

Functionalization of bone marrow mesenchymal stromal cells by multifunctional capsules for targeted drug delivery

Alexander S. Timin ^{1,2}, Albert R. Muslimov ¹, Oleksii O. Peltek ³, Mikhail V. Zyuzin ⁴, Olga S. Epifanovskaya ¹, Vladislav S. Sergeev ¹, Anna A. Dotsenko ¹, Timofey E. Karpov ³, Igor S. Sergeev ³, Alexander A. Goncharenko ³, Yana V. Tarakanchikova ⁵, Kirill V. Lepik ¹, Gleb B. Sukhorukov ³, Boris V. Afanasyev ¹

¹ First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

² Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation

³ Peter The Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russian Federation

⁴ Department of Nanophotonics and Metamaterials, ITMO University, St. Petersburg, Russian Federation

⁵ St. Petersburg Academic University, St. Petersburg, Russian Federation

Contact: Alexander S. Timin

E-mail: a_timin@mail.ru

Introduction and goals

The aim of this work is to investigate the possibilities of usage of multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) as a platform for delivering drugs which are contained in hybrid polymeric microcapsules. MMSCs are a cell population with high potential which due to the phenomenon of pathotropism can solve the problem of target drug delivery by acting as a carrier. Thus, combination of the biological phenomenon of cell migration and the high loading capacity of polymer capsules will allow targeted delivery of a substance without external and internal effect on carrier cells. To test the technique, doxorubicin and vincristine were selected as antitumor drugs with a dose-dependent effect, which are included in many polychemotherapy regimens.

Methods

In this study, hybrid microcapsules of various sizes (5 μm , 1 μm , 0.5 μm) were synthesized using Layer-by-Layer technique (Polyarginine/Dextran sulfate) and sol-gel synthesis (Tetraethyl orthosilicate). These micro containers have low toxicity, high biocompatibility, and are also capable of protecting the cell from encapsulated drugs. The association of cells with capsules of various sizes was evaluated using flow cytometry and laser scanning confocal microscopy in order to determine the optimal ratio of capsules and cells. The effect of capsules of various sizes associated with cells on spontaneous migration of MSCs, was examined using a cell-IQ cell culture monitoring system. The ability of MMSC to direct migration through the concentration gradient of SDF-1 was studied. For qualitative and quantitative assessment of

migration, Transwell, μ -Slide Chemotaxis were used, and the ability of MMSC to migrate in the collagen gel towards spheroids of cancer cells synthesizing SDF-1 and their ability to penetrate the conglomerate of cells was investigated.

Results

The results show that MSC cells are able to capture more than 10 capsules containing antitumor drugs – doxorubicin, vincristine. According to the experimental data of flow cytometry, it has been shown that about 90% of the cells are able to internalize the capsules with high efficiency. The unique structure of capsules prevents the release of antitumor drugs within 72 hours. It is shown that most of the cells are able to transfer capsules along the SDF-1 gradient and into the tumor spheroid focus.

Conclusion

Thus, it is shown that MSCs with capsules containing antitumor drugs can serve as a new dosage form for the targeted delivery of antitumor drugs to the tumor site.

Acknowledgments

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant No. 18-015-00100).

Keywords

Targeted delivery, micro and nanocapsules, antitumor drugs, internalization, mesenchymal stromal cells, migration, pharmacokinetics, synthesis, cultivation, carrier cells.

Модификация мезенхимных стромальных клеток костного мозга с использованием мультифункциональных микрокапсул для целевой доставки лекарственных соединений

Александр С. Тимин^{1,2}, Альберт Р. Муслимов¹, Алексей А. Пельтек³, Михаил В. Зюзин⁴, Ольга С. Епифановская¹, Владислав С. Сергеев¹, Анна А. Доценко¹, Тимофей Е. Карпов³, Игорь С. Сергеев³, Александр А. Гончаренко³, Яна В. Тараканчикова⁵, Кирилл В. Лепик¹, Глеб Б. Сухоруков³, Борис В. Афанасьев¹

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

² Томский политехнический университет, Томск, Россия

³ Санкт-Петербургский Политехнический Университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Санкт-Петербургский Национальный Исследовательский Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

⁵ Санкт-Петербургский Национальный Исследовательский Академический Университет, Санкт-Петербург, Россия

Введение

Цель данной работы состояла в исследовании возможностей применения мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) в качестве платформы для доставки препаратов, заключенных в гибридные полимерные микрокапсулы. ММСК являются высокопотенциальной клеточной популяцией, которая за счет феномена патотропизма может решить проблему таргетной доставки препарата, выступая в качестве носителя. Таким образом, объединение биологического феномена миграции клеток и высокой загружающей способности полимерных капсул обеспечит возможность контролировать направленность действия и позволит выполнить таргетную доставку вещества без внешнего и внутреннего воздействия для клеток-носителей. Для отработки методики, доксорубин и винкристин были отобраны, в качестве противоопухолевых препаратов с дозозависимым эффектом, которые включены в состав многих схем полихимиотерапии.

Методы

В ходе данного исследования был произведен синтез гибридных микрокапсул различных размеров (5 мкм, 1 мкм, 0,5 мкм) при помощи технологии Layer-by-Layer (Polyarginine/Dextran sulfate) и золь-гель синтеза (Tetraethyl orthosilicate). Данные микроконтейнеры обладают низкой токсичностью, высокой биосовместимостью, а также способны защитить клетку от инкапсулированных препаратов. На следующем этапе была выполнена оценка ассоциации клеток с капсулами различных размеров при помощи проточной цитометрии и лазерной сканирующей конфокальной микроскопии для определения оптимального соотношения капсул и клеток. Спонтанная миграция МСК, и влияние на нее ассоциированных с клетками капсул различных размеров была исследована при помощи системы наблюдения за живыми клетками в культуре Cell-IQ. На завершающем этапе работы была изучена способность ММСК к направленной миграции по градиенту концентрации SDF-1.

Для качественной и количественной оценки миграции были использованы Transwell, μ -Slide Chemotaxis, а также была исследована способность ММСК к миграции в коллагеновом геле в сторону сфероидов из раковых клеток, синтезирующих SDF-1, и их способность проникать внутрь конгломерата клеток.

Результаты

Полученные результаты показывают, что МСК клетки способны захватывать более 10 капсул, содержащие противоопухолевые препараты – доксорубин, винкристин. По экспериментальным данным проточной цитометрии показано, что 90 % клеток способны интернализировать капсулы с высокой эффективностью. Уникальная структура капсул предотвращает высвобождение противоопухолевых препаратов в течение 72 часов. Показано, что большая часть клеток способны направлено переносить капсулы по SDF-1 градиенту и в очаг опухолевого сфероида.

Заключение

Таким образом, показано, что МСК с включенными капсулами, содержащие противоопухолевые препараты, могут выступать в качестве новой лекарственной формы для направленной доставки противоопухолевых препаратов в очаг опухоли.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных исследований (грант № 18-015-00100).

Ключевые слова

Таргетная доставка, микро- и нанокапсулы, противоопухолевые препараты, интернализация, мезенхимные стромальные клетки, миграция, фармакокинетика, синтез, культивирование, клетки-носители.