

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 406 716**

51 Int. Cl.:

A61K 38/18 (2006.01)

A61K 35/44 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.12.2006 E 06849026 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.02.2013 EP 1971288**

54 Título: **Dispositivo micronizado para el suministro de moléculas activas biológicamente y método de uso del mismo**

30 Prioridad:

30.12.2005 US 755478 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

07.06.2013

73 Titular/es:

**NEUROTECH USA, INC. (100.0%)
60 BLACKSTONE VALLEY PLACE, SUITE 500
LINCOLN 02865, RHODE ISLAND , US**

72 Inventor/es:

**KAUPER, KONRAD;
TAO, WENG y
STABILA, PAUL**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 406 716 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Dispositivo micronizado para el suministro de moléculas activas biológicamente y método de uso del mismo

Campo del invento

El presente invento se refiere en términos generales al campo de la terapia con células encapsuladas.

5 Antecedentes del invento

Muchas/os condiciones clínicas, deficiencias y estados patológicos se pueden remediar o aliviar por suministro al paciente de una o más moléculas activas biológicamente, producidas por células vivas, o por eliminación desde el paciente de factores perjudiciales que son metabolizados por células vivas. En muchos casos, estas moléculas pueden restaurar o compensar el perjuicio o la pérdida de función de un órgano o tejido. Correspondientemente, muchos investigadores han intentado reconstituir la función de un órgano o tejido mediante trasplante de los órganos enteros, de tejidos de órganos, y/o de células, que proporcionan productos secretados o afectan a funciones metabólicas. Sin embargo, mientras que un trasplante puede proporcionar unos beneficios espectaculares, éste está limitado en su aplicación por el número relativamente pequeño de los órganos que son apropiados y que están disponibles para el injerto. En general, a los pacientes de trasplantes se les debe de suprimir la inmunidad con el fin de evitar un rechazo inmunológico del trasplante, lo cual da como resultado una pérdida de función del trasplante y una eventual necrosis del tejido o de las células que se han trasplantado. Similarmente, en muchos casos el trasplante debe de permanecer funcional durante un largo período de tiempo, incluso por el resto de la vida de un paciente. Es a la vez indeseable y caro mantener a un paciente en un estado con inmunidad suprimida durante un período de tiempo sustancial.

Existen un cierto número de trastornos del ojo que amenazan a la visión, para los cuales se siguen necesitando todavía unas buenas terapias adicionales. Un problema principal en el tratamiento de dichas enfermedades es la incapacidad de suministrar agentes terapéuticos dentro del ojo y mantenerlos allí en unas concentraciones efectivas terapéuticamente.

Muchos factores de crecimiento han mostrado ser prometedores en el tratamiento de una enfermedad ocular. Por ejemplo, se ha mostrado que el BDNF y el CNTF deceleran la degeneración de células ganglionares retinianas y disminuyen la degeneración de fotorreceptores en diversos modelos con animales. Véase, p.ej. Genetic Technology News, volumen 13, nº 1 (Enero de 1993). Adicionalmente, se ha mostrado que un factor de crecimiento nervioso aumenta la supervivencia de células ganglionares retinianas después de una disección del nervio óptico y se ha mostrado también que éste favorece la recuperación de neuronas retinianas después de una isquemia. Véase, p.ej., la cita de Siliprandi y colaboradores, Invest. Ophthalmol. & Vis. Sci., 34, páginas 3232-3245 (1993).

Una alternativa deseable a los procesos de trasplante es la implantación de células o tejidos dentro de una barrera física, que permitirá la difusión de nutrientes, metabolitos y productos secretados, pero que bloqueará a los efectores celulares y moleculares de un rechazo inmunológico. Se han explorado una diversidad de dispositivos de macrocápsulas que protegen con respecto del sistema inmunológico a los tejidos o a las células que producen un producto seleccionado. Véanse, p.ej., la patente de los EE.UU. nº. 5.158.881; y los documentos de solicitudes de patentes internacionales WO92/03327; WO91/00119; y WO93/00128. Estos dispositivos incluyen, por ejemplo, cámaras de difusión extravascular, cámaras de difusión intravascular, cámaras de ultrafiltración intravascular, y la implantación de células microencapsuladas. Véase la cita de Scharp, D. W. y colaboradores, World J. Surg., 8, páginas 221-9 (1984). Véanse, p.ej., las citas de Lim y colaboradores, Science 210: 908-910 (1980); de Sun, A. M., Methods in Enzymology 137: 575-579 (1988); el documento WO 93/03901; y el documento patente de los EE.UU. nº. 5.002.661. Dichos dispositivos podrían aliviar la necesidad de mantener al paciente en un estado con inmunidad suprimida. Sin embargo, ninguno de estos enfoques ha resultado ser satisfactorio para proporcionar una función de trasplante a largo plazo. Sieving y colaboradores 2006, describen el suministro del CNTF por medio de implantes intraoculares de células encapsuladas, saber las NT-501.

Por lo tanto, se necesitan unos métodos de suministrar unas cantidades apropiadas de sustancias necesarias, tales como factores neurotróficos, factores anti-angiogénicos, factores anti-inflamatorios, enzimas, hormonas, otros factores, o de proporcionar otras funciones metabólicas necesarias al ojo durante un extenso período de tiempo.

Sumario del invento

El invento proporciona unos dispositivos micronizados para el suministro de una molécula activa biológicamente al ojo de acuerdo con la reivindicación 1. Dichos dispositivos micronizados contienen una cápsula que tiene un núcleo que contiene entre aproximadamente 5×10^2 y 90×10^3 células vivas que producen una molécula activa biológicamente y una camisa biocompatible que rodea a dicho núcleo, en donde la camisa tiene un límite de corte de pesos moleculares que permite la difusión de la molécula activa biológicamente dentro del ojo. El dispositivo está configurado como un cilindro que tiene un diámetro externo comprendido entre 200 y 350 μm y una longitud comprendida entre 0,5 y 6 mm. La dosificación de la molécula activa biológicamente (BAM) que se difunde en el ojo, está situada entre 0,1 pg y 1.000 ng por ojo por paciente por día. En diversas formas de realización, la dosificación de la BAM puede estar situada entre 0,1 pg y 500 ng por ojo por paciente por día; entre 0,1 pg y 250 ng, entre 0,1 pg

y 100 ng, entre 0,1 pg y 50 ng, entre 0,1 pg y 25 ng, entre 0,1 pg y 10 ng, o entre 0,1 pg y 5 ng por ojo por paciente por día.

5 En algunas formas de realización, el dispositivo micronizado puede tener una atadura adaptada para sujetar la cápsula a una estructura ocular. Por ejemplo, la atadura puede ser seleccionada entre un lazo, un disco y/o una sutura. Dichas ataduras pueden estar hechas de un material con memoria de forma o de cualquier otro material de calidad médica que sea conocido para los expertos en la especialidad.

10 La camisa de los dispositivos micronizados del invento puede ser la membrana aislante de inmunidad, selectiva en cuanto a la permeación. La camisa biocompatible puede ser producida a base de una membrana o bien de ultrafiltración o microporosa. Típicamente, la camisa es producida a base de un material polimérico. Unos apropiados materiales poliméricos incluyen, pero no se limitan a, los de poli(acrilonitrilo)-poli(cloruro de vinilo), poli(acrilonitrilo), poli(metacrilato de metilo), poli(difluoruro de vinilo), poliolefinas, polisulfonas, polímidas y/o celulosas.

Los dispositivos micronizados del invento pueden ser implantados en el humor vítreo, en la sub cápsula de Tenon, el espacio periocular y/o la cámara anterior.

15 Unas apropiadas moléculas activas biológicamente incluyen, pero no se limitan a factores anti-angiogénicos, factores anti-inflamatorios, factores neurotróficos, factores de crecimiento, factores tróficos, anticuerpos y fragmentos de anticuerpos, neurotransmisores, hormonas, citocinas y linfocinas. En algunas formas de realización, la molécula activa biológicamente es una citocina o una linfocina tal como TGF β , GDNF, NGF, CNTF, bFGF, aFGF, IL-1 β , IFN- β , IFN- α , BDNF, LIF, NT-4, NTN, NT4/5, CT-1, LEDGF, Neublastin, Axokine, IL-23, RdCVF, IL-10, alfa INF, IL-1R α y/o Remicade. En otras formas de realización, la molécula activa biológicamente es un factor anti-angiogénico tal como vasculostatina, angiostatina, endostatina, anti-integrinas, agentes inhibidores del factor de crecimiento endotelial vascular (inhibidores del VEGF), factor plaquetario 4, heparinasa, moléculas de fijación de bFGF, el receptor del VEGF Flt, el receptor del VEGF Flk, Lucentis, la trampa de VEGF, Tek Δ /Fc (inhibidor de ang1/ang2), 2xCon4 (C), receptores del VEGF solubles y PEDF.

20 En otras formas de realización, por lo menos una adicional molécula activa biológicamente es suministrada desde la cápsula al ojo. La(s) adicional(es) molécula(s) activa(s) biológicamente puede(n) proceder de una fuente celular o de una fuente no celular. Cuando la por lo menos una adicional molécula activa biológicamente procede de una fuente no celular, ella puede ser encapsulada en, dispersada dentro de, o unida a uno o más componentes del dispositivo micronizado. Por vía de ejemplo no limitativo, la por lo menos una adicional molécula activa biológicamente, procedente de una fuente no celular, se puede seleccionar entre ácidos nucleicos, fragmentos de ácidos nucleicos, péptidos, polipéptidos, compuestos miméticos de péptidos, hidratos de carbono, lípidos, moléculas orgánicas, moléculas inorgánicas, agentes terapéuticos y diversas combinaciones de los/las mismos/as. Unos apropiados agentes terapéuticos incluyen, pero no se limitan a, fármacos anti-angiogénicos, fármacos anti-inflamatorios esteroideos y no esteroideos, fármacos anti-mitóticos, fármacos anti-tumorales, fármacos anti-parasitarios, reductores de la IOP (presión intraocular), fármacos de péptidos y otros fármacos con moléculas activas biológicamente, que han sido aprobados para el uso oftalmológico.

25 Las células vivas contenidas dentro del núcleo de los dispositivos micronizados del invento pueden incluir células productoras de insulina, células cromafines adrenales, células secretoras de anticuerpos, fibroblastos, astrocitos, linajes de células Beta, células de Ovario de hámster chino (CHO) y/o células ARPE-19. Estas células pueden ser alogeneicas y/o singeneicas.

El límite de corte de pesos moleculares de la camisa biocompatible del dispositivo micronizado del invento está situado entre 1 kD y 150 kD.

30 En algunas formas de realización, el núcleo del dispositivo micronizado tiene un volumen de menos que 0,5 μ l. El núcleo puede contener también una matriz filamentosa de soporte de células, no degradable sustancialmente, en donde la matriz está hecha de una pluralidad de monofilamentos, y en donde los monofilamentos o bien son retorcidos para dar un hilo o son tejidos en telar para dar una malla o retorcidos para dar un hilo que está en forma de hebras no tejidas. Las células en el núcleo pueden ser distribuidas en la matriz filamentosa de soporte de células, no degradable. Unas apropiadas matrices filamentosas de soporte de células incluyen, pero no se limitan a, materiales biocompatibles seleccionados entre un polímero acrílico, un poliéster, un polietileno, un polipropileno, un poli(acetonitrilo), un poli(tereftalato de etileno), un nylon, polímidas, poliuretanos, un polibúster (nombre que designa a un copolímero de tereftalato de etileno y poli(tetrametilen éter glicol), seda, algodón, quitina, carbono y metales biocompatibles.

35 El invento proporciona también unos métodos para suministrar una molécula activa biológicamente al ojo implantando por lo menos un dispositivo micronizado de acuerdo con el invento dentro del ojo o rodeando al ojo y permitiendo que dicha molécula activa biológicamente se difunda desde el dispositivo dentro del humor vítreo, del humor acuoso o del espacio periocular. Opcionalmente, la implantación se puede realizar usando una jeringa.

También se proporcionan unos métodos de tratar trastornos oftálmicos en pacientes que padecen de ellos, por implantación de uno o más de los dispositivos micronizados del invento dentro de un ojo del paciente. Por ejemplo,

el trastorno oftálmico que ha de ser tratado puede ser una enfermedad de degeneración retiniana tal como una retinopatía de prematuridad, un glaucoma, una formación de cataratas, un retinoblastoma, una isquemia retinal, una uveítis, una retinitis pigmentosa, formas de degeneración macular húmeda y seca relacionada con la edad, una retinopatía diabética y/o una coroideremia.

5 El invento proporciona también el uso de los dispositivos micronizados del invento en la producción de medicamentos destinados al tratamiento de trastornos oftálmicos en un paciente que padece de ellos por implantación del dispositivo dentro de un ojo del paciente. Por ejemplo, el trastorno oftálmico puede ser una enfermedad de degeneración retiniana seleccionada entre una retinopatía de prematuridad, un glaucoma, una formación, de cataratas, un retinoblastoma, una isquemia retinal, una uveítis, una retinitis pigmentosa, formas de
10 degeneración macular húmeda y seca relacionada con la edad, una retinopatía diabética y/o una coroideremia.

A menos que se defina otra cosa distinta, todos los términos técnicos y científicos que aquí se usan tienen los mismos significados que corrientemente son entendidos por una persona con experiencia ordinaria en la especialidad a la que este invento pertenece. Aunque unos métodos y materiales similares o equivalentes a los que se han descrito aquí se pueden usar en la práctica o en el ensayo del presente invento, se describen seguidamente unos apropiados métodos y materiales. En el caso de un conflicto, la presente memoria descriptiva, incluyendo las
15 definiciones, controlará. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solamente ilustrativos y no se pretende que sean limitativos.

Otras características y ventajas del invento resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y las siguientes reivindicaciones.

20 **Breves descripciones de los dibujos**

La Figura 1 es una serie de fotografías de dispositivos micronizados para ECT (terapia con células encapsuladas) y los puntos de unión de suturas que se usan para facilitar una inserción quirúrgica y una unión con la esclerótica en el ojo de un roedor. La Figura 1A muestra el suministro de un dispositivo a través de una aguja de calibre 30. La Figura 1B muestra el suministro del dispositivo usando una varilla de titanio canulado. La Figura 1C muestra una sutura 11-0 empotrada dentro del extremo adhesivo del dispositivo micronizado.
25

La Figura 2 es un gráfico que muestra la actividad metabólica (CCK-8) de unos dispositivos que comparan diversos materiales de andamiaje celular. Los resultados presentados indican que unas microesferas de poliestireno y un hilo de PET eran unas buenas candidatas para una investigación ulterior.

La Figura 3 es una serie de fotomicrografías que demuestran que se investigaron como membranas de encapsulación unos materiales tanto de polisulfonas (hidrófilos) como de poliimididas (hidrófobos). La Figura 3A muestra que la unión de células a la pared interna de la membrana de poliimida da como resultado una eventual muerte celular debida a una difusión restringida. En contraste con ello, la Figura 3B muestra que las membranas de polisulfona crean una separación de 10 + (o más) micrómetros entre la pared interna y la masa de células encapsuladas, permitiendo de esta manera una difusión efectiva para mantener la viabilidad de las células.
30

La Figura 4 es un gráfico que muestra la actividad metabólica de unos dispositivos microencapsulados en el transcurso de 2 semanas. Estos resultados indican que unos andamiajes revestidos con fibronectina favorecían la unión de células con microesferas. Además, un contenido aumentado de hilo puede también beneficiar al crecimiento y a la actividad de las células.
35

La Figura 5 es un histograma que muestra la producción de CNTF y el número de células ensayadas por el ADN de unas células contenidas dentro de los dispositivos micronizados. Estos resultados confirmaron las ventajas de usar fibronectina con el fin de revestir las microesferas y demostraron que un aumento en la densidad de los hilos beneficia al rendimiento de las células encapsuladas.
40

La Figura 6 es una serie de fotomicrografías que muestran la determinación cualitativa de la viabilidad de células microencapsuladas usando unas membranas de polisulfonas y o bien una matriz de microesferas revestidas con fibronectina o una matriz de un andamiaje de PET. El panel A es una micrografía de una masa extrudida de un tejido celular y de microesferas a continuación de 2 semanas de encapsulación. El panel B muestra la masa extrudida de células, teñida con calceína y etidio para visualizar las células vivas y muertas. Los paneles C (microesferas) y D (hilo de PET) son unas secciones empotradas en material plástico, teñidas con DAPI y contrateñidas con fluoresceína 12-dUPT para visualizar las células apoptóticas. Se observaron pocas células apoptóticas en cualquier conjunto de dispositivos. Los paneles E (microesferas) y F (hilo de PET) muestran unas secciones de material plástico teñidas con hematoxilina y eosina. La viabilidad y la distribución de las células eran buenas, independientemente de la matriz investigada de células.
45
50

La Figura 7 es una fotografía que compara el tamaño de un dispositivo para ECT de primera generación (1 mm x 6 mm) y un dispositivo para ECT micronizado (0,2 mm x 1 mm).

55 La Figura 8 es un gráfico que muestra el suministro de dosis de CNTF antes del implante a partir de los dispositivos para ECT de primera generación y los micronizados.

La Figura 9 es un gráfico que muestra la liberación de CNTF en alta dosis durante 18 meses en el humor vítreo de un conejo (usando el dispositivo para ECT de primera generación).

La Figura 10 es un gráfico que muestra la liberación de CNTF en baja dosis durante 18 meses en el humor vítreo de un conejo (usando el dispositivo para ECT de primera generación).

- 5 La Figura 11 es una serie de micrografías que muestran unas secciones histológicas (H&E) (con un aumento de 10x) que comparan células encapsuladas después de unos períodos de tiempo de implantación después de 2 semanas (Figura 11A), 12 meses (Figura 11B), y 18 meses (Figura 11C).

La Figura 12 es un histograma que muestra el suministro de dosis de interleucina-10 (IL-10) a partir de dispositivos para ECT micronizados.

- 10 La Figura 13 es una serie de fotomicrografías de secciones histológicas que muestran la distribución (Figura 13A) y la viabilidad (Figura 13B) representativas de células productoras de IL-10 encapsuladas en el dispositivo micronizado.

- 15 La Figura 14 es una serie de gráficos que demuestran el rendimiento de dispositivos para ECT de primera generación y de dispositivos para ECT micronizados. La Figura 14A muestra los niveles de CNTF producidos *in vitro* en el transcurso de 8 semanas. La Figura 14B muestra los resultados de unos experimentos en donde la actividad metabólica de células encapsuladas durante un período de tiempo de 8 semanas se cuantificó mediante un ensayo redox de células (CCK-8). La Figura 14C muestra los niveles de CNTF en un dispositivo explante *in vivo* en unos puntos de tiempo de 2 y 4 semanas. La Figura 14 D muestra los niveles de CNTF en el humor vítreo y un explant tanto a las 2 como a las 4 semanas.

- 20 La Figura 15A es una fotografía que demuestra la implantación de un dispositivo micronizado usando una aguja de calibre 23. La Figura 15B es una fotografía que muestra una incisión de 30° en la superficie de la esclerótica a través de la parte plana (pars plana). La Figura 15C es una fotografía que muestra una retirada de la aguja que revela un dispositivo insertado con sutura y aguja unidas. La Figura 15D es una fotografía que muestra un cierre de una única sutura.

25 Descripción detallada del invento

- El presente invento se refiere a unos dispositivos micronizados biocompatibles, opcionalmente aislante de inmunidad, para el suministro de una o más moléculas activas biológicamente ("BAMs" = acrónimo de Biologically Active Molecules) al ojo. Más particularmente, dichos dispositivos micronizados contienen un núcleo que contiene células vivas, las cuales producen o secretan las BAMs, y una camisa biocompatible que rodea al núcleo, en donde
30 la camisa tiene un límite de corte de pesos moleculares ("MWCO" acrónimo de Molecular Weight Cut Off) que permite la difusión de las BAMs dentro del ojo.

- El invento se refiere además al suministro de las BAMs por vía intraocular (p.ej. en la cámara anterior y en el humor vítreo) o por vía periocular (p.ej. dentro de o por debajo de la cápsula de Tenon), o por ambas vías. El invento se puede usar también para proporcionar una liberación controlada y prolongada de moléculas activas biológicamente,
35 que son efectivas para el tratamiento de diversos trastornos oftálmicos, de diversas enfermedades oftálmicas y/o de enfermedades que tienen efectos oculares.

- El uso de materiales poliméricos compatibles biológicamente en la construcción de un dispositivo de encapsulación micronizado es crítico para el éxito de una terapia con encapsulación de células ("ECT"). Unos importantes componentes del dispositivo de encapsulación incluyen la membrana semipermeable circundante así como la matriz
40 o el andamiaje interno de soporte de células.

- Se produjeron unos dispositivos para ECT micronizados usando unas membranas de diálisis con un límite de corte de pesos moleculares de 50 kDa, que tienen unos diámetros de 200 micrómetros y una longitud global del implante de 1 milímetro. El volumen desplazado total de dichos dispositivos era menor que aproximadamente 0,5 microlitros (por ejemplo, de aproximadamente 0,3 ml), lo que representa una reducción del volumen de más que 200 veces, en
45 comparación con los actuales dispositivos para ECT clínicos para seres humanos (citados aquí como "los dispositivos para ECT de primera generación" y/o "los dispositivos de primera generación"). Unas configuraciones de dispositivos de implantación para los dispositivos micronizados del invento se desarrollaron para facilitar la introducción y la unión con la esclerótica. (Véase la Figura 1).

- Los expertos en la especialidad reconocerán que los términos "dispositivo(s) micronizado(s)", "dispositivo(s) para ECT micronizados", "micro-dispositivo(s)" y "micro-dispositivos para ECT" y similares se usan de una manera intercambiable para referirse a los dispositivos para la terapia con células encapsuladas del presente invento.
50

- Se produjeron unas apropiadas membranas de los dispositivos usando o bien una polisulfona/poli(vinil pirrolidona) o una poliimida. Diversas matrices de andamiaje celular fueron investigadas en cuanto a su capacidad de inducir la unión a células y el crecimiento de células y para mantener la viabilidad de las células. Las matrices de andamiaje
55 que fueron ensayadas incluían, por ejemplo, un alginato reticulado con CaCl₂, Matrigel, Purapeptide, y microesferas

no degradables con y sin fibronectina. Además, se investigó también la encapsulación usando una matriz de hilos monofilamentosos de PET. Se evaluaron diversas combinaciones de membranas y de andamiajes y éstas se compararon con unos dispositivos encapsulados con células epiteliales pigmentadas de retina (ARPE-19) humanas manipuladas por ingeniería genética, que producen o bien CNTF o IL-10. La secreción de proteínas en el transcurso del período de tiempo de evaluación *in vitro* se cuantificó por un ELISA. La viabilidad de las células encapsuladas se evaluó usando un ensayo de ADN para determinar el número total de células, la actividad metabólica se evaluó usando un ensayo redox, una marcación fluorescente del núcleo de células vivas, una citohistoquímica apoptótica y un examen histológico de dispositivos seccionados. Adicionalmente, diversos dispositivos micronizados fueron implantados en el humor vítreo de roedores y evaluados clínicamente.

Como se muestra en la Figura 2, el uso de matrices de hidrogel no permite una adecuada viabilidad de las células a continuación de un escrutinio inicial de dispositivos micronizados. Adicionalmente, los conjuntos de dispositivos de poliimida dieron como resultado una mala viabilidad en comparación con los conjuntos con una polisulfona ("PS"). (Véase la Figura 3). Sin embargo, unas membranas de polisulfona/poli(vinil pirrolidona) usando o bien microesferas de poliestireno ("microesferas de PS") revestidas con fibronectina o un hilo de PET como un andamiaje celular dieron como resultado unos niveles constantes de producción de proteínas en el curso de un periodo de tiempo de evaluación de un mes. Las células encapsuladas dentro tanto de las microesferas de PS como de los conjuntos con PET de dispositivos micronizados permanecieron sanas sin ninguna evidencia de necrosis o de apoptosis. (Véanse las Figuras 4-6). Además un suministro de efecto de dosis de IL-10 y CNTF se consiguió usando dispositivos micronizados con una matriz de hilo de PET. (Véase la Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de la producción de IL-10 y CNTF en dispositivos micronizados diseñados usando una matriz de hilos de PET

Conjunto de dispositivos	IL-10 (pg/dispositivo/24 horas)	CNTF (pg/dispositivo/24 horas)
De alta dosis	156 ± 32	2,0 ± 0,7
De baja dosis	11 ± 11	0.3 ± 0.1
Ensayo t (CI de 95 %)	P < 0,001	P < 0,001

La evaluación clínica de unos dispositivos micronizados implantados dentro del humor vítreo de ratones mostró que estos dispositivos permanecían en una posición fija y evitaban un contacto con el cristalino grande de una rata. Además no se informaron hallazgos desfavorables durante el curso del período de tiempo de seguimiento durante un mes. Basándose en estos experimentos iniciales, parece ser que son posibles la producción y el mantenimiento de dispositivos para ECT micronizados capaces de producir unos niveles constantes mantenidos de una proteína y que estos dispositivos eran bien tolerados en el humor vítreo de un roedor.

Como se usan aquí, los términos "individuo" o "individuo receptor" o "anfitrión" se refieren a un individuo humano o animal.

Una "molécula activa biológicamente" ("BAM") es una substancia que es capaz de ejercer un efecto biológicamente útil sobre el cuerpo de un individuo en el que se ha implantado un dispositivo micronizado del presente invento. Como se usa aquí, una BAM es una molécula que puede ejercer su actividad biológica dentro de la célula en la que ha sido producida o puede ser expresada sobre la superficie celular y efectuar las interacciones de las células con otras células o moléculas activas biológicamente (*p.ej.*, un receptor de neurotransmisores o una molécula de adhesión a células) o puede ser liberada o secretada desde la célula en la que ha sido producida y ejercer su efecto sobre una célula diana separada (*p.ej.*, un neurotransmisor, una hormona, un factor de crecimiento, un receptor soluble, un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, un factor anti-angiogénico o una citocina). Una BAM es cualquier agente, tal como un virus, una proteína, un péptido, un aminoácido, un lípido, un hidrato de carbono, un ácido nucleico, un nucleótido, un fármaco, un pro-fármaco u otra sustancia que puede tener un efecto sobre las células, independientemente de que dicho efecto sea perjudicial, beneficioso o de otro tipo. Las BAMs que son beneficiosas para células del sistema nervioso son unos "agentes neurológicos", que es un término que abarca cualquier sustancia activa biológica o farmacéuticamente que puede probar ser útil potencialmente para la proliferación, la diferenciación, o el funcionamiento del CNS (sistema nervioso central) o células oculares o el tratamiento de una enfermedad o un trastorno neurológica/o o oftalmológica/o. Por ejemplo, el término puede abarcar ciertos neurotransmisores, receptores de neurotransmisores, factores de crecimiento, receptores de factores de crecimiento, receptores solubles, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, factores anti-angiogénicos y otros similares, así como las enzimas usadas en la síntesis de estos agentes.

Los términos "cápsula", "dispositivo" y "vehículo" se usan aquí de una manera intercambiable para referirse a los dispositivos para ECT del invento.

A menos que se especifique otra cosa distinta, el término "células" significa unas células en cualquier forma, incluyendo, pero sin limitarse a, células retenidas en un tejido, racimos de células y células aisladas individualmente.

Como se usa aquí, una “cápsula biocompatible” o un “dispositivo biocompatible” o un “vehículo biocompatible” significa que la cápsula o el dispositivo o el vehículo, después de una implantación en un individuo, no provoca una respuesta perjudicial del anfitrión que sea suficiente para dar como resultado el rechazo de la cápsula o hacerla inoperante, por ejemplo mediante una degradación.

- 5 Como se usa aquí, una “cápsula aislante de inmunidad” o un “dispositivo aislante de inmunidad” o un vehículo aislante de inmunidad” significa que la cápsula, después de su implantación en un individuo, reduce al mínimo los efectos perjudiciales del sistema inmunológico del anfitrión sobre las células presentes dentro de su núcleo.

10 Como se usa en el presente contexto, “una expresión estable a largo plazo de una molécula activa biológicamente” significa la producción continuada de una molécula activa biológicamente en un nivel suficiente para mantener su útil actividad biológica durante unos períodos de tiempo mayores que un mes, preferiblemente mayores que tres meses, de manera sumamente preferible mayores que seis meses. Unos implantes de los dispositivos micronizados y su contenido son capaces de retener su funcionalidad *in vivo* durante más de tres meses y en muchos casos durante más de un año. Se ha mostrado que los dispositivos para ECT de primera generación son capaces de retener su funcionalidad durante por lo menos 18 meses. Correspondientemente, se cree que los dispositivos micronizados del presente invento serán capaces de mantener su viabilidad y su producción *in vivo* durante unos períodos de tiempo iguales o más largos. Además, los dispositivos del actual invento se pueden preparar con tamaño suficiente para suministrar una dosis terapéutica entera de una sustancia procedente de un único o solamente de unos pocos (es decir, menos de aproximadamente 50) dispositivo(s) implantado(s) y fácilmente recuperable(s).

20 La naturaleza “semipermeable” de la membrana de camisa que rodea al núcleo permite que unas moléculas producidas por las células (*p.ej.*, metabolitos, nutrientes y/o sustancias terapéuticas) se difundan desde el dispositivo dentro del tejido ocular circundante del anfitrión, pero es lo suficientemente impermeable como para proteger a las células presentes en el núcleo con respecto de un ataque inmunológico perjudicial por el anfitrión.

25 El núcleo del vehículo aislante de inmunidad se construye para proporcionar un entorno local apropiado para la vitalidad y la función continuadas de células particulares aisladas dentro de él. El núcleo puede contener un andamiaje o un medio líquido suficiente para mantener a las células.

30 El núcleo de los dispositivos micronizados del invento puede funcionar como un reservorio o depósito para factores de crecimiento (*p.ej.*, prolactina, o el factor de crecimiento similar a la insulina 2), sustancias reguladoras del crecimiento tales como el factor de crecimiento transformante β (TGF- β) o la proteína del gen del retinoblastoma o agentes intensificadores del transporte de nutrientes (*p.ej.*, perfluorocarbonos, que pueden aumentar la concentración de oxígeno disuelto en el núcleo). Ciertas de estas sustancias son apropiadas también para su inclusión en medios líquidos.

35 Además, los presentes dispositivos se pueden usar también como un reservorio o depósito para el suministro controlado de fármacos o agentes bioterapéuticos necesarios. En dichos casos, el núcleo contiene una alta concentración del fármaco o agente bioterapéutico seleccionado (a solas o en combinación con células o tejidos). Además, se pueden implantar también dentro de un individuo receptor unos vehículos satélites que contienen unas sustancias que preparan o crean un entorno hospitalario en la zona del cuerpo en la que ha sido implantado un dispositivo micronizado de acuerdo con el invento. En dichos casos, los dispositivos que contienen células aisladas en cuanto a la inmunidad son implantados en la región juntamente con unos vehículos satélites que liberan unas cantidades controladas de, por ejemplo, una sustancia que modula en sentido descendente o inhibe una respuesta inflamatoria procedente del individuo receptor (*p.ej.*, esteroides anti-inflamatorios) o una sustancia que estimula el crecimiento hacia adentro de lechos capilares (*p.ej.*, un factor anti-angiogénico).

45 La región circundante o periférica (camisa) que rodea al núcleo de los presentes dispositivos micronizados puede ser selectiva en cuanto a la permeabilidad, biocompatible y/o aislante de inmunidad. Ésta se produce de una manera tal que está libre de células aisladas y rodea por completo (es decir, aísla) al núcleo, impidiendo de esta manera un contacto entre cualesquiera células presentes en el núcleo y el cuerpo del individuo receptor. Unas membranas de fibras huecas semipermeables y biocompatibles, y unos métodos para producirlas, se describen en las patentes de los EE.UU. n°s 5.284.761 y 5.158.881 (véase también el documento WO 95/05452). Por ejemplo, la camisa de una cápsula se puede formar a partir de una fibra hueca de poli(éter sulfona), tal como las que se describen en las patentes de los EE.UU. n°s 4.976.859 y 4.968.733, y 5.762.798.

50 Para ser selectiva en cuanto a la permeabilidad, la camisa es formada de una manera tal que tenga un intervalo de límite de corte de pesos moleculares (“MWCO”) que sea apropiado tanto para el tipo como para la extensión de una reacción inmunológica que se prevé que se ha de encontrar después de que haya sido implantado el dispositivo como para el tamaño molecular de la sustancia más grande, cuyo paso dentro y fuera del dispositivo dentro del ojo sea deseable. El tipo y la extensión de los ataques inmunológicos, que pueden ser montados por el individuo receptor después de una implantación después del dispositivo. dependen en parte del o de los tipo(s) del resto aislado dentro de él y en parte de la identidad del individuo receptor (es decir de cuán estrechamente el individuo receptor está relacionado genéticamente con la fuente de la BAM). Cuando el tejido o las células implantado/as es/son alogeneico/as para el individuo receptor, el rechazo inmunológico puede continuar ampliamente por medio de un ataque mediado por células por las células inmunes del individuo receptor contra las células implantadas. Cuando

el tejido o las células es/son xenogéneo/as para el individuo receptor, puede predominar el ataque molecular a través del ensamble del complejo de ataque del complemento citolítico del individuo receptor, al igual que la interacción de anticuerpos con el complemento.

5 La camisa permite el paso dentro del ojo de unas sustancias que llegan hasta un tamaño previamente determinado, pero impide el paso de sustancias mayores. Más específicamente, la región circundante o periférica es producida de una manera tal que tenga unos poros o espacios vacíos con un intervalo previamente determinado de tamaños, y, como resultado, el dispositivo es selectivo en cuanto a la permeabilidad. El MWCO de la camisa circundante debe de ser lo suficientemente bajo como para impedir el acceso de las sustancias de las que se requiere que realicen ataques inmunológicos para el núcleo, pero todavía lo suficientemente alto como para permitir el suministro de la BAM al ojo del individuo receptor. Preferiblemente el MWCO de la camisa biocompatible de los dispositivos micronizados del presente invento es de desde 1 kD hasta 150 kD.

15 Tal como se usa en el presente contexto con respecto a la camisa del dispositivo, el término "biocompatible" se refiere colectivamente tanto al dispositivo como a su contenido. Específicamente, se refiere a la capacidad del dispositivo micronizado intacto implantado y de su contenido para evitar los efectos perjudiciales de los diversos sistemas protectores del cuerpo y para permanecer funcional durante un periodo de tiempo significativo. Como se usa en el presente contexto, el término "sistemas protectores" se refiere a los tipos de ataques inmunológicos que pueden ser montados por el sistema inmunológico de un individuo en el que se ha implantado el presente vehículo, y a otros mecanismos de rechazo, tales como la respuesta fibrótica, la respuesta de cuerpos extraños y otros tipos de respuestas inflamatorias que pueden ser inducidas por la presencia de un objeto extraño en el cuerpo del individuo. Además de la evitación de respuestas protectoras desde el sistema inmunológico o de una respuesta fibrótica de cuerpos extraños, el término "biocompatible", tal como se usa en el presente contexto, implica también que no sean causados efectos citotóxicos o sistémicos indeseables específicos por el vehículo y su contenido, tales como los que interferirían con el funcionamiento deseado del vehículo o su contenido.

25 La superficie externa del dispositivo micronizado se puede seleccionar o diseñar de una manera tal que sea apropiada particularmente para la implantación en un sitio seleccionado. Por ejemplo, la superficie externa puede ser lisa, punteada o áspera, dependiendo de que si es deseable una unión mediante células del tejido circundante. La forma o configuración se puede seleccionar o diseñar también para que sea particularmente apropiada para el sitio de implantación escogido.

30 La biocompatibilidad de la región circundante o periférica (camisa) del dispositivo micronizado es producida por una combinación de factores. Son importantes para la biocompatibilidad y la funcionalidad continuadas la morfología del dispositivo, la hidrofobicidad y la ausencia de sustancias indeseables o bien sobre la superficie de, o bien lixiviables a partir de, el dispositivo propiamente dicho. Así, se evitan superficies en forma de cepillo, pliegues, intercapas u otras conformaciones o estructuras que provocan una respuesta de cuerpos extraños. Además, los materiales que forman el dispositivo son lo suficientemente puros como para asegurar que unas sustancias indeseadas no se separen por lixiviación desde los materiales del dispositivo, propiamente dichos. Adicionalmente, a continuación de la preparación de un dispositivo, se evita el tratamiento de la superficie externa del dispositivo con unos fluidos o materiales (*p.ej.* un suero) que se pueden adherir a, o pueden ser absorbidos por, el dispositivo, y subsiguientemente perjudican a la biocompatibilidad del dispositivo.

40 En primer lugar, los materiales usados para formar la camisa del dispositivo son unas sustancias que se seleccionan basándose en su capacidad para ser compatibles con, y aceptadas por, los tejidos del individuo receptor del dispositivo micronizado implantado. Se usan unas sustancias que no son perjudiciales para el individuo receptor ni para las células aisladas. Unas sustancias preferidas incluyen unos materiales poliméricos, a saber unos polímeros termoplásticos. Unas sustancias poliméricas termoplásticas particularmente preferidas son las que son modestamente hidrófobas, es decir las que tienen un parámetro de solubilidad, tal como se define en la cita de Brandrup J. y colaboradores Polymer Handbook 3^a edición, John Wiley & Sons, NY (1989), comprendido entre 8 y 15, o más preferiblemente, entre 9 y 14 (Joules/m³)^{1/2}. Las sustancias poliméricas se escogen para que tengan un parámetro de solubilidad suficientemente bajo, de manera tal que ellas sean solubles en disolventes orgánicos, y todavía suficientemente alto, de manera tal que ellas se dividirán para formar una membrana apropiada. Dichas sustancias poliméricas deberían estar sustancialmente exentas de restos nucleófilos inestables y ser altamente resistentes a los agentes oxidantes y a las enzimas, incluso en la ausencia de agentes estabilizadores. Debe también ser considerado el período de permanencia *in vivo* que se contemple para el vehículo particular: se deben de escoger unas sustancias que sean adecuadamente estables cuando sean expuestas a condiciones y estreses fisiológicas/os. Se conocen muchos materiales termoplásticos que son suficientemente estables, incluso durante extensos períodos de tiempo de permanencia *in vivo*, tales como unos períodos de tiempo superiores a uno o dos años. Ejemplos de materiales estables incluyen, pero no se limitan a, los de poli(acrilonitrilo)/poli(cloruro de vinilo) ("PAN/PVC" o "material termoplástico"), poli(acrilonitrilo), poli(metacrilato de metilo), poli(difluoruro de vinilo), poliolefinas, polisulfonas, poliimididas y/o celulosas.

60 La elección de los materiales usados para construir el dispositivo es determinada por un cierto número de factores, como los que se describen con detalle en el documento WO 92/19195 de Dionne. Dicho brevemente, se pueden usar diversos/as polímeros y mezclas preparadas de polímeros para producir la camisa de una cápsula. Las membranas poliméricas que forman el dispositivo y las superficies de crecimiento en ellas pueden incluir unos

poliacrilatos, (incluyendo copolímeros acrílicos), polivinilidenos, copolímeros de poli(cloruro de vinilo), poliuretanos, poliestirenos, poliamidas, acetatos de celulosa, nitratos de celulosa, polisulfonas, polifosfazenos, poli(acrilonitrilos), un poli(acrilonitrilo/co-cloruro de vinilo) así como derivados, copolímeros y mezclas de ellos.

5 Una preferida solución para el moldeo por colada de membranas comprende o bien una polisulfona disuelta en el disolvente miscible con agua dimetil-acetamida (DMACSO) o una poli(éter-sulfona) disuelta en el disolvente miscible con agua butirrolactona. Esta solución para el moldeo por colada puede comprender opcionalmente unos aditivos hidrófilos o hidrófobos que afectan a las características de permeabilidad de la membrana acabada. Un aditivo hidrófilo preferido para la polisulfona o poli(éter-sulfona) es una poli(vinil-pirrolidona) (PVP). Otros polímeros apropiados comprenden un poli(acrilonitrilo) (PAN), un poli(metacrilato de metilo) (PMMA), un poli(difluoruro de vinilo) (PVDF), un poli(óxido de etileno), unas poliolefinas (*p.ej.*, un poli(isobutileno) o un poli(propileno)), un copolímero de poli(acrilonitrilo)/poli(cloruro de vinilo) (PAN/PVC), y/o unos derivados de celulosa (*p.ej.* acetato de celulosa o butirato de celulosa). Unos disolventes miscibles con agua compatibles para estos y otros polímeros y copolímeros apropiados se encuentran en las enseñanzas de la patente de los EE.UU. n° 3.615.024.

15 En segundo lugar, las sustancias usadas en la preparación de la camisa biocompatible del dispositivo o bien son unas sustancias exentas de materiales pirogénicos lixiviables o perjudiciales por otro motivo, irritantes o inmunogénicas o son purificadas exhaustivamente para eliminar dichas sustancias perjudiciales. Después de esto, y a lo largo de la producción y del mantenimiento del dispositivo antes de la implantación, se tiene un gran cuidado de impedir la adulteración o la contaminación del dispositivo o de la camisa con unas sustancias que podrían afectar desfavorablemente a su biocompatibilidad.

20 En tercer lugar, la configuración exterior del dispositivo, incluyendo su textura, está conformada de una manera tal que ella proporciona una interfase óptima con el ojo del individuo receptor después de una implantación. Se ha encontrado también que ciertas geometrías del dispositivo provocan específicamente respuestas fibróticas de cuerpos extraños, y deberían ser evitadas. Por lo tanto, los dispositivos no deberían contener unas estructuras que tengan intercapas, tales como unas superficies en forma de cepillos o pliegues. En general, las superficies de vehículos o bordes oponentes o bien procedentes de los mismos vehículos u otros adyacentes deberían estar a una distancia de por lo menos 1 mm, preferiblemente mayor que 2 mm y de modo sumamente preferible mayor que 5 mm. Unas formas de realización preferidas incluyen unos cilindros que tienen un diámetro externo comprendido entre aproximadamente 200 y 350 μm y una longitud comprendida entre aproximadamente 0,5 y 6 mm. Preferiblemente, los núcleos del dispositivo micronizado del invento tienen un volumen de menos que 0,5 μl (*p.ej.*, de aproximadamente 0,3 μl).

35 La camisa circundante de los dispositivos micronizados biocompatibles puede incluir opcionalmente unas sustancias que disminuyan o disuadan unas respuestas inflamatorias locales para el vehículo implantado y/o generen o fomenten un entorno local apropiado para las células o los tejidos que se han implantado. Por ejemplo, se podrían incluir unos anticuerpos para uno o más mediadores de la respuesta inmunitaria. Se pueden incluir en la solución precursora de la matriz unos anticuerpos potencialmente útiles disponibles, tales como anticuerpos para las linfocinas factor de necrosis tumoral (TNF), y para interferones (IFN). Similarmente, se puede incluir un esteroide anti-inflamatorio. (Véanse las citas de Christenson, L. y colaboradores, J. Biomed. Mat. Res., 23, páginas 705-718 (1989); y Christenson, L., tesis de doctorado, Universidad de Brown, 1989. Alternativamente, se puede incluir una sustancia que estimule una angiogénesis (crecimiento hacia adentro de lechos capilares).

40 En algunas formas de realización, la camisa del presente dispositivo micronizado es aislante de inmunidad. Es decir, protege a las células en el núcleo del dispositivo con respecto del sistema inmunológico del individuo en el que ha sido implantado el dispositivo. Lo hace así (1) impidiendo que unas sustancias perjudiciales del cuerpo del individuo entren en el núcleo, (2) reduciendo al mínimo el contacto entre el individuo y unos materiales inflamatorios, antigénicos o perjudiciales por otro motivo, que puedan estar presentes en el núcleo y (3) proporcionando una barrera espacial y física suficiente para impedir un contacto inmunológico entre el resto aislado y las partes perjudiciales del sistema inmunológico del individuo.

50 La camisa externa puede ser o bien una membrana de ultrafiltración o una membrana microporosa. Los expertos en la especialidad reconocerán que las membranas de ultrafiltración son las que tienen un intervalo de tamaños de poros de desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 100 nanómetros, mientras que una membrana microporosa tiene un intervalo comprendido entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 10 micrómetros. El espesor de la barrera física puede variar, pero siempre será lo suficientemente grueso como para impedir un contacto directo entre las células y/o las sustancias por cualquiera de los lados de la barrera. El espesor de esta región generalmente varía entre 5 y 200 micrómetros; se prefieren unos espesores de 10 a 100 micrómetros, y se prefieren particularmente unos espesores de 20 a 50 o de 20 a 75 micrómetros. Los tipos de ataque inmunológico que se puede evitar o reducir al mínimo por el uso del presente dispositivo incluyen un ataque por macrófagos, neutrófilos, respuestas inmunitarias de células (*p.ej.* una citólisis mediada por células asesinas naturales y por células T de modo dependiente de anticuerpos (ADCC = acrónimo de Antigen Dependent T Cell mediated Cytolysis)), y una respuesta humoral (*p.ej.* una citólisis mediada por el complemento, dependiente de anticuerpos).

60 El tipo y la extensión de una respuesta inmunológica por el individuo receptor al dispositivo implantado se influenciarán por la relación del individuo receptor con las células aisladas dentro del núcleo. Por ejemplo, si el

núcleo contiene células singeneicas, éstas no causarán una reacción inmunológica vigorosa, a menos que el individuo receptor padezca de una autoinmunidad con respecto al tipo particular de célula o tejido dentro del dispositivo. Unas células o tejidos singeneicas/os están raramente disponibles. En muchos casos, pueden estar disponibles células o tejidos alogeneicas/os o xenogeneicas/os (*p.ej.* procedentes de donantes de la misma especie que, o procedentes de una especie diferente de, la del individuo receptor posible). El uso de dispositivos aislantes de inmunidad permite la implantación de células o tejidos alogeneicas/os o xenogeneicas/os, sin ninguna necesidad concomitante de suprimir la inmunidad del individuo receptor. El uso de unas cápsulas aislantes de inmunidad permite también el uso de células no emparejadas (alográficas). Por lo tanto, el presente dispositivo hace posible tratar a muchos más individuos que los que pueden ser tratados por técnicas convencionales de trasplante.

Se espera que el tipo y el vigor de una respuesta inmunitaria a un tejido xenoinjertado difiera de la respuesta encontrada cuando un tejido singeneico o alogeneico se implanta dentro de un individuo receptor. Este rechazo puede efectuarse principalmente por un ataque mediado por células, o por un ataque mediado por el complemento. La exclusión de IgG desde el núcleo del individuo no es la piedra de toque de una protección inmunitaria, a causa de que en la mayor parte de los casos la IgG a solas es insuficiente para producir una citólisis de las células o los tejidos dianas. Usando unos dispositivos micronizados aislantes de inmunidad, es posible suministrar unos productos de alto peso molecular necesarios o proporcionar unas funciones metabólicas que pertenezcan a sustancias de alto peso molecular, con la condición de que unas sustancias críticas que son necesarias para la mediación de un ataque inmunológico sean excluidas desde la cápsula aislante de inmunidad. Estas sustancias pueden comprender el componente complejo de ataque por el complemento, Clq, o pueden comprender células fagocíticas o citotóxicas. El uso de cápsulas aislantes de inmunidad proporciona una barrera protectora entre estas sustancias perjudiciales y las células aisladas.

En dispositivos anteriores, el núcleo y la camisa eran enlazados a través de unos enlaces iónicos entre polímeros cargados con signos opuestos, de una de dos maneras. Por ejemplo, los dispositivos de Rha (patente de los EE.UU. nº; 4.744.933) eran contruidos de un material de núcleo interno cargado con un signo y de un material de camisa externa con la carga de signo opuesto. Similarmente los dispositivos de Lim y Sun (patentes de los EE.UU. nºs: 4.352.833 y 4.409.331) incluían una capa intermedia de una poli-L-lisina (PLL), que está cargada positivamente, para enlazar el núcleo cargado negativamente con el material de la camisa cargado negativamente. La eliminación de una capa de PLL es ventajosa por el hecho de que se cree que una PLL es fibrogénica en el anfitrión. Una PLL puede tener también unos efectos indeseados de crecimiento para algunas células. También la camisa del dispositivo del invento puede ser controlada en cuanto a selectividad de permeación mejor que las producidas con una PLL.

Los dispositivos micronizados del presente invento se distinguen con respecto de las microcápsulas de Rha, Lim, y Sun (Rha, C. K. y colaboradores, patente de los EE.UU. nº. 4.744.933; Sun, A. M., *Methods in Enzymology* 137, páginas 575-579 (1988)) por (1) la completa exclusión de células desde la capa externa del dispositivo, y (2) el espesor de la capa externa del dispositivo. Ambas cualidades contribuyen al aislamiento de la inmunidad de células encapsuladas en el presente invento. Las microcápsulas de Rha eran formadas por interacción iónica de una solución del núcleo iónico con un polímero iónico con una carga de signo opuesto. Las microcápsulas de Lim y Sun eran formadas enlazando una camisa de hidrogel externa con el núcleo a través de una capa intermedia de poli(L-lisina) (PLL). En las microcápsulas de Lim y Sun, la capa intermedia de PLL no era lo suficientemente gruesa como para garantizar que algunas porciones de las células encapsuladas no penetren a través y más allá de la capa. Las células que penetran en la capa de PLL son unas dianas potenciales para una respuesta inmunitaria.

Más aun, en las microcápsulas de Rha, Lim y Sun, puesto que la identidad química de la sustancia interna es dictada o bien por la elección de la capa externa, o PLL, está limitada grandemente la capacidad de hacer variar las condiciones de crecimiento en el interior de estas cápsulas. Puesto que hay con frecuencia unas condiciones específicas de crecimiento que necesitan cumplirse con el fin de encapsular satisfactoriamente unos tipos específicos de células, estas cápsulas tienen generalmente una utilidad limitada o requieren una considerable experimentación para establecer unas apropiadas capas externas para una sustancia interna dada.

Por lo tanto, las microcápsulas de Rha, Lim y Sun tienen un mayor potencial de incompatibilidad biológica, fibrogénesis y deterioro del vehículo que los dispositivos micronizados del presente invento. Se conoce una diversidad de sistemas biológicos que interactúan con y degradan a los enlaces iónicos requeridos para la integridad de las microcápsulas. Una PLL despierta unas reacciones desfavorables de ciertos tejidos a la cápsula. De modo sumamente notable, esta es una respuesta fibrótica. Por lo tanto, si hay cualquier rotura en la capa externa, si ésta no tiene espesor suficiente, si la capa de PLL comienza a degradarse, y/o si unas células encapsuladas están atrapadas dentro de la capa externa suficientemente cerca de su superficie externa, la microcápsula puede desencadenar una respuesta fibrótica. El término "fibrogénico" se usa aquí como referencia a cápsulas o materiales que provocan una respuesta fibrótica en el sitio de implantación.

Además, los dispositivos micronizados del presente invento se distinguen también con respecto de las microcápsulas (*véanse* Sun, A. M., *supra*; y la patente de los EE.UU. nº 4.744.933 de Rha) por la capacidad de los dispositivos micronizados para contener entre 5×10^2 y 90×10^3 células y mantenerlas en una condición viable. En contraste, las microcápsulas de la técnica anterior contienen típicamente hasta alrededor de 500 células por cápsula.

Los dispositivos aquí descritos deben de proporcionar, en por lo menos una dimensión, una proximidad suficientemente estrecha de cualesquiera células aisladas en el núcleo a los tejidos circundantes del ojo del individuo receptor para mantener la viabilidad y la función de las células aisladas. Sin embargo, las limitaciones de difusión de los materiales usados para formar el dispositivo no prescriben solamente en todos los casos sus límites de configuración. Se pueden usar ciertos aditivos que alteran o aumentan las propiedades de difusión, o las propiedades de transporte de nutrientes o de oxígeno del vehículo básico. Por ejemplo, el medio interno del núcleo puede ser suplementado con perfluorocarbonos saturados con oxígeno, reduciendo de esta manera las necesidades de un contacto inmediato con el oxígeno llevado por la sangre. Esto permitirá a las células o a los tejidos aisladas/os permanecer viables, mientras que, por ejemplo, se libera un gradiente de angiotensina desde el vehículo hacia dentro de los tejidos circundantes, estimulando el crecimiento hacia adentro de unos capilares. Las referencias y los métodos para el uso de perfluorocarbonos se dan por Faithful, N. S. *Anaesthesia*, 42, páginas. 234-242 (1987) y NASA Tech Briefs MSC-21480, Oficina de Imprenta del Gobierno de los EE.UU, Washington, D.C. 20402. Alternativamente para unos linajes de células clonales tales como células PC12, unas secuencias de hemoglobina tratada por ingeniería genética se pueden introducir dentro de los linajes de células para producir un superior almacenamiento de oxígeno. Véase NPO-17517 NASA Tech Briefs, 15, página 54.

El espesor de la camisa del dispositivo deberá de ser suficiente para evitar una respuesta inmunitaria por el paciente a la presencia de los dispositivos. Para esta finalidad, los dispositivos tienen preferiblemente un espesor mínimo de 1 μm o más y están exentos de células.

Adicionalmente, unos elementos estructurales de refuerzo pueden ser incorporados dentro de los dispositivos micronizados. Estos elementos estructurales pueden ser producidos de una manera tal que ellos sean impermeables y estén configurados apropiadamente para permitir la atadura o sutura de dispositivo a los tejidos oculares del individuo receptor. En ciertas circunstancias, estos elementos pueden actuar para cerrar herméticamente con seguridad a la camisa (*p.ej.* en los extremos del cilindro), completando de esta manera el aislamiento de los materiales de núcleo (*p.ej.*, una pinza termoplástica moldeada). En muchos casos es deseable que estos elementos estructurales no ocluyan a una zona importante de la camisa selectiva en cuanto a la permeabilidad.

El andamiaje define al microentorno para las células encapsuladas y mantiene a las células bien distribuidas dentro del núcleo. El óptimo andamiaje interno para un dispositivo particular es dependiente en alto grado del tipo de célula que se ha de usar. En la presencia de un andamiaje, las células adherentes se conglomeran para formar racimos.

Los filamentos usados para formar un hilo o un andamiaje interno de hilo o malla son formados a base de cualquier apropiado material biocompatible, sustancialmente no degradable (*véanse* las patentes de los EE.UU. n°s 6.303.136 y 6.627.422). Unos materiales útiles para formar hilos o mallas tejidas en telar incluyen cualesquiera polímeros biocompatibles que sean capaces de ser conformados a la forma de fibras, tales como, por ejemplo, polímeros acrílicos, poliésteres, un polietileno, un polipropileno, un poli(acrilonitrilo), un poli(tereftalato de etileno), un nylon, poliamidas, poliuretanos, un polibutéster, o fibras naturales tales como las de algodón, seda, quitina o carbono. Se puede insertar cualquier apropiado polímero termoplástico, elastómero termoplástico, u otro material sintético o natural que tenga propiedades de formación de fibras, dentro de una membrana prefabricada de fibras huecas o de un cilindro hueco formado a partir de una lámina de membrana plana. Por ejemplo, los filamentos de seda, PET o nylon usados para materiales de sutura o en la producción del injerto vasculares son altamente conducentes a este tipo de aplicación. En otras formas de realización, se puede usar y tejer en telar una cinta o un alambre metálica/o. Cada uno de estos materiales de filamentos tiene unas propiedades superficiales y geométricas bien controladas, se puede producir a gran escala y tiene una larga historia de uso en implantes. En ciertas formas de realización, los filamentos pueden ser "texturizados" para proporcionar unas superficies ásperas y "agarres con la mano", sobre los cuales pueden unirse proyecciones de células. Los filamentos pueden ser revestidos con moléculas de matriz extracelulares o tratados superficialmente (*p.ej.* por irradiación con un plasma) para aumentar la adhesión celular a los filamentos.

En algunas formas de realización, los filamentos, organizados preferiblemente en una orientación unidireccional no aleatoria, son retorcidos en haces para formar hilos de espesor y volumen de espacios vacíos variable. El volumen de espacios vacíos es definido como los espacios que existen entre filamentos. El volumen de espacios vacíos en el hilo debería variar entre 20 y 95 %, pero está preferiblemente entre 50 y 95 %. El espacio vacío preferido entre los filamentos está entre 20 y 200 μm , lo suficiente para permitir que el andamiaje sea sembrado con células a lo largo de la longitud del hilo y para permitir que las células se unan a los filamentos. El diámetro preferido de los filamentos que comprende el hilo está entre 5 y 100 μm . Estos filamentos deberán tener una suficiente resistencia mecánica como para permitir una torsión para dar un haz que comprenda un hilo. La forma de sección transversal de los filamentos puede variar, siendo preferidas las secciones transversales circulares, rectangulares, elípticas, triangulares y en forma de estrella.

Alternativamente, los filamentos o hilos pueden ser tejidos en telar para dar una malla. La malla puede ser producida en una máquina trenzadora usando unos soportes, similares a bobinas, que contienen monofilamentos o multifilamentos, que sirven para alimentar o bien el hilo o los filamentos dentro de la malla durante la tejedura. El número de soportes es ajustable y puede ser enrollado con los mismos filamentos o con una combinación de filamentos que tengan diferentes composiciones y estructuras. El ángulo de la trenza, definido por el recuento de aprehensiones, es controlado por la velocidad de rotación de los soportes y por la velocidad de producción. En una

forma de realización, se usa un mandril para producir un tubo hueco de malla. En ciertas formas de realización, la trenza está construida como una única capa, y en otras formas de realización es una estructura de capas múltiples. La resistencia a la tracción de la trenza es la suma lineal de las resistencias a la tracción de los filamentos individuales.

- 5 En algunas formas de realización, se construye una trenza tubular. La trenza puede ser insertada dentro de una membrana de fibras huecas, sobre la que se siembran las células. Alternativamente, se puede permitir que las células se infiltren en la pared del tubo de malla para llevar al máximo el área de superficie disponible para la unión con células. Cuando dicha infiltración de células ocurre, la trenza sirve tanto como una matriz de andamiaje de células como en calidad de un soporte interno para el dispositivo. El aumento en la resistencia a la tracción para el
10 dispositivo soportado por la trenza es significativamente más alto que en unos enfoques alternativos.

El dispositivo micronizado del presente invento tiene un tamaño y una durabilidad suficientes para completar la recuperación después de una implantación. Los dispositivos micronizados preferidos del presente invento tienen un núcleo de un volumen mínimo preferible de menos que aproximadamente 0,5 μl (p.ej. de aproximadamente 0,3 μl).

- 15 Preferiblemente, el dispositivo micronizado tiene una atadura que ayuda a mantener la colocación de dispositivo durante la implantación, y ayuda a realizar su recuperación. Dicha atadura puede tener una forma cualquiera apropiada que esté adaptada para sujetar a la cápsula en su sitio. Por ejemplo, la sutura puede ser un lazo, un disco o una sutura. En algunas formas de realización, la atadura está configurada de un modo similar a un ojal, de manera tal que la sutura se pueda usar para sujetar la atadura (y por lo tanto el dispositivo) a la esclerótica, o a otra estructura ocular apropiada. En otras formas de realización, la atadura es continua con la cápsula en un extremo, y
20 forma una aguja de sutura previamente enhebrada en el otro extremo. La atadura puede ser construida a base de un metal con memoria de forma y/o cualquier otro apropiado material de calidad médica, que sea conocido en la especialidad.

- 25 Unas células que han sido tratadas por ingeniería genética para secretar anticuerpos pueden ser incluidas también en el núcleo. Por lo menos una BAM adicional puede ser suministrada desde el dispositivo micronizado al ojo. Por ejemplo, la por lo menos una BAM adicional puede ser proporcionada a partir de una fuente celular o no celular. Cuando por lo menos una BAM adicional es proporcionada a partir de una fuente no celular, la(s) BAM(s) adicional(es) puede(n) ser encapsulada(s) en, dispersada(s) dentro de, o unida(s) a uno o más componentes del sistema celular. Por ejemplo, la por lo menos una adicional molécula activa biológicamente puede ser un ácido nucleico, un fragmento de ácido nucleico, un péptido, un polipéptido, un compuesto mimético de péptido, un hidrato
30 de carbono, un lípido, una molécula orgánica, una molécula inorgánica, un agente terapéutico o cualesquiera combinaciones de éstos. Específicamente, los agentes terapéuticos pueden ser un fármaco anti-angiogénico, un fármaco anti-inflamatorio esteroideo y no esteroideo, un fármaco anti-mitótico, un fármaco anti-tumoral, un fármaco anti-parasitario, un reductor de IOP, un fármaco de péptido o cualesquiera otros fármacos con moléculas activas biológicamente que hayan sido autorizados para un uso oftalmológico.

- 35 El presente invento se refiere también a métodos para producir un dispositivo micronizado. Los dispositivos micronizados pueden ser formados por cualquier método conocido en la especialidad (*véanse p.ej.*, las patentes de los EE.UU n°s 6.361.771; 5.639.275; 5.653.975; 4.892.538; 5.156.844; 5.283.138; y 5.550.050).

- 40 La terapia con células encapsuladas está basada en concepto de aislar células con respecto del sistema inmunológico del anfitrión receptor mediante rodeo de las células con un material biocompatible semipermeable antes de la implantación dentro del anfitrión. El invento incluye un dispositivo micronizado en el que están encapsuladas células ARPE-19 en una cápsula aislante de inmunidad que, después de una implantación en un anfitrión receptor reduce al mínimo los efectos perjudiciales del sistema inmunológico del anfitrión sobre las células ARPE-19 en el núcleo del dispositivo. Las células ARPE-19 son aisladas de inmunidad con respecto del anfitrión encerrándolas dentro de cápsulas poliméricas implantables formadas por una membrana microporosa. Este enfoque
45 impide el contacto de una célula con otra célula entre el anfitrión y los tejidos implantados, eliminando de esta manera el reconocimiento de un antígeno mediante presentación directa.

- 50 Las membranas usadas pueden ser diseñadas a medida de los deseos para controlar la difusión de moléculas, tales como un anticuerpo y un complemento, basándose en su peso molecular. (*Véase Lysaght y colaboradores*, 56 J. Cell Biochem. 196 (1996), Colton, 14 Trends Biotechnol. 158 (1996)). Usando unas técnicas de encapsulación, las células pueden ser trasplantadas dentro de un anfitrión sin rechazo inmunológico, ya sea con o sin el uso de fármacos supresores de inmunidad. La cápsula puede estar hecha de un material biocompatible que, después de su implantación en un anfitrión, no provoque una respuesta perjudicial del anfitrión que sea suficiente para dar como resultado el rechazo de la cápsula o para hacerla inoperante, por ejemplo por degradación. El material biocompatible es relativamente impermeable para moléculas grandes, tales como componentes del sistema inmunológico del
55 anfitrión, pero es permeable a moléculas pequeñas tales como las de insulina, factores de crecimiento y nutrientes, mientras que permite que sea eliminado el desecho metabólico. Una diversidad de materiales biocompatibles son apropiados para el suministro de factores de crecimiento por la composición del invento. Se conocen numerosos materiales biológicos compatibles que tienen diferentes morfologías de la superficie externa y otras características mecánicas y estructurales.

Preferiblemente, la cápsula de este invento será similar a las descritas por las solicitudes de patente Internacional PCT WO 92/19195 o WO 95/05452, o las patentes de los EE.UU. n.ºs 5.639.275; 5.653.975; 4.892.538; 5.156.844; 5.283.187; o 5.550.050. Los componentes del material biocompatible pueden incluir una membrana semipermeable circundante y el andamiaje interno que soporta células. Las células transformadas son preferiblemente sembradas sobre el andamiaje, que es encapsulado por la membrana selectiva en cuanto a la permeabilidad. El andamiaje filamentosos que soporta las células puede estar hecho de cualquier material biocompatible seleccionado entre el conjunto que consiste en polímeros acrílicos, poliésteres, polietilenos, polipropileno-poli(acetonitrilos), poli(tereftalato de etileno), nilones, poliimidias, poliuretanos, polibutésteres, seda, algodón, quitina, carbono o metales biocompatibles. También se pueden usar estructuras fibrosas unidas para la implantación de células. (Véase la patente de los EE.UU. n.º 5.512.600). Los polímeros biodegradables incluyen los que se componen de un poli(ácido láctico) PLA, un poli(ácido láctico-co-glicólico) PLGA y un poli(ácido glicólico) PGA o sus equivalentes. Se han usado andamiajes de espuma para proporcionar una superficies sobre las cuales se pueden adherir las células trasplantadas (solicitud de patente internacional PCT n.º de serie 98/05304). Se han usado tubos de malla tejida en telar como injertos vasculares (Solicitud de patente internacional PCT WO 99/52573). Adicionalmente, el núcleo puede estar compuesto a base de una matriz inmovilizadora formada a partir de un hidrogel, que estabiliza la posición de las células. Un hidrogel es una red tridimensional de polímeros hidrófilos reticulados en la forma de un gel, que está sustancialmente compuesto de agua.

Se pueden usar diversos/as polímeros y mezclas preparadas de polímeros para producir la membrana semipermeable circundante, incluyendo los poliácridatos (que incluyen copolímeros acrílicos), polivinilidenos, copolímeros de poli(cloruro de vinilo), poliuretanos, poliestirenos, poliamidas, acetatos de celulosa, nitratos de celulosa, las polisulfonas (incluyendo las poli(éter-sulfonas), los polifosfazenos, los poli(acrilonitrilos), un poli(acrilonitrilo/co-cloruro de vinilo) así como derivados, copolímeros y mezclas de los mismos. Preferiblemente, la membrana semipermeable circundante es una membrana semipermeable biocompatible de fibras huecas. Dichas membranas y los métodos para producirlas se describen por las patentes de los EE.UU. n.ºs 5.284.761 y 5.158.881. La membrana semipermeable circundante está formada a base de una fibra hueca de poli(éter sulfona), tal como las que se han descrito por la patente de los EE.UU. n.º 4.976.859 o por la patente de los EE.UU. n.º 4.968.733. Un material alternativo para la membrana semipermeable circundante es una polisulfona.

La cápsula puede tener cualquier configuración apropiada para mantener la actividad biológica y proporcionar un acceso para el suministro del producto o de la función, incluyendo, por ejemplo, las formas cilíndrica, rectangular, en forma de parche, ovoidal, estrellada o esférica. Además, la cápsula puede ser enrollada o envuelta para dar una estructura a modo de malla o de red. Si la cápsula ha de ser recuperada después de haber sido implantada, no son preferidas unas configuraciones que tienden a conducir a una migración de las cápsulas desde el sitio de implantación, tales como unas cápsulas esféricas suficientemente pequeñas para desplazarse en los vasos sanguíneos del anfitrión receptor. Ciertas formas, tales como las de rectángulos, parches, discos, cilindros y láminas planas, ofrecen una mayor integridad estructural y son preferibles cuando se desea una recuperación.

Si se desea un dispositivo con una camisa de membrana termoplástica o polimérica, el intervalo y la distribución de tamaños de poros se pueden determinar haciendo variar el contenido de materiales sólidos de la solución del material precursor (la solución para moldeado por colada), la composición química del disolvente miscible con agua, o incluyendo opcionalmente un aditivo hidrófilo o hidrófobo en la solución para moldeado por colada, tal como se enseña por la patente de los EE.UU. n.º 3.615.024. El tamaño de los poros puede ser ajustado también haciendo variar la hidrofobicidad del coagulante y/o del baño.

Típicamente, la solución para moldeado por colada comprenderá un disolvente orgánico polar que contenga disuelto un polímero o copolímero insoluble en agua. Este polímero o copolímero precipita después de haber entrado en contacto con una fase acuosa miscible con el disolvente, formando una membrana selectiva en cuanto a la permeabilidad en el sitio de la interfase. El tamaño de los poros en la membrana depende de la tasa de difusión de la fase acuosa en la fase de disolvente; los aditivos hidrófilos o hidrófobos afectan al tamaño de poros por alteración de esta tasa de difusión. Puesto que la fase acuosa se difunde más lejos dentro del disolvente, el resto del polímero o copolímero es precipitado para formar un soporte trabecular que confiere resistencia mecánica al dispositivo acabado.

La superficie externa del dispositivo es determinada similarmente por las condiciones en las que es precipitado el polímero o copolímero disuelto (es decir, expuesto al aire, que genera una piel externa abierta, trabecular o a modo de esponja, sumergida en un baño acuoso de precipitación, que da como resultado una bicapa de membrana lisa y selectiva en cuanto a la permeabilidad. o es expuesto a un aire saturado con vapor de agua, lo que da como resultado una estructura intermedia).

La textura superficial del dispositivo es dependiente en parte de sí la tobera de extrusión está colocada por encima de, o sumergida en, el baño: Si la tobera está colocada por encima de la superficie del baño, se formará una piel externa asperizada de PAN/PVC, mientras que si la tobera está sumergida en el baño se formará una superficie externa lisa.

La matriz o membrana circundante o periférica puede ser conformada de nuevo, rellena con los materiales que formarán el núcleo (por ejemplo, usando una jeringa) y subsiguientemente cerrada herméticamente de una manera

tal que los materiales del núcleo estén completamente encerrados. Entonces el dispositivo puede ser expuesto a unas condiciones que llevan a cabo la formación de una matriz de núcleo si está presente en el núcleo un material precursor de la matriz.

5 Se puede usar cualquier método apropiado de cerrar herméticamente el dispositivo, incluyendo el empleo de adhesivos poliméricos y/o un recalado, un anudamiento y un cierre hermético por calor. Estas técnicas de cierre hermético son conocidas en la especialidad. Además, se puede usar también cualquier método de cierre hermético "en seco". En dichos métodos, se proporciona un elemento de acoplamiento sustancialmente no poroso, a través del cual es introducida la solución que contiene células. Subsiguientemente a la operación de rellenado, el dispositivo es cerrado herméticamente. Dichos métodos se describen p.ej. en las patentes de los Estados Unidos n°s 5.653.688; 10 5.713.887; 5.738.673; 6.653.687; 5.932.460; y 6.123.700.

Los dispositivos del invento pueden proporcionar la implantación de diversos tipos de células o tejidos, incluyendo células o tejidos plenamente diferenciadas/os, fetales o neonatales, dependientes del anclaje, o transformadas/os, independientes del anclaje. Las células que se han de aislar son preparadas o bien a partir de un donante (es decir células o tejidos primarios, incluyendo células o tejidos de adultos, neonatales y fetales) o a partir de unas células que se replican *in vitro* (es decir, células o linajes de células inmortalizadas, incluyendo unas células modificadas genéticamente). En todos los casos, se prepara una cantidad suficiente de células para producir unos niveles efectivos del producto necesario o para suministrar un nivel efectivo de la función metabólica necesaria, generalmente en condiciones estériles, y se mantiene de una manera apropiada (p.ej. en una solución de sal equilibrada tales como las sales de Hanks, o en un medio nutriente. tal como el F12 de Ham) antes del aislamiento.

20 Los dispositivos para ECT micronizados del invento tienen una forma que tiende a reducir la distancia entre el centro del dispositivo y la porción más próxima de la camisa, para las finalidades de permitir un acceso fácil de nutrientes procedentes del paciente dentro de la célula o la entrada de las proteínas del paciente dentro de la célula, que ha de ser actuada por la célula para proporcionar una función metabólica. A este respecto se prefiere una forma no esférica, tal como la de un cilindro.

25 Cuatro factores importantes que influyen sobre el número de células o la cantidad de tejido que se ha de colocar dentro del núcleo del dispositivo (es decir, la densidad de carga) del presente invento son: (1) el tamaño y la geometría del dispositivo; (2) la actividad mitótica dentro del dispositivo; (3) los requisitos de viscosidad para la preparación y/o carga del núcleo; y (4) el ensayo antes de la implantación y los requisitos de cualificación.

30 Con respecto al primero de estos factores (el tamaño y la geometría del dispositivo); la difusión de nutrientes críticos y los requisitos metabólicos dentro de las células, así como la difusión de metabolitos hacia fuera de las células, son críticas/os para la viabilidad continuada de las células. En el caso de unas células RPE tales como células ARPE-19, las células vecinas son capaces de fagocitar a las células que están muriendo y usar los desechos como una fuente de energía.

35 Entre los requisitos metabólicos cumplidos por la difusión de sustancias dentro del dispositivo está la necesidad de oxígeno. Las necesidades de oxígeno de las células específicas deben ser determinadas para la célula seleccionada. Véanse los Métodos y las referencias para la determinación del metabolismo de oxígeno que se dan en la cita de Wilson D. F. y colaboradores, J. Biol. Chem., 263, páginas 2712-2718, (1988).

40 Con respecto al segundo factor (división celular), si se espera que las células seleccionadas se dividan activamente mientras que están en el dispositivo, ellas continuarán dividiéndose hasta que rellenen el espacio disponible o hasta que unos fenómenos tales como la inhibición del contacto limiten una división ulterior. Para células replicantes, la geometría y el tamaño del dispositivo se escogerán de manera tal que un relleno completo del núcleo del dispositivo no conduzca a una privación de nutrientes críticos, debida a limitaciones de la difusión.

45 Con respecto al tercer factor (viscosidad de los materiales de núcleo) las células en unas densidades que ocupan hasta un 70 % del volumen del dispositivo pueden ser viables, pero unas soluciones de células en este intervalo de concentraciones tendrían una considerable viscosidad. La introducción de células en una solución muy viscosa dentro del dispositivo podría ser prohibitivamente difícil. En general, tanto para las dos etapas como para las estrategias de coextrusión, raramente serán útiles unas densidades de carga mayores que 30 %, y en general unas óptimas densidades de carga serán de 20 % e inferiores. Por ejemplo, para fragmentos de tejidos, es importante, con el fin de conservar la viabilidad de las células interiores, seguir las mismas pautas de guía generales que antes y 50 los fragmentos de tejidos no deberán superar un diámetro de 250 micrómetros, teniendo las células interiores menos que 15, preferiblemente menos que 10 células entre ellas y la superficie de difusión más próxima.

Finalmente, con respecto al cuarto factor (implantación previa y requisitos de ensayo), en muchos casos se requerirá una cierta cantidad de tiempo entre la preparación del dispositivo y la implantación. Por ejemplo, puede ser importante cualificar el dispositivo en términos de su actividad biológica. Por lo tanto, en el caso de células activas mitóticamente, la densidad de carga preferida considerará también el número de células que deben de estar 55 presentes con el fin de realizar el ensayo de cualificación.

En la mayor parte de los casos, antes de una implantación *in vivo*, será importante usar unos ensayos *in vitro* para establecer la eficacia de la BAM dentro del dispositivo. Unos dispositivos pueden ser construidos y analizados

usando unos sistemas de modelos con el fin de permitir la determinación de la eficacia del vehículo sobre una base por célula o por unidad de volumen.

5 Siguiendo estas pautas de guía para la carga del dispositivo y la determinación de la eficacia del dispositivo, el tamaño real del dispositivo para la implantación será determinado entonces por la actividad biológica que se requiera para la aplicación particular. El número de dispositivos y el tamaño de un dispositivo que deberían ser suficientes para producir un efecto terapéutico después de una implantación, se determinan por la cantidad de actividad biológica requerida para la aplicación particular. En el caso de células secretoras que liberan sustancias terapéuticas, se usaran unas consideraciones y unos criterios de dosificación clásicas/os conocidas/os en la especialidad, con el fin de determinar la cantidad de sustancia secretora requerida. Unos factores que han de ser considerados incluyen: el tamaño y el peso del individuo receptor; la productividad o el nivel funcional de las células; y, si procediese, la productividad metabólica normal del órgano o tejido cuya función está siendo reemplazada o aumentada. También es importante considerar que una fracción de las células puede no sobrevivir a los procesos de aislamiento de inmunidad e implantación. Por lo demás, se debe de considerar también si el individuo receptor tiene una condición previamente existente que pueda interferir con la eficacia del implante. Se pueden producir con facilidad unos dispositivos del presente invento que contengan varios millares de células (p.ej. entre 10 15 aproximadamente 5×10^2 y aproximadamente 90×10^3 células).

El tratamiento de muchas condiciones de acuerdo con los métodos aquí descritos requerirá solamente un dispositivo o a lo sumo menos que 50 dispositivos implantados por cada ojo para suministrar una apropiada dosis terapéutica. Unas dosificaciones terapéuticas pueden estar situadas entre aproximadamente 0,1 pg y 1.000 ng por ojo por paciente por día (p.ej. entre 0,1 pg y 500 ng por ojo por paciente por día; entre 0,1 pg y 250 ng, entre 0,1 pg y 100 ng, entre 0,1 pg y 50 ng, entre 0,1 pg y 25 ng, entre 0,1 pg y 10 ng, o entre 0,1 pg y 5 ng por ojo por paciente por día). Cada uno de los dispositivos del presente invento es capaz de almacenar entre aproximadamente 1.000 y aproximadamente 90.000 células en forma individual o en la de racimos, dependiendo de su tipo.

De acuerdo con los métodos de este invento, otras moléculas pueden ser suministradas concomitantemente a partir de los dispositivos micronizados. Por ejemplo, puede ser preferible suministrar uno o varios factor(es) trófico(s) con uno o varios factor(es) anti-angiogénico(s).

El suministro concomitante se puede realizar de un cierto número de maneras. En primer lugar, las células pueden ser transfectadas con unas construcciones artificiales separadas que contengan los genes que codifiquen las moléculas descritas. En segundo lugar, las células pueden ser transfectadas con una construcción artificial que contenga dos o más genes y los elementos de control necesarios. En tercer lugar, dos o más linajes de células tratadas por ingeniería genética por separado o bien pueden ser encapsulados concomitantemente o más de un dispositivo puede ser implantado en el sitio que interesa.

Se puede emplear la expresión de genes múltiples a partir de un único transcrito sobre la expresión a partir de múltiples unidades de transcripción. Véase, p.ej. Macejak, Nature, 353, páginas 90-94 (1991); el documento WO 94/24870; Mountford y Smith, Trends Genet., 11, páginas 179-84 (1995); Dirks y colaboradores, Gene, 128, páginas 247-49 (1993); Martínez-Salas y colaboradores, J. Virology, 67 páginas 3748-55 (1993) y Mountford y colaboradores, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, páginas 4303-07 (1994).

Para algunas indicaciones, puede ser preferible suministrar BAMs concurrentemente a dos sitios diferentes en el ojo. Por ejemplo, puede ser deseable suministrar un factor neurotrófico al humor vítreo con el fin de entregar a la retina neural (células ganglionares para el RPE (epitelio pigmentario de la retina) y suministrar un factor anti-angiogénico pasando por el sub-espacio de Tenon para entregarlo a la vasculatura coroidal.

Adicionalmente, otra forma de realización en este invento implica el suministro concomitante de una BAM procedente de una fuente no celular o de una mezcla de una BAM procedente de una fuente no celular y de un excipiente a una región del ojo en la que la BAM procedente de una fuente no celular es encapsulada, dispersada o unida a unos componentes del dispositivo que incluyen, pero no se limitan a: (a) un agente de cierre hermético; (b) un andamiaje; (c) una membrana de camisa; (d) un ancla de atadura; y/o (e) medios del núcleo. En esta forma de realización, el suministro concomitante de la BAM procedente de una fuente no celular puede realizarse a partir del mismo dispositivo que el de la BAM procedente de la fuente celular. Alternativamente, se pueden usar dos o más sistemas de células encapsuladas. La BAM procedente de una fuente no celular puede incluir unos agentes terapéuticos tales como fármacos antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos, fármacos anti-mitóticos, fármacos anti-tumorales, fármacos anti-parasitarios, reductores de la IOP, fármacos de péptidos y otras moléculas biológicamente activas aprobadas para el uso oftalmológico. Unos excipientes apropiados incluyen, pero no se limitan a, cualesquiera polímeros no degradables o biodegradables, hidrogeles, agentes intensificadores de la solubilidad, moléculas hidrófobas, proteínas, sales u otros agentes formadores de complejos aprobados para formulaciones.

Las dosificaciones no celulares se pueden hacer variar por cualquier método apropiado conocido en la especialidad, tal como hacer variar la concentración del agente terapéutico y/o el número de dispositivos por ojo, y/o modificar la composición del excipiente encapsulador. La dosificación celular se puede hacer variar cambiando (1) el número de células por dispositivo, (2) el número de dispositivos por ojo, o (3) el nivel de producción de BAM por célula. La

producción celular se puede hacer variar cambiando, por ejemplo, el número de copias del gen para la BAM en la célula transducida, o la eficiencia del promotor que impulsa a la expresión de la BAM. Unas apropiadas dosificaciones procedentes de fuentes no de células pueden variar entre aproximadamente 1 pg y aproximadamente 1.000 ng por día.

- 5 Este invento contempla también el uso de diferentes tipos de células durante el curso del régimen de tratamiento. Por ejemplo, un paciente puede ser implantado con un dispositivo de cápsula que contiene un primer tipo de células. Si, después de haber transcurrido un cierto tiempo, el paciente desarrolla una respuesta inmunitaria a ese tipo de células, la cápsula puede ser recuperada, o explantada, y se puede implantar una segunda cápsula que contenga un segundo tipo de células. De esta manera, es posible la provisión continua de la molécula terapéutica, incluso si el
- 10 paciente desarrolla una respuesta inmunitaria a uno de los tipos de células encapsuladas.

Los métodos y dispositivos del presente invento son útiles para suministrar una amplia gama de productos celulares, incluyendo productos de alto peso molecular, a un individuo que necesita de ellos, y/o proporcionar funciones metabólicas necesarias a un individuo, tales como la eliminación de sustancias perjudiciales. Los productos que se pueden suministrar usando los presentes dispositivos incluyen una amplia variedad de BAMs normalmente secretadas por diversos órganos o tejidos. Alternativamente, las células encapsuladas pueden ser tratadas por

15 ingeniería genética para secretar una o más BAMs.

Muchos productos celulares, que son difíciles de proporcionar usando unos tejidos donantes primarios, se pueden proporcionar usando células inmortalizadas o linajes de tales células. Las células inmortalizadas son las que son capaces de una replicación indefinida pero que exhiben una inhibición del contacto después de la confluencia y no son tumorigénicas. Un ejemplo de un linaje de células inmortalizadas es el linaje PC12 de células del feocromocitoma de una rata. Las células transformadas o los linajes de tales células se pueden usar de una manera similar. Las células transformadas son diferentes de las células meramente inmortalizadas por el hecho de que ellas no exhiben ninguna inhibición del contacto después de la confluencia y forman tumores cuando se implantan dentro de un anfitrión alogeneico. La inmortalización puede permitir el uso de tipos raros o notoriamente frágiles de células o tejidos para el suministro a largo plazo de un producto o una función metabólica escogido/a. Unas apropiadas técnicas para la inmortalización de células se describen en las citas de Land H. y colaboradores, *Nature* 304, páginas 596-602 (1983) y de Cepko, C. L., *Neuron* 1, páginas. 345-353 (1988). Unos linajes candidatos de células incluyen, por ejemplo, unos linajes de células beta tratadas por ingeniería genética que secretan insulina tales como células NIT (véase la cita de Hamaguchi, K. y colaboradores., *Diabetes* 40, página 842 (1991)), células RIN (véase la cita de Chick, W. L. y colaboradores, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74, páginas. 628-632 (1977)), células ATT (véase la cita de Hughes, S. D. y colaboradores, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, páginas. 688-692 (1992)), células CHO (véase la cita de Matsumoto, M. y colaboradores, 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, páginas. 9133-9137 (1990)), células beta-TC-3 (véase la cita de Tal, M. y colaboradores, 1992, *Mol. Cell Biol.*, 12, páginas. 422-432 (1992)), y células ARPE-19. Adicionalmente, unas células o unos linajes de células recombinantes se pueden tratar por ingeniería genética para proporcionar nuevos productos o nuevas funciones y sus combinaciones usando una amplia diversidad de técnicas bien conocidas para los que poseen una experiencia ordinaria en la especialidad.

20

25

30

35

Los genes que codifican numerosas moléculas activas biológicamente han sido clonados y sus secuencias de nucleótidos han sido publicadas. Muchos de estos genes están disponibles públicamente a partir de depositarios tales como el American Type Culture Collection (ATCC) o de diversas fuentes comerciales. Unos genes que codifican las moléculas activas biológicamente que son útiles en este invento, y que no están disponibles públicamente, se pueden obtener usando métodos clásicos de ADN recombinante tales como una amplificación por PCR, un escrutinio genómico y de bibliotecas de ADNc con sondas de oligonucleótidos. Cualquiera de los genes conocidos que codifican unas moléculas biológicamente activas, se pueden emplear en los métodos de este invento. Véanse, *p.ej.*, la patente de los EE.UU. nº 5.049.493; la patente de los EE.UU. nº 5.082.670 de Gage y colaboradores; y la patente de los EE.UU. nº 5.167.762 de Genentech.

40

45

Un gen que interesa (es decir, un gen que codifica una apropiada molécula activa biológicamente) puede ser introducido en un sitio de clonación de un apropiado vector de expresión usando técnicas clásicas. Se apreciará que se puede insertar más de un gen dentro de un apropiado vector de expresión. Estas técnicas son bien conocidas para los expertos en la especialidad.

- 50 El vector de expresión que contiene el gen que interesa, se puede usar entonces para transfectar el linaje de células que se ha de usar en los métodos de este invento. Unas técnicas clásicas de transfección tales como una precipitación concomitante con fosfato de calcio, una transfección de DEAE-dextrano o una electroporación. Unos estuches de transfección en mamíferos comercialmente disponibles pueden comprarse de *p.ej.* Stratagene.

Se puede usar una amplia diversidad de combinaciones de anfitriones y de vectores de expresión con el fin de expresar el gen que codifica la molécula activa biológicamente que interesa. Una expresión *in vivo* estable a largo plazo se consigue usando unos vectores de expresión (es decir unas moléculas de ADN recombinante) en los que el gen que codifica la molécula activa biológicamente es enlazado operativamente con un promotor que no está sujeto a una regulación en sentido descendente después de una implantación *in vivo* en un anfitrión mamífero. Correspondientemente, dichos vectores de expresión no podrían contener típicamente un promotor retrovírico. Unos

55

apropiados promotores incluyen, por ejemplo, los promotores temprano y tardío de SV40 o adenovirus y otros promotores no retrovéricos conocidos, capaces de controlar la expresión de genes.

Unos útiles vectores de expresión, por ejemplo, pueden componerse de segmentos de secuencias de ADN cromosomales, no cromosomales y sintéticas, tales como diversos derivados conocidos de SV40 y de plásmidos bacterianos conocidos, *p.ej.*, los plásmidos pUC, pBlue Script® procedentes de *E. coli* que incluyen pBR322, pCR1, pMB9, pUC, pBlue Script® y sus derivados. Los vectores de expresión que contienen los genes de selección de fármacos genéticos (G418) o higromicina (*véase* Southern, P. J. (1981), *In vitro*, 18, página 315, Southern, P. J. y Berg, P. (1982), *J. Mol. Appl. Genet.*, 1, página 327) son también útiles para practicar este invento. Estos vectores pueden emplear una diversidad de diferentes regiones de intensificadores/promotores con el fin de impulsar la expresión tanto de un gen biológico que interesa (*p.ej.*, el de NGF) y/o como la de un gen que confiere resistencia a la selección con una toxina, tal como el de G418 o higromicina B. El gen de resistencia a G418 codifica una aminoglicosido fosfotransferasa (APH) que desactiva enzimáticamente al G418 (100-500 µg/µl) añadido al medio de cultivo. Solamente aquellas células que expresan el gen de APH sobrevivirán a la selección de fármacos dando como resultado usualmente asimismo la expresión del segundo gen biológico. El gen de la higromicina B fosfotransferasa (HPH) codifica una enzima que modifica específicamente a la toxina higromicina y la desactiva. Unos genes concomitantemente transfectados con, o contenidos en, el mismo plásmido que el gen de la higromicina B fosfotransferasa serán expresados preferiblemente en la presencia de higromicina B en unas concentraciones de 50-200 µg/ml.

Una diversidad de diferentes promotores de mamíferos se puede emplear para dirigir la expresión de los genes para G418 e higromicina B y/o el gen de BAM que interesa. Estos promotores incluyen, pero no se limitan a, los promotores de hDBH (dopamina beta hidroxilasa humana) (*véase* la cita de Mercer y colaboradores, *Neuron*, 7, páginas 703-716, (1991)), hTH (tirosina hidroxilasa humana) (*véase* la cita de Kaneda y colaboradores, *Neuron*, 6, páginas 583-594, (1991)), hPNMT (feniletanolamina N-metil-transferasa humana) (*véase* la cita de Baetge y colaboradores, *pNAS*, 85, páginas 3648-3652, (1988)), mGFAP (proteína ácida fibrilar glial de ratón) (*véase* la cita de Besnard y colaboradores, *J. Biol. Chem.*, 266, páginas 18877-18883, (1991)), proteína básica de mielina (MBP, acrónimo de myelin basic protein), mNF-L (subunidad ligera de neurofilamentos de ratón) (*véase* la cita de Nakahira y colaboradores, *J. Biol. Chem.*, 265, páginas 19786-19791, (1990)), hPo (P₀ humano, el promotor para el gen que codifica la glicoproteína mielina principal en el sistema nervioso periférico) (*véase* la cita de Lemke y colaboradores, *Neuron*, 1, páginas 73-83, (1988)), mMT, rNSE (enolasa específica para neuronas de rata) (*véase* la cita de Sakimura y colaboradores, *Gene*, 60, páginas 103-113, 1987), y similares.

Unos ejemplos de vectores de expresión que pueden ser empleados incluyen, pero no se limitan a, los de pRG/CMV pRC/RSV, y pCDNA1NEO comercialmente disponibles (de InVitrogen). Las regiones de promotor vírico que dirigen la transcripción de la selección de fármacos y los genes de BAM que interesan, se reemplazan con una de las anteriores secuencias de promotores que no están sujetas a la regulación en sentido descendente experimentada por los promotores víricos dentro del SNC (sistema nervioso central). Por ejemplo, el promotor de GFAP podría ser empleado para la transfección de astrocitos y de linajes de células de astrocitos, el promotor TH se podría usar en células PC12, o el promotor de MBP sería usado en oligodendrocitos.

En algunas formas de realización, se usa el vector de expresión pNUT. Además, el vector de expresión pNUT se puede modificar de tal manera que la secuencia de codificación de DHFR sea reemplazada por la secuencia de codificación para resistencia a los fármacos G418 o higromicina. El promotor de SV40 dentro del vector de expresión pNUT se puede reemplazar también con cualquier otro apropiado promotor de mamífero expresado constitutivamente, tal como los descritos con anterioridad.

Unas apropiadas BAMs para usarse en los dispositivos micronizados del invento incluyen, pero no se limitan a, factores anti-angiogénicos, factores anti-inflamatorios, factores neurotróficos, factores de crecimiento, factores tróficos, anticuerpos y fragmentos de anticuerpos, neurotransmisores, hormonas, citocinas, o linfoquinas. Específicamente, las BAMs pueden ser TGFβ, GDNF, NGF, CNTF, bFGF, aFGF, IL-1β, IFN-β1, IFN-α, BDNF, LIF, NT-4, NTN, NT4/5, CT-1, LEDGF, Neublastin, Axokine, IL-23, RdCVF, IL-10, alfa INF, IL-1Rα y Remicade. Unos factores anti-angiogénicos ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, vasculostatina, angiostatina, endostatina, anti-integrinas, inhibidores del factor de crecimiento endotelial vascular (inhibidores del VEGF), factor plaquetario 4, heparinasa, moléculas que fijan al bFGF, el receptor del VEGF Flt, el receptor del VEGF Fik, Lucentia, la trampa de VEGF, Tek Δ/Fc, (el inhibidor de ang1/ang2), 2xCon4 (C), receptores del VEGF solubles, y el PEDF.

Otros productos, que pueden ser suministrados mediante el uso del presente dispositivo micronizado, incluyen factores tróficos tales como eritropoyetina, una hormona del crecimiento, la Sustancia P y neurotensina. Este invento es útil para tratar a unos individuos que padecen de un dolor agudo y/o crónico, por suministro de un analgésico o una sustancia reductora del dolor al individuo. Tales sustancias reductoras del dolor incluyen encefalinas, catecolaminas y otros péptidos opioides. Dichos compuestos pueden ser secretados por *p.ej.* células cromafines adrenales. Otra familia de productos idóneos para ser suministrados por el presente vehículo, comprende agentes modificadores de la respuesta biológica, que incluyen linfoquinas y citocinas. Se pueden suministrar también unos anticuerpos procedentes de células que secretan anticuerpos. Unos anticuerpos específicos que pueden ser útiles, incluyen los que están dirigidos hacia antígenos específicos para tumores. La liberación de anticuerpos puede también ser útil para disminuir los niveles circulantes de compuestos tales como hormonas o factores de

crecimiento. Estos productos son útiles en el tratamiento de una amplia diversidad de enfermedades, condiciones inflamatorias o trastornos, y trastornos degenerativos del ojo.

5 Unas formas modificadas, truncadas y/o de muteínas de las moléculas antes mencionadas son también contempladas. Además se contemplan también unos fragmentos activos de estos factores de crecimiento (es decir, los fragmentos de factores de crecimiento que tienen una actividad biológica suficiente para conseguir un efecto terapéutico). Se contemplan también unas moléculas de factores de crecimiento modificadas por unión de uno o más restos de poli(etilen glicol) (PEG) u otros restos poliméricos repetidos. Se contemplan también unas combinaciones de estas proteínas y versiones policistrónicas de las mismas.

10 La elección de células depende de la aplicación pretendida. Las células se pueden escoger por su secreción de hormonas, citocinas, factores de crecimiento, factores tróficos, factores de angiogénesis, anticuerpos, factores de coagulación de la sangre, linfocinas, enzimas y otros agentes terapéuticos o agonistas, precursores, compuestos análogos activos o fragmentos activos de los mismos.

15 Se puede usar en este invento una amplia diversidad de células. Éstas incluyen linajes de células inmortalizadas conocidas, disponibles públicamente, así como cultivos primarios de células. Ejemplos de linajes de células disponibles públicamente, que son apropiados para la práctica de este invento, incluyen los de riñón de hámster babi (BHK, acrónimo de baby hámster kidney), ovario de hámster chino (CHO, acrónimo de Chinese hamster ovary), fibroblasto de ratón (L-M), embrión de ratón NIH Swiss (NIH/3T3), linajes de células de mono verde africano (que incluyen los COS-a, COS-7, BSC-1, BSC-40, BMT-10 y Vero), el feocromocitoma adrenal de rata (PC12), un tumor glial de rata (C6), células ARPE-19, y similares. Unas células primarias que se pueden usar de acuerdo con el presente invento incluyen células madres de un progenitor neural que responde al bFGF, que se derivan del SNC de mamíferos (Richards y colaboradores, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, páginas 8591-8595 (1992); Ray y colaboradores, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, páginas 3602-3606 (1993)), fibroblastos primarios, células de Schwann, astrocitos, células β -TC, células Hep-G2, células AT T20, oligodendrocitos y sus precursores, mioblastos, células cromafines adrenales, y similares.

25 La elección de las células depende de la aplicación pretendida. Las células encapsuladas se pueden escoger por la secreción de una BAM particular. Se pueden emplear también unas células que sintetizan y secretan agonistas, análogos, derivados o fragmentos de BAMs, que sean activas.

30 Para ser un linaje de células de plataforma para un sistema de suministro basado en células encapsuladas, el linaje de células deberá tener tantas de las siguientes características como sea posible: (1) las células deberán ser fuertes y resistentes en condiciones rigurosas (las células encapsuladas deberán ser funcionales en las cavidades de tejidos avasculares tal como en el sistema nervioso central o en el ojo, especialmente en el entorno intra-ocular); (2) las células deberán ser capaces de ser modificadas genéticamente (los deseados factores terapéuticos necesarios que han de ser introducidos por ingeniería genética en las células); (3) las células deberán tener una duración de vida relativamente larga (las células deberán producir suficientes progenies para ser guardadas en bancos, caracterizadas, tratadas por ingeniería genética, ensayadas en cuanto a seguridad y un lote clínico fabricado); (4) las células deberán ser preferiblemente de origen humano (lo que aumenta la compatibilidad entre las células encapsuladas y el anfitrión); (5) las células deberán exhibir una viabilidad mayor que 80 % durante un período de tiempo de más de un mes *in vivo* en un dispositivo (lo que asegura un suministro a largo plazo); (6) las células encapsuladas deberán suministrar una cantidad eficaz de un útil producto biológico (que asegura una efectividad en el tratamiento); (7) las células deberán tener un bajo nivel de reacción inmunitaria del anfitrión (lo que asegura la longevidad del injerto); y (8) las células deberán ser no tumorígenas (para proporcionar seguridad añadida al anfitrión, en el caso de una fuga del dispositivo).

45 El linaje de células ARPE-19 (véanse las citas de Dunn y colaboradores, 62 Exp. Eye Res. 155-69 (1996), de Dunn y colaboradores, 39 Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2744-9 (1998), de Finnemann y colaboradores, 94 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 12932-7 (1997), de Handa y colaboradores, 66 Exp. Eye. 411-9 (1998), de Holtkamp y colaboradores, 112 Clin. Exp. Immunol. 34-43 (1998), de Maidji y colaboradores, 70 J. Virol. 8402-10 (1996); la patente de los Estados Unidos nº 6.361.771 demuestra todas las características de una células de plataforma satisfactoria para un sistema de suministro basado en células. El linaje de células ARPE-19 está disponible del American Type Culture Collection (ATCC número CRL-2302). Las células ARPE-19 son unas células epiteliales pigmentadas retinianas (RPE, acrónimo de retinal pigmented epithelial) normales y expresan los marcadores CRALBP y RPE-65, para células epiteliales pigmentadas retinianas. Las células ARPE-19 forman unas monocapas estables, que exhiben una polaridad morfológica y funcional.

55 Cuando se usan los dispositivos micronizados del invento, se encapsulan en cada dispositivo preferiblemente entre 10^2 y 10^8 células ARPE-19, de manera sumamente preferible desde 5×10^2 hasta 90×10^3 células ARPE-19. La dosificación puede ser controlada implantando un número mayor o menor de cápsulas, preferiblemente entre 1 y 50 cápsulas por paciente. Los dispositivos aquí descritos son capaces de suministrar entre aproximadamente 0,1 pg y 1.000 ng de la BAM deseada por ojo por paciente por día. Se ha mostrado que tanto los dispositivos para ECT de primera generación como también los dispositivos micronizados del presente invento proporcionan el mismo nivel de proteína al ojo.

Las técnicas y los procesos para aislar células o tejidos que producen un producto seleccionado son conocidas/os para los expertos en la especialidad o se pueden adaptar a partir de procesos conocidos con no más que una experimentación rutinaria.

5 Si las células que han de ser aisladas son células o linajes de células replicantes, adaptadas para crecer *in vitro*, es particularmente ventajoso generar un banco celular de estas células. Una ventaja particular de un banco celular consiste en que éste es una fuente de células preparadas a partir del mismo cultivo o la misma tanda de células. Esto es, todas las células se originan a partir de la misma fuente de células y han sido expuestas a las/los mismas/os condiciones y estreses. Por lo tanto, los viales pueden ser tratados como clones idénticos. En el contexto de un trasplante, esto facilita grandemente la producción de dispositivos idénticos o de reemplazo. Esto permite también unos protocolos de ensayo simplificados, que aseguran que las células implantadas estén exentas de retrovirus y similares. Esto puede también permitir una vigilancia paralela de vehículos *in vivo* e *in vitro*, permitiendo de esta manera una investigación de efectos o factores singulares para la residencia *in vivo*.

En todos los casos, es importante que las células o los tejidos contenidos en el dispositivo no estén contaminadas/os o adulteradas/os.

15 Los dispositivos micronizados formados de nuevas, obtenidos por cualquiera de los métodos aquí descritos, pueden ser mantenidos en condiciones estériles dentro de un medio nutriente definido exento de suero, no pirógeno, o una solución salina equilibrada, a aproximadamente 37 °C, antes de la implantación. Unas temperaturas más bajas (de 20 °C -37 °C) pueden ser óptimas para ciertos tipos de células y/o ciertas condiciones de cultivo. Se pueden usar también otras temperaturas de mantenimiento y otras composiciones de medios compatibles con una buena viabilidad de las células. Alternativamente, el dispositivo puede ser conservado criogénicamente en nitrógeno líquido, si un agente crioprotector tal como glicerol ha sido incorporado dentro de la matriz. (Véase la cita de Rajotte, R. V. Y colaboradores Transplantation Proceedings, 21, páginas 2638-2640 (1989)). En dicho caso el dispositivo es descongelado antes del uso y equilibrado en unas condiciones estériles, tales como más arriba se han descrito.

25 Los métodos y dispositivos de este invento están destinados al uso en un anfitrión, individuo receptor, sujeto o individuo mamífero, preferiblemente un primate, de manera sumamente preferible un ser humano. Se contempla un cierto número de diferentes sitios de implantación para los dispositivos y métodos de este invento. Unos apropiados sitios de implantación incluyen, pero no se limitan a, los humores acuoso y vítreo del ojo, el espacio periorcular, la cámara anterior y/o la sub-cápsula de Tenon.

30 El invento proporciona unos métodos de tratar trastornos oftálmicos por implantación de los dispositivos micronizados del invento dentro de un ojo del paciente. Por ejemplo, el trastorno oftálmico puede ser una enfermedad de degeneración retiniana. Unas enfermedades de degeneración retiniana ilustrativas incluyen, pero no se limitan a, retinopatía de prematuridad, glaucoma, formación de cataratas retinoblastoma, isquemia retinal, uveítis, retinitis pigmentosa, formas de degeneración macular relacionada con la edad en húmedo y en seco, retinopatía diabética y coroideremia. Otros trastornos oftálmicos que pueden ser tratados usando los dispositivos micronizados del presente invento, incluyen pero no se limitan a, retinopatías proliferativas, enfermedades vasculares de la retina, anomalías vasculares, degeneración macular relacionada con la edad y otros trastornos adquiridos (que incluyen, pero no se limitan a, una degeneración macular relacionada con la edad en seco, una degeneración macular relacionada con la edad exudativa y una degeneración miópica), una endoftalmitis, enfermedades infecciosas, enfermedades inflamatorias pero no infecciosas, trastornos relacionados con el SIDA, el síndrome de isquemia ocular, trastornos relacionados con el embarazo, degeneraciones retinianas periféricas, degeneraciones retinianas, retinopatías tóxicas, tumores retinianos, tumores coroidales, trastornos del humor vítreo, un desprendimiento de retina y una vitreorretinopatía proliferativa, un trauma no penetrante, un trauma penetrante, complicaciones después de las cataratas y neuropatías ópticas inflamatorias.

45 Los dispositivos del presente invento pueden también ser útiles para el tratamiento de una neovascularización ocular, que es una condición asociada con muchas enfermedades y trastornos oculares. Por ejemplo, una neovascularización ocular asociada con una isquemia retinal es una causa principal de ceguera en diabetes y otras muchas enfermedades. El presente invento se puede usar también para tratar unos síntomas oculares que resultan de enfermedades o condiciones que tienen síntomas tanto oculares como no oculares. Algunos ejemplos incluyen retinitis por citomegalovirus en un SIDA y otras condiciones y trastornos del humor vítreo, cambios hipertensivos en la retina como un resultado de un embarazo, y efectos oculares de diversas enfermedades infecciosas tales como tuberculosis, sífilis, la enfermedad de Lyme, la enfermedad parasitaria, toxocara canis, una oftalmioniasis, una cercosis quística e infecciones fúngicas. Similarmente, el invento se puede usar también para tratar condiciones relacionadas con otras enfermedades intraoculares basadas en una neovascularización intraocular. Una neovascularización corneal es un problema principal, puesto que interfiere con la visión y predispone a los pacientes a un fallo de un injerto de córnea. Una mayoría de las pérdidas visuales graves está asociada con unos trastornos que dan como resultado una neovascularización ocular. Por ejemplo, una neovascularización aparece en unas enfermedades tales como la retinopatía diabética, la oclusión de la vena retinal central y posiblemente una degeneración macular relacionada con la edad.

60 Los dispositivos micronizados y las técnicas de este invento proporcionan varias ventajas con respecto a otras rutas de suministro. Por ejemplo, se pueden suministrar al ojo directamente unas BAMs que reducen o minimizan los

efectos colaterales periféricos indeseados. Además se pueden suministrar unas dosis muy pequeñas de BAMs (cantidades de picogramos o nanogramos bajas, en vez de miligramos) en comparación con unas aplicaciones tópicas, disminuyendo potencialmente también de esta manera los efectos colaterales. Similarmente, puesto que las células viables producen continuamente BAMs recientemente sintetizadas, estas técnicas deberían ser superiores al suministro por inyección de fármacos, en donde la dosis de BAM fluctúa grandemente entre inyecciones y la BAM es degradada continuamente pero no repuesta continuamente.

Las células vivas pueden ser encapsuladas en el dispositivo micronizado del invento e introducidas quirúrgicamente (bajo una anestesia retrobulbar) en el humor vítreo del ojo. Preferiblemente, el dispositivo micronizado es atado a la esclerótica para ayudar a su retirada. El dispositivo micronizado puede permanecer en el humor vítreo durante tanto tiempo como sea necesario para conseguir la deseada profilaxis o terapia. Tales terapias incluyen por ejemplo una promoción de la supervivencia o reparación de neuronas o fotorreceptores, o una inhibición y/o inversión de la neovascularización retinal o coroidal así como una inhibición de una inflamación uveal, retinal y de los nervios ópticos.

Con una colocación en el humor vítreo, la molécula activa biológicamente, preferiblemente un factor trófico, se puede suministrar a la retina o al RPE. Además, una neovascularización de la retina puede ser tratada óptimamente por suministro de un factor anti-angiogénico al humor vítreo.

En otras formas de realización, unos dispositivos cargados con células son implantadas periocularmente dentro o por debajo del espacio conocido como cápsula de Tenon. Esta forma de realización es menos invasiva que una implantación en el humor vítreo, puesto que se eliminan potencialmente unas complicaciones tales como una hemorragia en el humor vítreo y/o un desprendimiento de la retina. Esta ruta de administración permite también un suministro de BAMs (por ejemplo factores tróficos y similares) al RPE o la retina. Esta forma de realización es especialmente preferida para tratar una vascularización coroidal y una inflamación del nervio óptico y del tracto uveal. En general el suministro desde este sitio de implantación permitirá la circulación de la deseada molécula activa biológicamente a la vasculatura coroidal, a la vasculatura retinal y al nervio óptico.

Unas formas preferidas de realización incluyen, pero no se limitan a, un suministro periocular (que implanta por debajo de la cápsula de Tenon) de moléculas anti-angiogénicas, moléculas ant-inflamatorias (tales como citocinas y hormonas y factores neurotróficos a la vasculatura coroidal con el fin de tratar una degeneración macular (neovascularización coroidal). El suministro de factores anti-angiogénicos directamente a la vasculatura coroidal (periocularmente) o al humor vítreo (intraocularmente) usando los dispositivos y métodos de este invento puede reducir los problemas más arriba mencionados y puede permitir el tratamiento de una neovascularización coroidal malamente definida u oculta. Puede también proporcionar una vía de reducir o prevenir una neovascularización coroidal recurrente por la vía de una terapia adyuvante o de mantenimiento.

La implantación del dispositivo micronizado biocompatible se realiza en condiciones estériles. El dispositivo micronizado puede ser implantado usando una jeringa o cualquier otro método conocido para los expertos en la especialidad. Generalmente, el dispositivo es implantado en un sitio en el cuerpo de un individuo receptor que permitirá un apropiado suministro del producto o de la función que se ha secretado en el individuo receptor y de nutrientes a las células o al tejido que se ha(n) implantado, y también permitirá el acceso al dispositivo para su recuperación y/o reemplazo. Se contemplan un cierto número de diferentes sitios de implantación. Estos incluyen, p.ej., el humor acuoso, el humor vítreo, la sub-cápsula de Tenon, el espacio periocular y la cámara anterior. Preferiblemente, para unos sitios de implante que no están privilegiados inmunológicamente, tales como sitios perioculares, y otras zonas situadas fuera de la cámara anterior (humor acuoso) y la cámara posterior (humor vítreo), las cápsulas son aislantes de inmunidad. Es preferible verificar que las células inmovilizadas dentro del dispositivo micronizado funcionan apropiadamente tanto antes como después de una implantación; se pueden usar para estas finalidades unos sistemas de ensayo o ensayos de diagnóstico bien conocidos en la especialidad. Por ejemplo un ELISA (acrónimo de enzyme linked immunosorbent assay = ensayo de inmunosorbente enlazado con enzimas), se puede usar un ensayo cromatográfico o enzimático, o un bioensayo específico para el producto secretado. Si se desea, la función secretora de un implante puede ser vigilada a lo largo del tiempo recogiendo unas muestras apropiadas (p.ej. un suero) desde el individuo receptor y ensayándolas.

El invento será descrito adicionalmente en los siguientes ejemplos, que no limitan el alcance del invento descrito en las reivindicaciones.

Ejemplos

Ejemplo 1: Comparación de dispositivos para ECT "de primera generación" y micronizados

Materiales y métodos

Unos dispositivos para ECT se elaboraron para permitir una implantación intravitreal en el ojo. Los dispositivos de primera generación totalizaban 600 μ l en el volumen desplazado (diámetro 1,1 mm, longitud 6 mm). Se fabricaron dispositivos para ECT micronizados con un volumen de desplazamiento total de 0,05 μ l (diámetro 200 μ m, longitud 1 mm). Una comparación de las diferencias de tamaños entre los dispositivos para ECT de primera generación y micronizados se proporciona en la Figura 7. Los linajes de células encapsuladas que se usaron en estos estudios

fueron modificados genéticamente para secretar o bien el factor neurotrófico ciliar (CNTF) o la interleucina-10 (IL-10). Los dispositivos fueron diseñados para producir un suministro de dosis altas y bajas tanto del CNTF como de la IL-10. Los períodos de tiempo de implantación fluctuaron entre 2 semanas y 18 meses en el modelo de un conejo y fueron de 2 semanas en el modelo de una rata. Los niveles de suministro de proteínas fueron cuantificados en el curso de los estudios, y se realizaron unos exámenes clínicos para averiguar la irritación ocular y la curación de heridas quirúrgicas.

Resultados

Suministro de CNTF

El suministro de una dosis se consiguió usando dispositivos para ECT tanto de primera generación como micronizados en modelos con animales tanto de conejo como de rata. Una separación de las dosis antes de la implantación se muestra para dispositivos de ambos tamaños en la Figura 8.

Un suministro de dosis de implantación a largo plazo se consiguió en el modelo de conejo, dando como resultado un suministro estable a lo largo del curso de la implantación durante 18 meses. El suministro de CNTF en una alta dosis (ng/dispositivo/día) en el modelo de conejo fluctuaba desde $4,42 \pm 1,14$ a las 2 semanas hasta $2,20 \pm 1,08$ a los 18 meses (Figura 9). El suministro en una baja dosis (ng/dispositivo/día) fluctuaba desde $1,14 \pm 0,24$ a las 2 semanas hasta $0,11 \pm 0,06$ a los 18 meses (Figura 10). Los niveles de CNTF en el humor vítreo para un suministro tanto de dosis altas como de dosis bajas fueron aproximadamente de 10 por ciento de la salida del dispositivo y permanecieron estables a lo largo del curso del estudio.

Un examen histológico de dispositivos explantados (Figura 11) indicó una viabilidad estable de células encapsuladas a lo largo del curso del período de tiempo de implantación durante 18 meses.

Suministro de IL-10

Unos dispositivos para ECT micronizados fueron implantados en el humor vítreo de una rata como parte de un estudio para investigar un tratamiento de uveorretinitis autoinmunitaria experimental (EAU, acrónimo de experimental autoimmune uveoretinitis), suministraron interleucina-10 ("IL-10") o bien en una alta dosis antes de la implantación de 156 ± 32 (pg/dispositivo/día) o en una baja dosis de 13 ± 11 (pg/dispositivo/día) (Figura 12).

La evaluación histológica de las células de los dispositivos para ECT micronizados reveló una viabilidad robusta y un alto grado de distribución de las células dentro de los dispositivos (Figura 13). Los resultados preliminares en el modelo de EAU mostró un efecto de tratamiento beneficioso usando una ECT para suministrar IL-10.

A lo largo del curso de estos estudios, e independientemente de los modelos de animales escogidos para el suministro terapéutico usando dispositivos para ECT, no se informó de complicaciones post-operatorias desfavorables significativas en ninguno de los conjuntos a continuación de unos exámenes periódicos por fundoscopia.

Conclusiones

Se demostró la producción de dispositivos para ECT para suministrar unos niveles intravitreales de moléculas terapéuticas tanto en un conejo (dispositivos de primera generación) como un modelo de rata (dispositivos micronizados). Los implantes tanto de primera generación como micronizados fueron bien tolerados y el suministro de agentes terapéuticos era continuo durante el curso de todo el período de tiempo de implantación hasta de 18 meses.

Ejemplo 2: Suministro de implantes con dispositivos micronizados según una tecnología de células encapsuladas (ECT) usando una aguja de calibre pequeño

La implantación de dispositivos para ECT de primera generación (véase por ejemplo la cita de Sieving y colaboradores 2006), que actualmente están en pruebas clínicas humanas de la Fase II para retinitis pigmentosa y degeneración macular relacionada con la edad, requiere una esclerotomía de 2,0 mm y tres suturas para cerrar el sitio de la incisión. Por lo tanto, el desarrollo de un dispositivo para ECT micronizado capaz de producir unos niveles de proteínas comparables con los que se podrían implantar usando una aguja de calibre pequeño, mejoraría el proceso quirúrgico y reduciría al mínimo el riesgo quirúrgico.

Métodos

Se prepararon unos dispositivos micronizados que contenían células encapsuladas transfectadas para producir o bien el factor neurotrófico ciliar (CNTF), o bien la interleucina-10 (IL-10) o el factor derivado de epiteliales pigmentarios (PEDF). La implantación de dichos dispositivos micronizados que suministran el CNTF se ensayó usando una aguja de calibre 23 que tenía una jeringa modificada. Unos dispositivos productores de CNTF fueron implantados quirúrgicamente dentro de conejos blancos de Nueva Zelanda y evaluados a las 2 semanas y al 1 mes usando una oftalmoscopia indirecta y un examen histológico. Se investigaron dos métodos de cierre: (1) un cierre por incisión usando una sutura 10-0 y una aguja unida con el dispositivo y (2) un cierre sin sutura usando un proceso

modificado con respecto al que ha sido descrito por Jaffe y colaboradores, Arch Ophthalmol 114:1273-75 (1996). Se determinaron los niveles intravítreales de CNTF, la tasa de producción de dispositivos micronizados explantados y la viabilidad de las células encapsuladas.

Resultados

- 5 Unos dispositivos micronizados produjeron $5,0 \pm 0,5$, $3,0 \pm 0,7$ y 39 ± 4 ng/dispositivo/día de CNTF, IL-10 y PEDF, en el punto de tiempo de 2 semanas, respectivamente. La secreción de proteínas a partir de los dispositivos para ECT micronizados era compatible y estable durante el curso de varios meses. Los niveles de salida de proteína por volumen de dispositivo eran 10 veces mayores que la capacidad de los dispositivos para ECT de primera generación.
- 10 La producción de CNTF por un dispositivo micronizado fue evaluada tanto *in vitro* como *in vivo*. Unos dispositivos de primera generación produjeron unos niveles más altos de CNTF durante el período de tiempo de evaluación *in vitro*. (Véase la Figura 14A). Sin embargo, los niveles de CNTF de los dispositivos micronizados explantados a las 2 y 4 semanas fueron estadísticamente equivalentes ($P = 0,5663$ y $P = 0,6744$) a los niveles producidos por los dispositivos para ECT de primera generación. (Véase la Figura 14B). Además, los niveles de CNTF en el humor vítreo fueron también estadísticamente equivalentes al comparar los conjuntos de dispositivos micronizados con los conjuntos de dispositivos de primera generación en los puntos de tiempo de evaluación *in vivo* de 2 y 4 semanas. (Véase la Figura 14C, $P = 0,2344$ y $P = 0,8665$, respectivamente). La actividad metabólica de los dispositivos micronizados aumentó en el transcurso del tiempo en comparación con la de los dispositivos de primera generación, que disminuía a lo largo del período de mantenimiento *in vitro* de 8 semanas. (Véase la Figura 14D).
- 20 Unos dispositivos micronizados productores de CNTF fueron inyectados satisfactoriamente a través de una aguja de calibre 23 (véase la Figura 15) y unas evaluaciones posteriores a una operación quirúrgica de los métodos de anclaje indicaron una colocación y una restricción satisfactorias de los dispositivos micronizados. El cierre por esclerotomía inyectable era considerablemente menos invasivo y reducía el período de tiempo de la operación quirúrgica a la mitad en comparación con la implantación del dispositivo para ECT de primera generación.

25 Conclusiones

Una encapsulación usando los dispositivos micronizados puede proporcionar unos niveles terapéuticos de proteínas comparables con los de la configuración de dispositivos de primera generación actualmente usada en evaluaciones de pruebas clínicas de la ECT. Similarmente, se manifiesta que es factible la implantación quirúrgica de un dispositivo micronizado usando una aguja de calibre 23 para inyectar los dispositivos y que ésta puede ofrecer un enfoque más simple y menos invasivo que la terapia por encapsulación de células en el ojo.

30 Ejemplo 3: Seguridad y condiciones farmacocinéticas de un dispositivo micronizado inyectable para la tecnología de células encapsuladas

Tres estudios concurrentes de un dispositivo de primera generación para la tecnología de células encapsuladas (ECT) que suministraba el factor neurotrófico ciliar (CNTF) en la fase de pruebas clínicas con seres humanos para una retinitis pigmentosa en las etapas temprana y tardía y para una degeneración macular relacionada con la edad. Los dispositivos para ECT usados en estas pruebas son implantados en los ojos de los pacientes usando una excisión de la conjuntiva, un incisión en la esclerótica y una colocación intraocular seguida por una sujeción del dispositivo seguida por un cierre por sutura de la esclerótica y de la conjuntiva. Los actuales estudios informan acerca de los esfuerzos de investigación para desarrollar el perfil farmacocinético y de seguridad a largo plazo de un dispositivo para ECT micronizado de perfil más pequeño, capaz de suministrar agentes terapéuticos eficaces, implantados usando unos procesos de inyección con una aguja de calibre 23 sin sutura.

Métodos

45 Unas células epiteliales pigmentadas retinianas humanas, modificadas para secretar de un modo continuo el CNTF, fueron encapsuladas en unas membranas poliméricas semipermeables de fibras huecas con un diámetro de 300 micrómetros y fueron suministradas por implantación inter-ocular dentro de la cavidad del humor vítreo de conejos. La implantación de los dispositivos se realizó usando una versión modificada de la técnica de esclerotomía sin sutura con una aguja de calibre 23. La seguridad y las condiciones farmacocinéticas de la proteína CNTF a lo largo del curso de un período de tiempo de 1 año son los eventuales puntos finales del resultado de este estudio. Los niveles de CNTF en el humor vítreo y la salida de CNTF de un dispositivo micronizado explantado se evaluaron por medio de un ELISA comercial. Se realizaron unas evaluaciones clínicas y patológicas en el curso del período de tiempo de implantación con el fin de averiguar la seguridad de la implantación.

Resultados

55 En el punto de tiempo de tres meses, la producción de un dispositivo micronizado explantado y los niveles de CNTF en el humor vítreo es/son de $3,2$ ng/día y $0,2$ ng/ml, respectivamente. Las constantes cinéticas y de vida mitad ($t_{1/2}$) acopladas preliminarmente para los dispositivos explantados son de $k = 0,0167$ semanas⁻¹ y $t_{1/2} = 41$ semanas respectivamente. El nivel en el humor vítreo es de $k = 0,036$ semanas⁻¹ y el $t_{1/2} = 19$ semanas. No se observó

ninguna evidencia de toxicidad ocular en los ojos en los que se había implantado usando el método de implantación por esclerotomía sin sutura. Una evaluación clínica y patohistológica del sitio de implantación mostró una respuesta normal de curación de heridas, que era compatible con la esperada reacción de un tejido a continuación de una incisión quirúrgica. Adicionalmente, no se observó en ninguno de los ojos implantados ninguna desfavorable toxicidad panretinal, del nervio óptico o vascular.

Conclusiones

Por lo tanto, los resultados preliminares de este estudio indican que unos dispositivos para ECT micronizados son capaces de mantener un suministro intraocular a largo plazo de CNTF en un conejo. Adicionalmente, el perfil de seguridad de un proceso de implantación a través de la conjuntiva, que mitiga la necesidad de suturar el dispositivo micronizado, muestra también ser prometedor para el potencial de un dispositivo para ECT micronizado inyectable.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo micronizado para el suministro de una molécula activa biológicamente a un ojo que comprende una cápsula, comprendiendo la cápsula:
- 5 a) un núcleo que comprende entre aproximadamente 5×10^2 y 90×10^3 células vivas que producen una molécula activa biológicamente, en donde el núcleo tiene un volumen de 0,5 μ l, y
- b) una camisa biocompatible que rodea a dicho núcleo, teniendo la camisa un límite de corte de pesos moleculares que permite la difusión de la molécula activa biológicamente dentro del ojo,
- en donde el dispositivo está configurado como un cilindro con un diámetro exterior comprendido entre 200 y 350 μ m y una longitud comprendida entre 0,5 y 6 mm, en donde la dosificación de la molécula biológicamente activa que se difunde dentro del ojo está situada entre 0,1 pg y 1.000 ng por ojo por paciente por día.
- 10 2. El dispositivo de la reivindicación 1, en donde este dispositivo comprende además una atadura adaptada para sujetar la cápsula a una estructura ocular, y opcionalmente donde la atadura se selecciona entre el conjunto que consiste en un lazo, un disco y una sutura y opcionalmente además en donde la atadura comprende un material con memoria de forma.
- 15 3. El dispositivo de la reivindicación 1, en donde la camisa biocompatible comprende una membrana aislante de inmunidad, selectiva en cuanto a la permeación, o una membrana de ultrafiltración o microporosa.
4. El dispositivo de la reivindicación 1, en donde la camisa biocompatible comprende un material polimérico y en donde el material polimérico se selecciona opcionalmente a partir del conjunto que consiste en un poli(acrilonitrilo)-poli(cloruro de vinilo), un poli(acrilonitrilo), un poli(metacrilato de metilo), un poli(difluoruro de vinilo), poliolefinas, polisulfonas, poliamidas y celulosas.
- 20 5. El dispositivo de la reivindicación 1, en donde el dispositivo es implantado en el humor vítreo, en la sub-cápsula de Tenon, en el espacio periocular o en la cámara anterior.
6. El dispositivo de la reivindicación 1, en donde la molécula activa biológicamente se selecciona entre el conjunto que consiste en factores anti-angiogénicos, factores anti-inflamatorios, factores neurotróficos, factores de crecimiento, factores tróficos, anticuerpos y fragmentos de anticuerpos, neurotransmisores, hormonas, citocinas y linfocinas.
- 25 7. El dispositivo de la reivindicación 6, en donde la molécula activa biológicamente se selecciona entre el conjunto que consiste en TGF β , GDNF, NGF, CNTF, bFGF, aFGF, IL-1 β , IFN- β 1, IFN- α , BDNF, LIF, NT-4, NTN, NT4/5, CT-1, LEDGF, Neublabin, Axokine, IL-23, RdCVF, IL-10, alfa INF, IL-1R α y Remicade, o en donde la molécula activa biológicamente es un factor anti-angiogénico seleccionado entre el conjunto que consiste en vasculostatina, angiostatina, endostatina, anti-integrinas, agentes inhibidores del factor de crecimiento endotelial vascular (inhibidores del VEGF), el factor plaquetario 4, heparinasa, moléculas que fijan el bFGF, el receptor del VEGF Flt, el receptor del VEGF Flk, Lucentis, la trampa de VEGF, Tek Δ /Fc (agente inhibidor de ang1/ang2), 2xCon4 (C), receptores solubles de VEGF, y PEDF.
- 30 8. El dispositivo de la reivindicación 1, en donde por lo menos una adicional molécula activa biológicamente, que puede proceder de una fuente celular o no celular, es suministrada desde la cápsula al ojo.
9. El dispositivo de la reivindicación 6, en donde dicha por lo menos una adicional molécula biológicamente activa es encapsulada en, dispersada dentro de, o unida a uno o más componentes del dispositivo micronizado, o en donde dicha por lo menos una adicional molécula activa biológicamente se selecciona entre el conjunto que se compone de: ácidos nucleicos, fragmentos de ácidos nucleicos, péptidos, polipéptidos, compuestos miméticos de péptidos, hidratos de carbono, lípidos, moléculas orgánicas, moléculas inorgánicas, agentes terapéuticos y sus combinaciones, y opcionalmente en donde los agentes terapéuticos se seleccionan entre el conjunto que consiste en fármacos anti-angiogénicos, fármacos anti-inflamatorios esteroideos y no esteroideos, fármacos anti-mitóticos, fármacos anti-tumorales, fármacos anti-parasitarios, reductores de la IOP, fármacos de péptidos, y otros fármacos de moléculas activa biológicamente aprobados para un uso oftalmológico.
- 40 10. El dispositivo de la reivindicación 1, en donde las células se seleccionan entre el conjunto que consiste en células productoras de insulina, células cromafines adrenales, células que secretan anticuerpos, fibroblastos, astrocitos, linajes de células Beta, células de Ovario de hámster chino y células ARPE-19, y opcionalmente en donde las células son células alogeneicas.
- 45 11. El dispositivo de la reivindicación 1, en donde las células son células singeneicas.
12. El dispositivo de la reivindicación 1, en donde el límite de corte de pesos moleculares de la camisa biocompatible está situado entre 1 kD y 150 kD.
- 50

13. El dispositivo de la reivindicación 1, en donde el núcleo comprende un volumen de menos que 0,5 μ l o en donde el núcleo comprende además una matriz filamentosa de soporte de células, sustancialmente no degradable, en donde la matriz comprende una pluralidad de monofilamentos, y en donde dichos monofilamentos son:

(a) retorcidos para dar un hilo o tejidos en telar para dar una malla o

5 (b) retorcidos para dar un hilo que está en forma de hebras no tejidas,

y en donde las células o el tejido se distribuyen en él, y opcionalmente en donde la matriz filamentosa de soporte de células comprende un material biocompatible seleccionado entre el conjunto que consiste en un polímero acrílico, un poliéster, un polietileno, un polipropileno, un poli(acetonitrilo), un poli(tereftalato de etileno), un nylon, unas poliamidas, unos poliuretanos, un polibutéster, seda, algodón, quitina, carbono, y metales biocompatibles.

10 14. Un dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en un método de suministrar una molécula activa biológicamente a un ojo, que comprende implantar dentro del ojo o rodear al ojo para suministrar de este modo una molécula biológicamente activa al ojo permitiendo que dicha molécula activa biológicamente se difunda desde el dispositivo dentro del humor vítreo, del humor acuoso o del espacio periocular del ojo.

15 15. Un dispositivo para el uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde él está destinado a una implantación usando una jeringa.

Figura 1

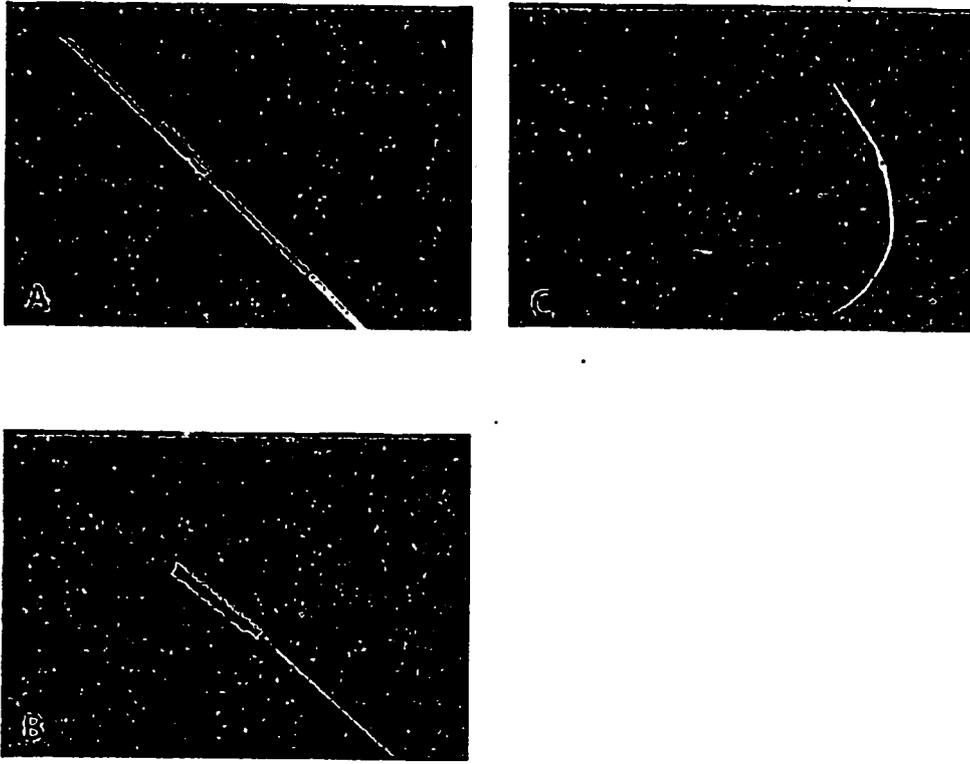


Figura 2

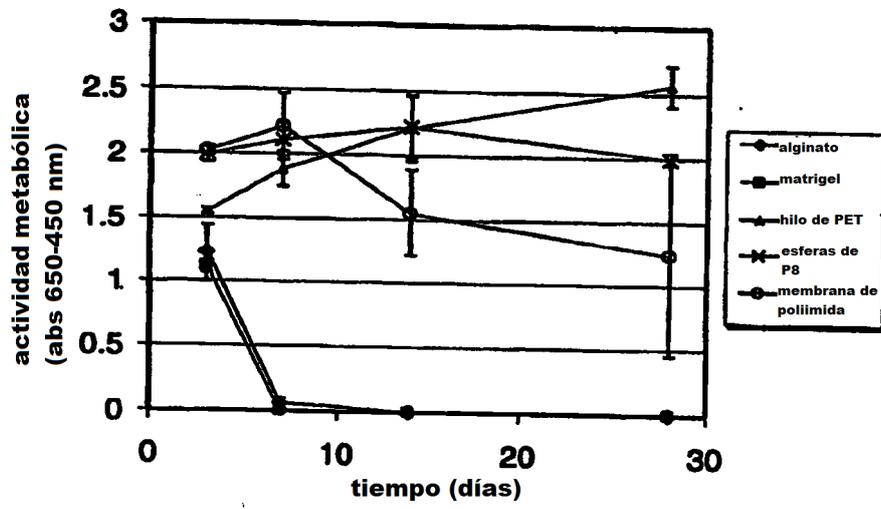


Figura 3

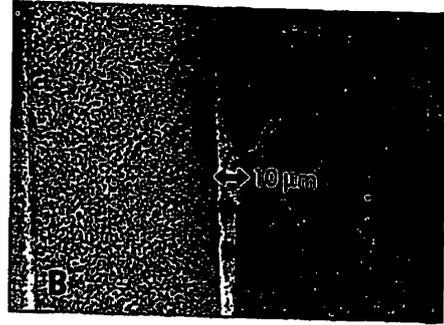
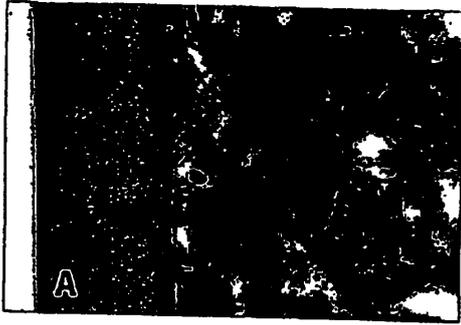


Figura 4

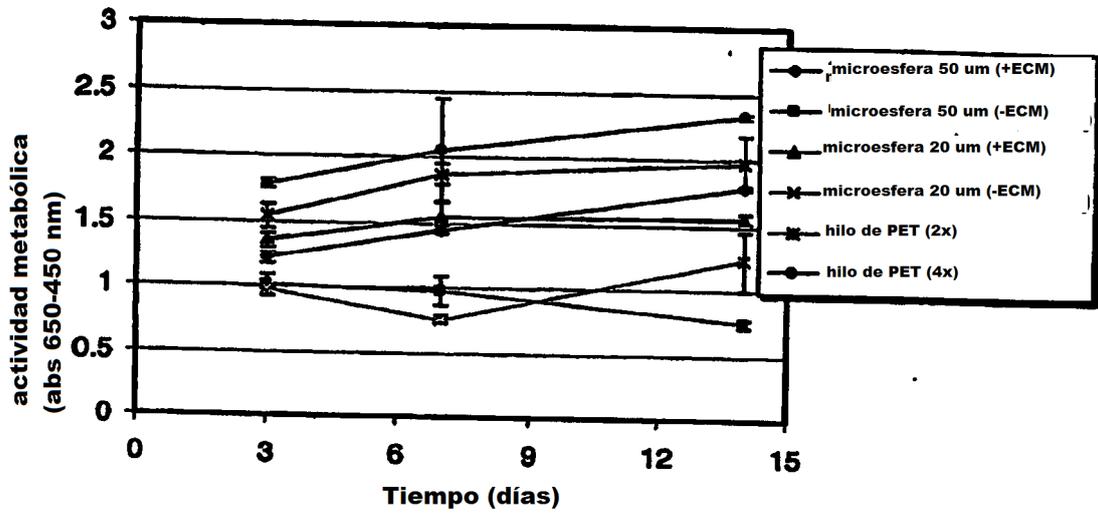


Figura 5

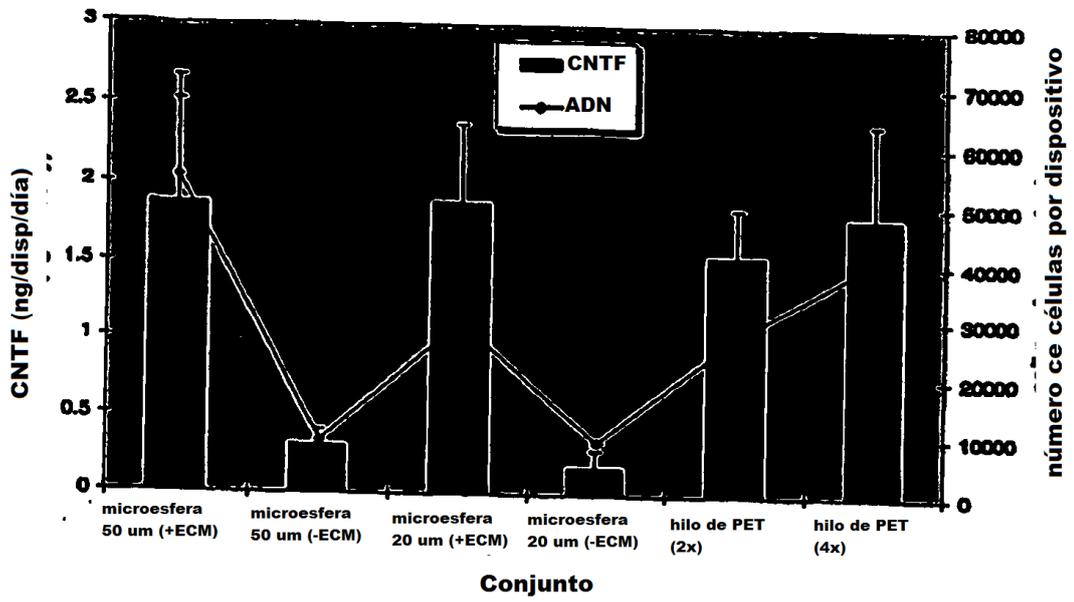


Figura 6

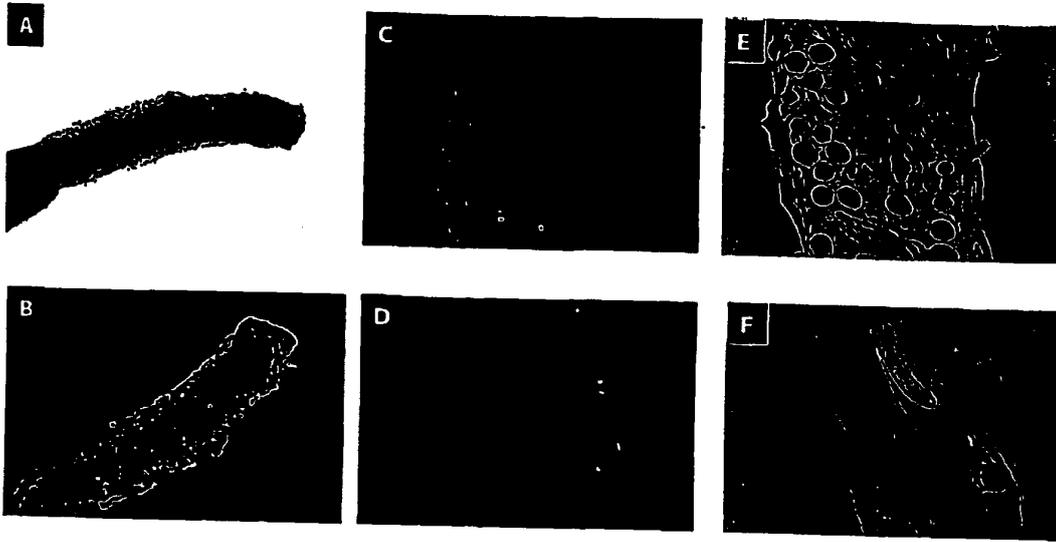


Figura 7

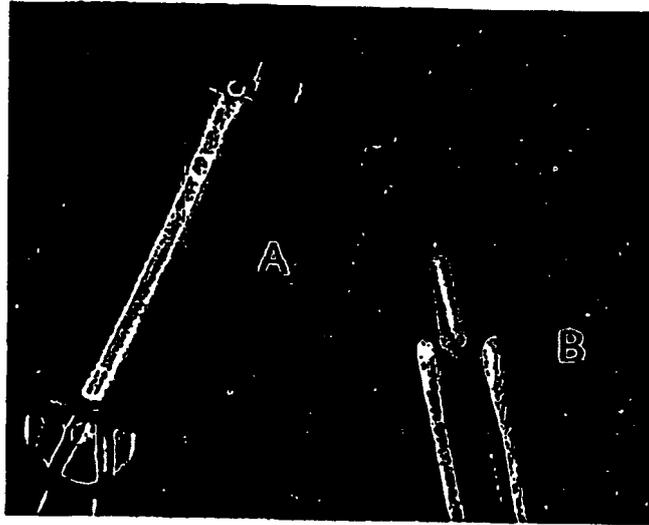


Figura 8

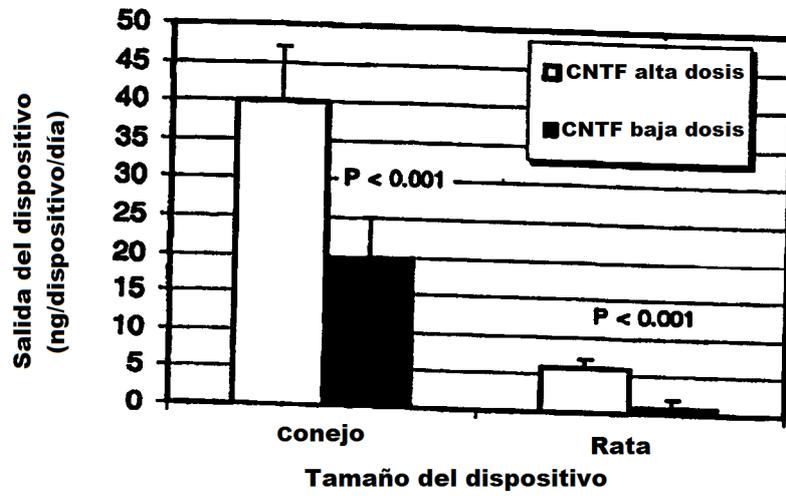


Figura 9

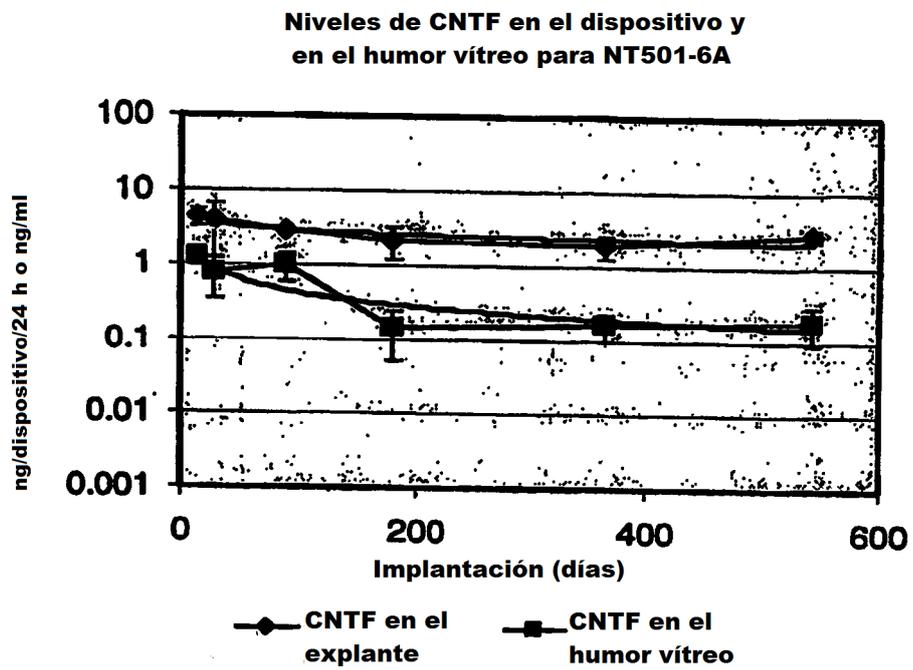


Figura 10

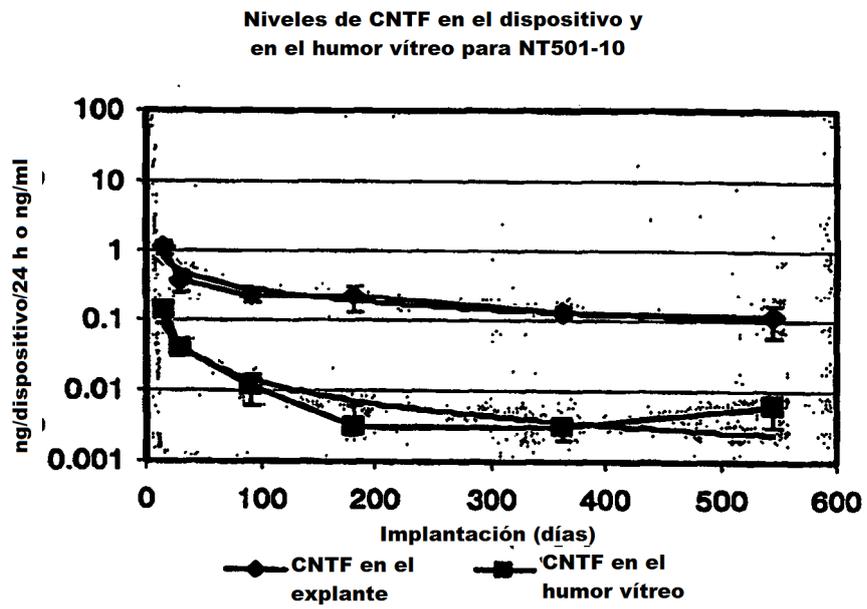


Figura 11

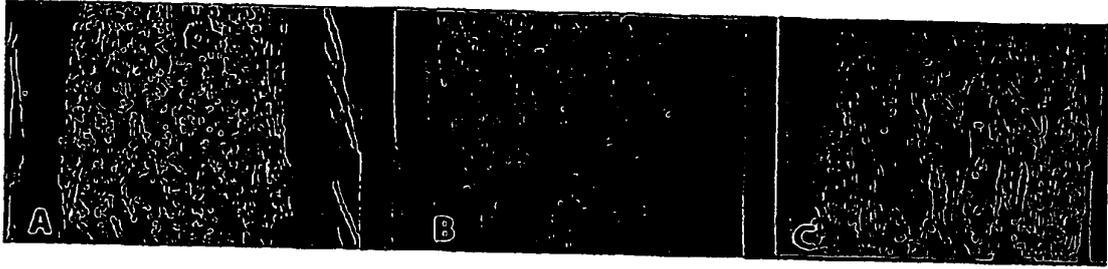


Figura 12

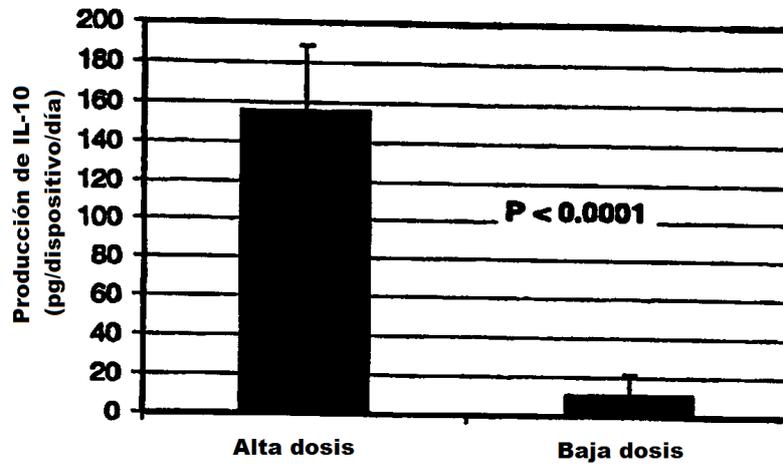


Figura 13

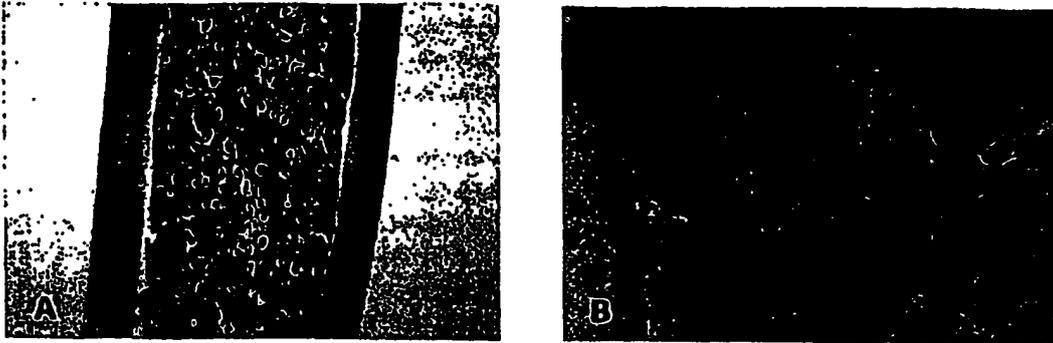


Figura 14

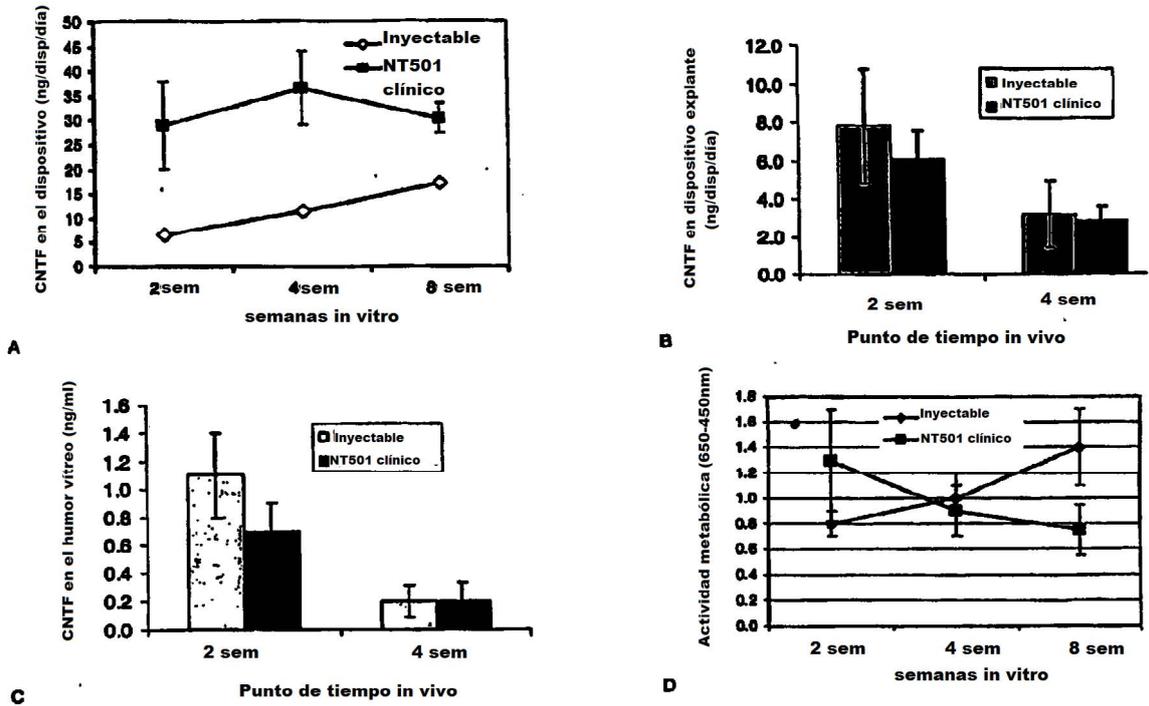


Figura 15

