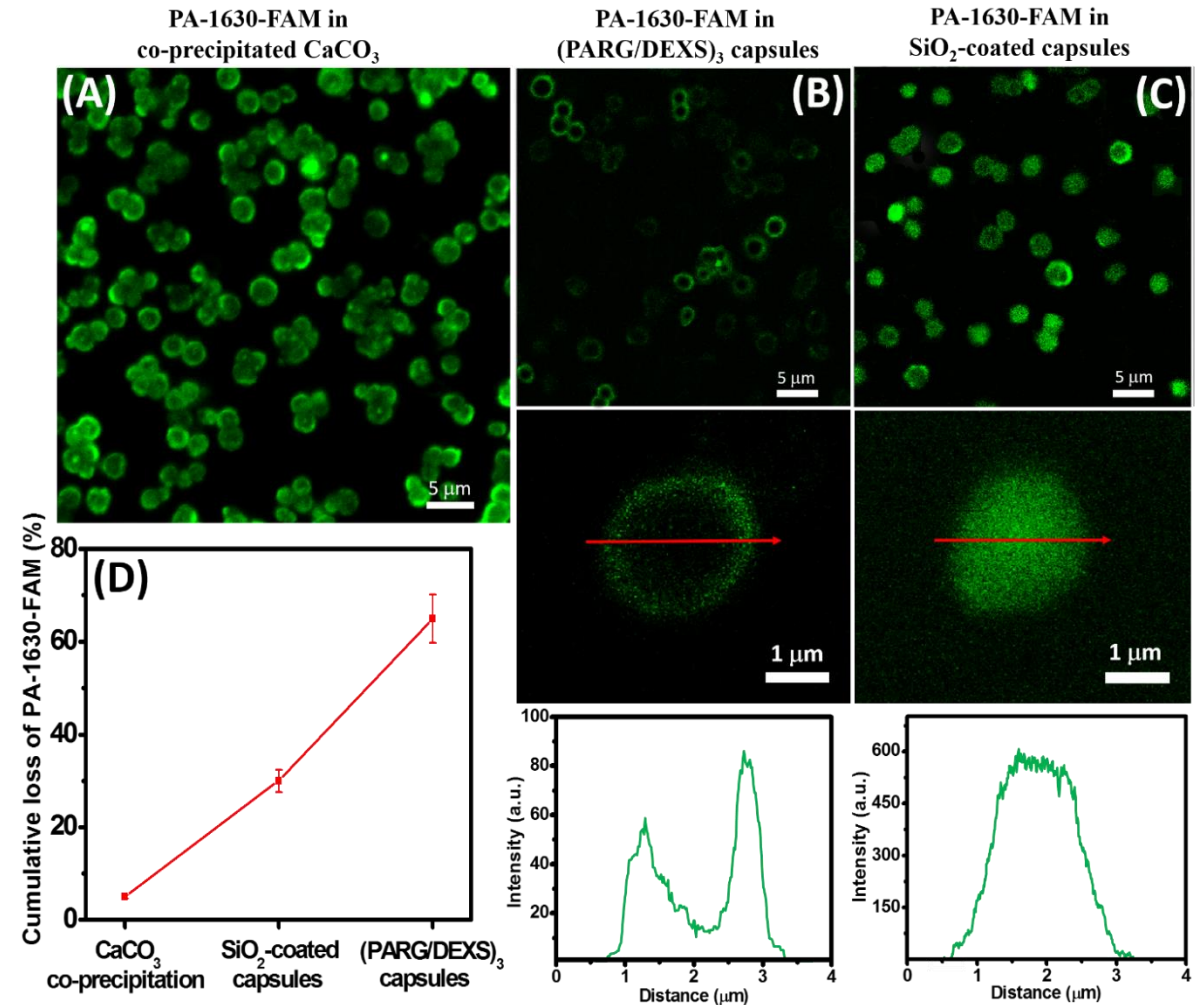
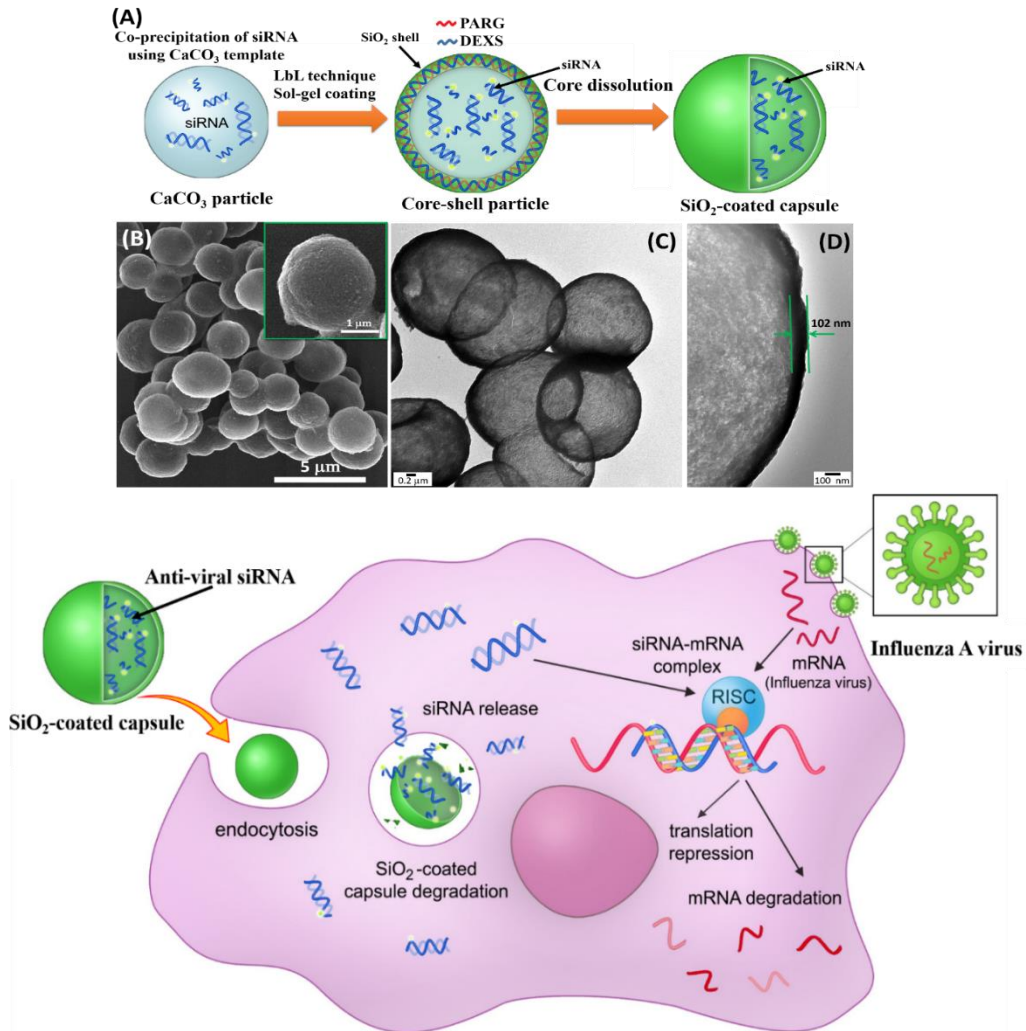


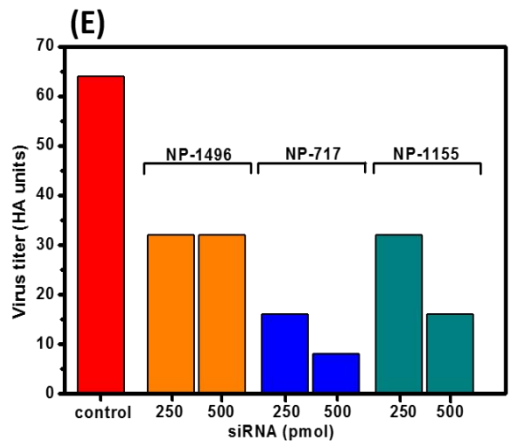
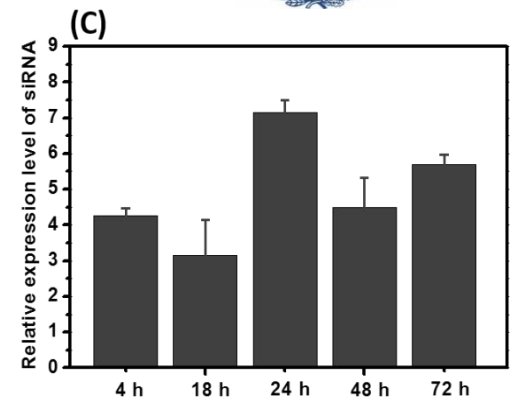
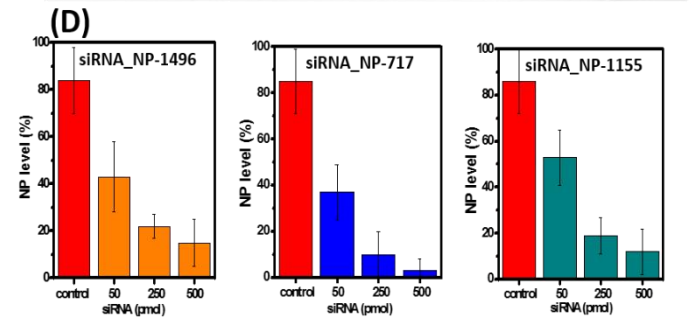
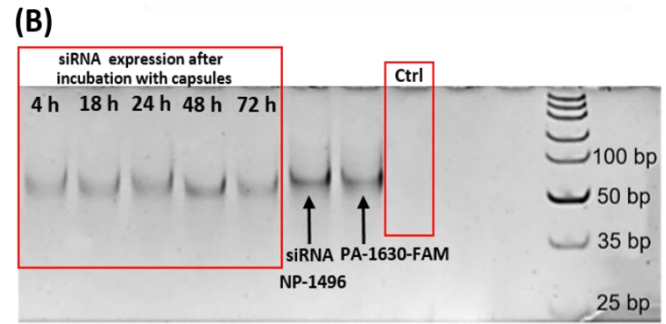
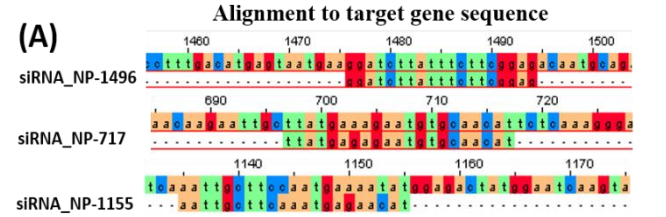
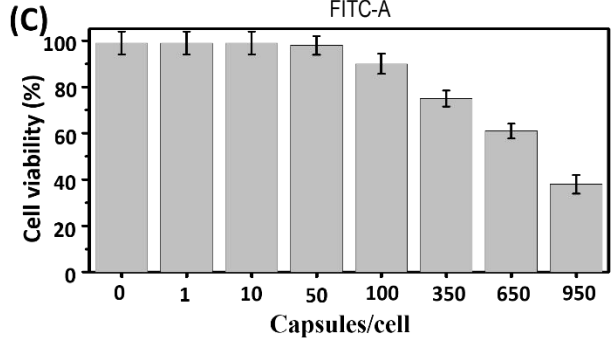
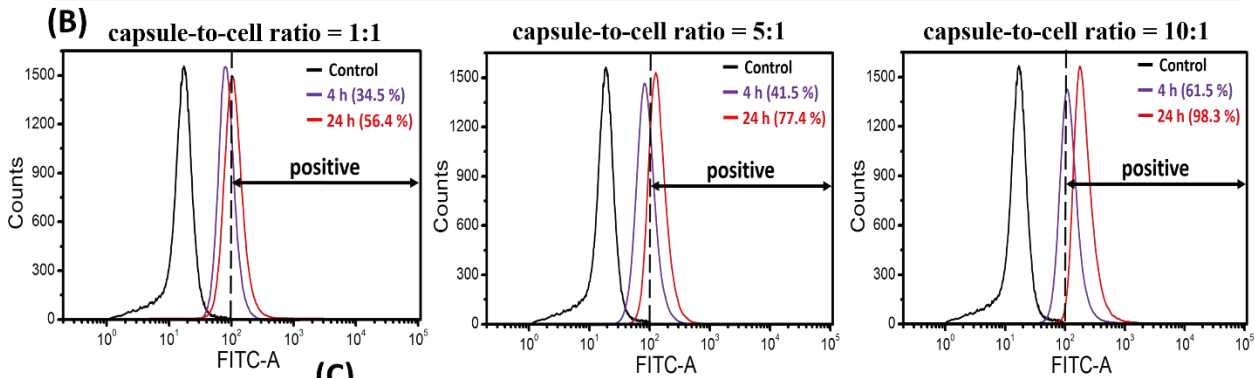
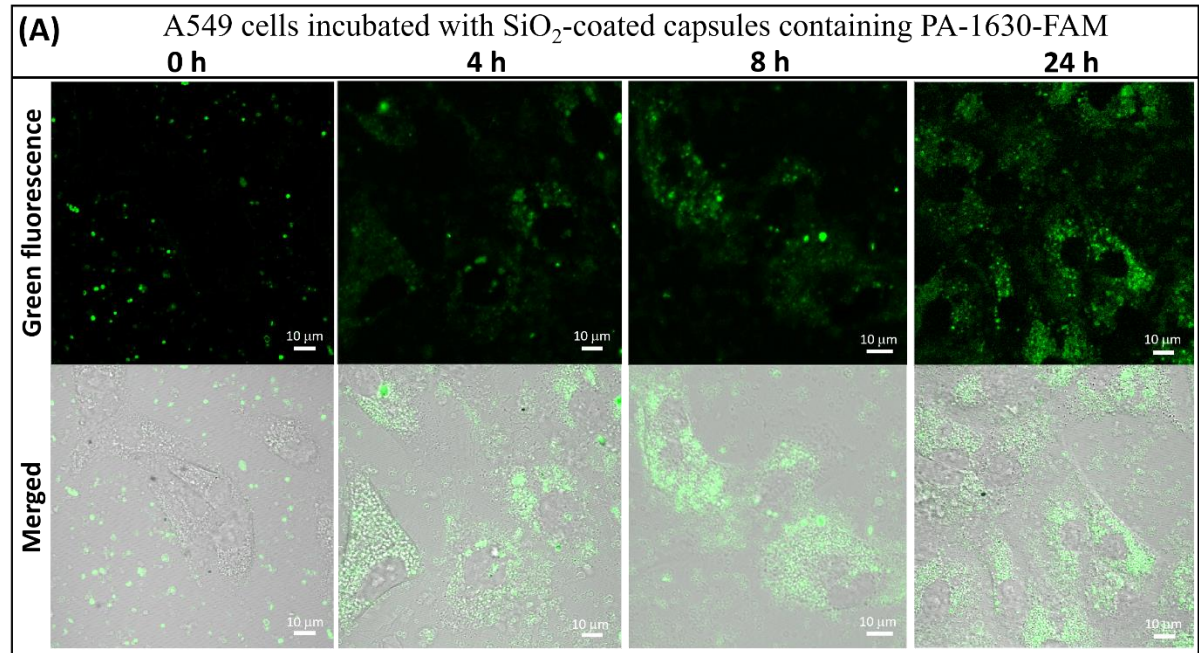
Глутатион-чувствительное высвобождение доксорубина



Создание систем для переноса генетического материала

Инкапсулирование инструментов РНК-интерференции

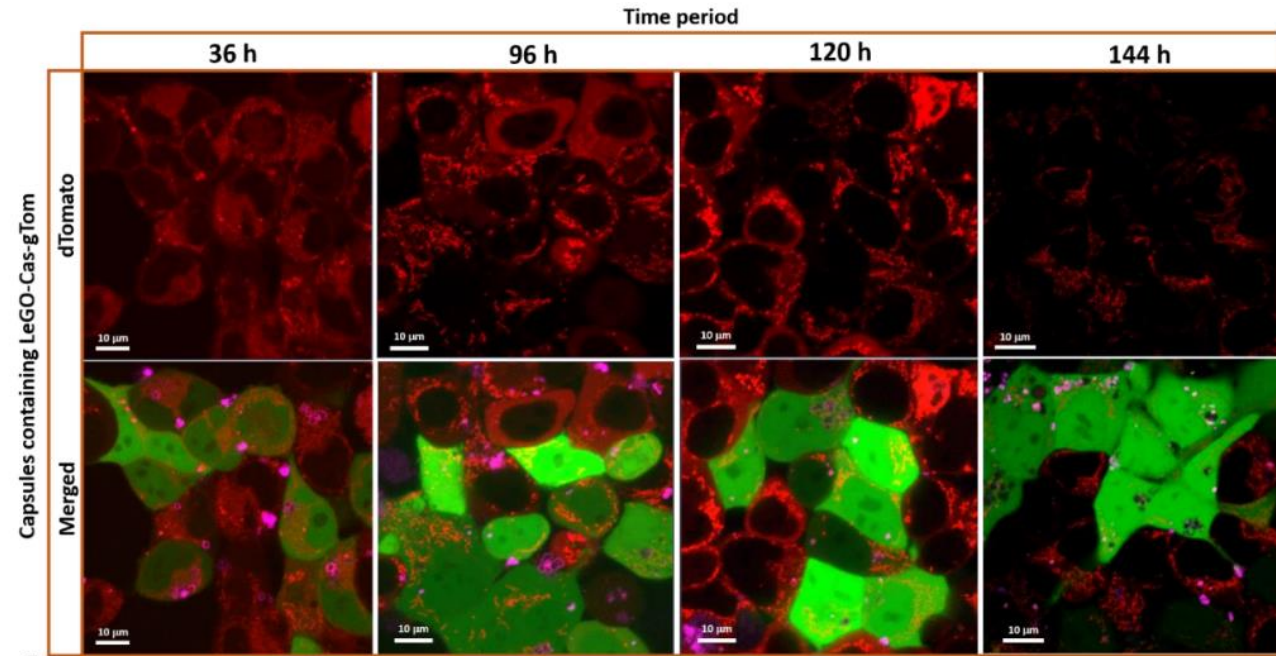
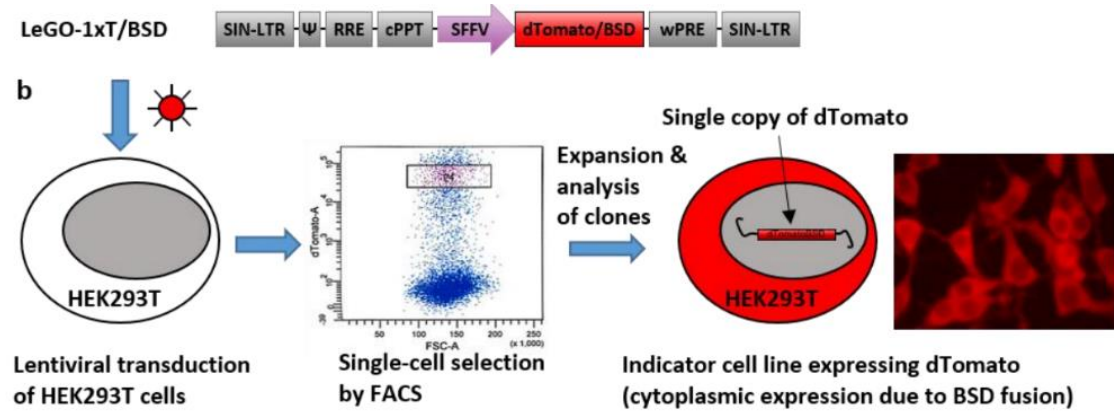
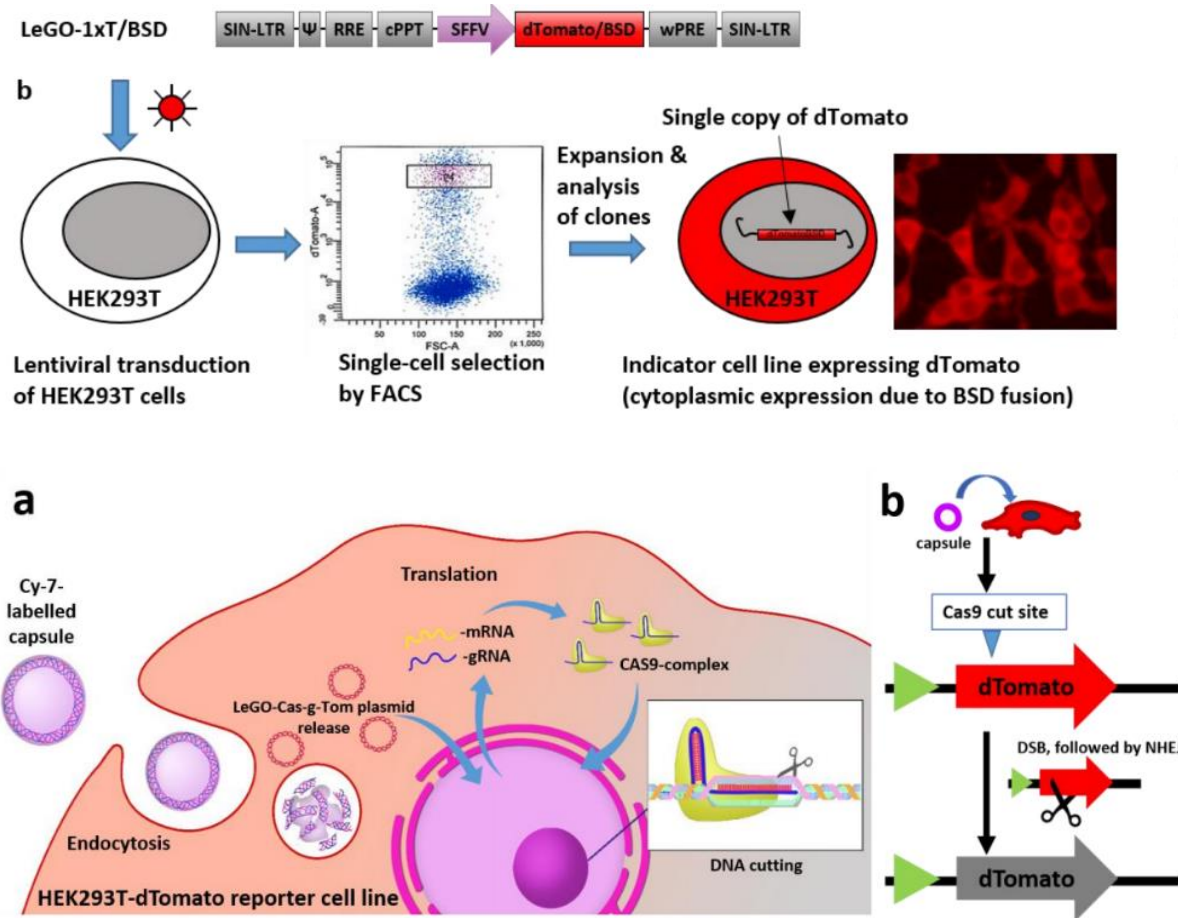




A) Схема связывания анти-вирусного siРНК с вирусным геномом; **B)** Результаты электрофореза; **C)** Уровень siРНК в клетках в различное время; **D)** Результаты иммуно-ферментного анализа **E)** Снижение вирусного титра для различных siРНК

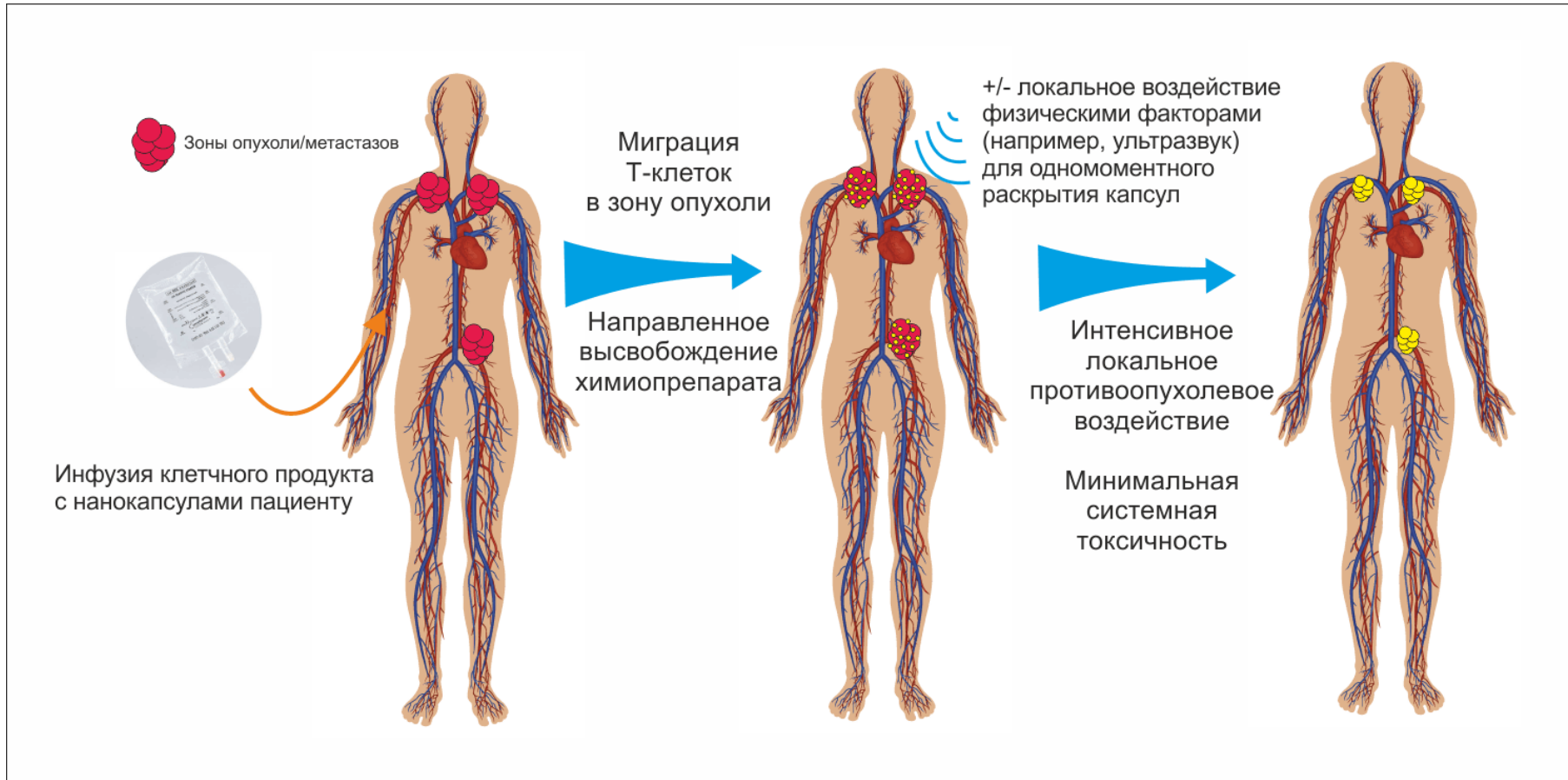
Доставка инструментов редактирования генома

Инкапсуляция компонентов системы CRISPR/Cas9



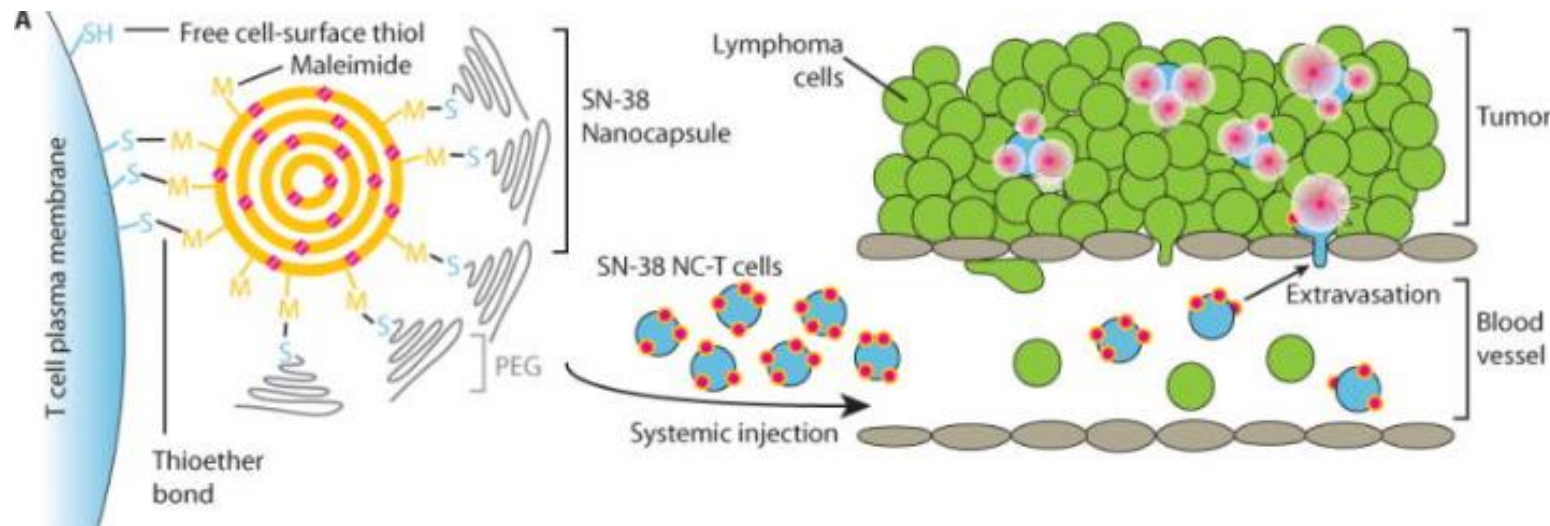
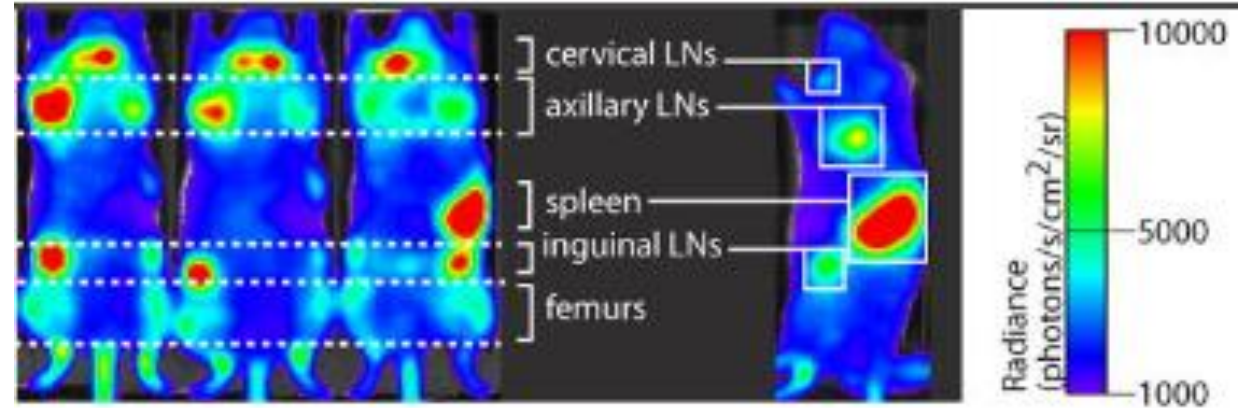
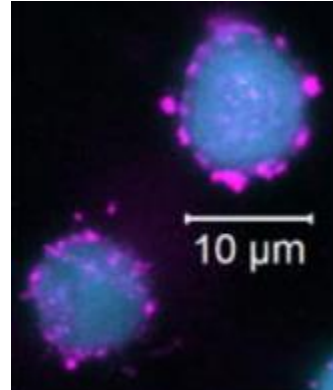
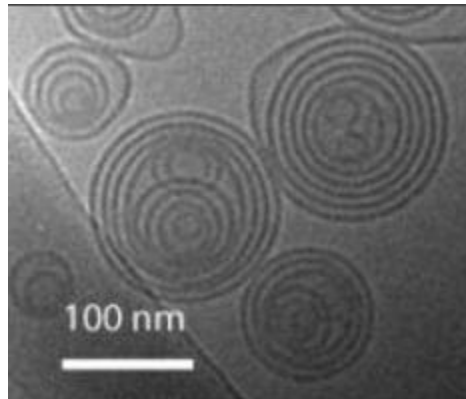
Эффективность редактирования 32%

Концепция активной доставки



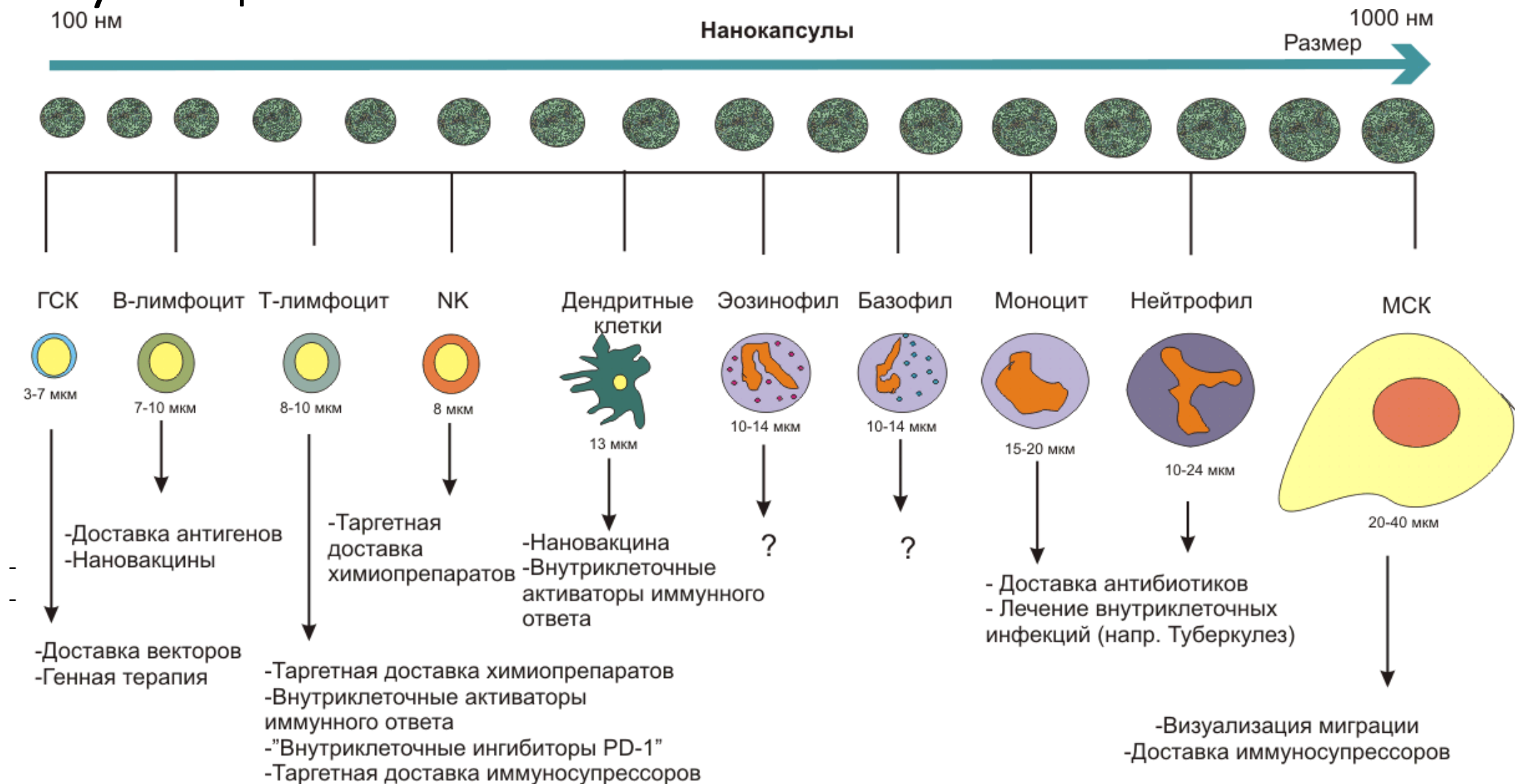
- Благодаря специфической миграции клеток-носителей, возможно локальное увеличение концентрации препарата в 30-100 раз по сравнению с системной

Активная доставка



- Специфическая миграция Т-лимфоцитов обеспечивает превосходство концентрации действующего вещества в лимфоузлах в 90 раз по сравнению с системной

Активная доставка с помощью клеточных популяций

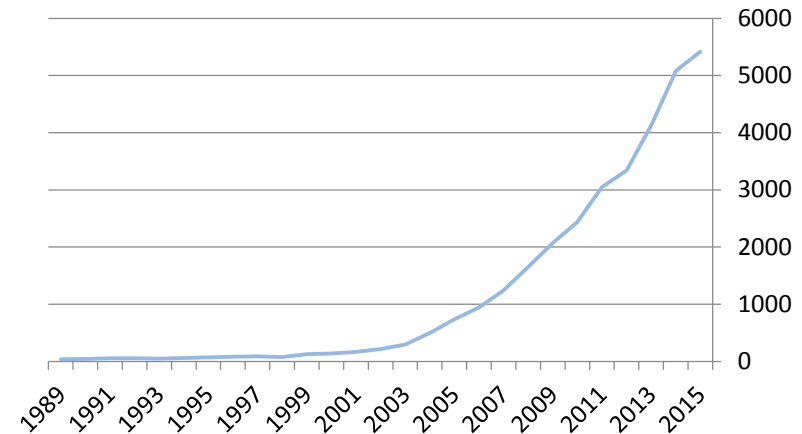


Мезенхимные стволовые клетки

Более **35000** статей о мезенхимных стволовых клетках в базе данных NCBI PubMed



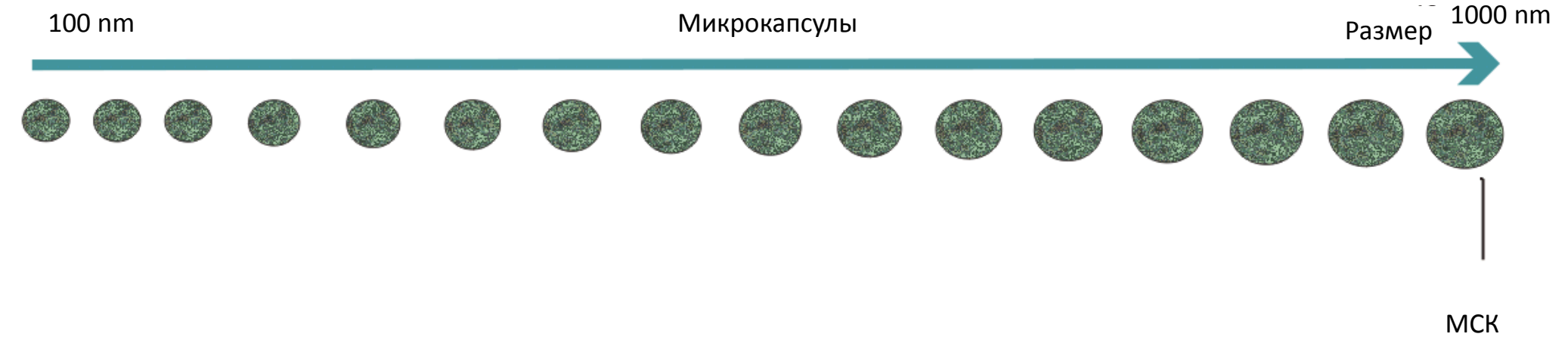
Исследовательская активность



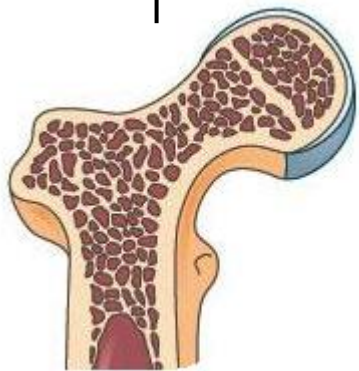
Более **450** зарегистрированных клинических исследований в области:

- Гематологии
- Кардиологии
- Неврологии
- Ревматологии
- и т.д.

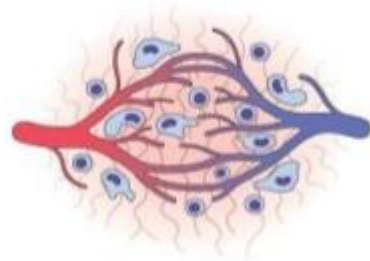
Возможности применения МСК



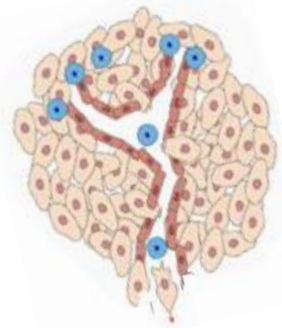
“Патотропизм” МСК



Костные



Очаги воспаления



Окружение опухоли

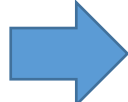
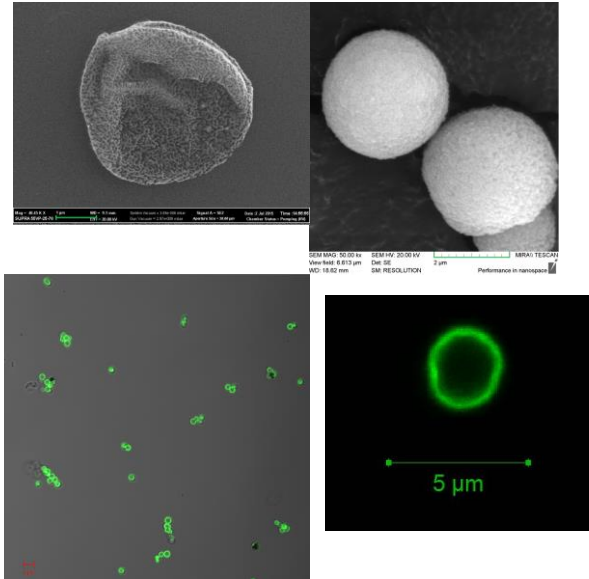


20-40 мкм

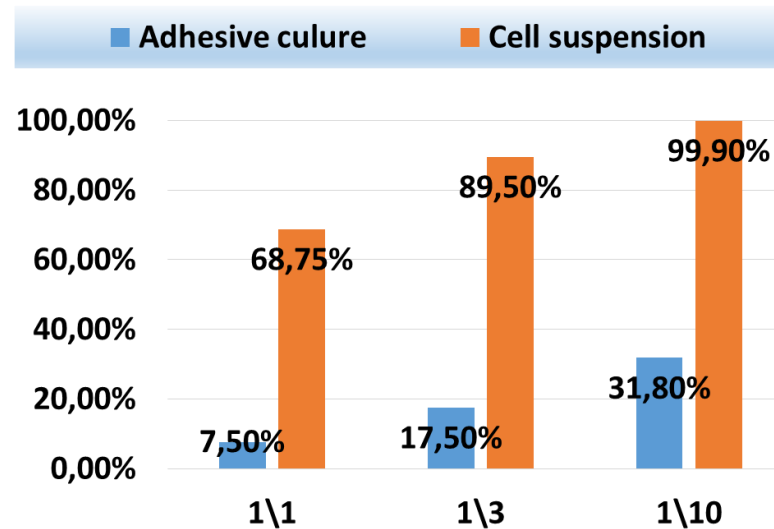
- Визуализация миграции
- Доставка лекарств
- Доставка клеток с помощью магнитного поля
- Контроль клеточных функций

...

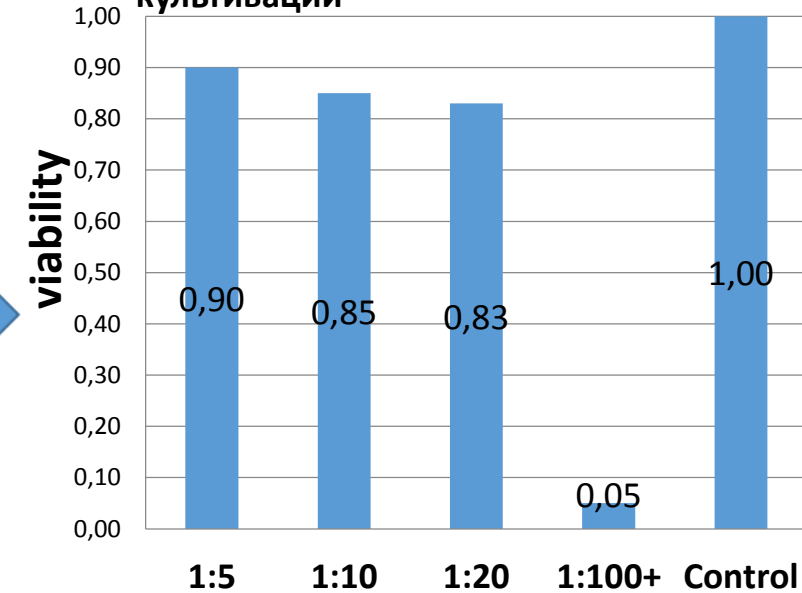
In vitro исследования



Microcapsules uptake efficacy

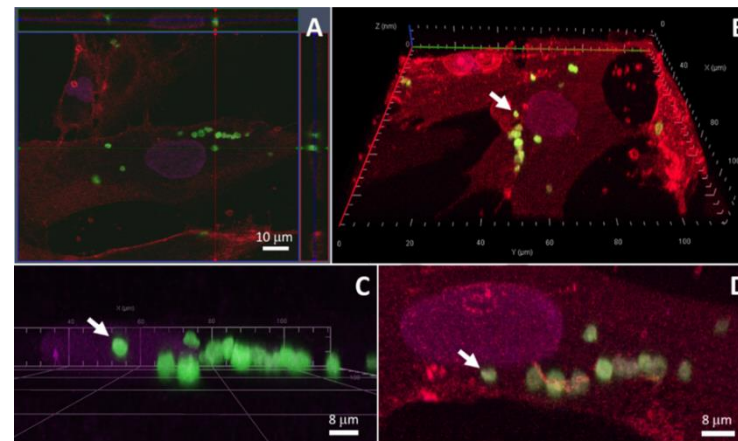


Жизнеспособность после 24 часов культивации



3 мкм микрокапсулы,
меченые FITC, и
магнитными
наночастицами

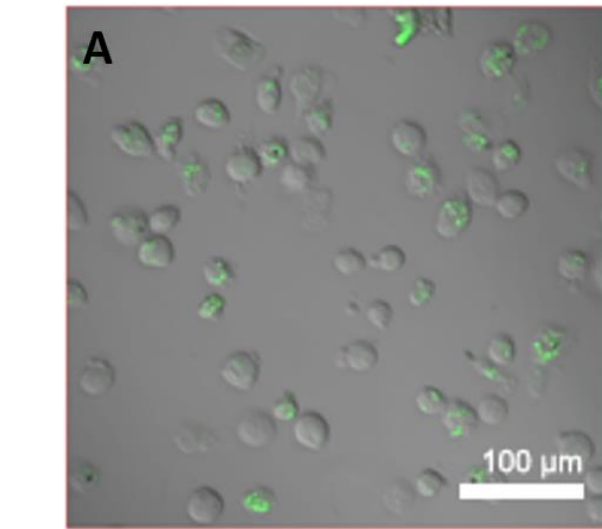
Эффективность захвата до 99%



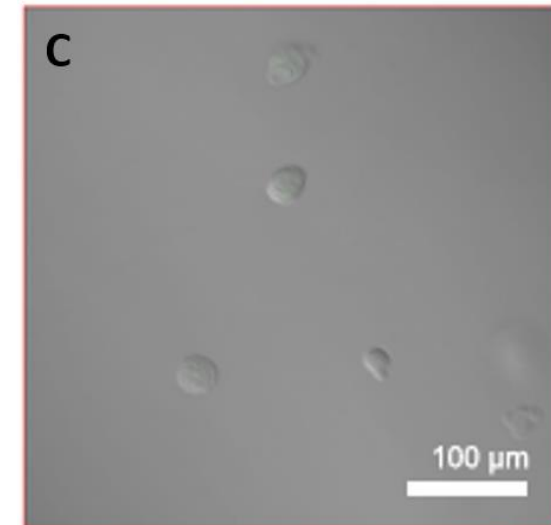
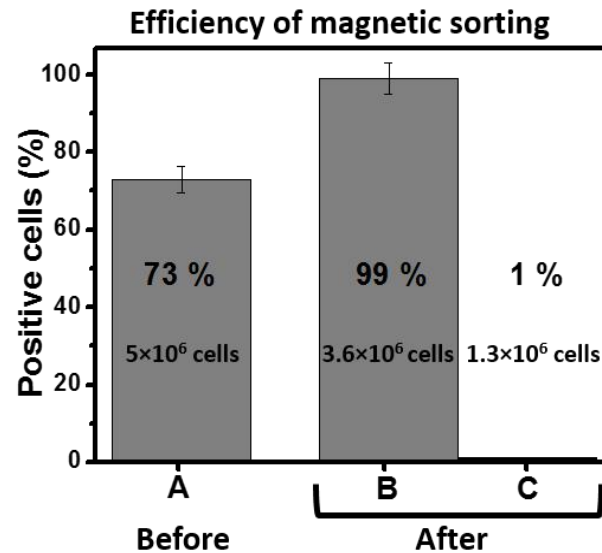
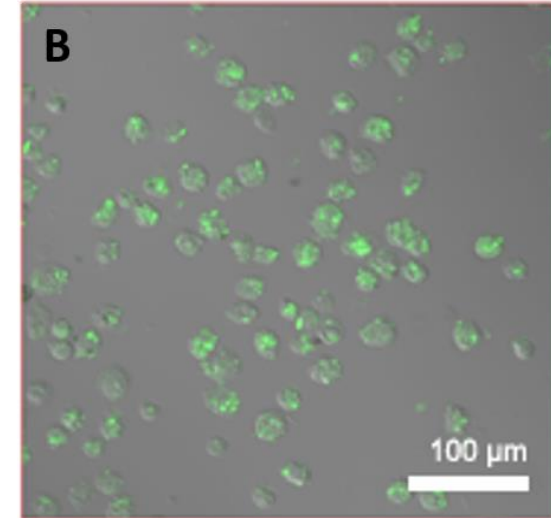
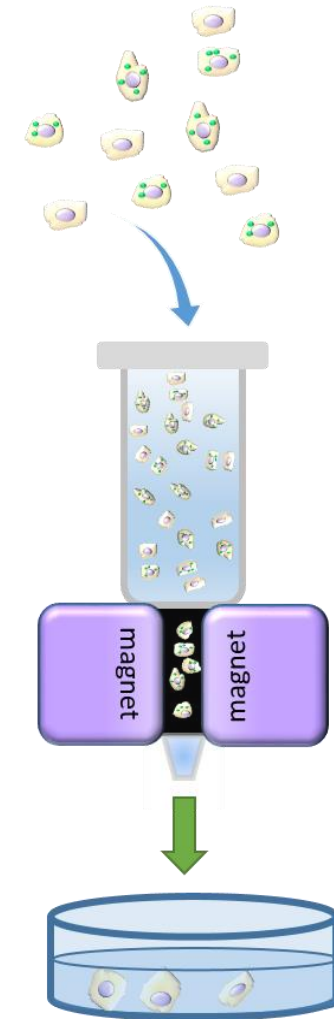
- Низкая токсичность
- Выраженная токсичность только при крайне высокой концентрации микрокапсул

Магнитная сепарация

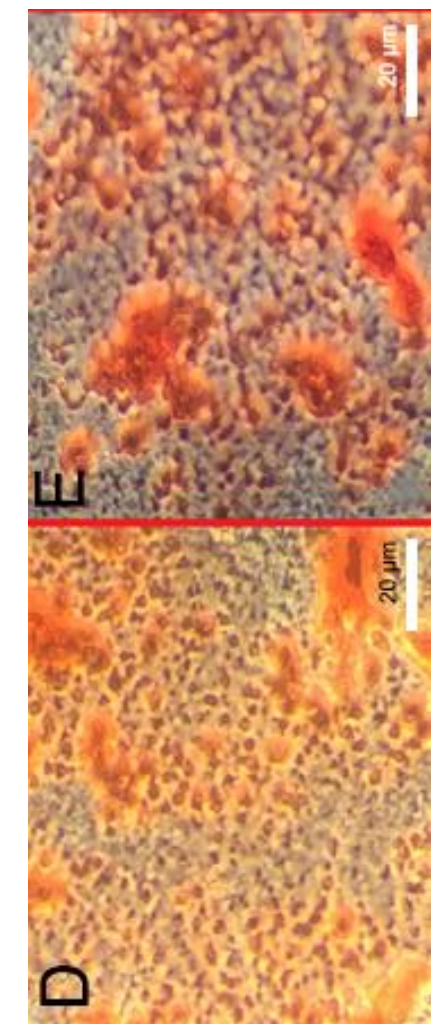
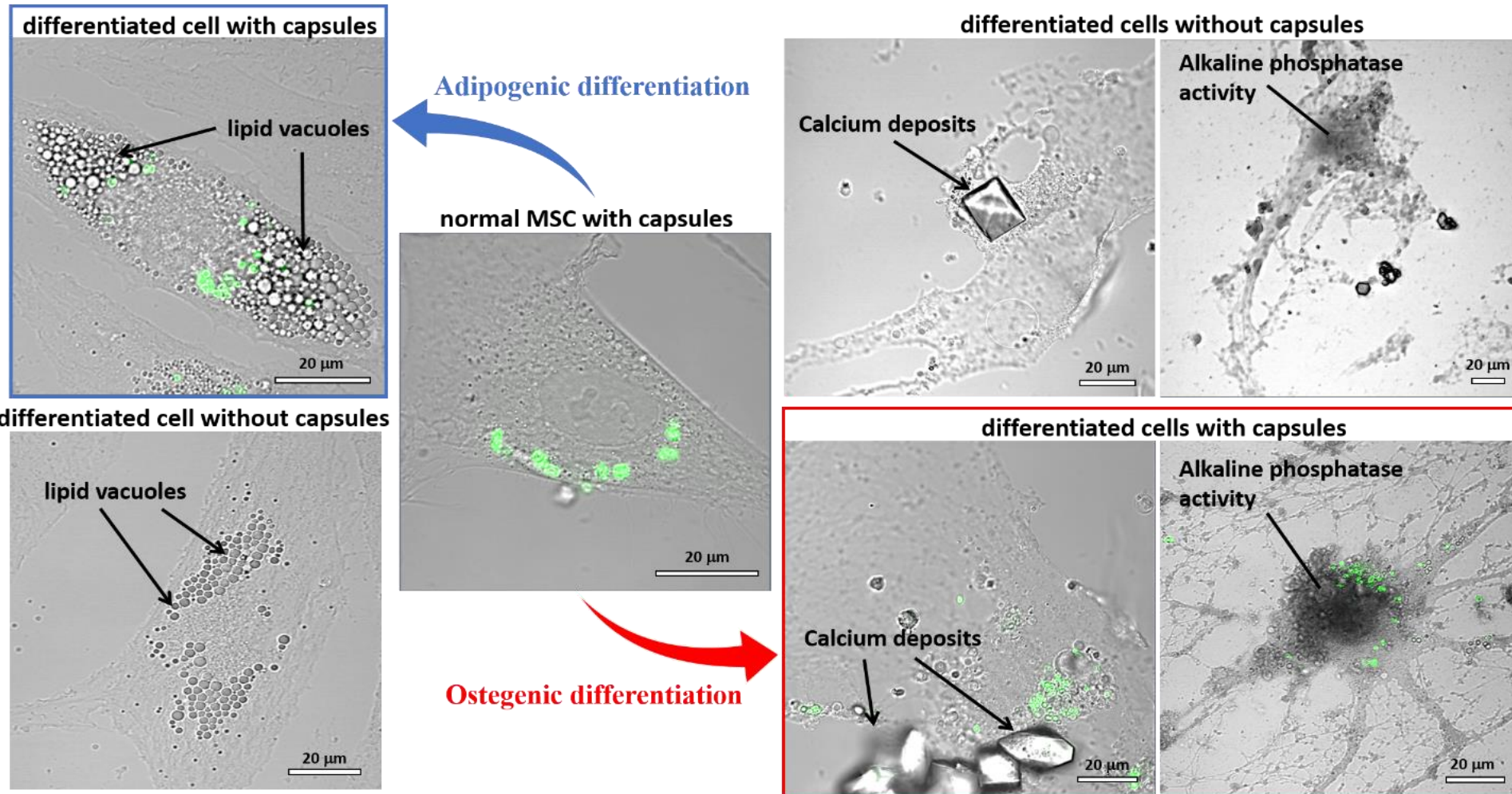
- Клетки захватившие микрокапсулы, меченые магнитными частицами могут быть выделены с высокой эффективностью при помощи MACS системы
- Лишь одной капсулы достаточно для эффективной сепарации



Magnetic sorting process

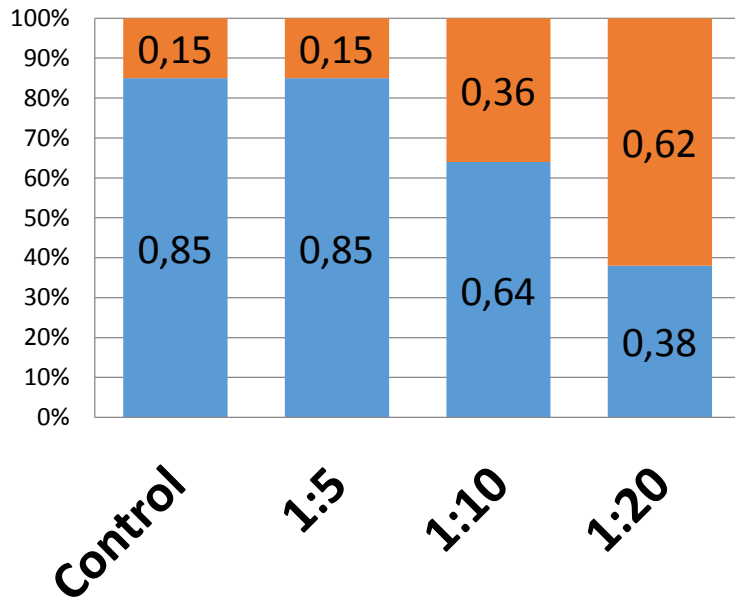


Влияние на способность к дифференцировке

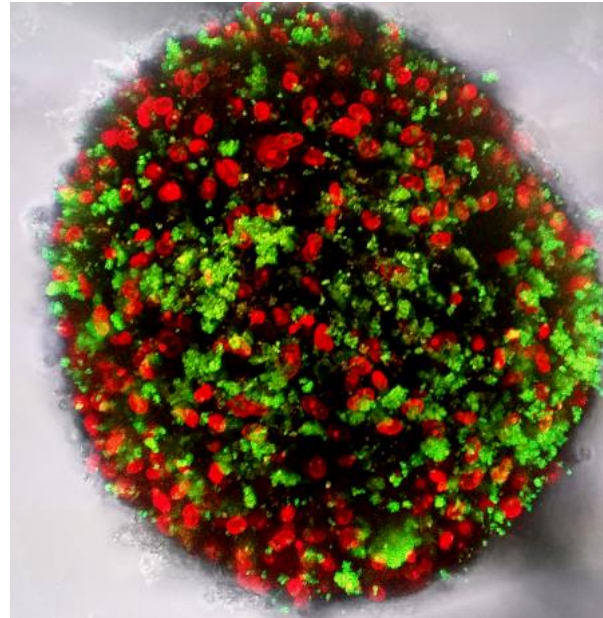


Способность к остеогенной и адипогенной дифференцировке МСК после ассоциации с микрокапсулами не снижена

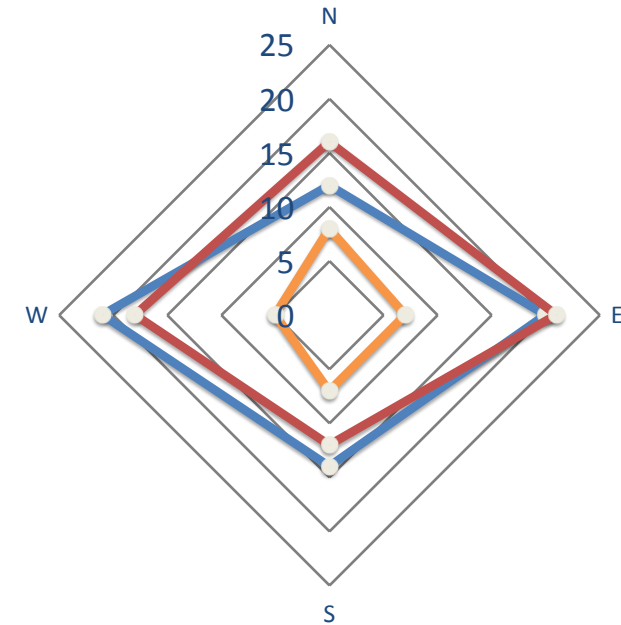
Влияние на адгезию и миграцию



Соотношение **адгерентных** and **суспензионных** клеток через 24 часа инкубации



Формирование межклеточных контактов не нарушено



- control 1:3 1:10
- Дозозависимое иснижение миграционной активности
- При умеренном соотношении клетки:капсулы (1:3) без значимых различий по сравнению с контрольной группой

Заключение

- Заключение: микро и нанокапсулы – эффективный инструмент доставки широкого спектра молекул с обширными возможностями функционализации и низкой токсичностью
- МСК демонстрируют активную интернализацию 3 мкм микрокапсул, определены оптимальные условия захвата.
- Захват умеренного количества микрокапсул не оказывают значимого влияния на биологические свойства МСК *in vitro*.
- Активная доставка лекарственных препаратов при помощи клеточных популяций может открыть новые перспективы таргетной терапии
- Продолжается оптимизация платформы



Спасибо за внимание!



Наша команда:

ПСПбГМУ им. ак. И.П.Павлова

- Альберт Муслимов
- Владислав Сергеев
- Ольга Епифановская
- Мария Окилова
- Алена Шакирова
- Иван Моисеев
- Олег Галибин
- Александр Вилесов
- Борис Афанасьев

Томский Политехнический Университет

- Александр Тимин

НИИ Гриппа

- Александра Петрова
- Андрей Васин

Санкт-Петербургский Политехнический Университет им. Петра Великого

- Игорь Радченко

Queen Mary University of London

- Глеб Сухоруков

University Hamburg-Eppendorf

- Boris Fehse

Кирилл Лепик

Lepikkv@gmail.com