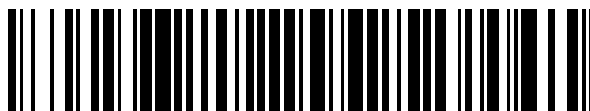


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 653 844**

51 Int. Cl.:

A61M 31/00 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61F 2/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.05.2006 PCT/DK2006/000261**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.11.2006 WO06122551**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.05.2006 E 06722946 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2017 EP 1883446**

54 Título: **Un sistema de terapia implantable para tratar a un ser vivo con un factor activo**

30 Prioridad:

17.05.2005 DK 200500723

25.11.2005 DK 200501668

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

09.02.2018

73 Titular/es:

**GLORIANA THERAPEUTICS SARL (100.0%)
avenue du Sécheron 15
1202 Genève, CH**

72 Inventor/es:

**TORNØE, JENS y
WAHLBERG, LARS U.**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 653 844 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

Un sistema de terapia implantable para tratar a un ser vivo con un factor activo

5 INTRODUCCIÓN

La invención se refiere a un sistema para terapia celular encapsulada, es decir, un dispositivo para tratar a un ser vivo, en lo sucesivo referido como el paciente, con un factor biológicamente activo. En particular, la invención se refiere a un dispositivo que comprende una cápsula que tiene una membrana exterior biocompatible que encapsula células que tienen capacidad de producir el factor activo, estando la membrana adaptada para permitir el paso del factor activo. El dispositivo comprende además un anclaje alargado que se extiende en una dirección longitudinal desde un extremo distal en el que está unido a la cápsula hacia un extremo proximal opuesto axialmente.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El campo técnico de la presente invención incluye el tratamiento de trastornos del encéfalo y la médula espinal, por ejemplo enfermedades y trastornos que pueden remediarse mediante el tratamiento con sustancias secretoras, tales como neurotransmisores, conopeptidos, neuromoduladores, hormonas, factores tróficos o factores de crecimiento o cualquier compuesto, que puede ser producido y secretado por una célula.

La terapia celular encapsulada se basa en el concepto de encapsular células, que secretan un factor biológicamente activo para administración local. La tecnología tiene las ventajas de la terapia génica a través de la administración local y sostenida del factor biológicamente activo sintetizado in situ por células vivas, combinado con la capacidad de recuperación, ya que las células encapsuladas pueden eliminarse nuevamente. Una ventaja adicional puede comprender el aislamiento de células desde el sistema inmunitario del receptor usando una cápsula de inmuoaislamiento. Una "cápsula de inmuoaislamiento" significa que la cápsula, tras la implantación en un huésped receptor, minimiza los efectos perjudiciales del sistema inmunitario del huésped en las células en el núcleo del dispositivo y minimiza los efectos perjudiciales de las células en el núcleo del dispositivo en el huésped. Las células están inmuoaisladas del huésped confinándolas en las cápsulas poliméricas implantables formadas por una membrana microporosa. Este enfoque evita el contacto intercelular entre las células del huésped y las células implantadas, reduciendo o eliminando el reconocimiento de antígenos a través de la presentación directa.

La macroencapsulación que supone la carga de células que secretan la sustancia activa en cápsulas que son suministradas a través de la cánula en el sitio de tratamiento es un enfoque para suministrar a largo plazo sustancias biológicamente activas localmente por ejemplo en el encéfalo o la médula espinal. Una ventaja importante de la macroencapsulación es la capacidad de recuperación de la cápsula y el documento US-6.179.826y otros se refieren a diferentes procedimientos de aplicación quirúrgica de dichas cápsulas.

Normalmente, se expone quirúrgicamente un sitio de inserción y se inserta una cánula, por ejemplo provista de un obturador para definir una vía desde el sitio de inserción a un sitio de tratamiento. En este punto se retira el obturador, y se coloca una cápsula que contiene células que secretan un factor biológicamente activo en el sitio de tratamiento por medio de esta vía. Cuando se coloca la cápsula, se retira la cánula. El documento US-6.179.826 describe que puede insertarse una aguja de guiado en el sitio de tratamiento, y se introduce un alambre de guiado en la luz de la aguja y se suministra a su través hasta que entra en el sitio de tratamiento. Una vez que el alambre de guiado entra en contacto con el sitio de tratamiento, se retira la aguja de guiado y se sustituye por una cánula. Después de contraer el alambre de guiado, la cánula proporciona una vía de inserción para colocar un vehículo que contiene células que producen los factores activos, en el sitio deseado. Se retira el alambre de guiado y se inserta el vehículo en la cánula y se guía a lo largo de la vía desde la cánula hacia el sitio de tratamiento. El vehículo descrito puede incluir una cápsula y un anclaje integral que se extiende desde la cápsula y que tiene una longitud suficiente para llegar al menos desde el sitio de tratamiento a la proximidad del sitio de inserción facilitando así la fijación de la cápsula en el sitio de inserción, por ejemplo en la superficie exterior del cráneo. El sitio de inserción se cubre posteriormente con piel. En un enfoque alternativo, la cánula se retira antes de la inserción de la cápsula en el sitio de tratamiento.

Para facilitar que la cápsula pueda empujarse en el sitio de tratamiento mediante el uso del anclaje, puede ser necesario engruquecer el anclaje, por ejemplo situando una parte de alambre de pequeño diámetro del elemento de empuje en una cavidad hueca del anclaje. Hasta ahora, la intervención quirúrgica, y por ejemplo la inserción del alambre en el anclaje es, sin embargo, crítica y consume mucho tiempo, y el alambre se inserta sin tensión en el anclaje para su ulterior retirada cuando la cápsula esté en la posición correcta en el sitio de tratamiento. Dado que el alambre se inserta sin tensión existe también un riesgo que el alambre puede penetrar en el núcleo del dispositivo

cuando se aplique presión en un extremo del alambre para insertar el dispositivo.

Las cápsulas con o sin anclajes de la clase conocida en la técnica anterior se han almacenado y expedido en recipientes de almacenamiento de la clase descrita en el documento US-5.681.740. Los recipientes tienen medios de sujeción que aseguran la cápsula y/o el anclaje al fondo del recipiente. Los medios de sujeción sirven para evitar el contacto indebido entre la cápsula y otros componentes del sistema. Los medios de sujeción tienen un diámetro menor que la cápsula/anclaje para asegurar la cápsula en su posición en varios lugares. Se necesita una cierta cantidad de manipulación para retirar la cápsula de los medios de sujeción, ya que está sujeta en varias posiciones y en el fondo del recipiente. Puede realizarse mediante el uso de pinzas o un instrumento quirúrgico similar. El uso de instrumentos quirúrgicos en contacto directo con partes implantables de la cápsula para la recuperación y ulterior manipulación del dispositivo representa un riesgo de daño y contaminación de las partes delicadas antes de la implantación en el sitio de tratamiento.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

15 Un objetivo de la invención es facilitar la terapia celular encapsulada proporcionando un dispositivo de la clase mencionada en la introducción tal como se especifica adicionalmente en la reivindicación 1, caracterizado porque el sistema comprende además un refuerzo que está unido al anclaje para hacer el anclaje más rígido. Como el refuerzo está unido al anclaje, es posible manipular el anclaje y la cápsula simplemente tocando el refuerzo, y de este modo se facilita la manipulación del dispositivo. A modo de ejemplo, la cápsula puede cargarse con células, envasarse en un envase estéril, ser retirada del envase, manipularse antes de la inserción e insertarse en el sitio de tratamiento simplemente sosteniendo el refuerzo y puede reducirse el riesgo de contaminación y de sobrecarga del anclaje y la cápsula.

25 El refuerzo podría unirse adhesivamente o acoplarse mecánicamente con el anclaje, por ejemplo por medio de rozamiento mutuo. Mientras la fijación facilita la manipulación del dispositivo simplemente tocando el refuerzo, puede ser necesario retirar el refuerzo cuando la cápsula está situada en el sitio de tratamiento. Para este fin, el refuerzo puede ser desprendible. A modo de ejemplo, el refuerzo puede fijarse mediante un adhesivo que es sensible al calor para permitir desprenderlo calentando la unión entre el refuerzo y el anclaje. El refuerzo podría unirse también de forma fija al extremo proximal del anclaje, es decir, opuesto al extremo en el que la cápsula está unida al anclaje. Después de la inserción de la cápsula en el sitio de tratamiento, ese extremo proximal podría separarse de la parte restante del dispositivo, por ejemplo cortando el anclaje en dos piezas, y posteriormente puede retirarse el refuerzo. Preferentemente existe un pequeño espacio libre entre el extremo distal del refuerzo y la cápsula para impedir daños en la cápsula cuando se aplica presión al refuerzo. Si no existe espacio libre dicho daño puede producirse ya que el anclaje puede comprimirse ligeramente en una dirección longitudinal al aplicar presión al extremo proximal del anclaje.

40 Cuando el sitio de inserción ha quedado expuesto y se ha establecido una vía a través de una cánula, la cápsula se coloca en el sitio de tratamiento por medio del conducto de la cánula, y se retira la cánula. Dado que el sistema comprende un refuerzo fijado, la cápsula es más fácil de manipular por medio del anclaje reforzado, y durante la inserción de la cápsula a través del conducto, la cápsula puede ser empujada por el anclaje reforzado sin ninguna preparación adicional de los mismos. Como el refuerzo está unido al anclaje puede aplicarse presión al extremo del refuerzo sin el riesgo de dañar el extremo de la cápsula situada frente al otro extremo del refuerzo.

45 Tras retirar el refuerzo, se reduce la rigidez del sistema de terapia y el anclaje es más fácil de colocar y de sujetar, por ejemplo de forma subcutánea en el cráneo. La menor rigidez del anclaje contribuye además a una implantación más segura y permite desviar el anclaje por ejemplo ante los cambios en la plasticidad del encéfalo.

50 A través del aumento de rigidez del sistema las etapas de fabricación (llenado con células, sellado después de llenado, envasado) son también más fáciles de realizar, y el sistema de terapia puede manipularse como un sistema integrado. Además, la delicada etapa de insertar y fijar el refuerzo puede realizarse antes de esterilización del sistema y antes de llenado la cápsula con células vivas.

55 El refuerzo podría ser esencialmente recto y así facilitar adicionalmente el enderezamiento del anclaje durante el periodo de tiempo desde la fabricación del dispositivo hasta el uso del dispositivo.

60 El anclaje tiene una longitud suficiente para llegar desde la cápsula en el sitio de tratamiento a un lugar externo al sitio de inserción y puede formar una extensión de la cápsula. Para facilitar la retirada de la cápsula del tejido, por ejemplo, cuando el tratamiento llega a su fin, o si la cápsula debe sustituirse, la transición entre la cápsula y el anclaje podría ser lisa y sin proyecciones de ninguna clase, o podría aumentarse la dimensión desde la cápsula

hacia el anclaje. Esto crea, obviamente, un borde entre las dos partes pero dada lo relativamente pequeño de la cápsula que forma el extremo distal del sistema de terapia, es decir, el extremo dirigido hacia el cuerpo, pueden prevenirse daños auxiliares durante la retirada de la cápsula. Si la cápsula y el anclaje son tubulares con formas circulares en sección transversal, el tamaño radial de la cápsula puede ser por tanto preferentemente menor que el tamaño radial del anclaje, y la cápsula y el anclaje pueden unirse preferentemente de forma coaxial entre sí.

El anclaje en muchas realizaciones está unido de forma adhesiva a la parte de membrana de la cápsula. El anclaje puede tener también un diámetro reducido en el extremo distal, de manera que puede insertarse en la parte de membrana de la cápsula. En este caso, el anclaje está también preferentemente unido de forma adhesiva a una superficie interior de la parte de membrana de la cápsula.

El refuerzo se proporciona para hacer el anclaje más rígido y resistente a la flexión o desviación en una dirección transversal a la dirección longitudinal. El refuerzo facilita de este modo inserción de la cápsula en el cuerpo. Para este fin, el refuerzo podría ser un elemento alargado que puede fijarse al anclaje y que es rígido con respecto al anclaje, o que, en combinación con el anclaje, mejora la rigidez del anclaje. A modo de ejemplo, el refuerzo podría estar hecho de un material, o con una forma por los cuales la rigidez es mayor que la rigidez del anclaje. El refuerzo podría estar hecho de un material de metal rígido y/o estar hecho con una forma de sección transversal circular o en X o en T. Como otro ejemplo, el anclaje podría ser relativamente rígido frente a la desviación en una primera dirección transversal a la dirección longitudinal, y el refuerzo podría ser relativamente rígido frente a la desviación en una segunda dirección transversal a la dirección longitudinal con lo que la combinación del refuerzo y el anclaje hace el sistema de terapia rígido frente a la desviación en las direcciones primera y segunda dirección. La primera dirección puede ser por ejemplo esencialmente perpendicular a la segunda dirección, y las direcciones primera y segunda pueden ser por ejemplo esencialmente perpendiculares a la dirección longitudinal.

En una realización, el refuerzo comprende una parte de alambre de pequeño diámetro que es empujada en un conducto interno del anclaje desde el extremo proximal de los mismos. En esta realización, el anclaje puede comprender preferentemente además una parte de diámetro grande donde el diámetro es mayor que el diámetro del conducto interno del anclaje para impedir que esta parte se inserte en el anclaje. La longitud de la parte de pequeño diámetro puede ser preferentemente más corta que la longitud del anclaje para impedir la inserción completa en la longitud total del anclaje y con ello asegurar una distancia entre el refuerzo y la cápsula que se fija al extremo del anclaje. En esta realización, el refuerzo podría estar unido al anclaje en el extremo proximal. Para fijar el refuerzo en el extremo proximal, podría unirse de forma adhesiva una parte de superficie proximal exterior del refuerzo a una parte de la superficie proximal interior del conducto o la dimensión exterior del extremo proximal del refuerzo podría corresponderse con la superficie interior del extremo proximal del anclaje para permitir un ajuste por apriete entre los extremos proximales del refuerzo y el anclaje. Cuando la cápsula se coloca en el sitio de tratamiento, el refuerzo podría desprenderse de la parte del dispositivo insertada separando el extremo proximal del anclaje del extremo distal del anclaje y posteriormente deslizando el refuerzo fuera del conducto para aumentar la flexibilidad de la parte insertada del dispositivo. Si tanto el anclaje como el refuerzo se cortan de forma recta a través del conducto, el refuerzo será también cortado evidentemente en dos piezas donde una de las piezas permanece insertada en el extremo distal del anclaje. Dado que puede ser difícil retirar esta parte del refuerzo del anclaje, el anclaje puede cortarse preferentemente de una forma similar a los cables trenzados, por ejemplo mediante una herramienta que corresponde sustancialmente a un pelacables o simplemente usar una cuchilla con una longitud de hoja que impida cortar el refuerzo o al menos evite cortar transversalmente el refuerzo.

En una realización alternativa, el refuerzo comprende un tubo de guiado relativamente rígido que forma un conducto alargado en el que se coloca el anclaje.

Para fijar el refuerzo al anclaje, el extremo proximal del refuerzo puede tener un tamaño y una forma en sección transversal que se corresponden con el tamaño y la forma en sección transversal del extremo proximal del anclaje para establecer un ajuste por apriete entre las superficies en contacto de las dos partes. Las superficies en contacto del refuerzo y el anclaje podrían prepararse con un compuesto adhesivo, o las superficies podrían prepararse de manera que tuvieran un rozamiento mutuo elevado. Si el refuerzo está situado dentro del anclaje, el refuerzo puede tener un extremo proximal, es decir, un extremo alejado desde el extremo de inserción distal del sistema, donde ese extremo proximal es más ancho en la dirección en sección transversal que el extremo distal opuesto del refuerzo. De este modo, el contacto entre una superficie exterior del refuerzo y una superficie interior del anclaje puede obtenerse en el extremo proximal mientras que se obtiene una separación entre una superficie exterior del extremo distal del refuerzo y una superficie interior del extremo distal del anclaje. La fijación se proporciona para liberar el refuerzo del anclaje mediante una tracción en la dirección longitudinal. Una ventaja consiste en proporcionar el refuerzo con una longitud tal que se extienda además en la dirección longitudinal al anclaje. De este modo, un extremo proximal del refuerzo permanece expuesto y permite al usuario asir el refuerzo y tirar para sacarlo del anclaje.

El extremo proximal expuesto del refuerzo se usa para manipular el sistema de terapia. Para este fin, el extremo proximal del refuerzo puede tener características estructurales para acoplarse con un mango independiente, por ejemplo, un mango de forma ergonómica proporcionado para un uso repetido con diferentes sistemas de terapia. El mango puede fijarse también a un elemento fijo o un microaccionador para su uso en cirugía estereotáctica. En una realización, el mango puede unirse al refuerzo, pero no desprenderse del mismo. Después del uso, el refuerzo y el mango pueden disponerse así en un estado ensamblado y se evita la reutilización no deseada del mango.

El sistema de terapia podría suministrarse en un recipiente que impide la contaminación de la cápsula. Para facilitar la retirada del sistema del recipiente, el refuerzo y/o el anclaje pueden fijarse preferentemente a un cierre del recipiente. De este modo, el refuerzo puede facilitar no sólo la inserción de la cápsula y el anclaje en el paciente, sino también la retirada del sistema del recipiente y la manipulación del sistema antes de la inserción sin tocar las partes insertables del sistema. Como preparación a la inserción del sistema en el paciente, el cierre podría desprenderse del refuerzo, o el cierre podría permanecer unido al refuerzo y ser retirado de la parte restante del sistema cuando el refuerzo se retira del anclaje. El recipiente puede ser un dispositivo de almacenamiento de la clase descrita en la presente solicitud.

Para fijar el sistema al cierre, al menos uno entre el anclaje y/o el refuerzo podría unirse adhesivamente a una superficie interior del cierre, o el cierre puede comprender un saliente hecho de un material resiliente y provisto de una cavidad dimensionada para ajustarse estrechamente alrededor del extremo proximal del anclaje y/o el refuerzo. En esta realización, el sistema de terapia podría fijarse al cierre simplemente por rozamiento entre la cavidad y el sistema de terapia.

Para facilitar adicionalmente la manipulación sin contaminación del sistema, en particular como preparación a la inserción en el paciente, el extremo proximal del refuerzo y/o el anclaje puede comprender, como se ha mencionado anteriormente, medios de manipulación adaptados para acoplarse con un mango independiente. Si el refuerzo y/o el anclaje se fijan al cierre del recipiente, el cierre puede constituir, sin embargo, el medio de manipulación y estar adaptado para acoplarse con el mango. Para ese fin, una superficie exterior del cierre puede comprender características estructurales adaptadas para el interbloqueo con características de cooperación del mango independiente. En una realización alternativa, el refuerzo y/o el anclaje se extienden a través del cierre y con ello permiten el contacto directo desde el exterior, por ejemplo, con el fin de conectar un mango independiente antes de la retirada del sistema de terapia del recipiente.

Como parte del sistema de terapia, el mango independiente mencionado anteriormente podría estar hecho de un material resiliente y con un medio de presión para cooperar con el medio de presión correspondiente del refuerzo y/o el anclaje con el fin de permitir la fijación del mango al refuerzo y/o al anclaje.

El sistema de terapia puede comprender asimismo un elemento de presión tal como se describe en la presente memoria.

En un segundo aspecto, la invención proporciona un dispositivo de almacenamiento de la clase mencionada anteriormente para almacenar un sistema de terapia implantable. En particular, el dispositivo de almacenamiento puede comprender un recipiente con un cierre al que puede unirse el sistema de terapia.

En un tercer aspecto, la invención proporciona un procedimiento de colocación de un sistema de terapia de la clase descrita en un sitio de tratamiento de un ser vivo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

A continuación, se describirá una realización preferida de la invención en mayor detalle con referencia a los dibujos en los que:

- la Fig. 1 ilustra un sistema de acuerdo con la invención,
- la Fig. 2 ilustra los detalles del extremo distal de una realización del sistema,
- la Fig. 3 muestra una vista en perspectiva de una realización de un refuerzo para el sistema de terapia,
- la Fig. 4 muestra un mango independiente adaptado para la conexión con el refuerzo mostrado en la Fig. 3,
- la Fig. 5 muestra el sistema colocado en un recipiente,
- la Fig. 6 muestra un cierre para el recipiente con el sistema de terapia unido al mismo, y
- la Fig. 7 muestra un elemento de presión destinado a unirse al anclaje y/o al refuerzo del sistema de terapia para facilitar una manipulación sin contaminación.
- la Fig. 8 muestra un dispositivo de encapsulación montado en el conector (43) por medio del tubo de carga

(44) antes de la carga de células. Se inyectan células en suspensión desde una jeringa a través del tubo de carga por fijación del conector en la jeringa. Después de la carga de células, se retira el tubo de carga de la cápsula y se sella con cola la abertura resultante. La membrana se indica por el número (45).

- 5 la Fig. 9a muestra una sección transversal esquemática de una cápsula (3) unida a un anclaje (4) con un elemento de conexión rígido (46). El elemento de conexión comprende una parte primera (47) y una parte segunda (48). Los bordes entre la cápsula y el anclaje se han alisado aplicando cola (49) en el borde. La Fig. 9b muestra una sección transversal esquemática de una realización de un elemento de conexión (46) con rebajes (50) para cola.

10 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE REALIZACIONES PREFERIDAS

El alcance adicional de aplicabilidad de la presente invención se hará más evidente a partir de la descripción detallada que se ofrece a continuación. Sin embargo, se debe entender que la descripción detallada y los ejemplos específicos, mientras que indican formas de realización específicas de la invención, se dan solo a modo de 15 ilustración, ya que varios cambios y modificaciones dentro del espíritu y alcance de la invención serán evidentes para aquellos expertos en la técnica a partir de la descripción detallada.

En referencia en detalle a los dibujos, en los que las partes idénticas se marcan de la misma forma, la Fig. 1 ilustra un sistema de terapia implantable (1) con una cápsula (2) que tiene una membrana exterior semipermeable 20 biocompatible (3) que encapsula un compartimento celular con células vivas de mamífero que tienen capacidad de producir un compuesto que proporciona una función biológica. El sistema comprende además un anclaje alargado (4) que está unido a la cápsula y que se extiende desde el extremo distal (5) en una dirección longitudinal hacia un extremo proximal opuesto axialmente (6). El refuerzo (7) está unido al anclaje para hacer el anclaje más rígido y para facilitar así la manipulación del anclaje y la cápsula. El anclaje y la cápsula están unidos por cola o por un medio de 25 fijación similar en la zona (8). La cápsula (1) tiene un tamaño radial menor que el anclaje, indicado por la diferencia (9), y el refuerzo se extiende además en la dirección proximal, indicada por la diferencia (10). Sin embargo, el refuerzo no se inserta completamente en el conducto del anclaje y por tanto forma una distancia (11) a la cápsula (3).

30 La Figura 9a muestra una realización alternativa de un medio de sujeción para unir la cápsula con el anclaje. Para asegurar el anclaje (4) a la cápsula (3), puede insertarse un elemento de conexión rígido (46) para unir las dos partes. Puede usarse un elemento de conexión cuando la cavidad central del anclaje se extiende por todo el extremo distal de dicho anclaje. Se adapta una primera parte (47) del elemento de conexión para que se ajuste dentro de la membrana semipermeable de la cápsula. El ajuste puede ser un ajuste por apriete, aunque preferentemente el 35 elemento de conexión se asegura a la cápsula por encolado. A este respecto, la primera parte del elemento de conexión actúa como un cierre estanco para las células de la cápsula. Se adapta una segunda parte (48) del elemento de conexión para que se ajuste en una cavidad central del anclaje y análogamente puede asegurarse por simple ajuste por apriete o preferentemente encolarse al anclaje. La segunda parte del elemento de conexión sirve también para impedir que el refuerzo penetre en la cápsula. Para las partes primera y segunda, el ajuste debe ser tal 40 que se requiera poca fuerza para insertar el elemento de conexión en la cápsula y el anclaje respectivamente con el fin de no dañar las partes delicadas. Los diámetros de las partes primera y segunda se determinan mediante el diámetro interior de la parte de membrana semipermeable de la cápsula y la cavidad interior del anclaje.

45 Para mejorar la fijación por cola al elemento de conexión, la primera parte (47) y la segunda parte (48) pueden comprender rebajes (50) (mostrados en la Fig. 9b) que se extienden alrededor del elemento de conexión, mejorando así la fuerza de adhesión entre el elemento de conexión y el anclaje / membrana. Los rebajes pueden prepararse mediante molturación.

50 El elemento de conexión puede comprender una tercera parte central opcional con un diámetro aumentado con respecto a la primera parte y la segunda parte. La parte central puede servir para impedir el contacto directo entre el anclaje y la cápsula.

El elemento de conexión está hecho de un material rígido, y puede estar hecho de un polímero rígido tal como polisulfona, polietersulfona y policarbonato o de un metal. Los elementos de conexión metálicos tienen la ventaja de 55 que la cápsula puede situarse fácilmente con un rayos X después de la implantación. Los elementos de conexión de polímeros tienen la ventaja de que no producen artefactos en los estudios de RM. En caso de metales, se prefiere un metal no magnético, ya que es probable que los pacientes que reciben una cápsula se sometan a exploración por RM. Los metales preferidos incluyen: acero inoxidable, titanio, oro, plata, platino y aleaciones. El elemento de conexión puede fabricarse por moldeo, fundición o molturación.

60

En otra realización, el anclaje se sujeta a la cápsula reduciendo el diámetro del extremo distal del anclaje y forzándolo en el compartimento celular de la cápsula. La reducción del diámetro puede realizarse por corte, molturación o termoconformado. El ajuste por apriete puede bastar para mantener el anclaje en su lugar, y preferentemente se asegura además mediante cola.

5

Con independencia de cómo se sujeten la cápsula y el anclaje entre sí, debe garantizarse que no existen bordes afilados entre la cápsula y el anclaje. Los bordes afilados pueden suavizarse durante el montaje del dispositivo aplicando cola (49) (mostrado en la Fig. 9a). Los bordes afilados pueden servir de soporte para el crecimiento de las células del paciente después de la implantación, lo que puede dificultar la retirada del dispositivo y provocar lesiones en el paciente durante la retirada.

10

La Fig. 2 muestra los detalles del extremo distal de una realización del sistema 1. El sistema comprende un medio de manipulación (12) constituido por un mango en una parte con el refuerzo o constituido por un medio de fijación para fijar un mango independiente al refuerzo. El medio de manipulación puede formar parte del refuerzo (7), o el medio de manipulación puede conectarse al refuerzo, por ejemplo, de forma adhesiva. El medio de manipulación se extiende axialmente desde su extremo distal (13), es decir, donde el medio de manipulación se une con el refuerzo hacia el extremo proximal opuesto axialmente (14) del medio de manipulación. Puede colocarse una parte no flexible (15), que de manera similar podría formar parte del refuerzo, entre el mango y el refuerzo. Para la retirada del refuerzo puede usarse un instrumento, por ejemplo, pinzas, para sostener la parte no flexible mientras el refuerzo anexo se retira del anclaje.

20

La Fig. 3 muestra una vista en perspectiva del refuerzo (7) y el medio de manipulación (12) mostrados en más detalle. El refuerzo comprende un extremo proximal (16) y un extremo distal (17). El diámetro del extremo distal (17) se incrementa con respecto al diámetro del extremo proximal. El diámetro incrementado se proporciona para que el refuerzo se ajuste más estrechamente en una cavidad interna de un anclaje tubular y con ello fije el refuerzo a la parte distal del anclaje. En el extremo distal, el refuerzo se une con o forma el medio de manipulación (12). El medio de manipulación descrito está adaptado para fijar un mango independiente y comprende un extremo proximal (18) y un extremo distal (19). Las aletas de guiado (20, 21) se extienden axialmente y facilitan la fijación del medio de manipulación en las ranuras correspondientes de un mango independiente.

30

La Fig. 4 muestra un mango independiente (22) para la fijación al medio de manipulación (12) del refuerzo. El mango comprende un cuerpo cilíndrico alargado con una ranura que forma un primer paso alargado (23) y un segundo paso alargado (24) que es más estrecho que el primer paso alargado. La ranura se extiende desde un extremo distal (25) del mango, es decir, el extremo que apunta hacia el anclaje y refuerzo, hacia un extremo proximal opuesto axialmente (26) del mango. Se proporcionan características estructurales (27, 28, 29) para la cooperación con las características estructurales correspondientes del medio de manipulación con el fin de asegurar el mango en el medio de manipulación y permitir la transferencia de fuerza en una dirección longitudinal.

35

El sistema de terapia es almacenado y transportado dentro de un sistema de almacenamiento. El sistema de almacenamiento comprende un dispositivo de almacenamiento y partes opcionales adicionales. La Fig. 5 muestra un dispositivo de almacenamiento para almacenar el sistema de terapia. El dispositivo de almacenamiento comprende un recipiente (30) con una abertura en una cavidad interior alargada en la que puede almacenarse el sistema de terapia (31) en estado alargado. La abertura se cierra mediante un cierre (32). La cavidad tiene una pared que es impermeable a un medio de almacenamiento de fluidos, y durante el envasado, el sistema de terapia se sumerge en el medio en el que posteriormente se almacenará y se transportará hasta su uso. El elemento de presión (33) puede dimensionarse con respecto al recipiente para proteger la cápsula del contacto con las partes de paredes internas del recipiente y protege así el sistema de terapia. El elemento de presión se describe adicionalmente con referencia a la Fig. 7. En general, el sistema de terapia de la invención se almacena en un recipiente de almacenamiento de medios que contiene un volumen de medios fluidos, un medio para fijar el sistema en el recipiente de almacenamiento de medios y un medio para sellar el recipiente de almacenamiento de medios diseñado para proporcionar un cierre sustancialmente estanco a los fluidos. Las realizaciones preferidas comprenden además un medio de intercambio de medios y un medio de intercambio de gases para mantener la viabilidad de las células en la cápsula.

50

El tapón (32) proporciona un cierre sustancialmente estanco a los fluidos cuando se acopla de forma hermética con el recipiente de almacenamiento (30). En la realización preferida, cuando se acopla el tapón, el dispositivo de almacenamiento puede invertirse de manera que la cápsula permanece sumergida en los medios y no entra en contacto con burbujas de aire. Así se asegura que, durante el transporte, si el recipiente se invierte inadvertidamente, la cápsula no se secará. Preferentemente, el tapón tiene un cierre estanco o revestimiento (34) (por ejemplo, un material compresible tal como elastómero de silicona) que ayuda a la formación de un cierre

55

60

estanco a los fluidos.

El revestimiento puede estar formado por un enfoque de construcción en capas en el que se coloca una capa de silicona entre dos capas de otros polímeros adecuados (por ejemplo, polipropileno o fluoroetilenopropileno). El revestimiento puede fijarse al tapón mediante cualquier medio adecuado, tal como soldadura ultrasónica. Cuando el revestimiento está formado por una construcción en capas, la capa interior del revestimiento, la que está en contacto con el tapón, estará hecha del mismo material que el tapón con el fin de facilitar la soldadura ultrasónica. La capa exterior puede ser de cualquier material adecuado que será de bajo rozamiento y suficientemente duradero para formar un cierre estanco a los fluidos. Por ejemplo, el perfluoroetileno polipropileno fluorado (FEP), un copolímero de hexafluoropropileno y tetrafluoroetileno, es un material adecuado para la capa de bajo rozamiento del revestimiento. FEP tiene propiedades muy similares al politetrafluoroetileno (PTFE), aunque es más estable durante la esterilización por irradiación gamma que el PTFE.

Una realización preferida del aparato de almacenamiento y transporte, mostrado en la Fig. 5 incluye además un medio de intercambio de gases y un medio de intercambio de medios.

La capacidad de intercambiar gases con los medios ayuda a mantener la viabilidad de las células vivas en la cápsula. Alternativamente, puede introducirse oxígeno suficiente en el sistema de envasado saturando los medios antes de acoplar el medio de sellado, o usando un revestimiento transpirable.

El medio de intercambio de gases puede comprender un orificio resellable que permite la comunicación gaseosa entre el exterior de un recipiente de almacenamiento sellado (30) y su interior. El orificio puede resellarse mediante cualquier procedimiento adecuado, tal como un tapón, un obturador o preferentemente un septo de autosellado. Se conocen bien en la técnica muchos otros de dichos ejemplos.

El medio de intercambio de medios es similar en diseño al medio de intercambio de gases. Por ejemplo, el medio de intercambio de medios puede comprender también un orificio resellable para acceder a los medios. Los medios pueden extraerse desde o introducirse en el recipiente de almacenamiento (30) usando una aguja, un tubo u otros procedimientos adecuados.

El medio de intercambio de gases y/o medios aumenta la vida en almacén del sistema de terapia de la invención.

El sistema de almacenamiento comprende opcionalmente un recipiente secundario que rodea al recipiente (30). Preferentemente, el recipiente secundario tiene un medio para acceder al medio de intercambio de gases del recipiente interno (30). Asimismo, el recipiente secundario puede tener un medio para intercambiar humedad desde el interior del recipiente secundario a la atmósfera externa de manera que se impide la acumulación excesiva de humedad dentro del recipiente secundario.

La Fig. 6 muestra una vista de un cierre estanco (34) que puede estar situado en, y unido a, el cierre (32) para cerrar el recipiente de forma estanca. El sistema de terapia está unido de forma desprendible al cierre estanco. De este modo, el usuario puede retirar el sistema de terapia de la cavidad simplemente retirando el cierre del recipiente. Para la fijación del sistema de terapia al cierre, se proporciona un elemento de fijación (35) de un material resiliente en la superficie interior. El elemento de fijación comprende una abertura que está dimensionada para rodear de forma estrecha a una parte del sistema de terapia y para sostener el sistema mediante el uso del rozamiento entre una superficie del elemento de fijación y la superficie exterior del sistema de terapia.

La Fig. 7 muestra una vista ampliada de una realización del elemento de presión (33) que comprende un paso (36) formado por una incisión semicircular entre un primer segmento de brazo (41) y un segundo segmento de brazo (42). El paso está conformado y dimensionado de manera que una superficie del paso está en contacto normalmente con una superficie exterior del refuerzo y/o el anclaje para fijar el sistema de terapia al elemento de presión. El elemento de presión está hecho de un material resiliente, y cuando un usuario presiona los segmentos de los brazos entre sí, indicado por las flechas (39, 40), la forma y/o el tamaño del paso cambian y con ello se libera la presión. El elemento de presión descrito comprende además segmentos de brazos tercero y cuarto (37, 38) que proporcionan una distancia a una superficie interior del recipiente.

Elemento de presión

En una realización el sistema de terapia implantable tiene un elemento de presión de forma desprendible unido al anclaje.

El elemento de presión unido de forma desprendible proporciona varias ventajas con respecto a los sistemas de terapia de la técnica anterior desprovistos de dichos elementos de presión. El elemento de presión proporciona un "mango" para su uso durante la manipulación del delicado sistema de terapia, con lo que se evita el contacto directo con las partes del sistema de terapia que entran en contacto con el tejido después de la implantación (la cápsula y el anclaje). El elemento de presión puede usarse para presión cuando el sistema de terapia se llena de células y actúa como un mango cómodo para que el cirujano inserte el sistema de terapia en un trócar o una cánula para su implantación o para asegurar el sistema de terapia a un elemento estereotáctico. Como el elemento de presión es desprendible, el cirujano puede retirar fácilmente el elemento de presión del anclaje antes de insertar finalmente el sistema de terapia en el encéfalo u otra parte del cuerpo. Finalmente, el elemento de presión sirve para proteger la parte de cápsula del sistema de terapia del contacto con las paredes internas de un recipiente de almacenamiento durante el transporte y el almacenamiento ya que garantiza una distancia mínima a dichas paredes.

Un elemento de presión puede estar unido de forma desprendible al anclaje y/o el refuerzo para permitir que el profesional médico manipule el sistema de terapia sin contacto directo con las partes insertables del refuerzo y/o el anclaje. El elemento de presión puede formar un paso con una superficie interior que rodea estrechamente, o al menos rodea parcialmente a una superficie exterior del anclaje y/o el refuerzo y que en un estado relajado está en contacto con ellos para fijar el anclaje y/o el refuerzo en el paso. El elemento de presión podría estar hecho de un material resiliente que está conformado de manera que la forma y/o el tamaño del paso pueden modificarse mediante una desviación de liberación del elemento de presión para liberar la fijación del anclaje y/o el refuerzo en el paso. La desviación de liberación podría obtenerse apretando el elemento de presión con la presión de los dedos, y podría estar sustentada por la provisión de un primer y un segundo segmento de brazo que se extienden en diferentes direcciones alejándose del paso. En una realización, el paso define la forma de una incisión semicircular entre los segmentos de brazo primero y segundo. Los brazos tienen preferentemente el tamaño suficiente y con ello la capacidad de transmitir la fuerza que se les aplica al centro del elemento de presión provocando la apertura del paso y no sólo la deformación de los brazos.

En una realización preferida, el elemento de presión forma un paso con una forma y tamaño en sección transversal, pudiendo el elemento de presión cambiar entre un estado relajado donde una superficie interior del paso entra en contacto con una superficie exterior del anclaje para fijar el elemento de presión al sistema de terapia y un estado comprimido donde el paso se desvía para liberar el sistema de terapia del elemento de presión.

El elemento de presión puede cambiar entre el estado relajado y el comprimido por la aplicación de una fuerza a una superficie exterior del elemento de presión. La fuerza puede ser una presión de liberación a una superficie exterior del elemento de presión. Para facilitar la aplicación de la presión de liberación el elemento de presión puede comprender además un primer y un segundo segmento de brazo que se extiende desde el paso en diferentes direcciones.

El paso mencionado anteriormente en una realización define la forma de una incisión semicircular entre los segmentos de brazo primero y segundo. El elemento de presión puede comprender tantos segmentos de brazos como se desee. Así puede comprender al menos un tercer segmento de brazo, por ejemplo, al menos un cuarto segmento de brazo, por ejemplo, al menos un quinto segmento de brazo, por ejemplo al menos un sexto segmento de brazo. Se prefiere que el elemento de presión comprenda al menos cuatro segmentos de brazos para facilitar la manipulación del sistema de terapia y para garantizar que puede mantenerse alejado de las superficies interiores de un recipiente de almacenamiento.

El elemento de presión permanece unido preferentemente al anclaje durante el llenado con células, el cultivo, el almacenamiento y el transporte. Esto puede obtenerse seleccionando materiales para el anclaje y un elemento de presión que tenga un alto rozamiento de deslizamiento. En una realización preferida en particular, el elemento de presión no se mueve así a lo largo del eje longitudinal del anclaje.

Para facilitar la manipulación el elemento de presión puede desprenderse usando una fuerza aplicada con los dedos y opcionalmente pinzas u otro equipo quirúrgico no eléctrico. De este modo el cirujano o un profesional de enfermería pueden retirar fácilmente el elemento de presión.

En algunas realizaciones el elemento de presión puede estar unido de forma desprendible al anclaje y/o refuerzo. Dado que el refuerzo está situado preferentemente dentro del anclaje, puede decirse que el elemento de presión está fijado a ambos. Sin embargo puede concebirse que el elemento de presión esté unido sólo al refuerzo.

El elemento de presión puede estar hecho de cualquier material adecuado para la finalidad, teniendo en cuenta el hecho de que el elemento de presión no está destinado a su implantación sino que puede estar en contacto con el

medio de crecimiento/almacenamiento que está también en contacto con células encapsuladas. En una realización preferida, el elemento de presión comprende un material resiliente. El uso de un material resiliente protege el anclaje y también puede ayudar a hacer que el elemento de presión pueda cambiar entre un estado contraído y uno liberado. El elemento de presión puede incluir también un material rígido adicional. Puede ser ventajoso fabricar los brazos de un material rígido que garantice una mejor transferencia de fuerza y/o haga que la superficie de los brazos sea no deslizante en condiciones húmedas.

El material resiliente puede incluir silicón u otro polímero flexible biocompatible con alto rozamiento de deslizamiento en el ajuste por apriete.

10

El elemento de presión puede mantenerse en su posición en el anclaje y/o refuerzo mediante un ajuste por apriete, o entrelazarse mecánicamente con el anclaje y/o el refuerzo, por ejemplo por medio de un rozamiento mutuo entre el elemento de presión y el anclaje y/o el refuerzo.

15 En una realización el sistema de terapia está contenido en un recipiente de la clase descrita en la presente solicitud que evita la contaminación de la cápsula. Para este fin, el elemento de presión está dimensionado preferentemente con respecto al recipiente para impedir el contacto entre la cápsula parte del sistema y las paredes internas del recipiente.

20 En una realización adicional la membrana exterior semipermeable biocompatible encapsula células capaces de secretar un compuesto biológicamente activo. Cuando la cápsula comprende células, debe guardarse en un medio de crecimiento/almacenamiento en un recipiente para mantener la viabilidad de las células hasta la implantación.

La elección exacta de las dimensiones para la parte del elemento de presión del sistema depende de las dimensiones del sistema de terapia en sí, en particular de las dimensiones del anclaje y del recipiente de almacenamiento en el que se almacenará y expedirá el sistema antes de la implantación. Por tanto las siguientes dimensiones deben entenderse como meramente orientativas y en ningún caso de carácter limitativo.

30 El elemento de presión puede extenderse normalmente de 2 a 50 mm en una dirección perpendicular al eje del anclaje. Preferentemente, la distancia es inferior a 40 mm, más preferentemente inferior a 30 mm, tal como 20 mm o 10 mm. Cuanto menor sea esta distancia, menor será el recipiente necesario para el almacenamiento. Se necesita un tamaño mínimo para impedir que la parte de la cápsula del sistema de terapia toque las paredes del recipiente. Esta distancia mínima depende de la longitud del sistema de terapia y de su flexibilidad.

35 El diámetro o sección transversal del paso que tiene una superficie interior que rodea esencialmente o rodea al menos parcialmente al anclaje y/o el refuerzo es preferentemente igual o ligeramente menor que el diámetro del anclaje/refuerzo. Cuando se usa un diámetro del paso ligeramente menor, el elemento de presión se mantiene en su posición por la fuerza de la presión aplicada al anclaje/refuerzo. En algunas realizaciones, el paso tiene un diámetro al menos el 5% menor que el diámetro del anclaje, preferentemente al menos el 10%, tal como al menos el 40 15%, por ejemplo, al menos el 20%.

El elemento de presión puede comprender al menos un plano de simetría a través del eje longitudinal del anclaje/refuerzo. Sin embargo, puede ser ventajoso usar un elemento de presión esencialmente no simétrico. Así una parte mayor del elemento de presión puede servir como un mango fácil de asir por el cirujano o el fabricante, mientras que una segunda parte más pequeña del elemento de presión sirve para proporcionar la distancia deseada a las paredes internas de un recipiente de almacenamiento.

El grosor del elemento de presión puede ser normalmente de 0,5 a 20 mm, preferentemente de 0,5 a 10 mm, más preferentemente de 1,5 mm.

50

En el dimensionamiento del tamaño del elemento de presión debe tenerse en cuenta el tamaño del recipiente. Así el espacio libre entre el recipiente y el elemento de presión puede ser de al menos 0,2 mm, preferentemente al menos 0,5 mm. Deben tenerse en cuenta las dimensiones de la abertura del recipiente, que pueden ser de un tamaño menor que el cuerpo del recipiente.

55

Recipiente de almacenamiento

En otra realización el sistema de terapia se almacena en un dispositivo de almacenamiento que comprende un recipiente con una abertura en una cavidad para el almacenamiento del sistema sumergido en un medio fluido, y un cierre para el cierre de la abertura, caracterizado porque el cierre comprende un medio de fijación para fijar el

60

sistema de terapia al cierre.

El recipiente puede formar una cavidad alargada que se extiende en una dirección longitudinal para el almacenamiento de un sistema alargado en estado extendido. Pueden idearse otras formas internas del recipiente 5 dependiendo de las dimensiones del sistema de terapia.

El cierre puede comprender un elemento de fijación de un material resiliente y provisto de una abertura dimensionada para rodear estrechamente una parte de presión del sistema y de esa forma unir de forma desprendible el sistema al cierre. Preferentemente, el elemento de fijación forma parte de un cierre estanco 10 proporcionado entre el recipiente y el cierre para facilitar el almacenamiento antibacteriano del sistema de terapia implantable. Asimismo, el cierre puede comprender una superficie exterior con un medio de fijación para fijar un mango independiente al cierre.

Terapia celular encapsulada

15

La cápsula celular, en lo sucesivo referida como la cápsula tiene una membrana que está adaptada para controlar la difusión de moléculas, tales como hormonas del factor de crecimiento, neurotransmisores, péptidos, anticuerpos y complementos, basándose en su peso molecular o su tamaño. Usando técnicas de encapsulación, las células pueden trasplantarse en un huésped sin rechazo inmunitario, ya sea con o sin el uso de fármacos antidepresores. 20 Las cápsulas útiles de polímeros biocompatibles suelen contener un núcleo que contiene células, ya sean suspendidas en un medio líquido o inmovilizadas en una matriz de inmovilización, y una región de matriz o membrana permselectiva circundante o periférica ("camisa") que no contiene células aisladas, que es biocompatible y que es suficiente para proteger las células en el núcleo del ataque inmunológico perjudicial. La encapsulación impide que los elementos del sistema inmunitario entren en la cápsula, protegiendo así las células encapsuladas de 25 la destrucción inmunitaria. El carácter semipermeable de la membrana de la cápsula permite también que la molécula biológicamente activa de interés se difunda fácilmente desde la cápsula en el tejido del huésped circundante y permite que los nutrientes se difundan fácilmente en la cápsula y soporten las células encapsuladas. La cápsula puede estar hecha de un material biocompatible. Un "material biocompatible" es un material que, después de la implantación en un huésped, no provoca una respuesta perjudicial en el huésped suficiente para 30 producir el rechazo de la cápsula o volverla inoperativa, por ejemplo, a través de la degradación. El material biocompatible es relativamente impermeable a moléculas grandes, tales como los componentes del sistema inmunitario del huésped, pero es permeable a moléculas pequeñas, tales como insulina, factores de crecimiento y nutrientes, a la vez que permite eliminar los desechos metabólicos. Existen diversos materiales biocompatibles adecuados para el suministro de factores de crecimiento por medio de la composición de la invención. Se conocen 35 numerosos materiales biocompatibles, que tienen diversas morfologías de superficie exterior y otras características mecánicas y estructurales. Preferentemente la cápsula de la presente invención será similar a las descritas por los documentos WO- 92/19.195oWO- 95/05.452, incorporados como referencia; olas patentes de EE.UU. n.º 5.639.275;5.653.975;4.892.538;5.156.844;5.283.187; olas patentes de EE.UU. n.º 5.550.050. Dichas cápsulas permiten el paso de metabolitos, nutrientes y sustancias terapéuticas a la vez que minimizan los efectos perjudiciales 40 del sistema inmunitario del huésped. Los componentes del material biocompatible pueden incluir una membrana semipermeable circundante y el andamiaje de soporte celular interno. Preferentemente, las células recombinantes se siembran en el andamiaje, que es encapsulado por la membrana permselectiva. El andamiaje de soporte celular filamentososo puede estar hecho de cualquier material biocompatible seleccionado de entre el grupo que consiste en acrílico, poliéster, polietileno, polipropileno poliácetonitrilo, tereftalato de polietileno, nailon, poliamidas, poliuretanos, 45 polibutiléster, seda, algodón, quitina, carbono o metales biocompatibles. También, para la implantación de células pueden usarse estructuras de fibra unidas (patente de EE.UU. n.º 5.512.600). Los polímeros biodegradables incluyen los constituidos por poli(ácido láctico) PLA, poli(ácido láctico-glicólico) PLGA y poli(ácido glicólico) PGA y sus equivalentes. Se han usado andamiajes de espuma para proporcionar superficies en las que puedan adherirse las células trasplantadas (documento WO-98/05.304). Se han usado tubos de malla trenzados como injertos 50 vasculares (documento WO-99/52.573). Asimismo, el núcleo puede estar compuesto por una matriz de inmovilización formada a partir de un hidrogel, que estabiliza la posición de las células. Un hidrogel es una red tridimensional de polímeros hidrófilos reticulados en forma de un gel, sustancialmente compuestos por agua.

La camisa tiene preferentemente un corte de peso molecular de menos de 1.000 kD, más preferentemente entre 50- 55 700 kD, más preferentemente entre 70-300 kD, más preferentemente entre 70-150 kD, tal como entre 70 y 130 kD. El corte de peso molecular debe seleccionarse de manera que garantice que la molécula bioactiva puede escapar de la cápsula a la vez que protege las células encapsuladas del sistema inmunitario del paciente.

El grosor de la camisa está comprendido normalmente en el intervalo de 2 a 200 micrómetros, más preferentemente 60 de 50 a 150 micrómetros. La camisa debe tener un grosor que dé suficiente resistencia a la cápsula para mantener

las células encapsuladas y con esta premisa debe mantenerse lo más delgada posible para ocupar el menor espacio posible.

5 Pueden usarse varios polímeros y mezclas de polímeros para la fabricación de la membrana semipermeable circundante, lo que incluye poliacrilatos (incluyendo copolímeros acrílicos), polivinilidenos, copolímeros de policloruro de vinilo, poliuretanos, poliestirenos, poliamidas, acetatos de celulosa, nitratos de celulosa, polisulfonas (incluidas poliéter sulfonas), polifosfacenos, poliacrilonitrilos, poli(acrilonitrilo/co-cloruro de vinilo), así como derivados, copolímeros y mezclas de los mismos. Preferentemente, la membrana semipermeable circundante es una membrana de fibra hueca semipermeable biocompatible. Dichas membranas, y los procedimientos para prepararlas, se describen en las patentes de EE.UU. n.º 5.284.761 y 5.158.881). La membrana semipermeable circundante puede estar formada por fibra hueca de poliéter sulfona, tal como se describe en las patentes de EE.UU. n.º 4.976.859-0123984 y la patente de EE.UU. n.º 4.968.733. Un material alternativo de membrana semipermeable circundante es poli(acrilonitrilo/co-cloruro de vinilo) (Pan-PVC).

15 La cápsula puede ser cualquier configuración apropiada para mantener actividad biológica y proporcionar acceso para el suministro del producto o función, lo que incluye por ejemplo, forma cilíndrica, rectangular, discoidal, en parche, ovoide, estrellada o esférica. Por otra parte, la cápsula puede estar enrollada o envuelta en una estructura anidada o de tipo malla. Si la cápsula debe recuperarse después de implantada, las configuraciones, que suelen conducir a la migración de las cápsulas desde el sitio de implantación, tales como cápsulas esféricas suficientemente pequeñas para desplazarse por los vasos sanguíneos del huésped, no son las preferidas. Algunas formas, como rectángulos, parches, discos, cilindros y láminas planas ofrecen mayor integridad estructural y son preferibles cuando se desea una recuperación. Una forma preferida especialmente es la forma de cilindro, ya que dicha forma es fácil de producir a partir de fibras huecas que pueden producirse industrialmente.

25 Cuando se usan macrocápsulas, en cada dispositivo se encapsulan preferentemente al menos 10^3 células, por ejemplo se encapsulan entre 10^3 y 10^8 células, con la máxima preferencia se encapsulan entre 10^5 y 10^7 células. Naturalmente, el número de células en cada cápsula depende del tamaño de la cápsula. Como regla práctica, en una cápsula con espuma (descrita más adelante) los autores de la presente invención han encontrado la carga entre 10.000 y 100.000 células por μL de cápsula (volumen calculado como el volumen interno incluida la espuma), más preferentemente de 25.000 a 50.000 células por μL , más preferentemente de 30.000 a 40.000 células por μL . El número de células para carga depende también del tamaño de las células.

La dosificación puede controlarse variando las dimensiones (longitud, diámetro) de la cápsula y/o implantando un número menor o mayor de cápsulas, preferentemente entre 1 y 10 cápsulas por paciente.

35 En el presente contexto una macrocápsula es una cápsula que tiene un volumen de al menos $1 \mu\text{L}$, tal como de 1 a $10 \mu\text{L}$.

El andamiaje puede recubrirse con moléculas de matriz extracelular (ECM). Los ejemplos adecuados de moléculas de matriz extracelular incluyen, por ejemplo, colágeno, laminina y fibronectina. La superficie del andamiaje también puede modificarse mediante tratamiento con irradiación de plasma para impartir carga y mejorar la adhesión de las células.

45 Puede usarse cualquier procedimiento de sellado adecuado de las cápsulas, lo que incluye el uso de adhesivos de polímeros o sellado por engarce, anudado y calor. Asimismo, puede usarse también cualquier procedimiento de sellado "en seco", tal como se describe, por ejemplo, en la patente de EE.UU. n.º 5.653.687.

Los dispositivos de células encapsuladas se implantan de acuerdo con técnicas conocidas. Se contemplan muchos sitios de implantación para los dispositivos y procedimientos de la presente invención. Estos sitios de implantación incluyen, pero no se limitan a, el sistema nervioso central, incluido el encéfalo y la médula espinal (véanse las patentes de EE.UU. n.º 5.106.627, 5.156.844, y 5.554.148, y los humores acuoso y vítreo del ojo (véase el documento WO-97/34.586).

Andamiajes de espuma:

55 El andamiaje de espuma puede formarse a partir de cualquier material adecuado que forme una espuma biocompatible con una célula abierta o una estructura macroporosa con una red de poros. Una espuma de célula abierta es una estructura reticulada de poros interconectados. El andamiaje de espuma proporciona un material de andamiaje estable no biodegradable que permite la fijación de células adherentes. Entre los polímeros que son útiles para formar los andamiajes de espuma para los dispositivos de la presente invención están los termoplásticos y los

elastómeros termoplásticos.

Algunos ejemplos de materiales termoplásticos útiles para formar andamiajes de espuma son: acrílico, modacrílico, poliamida, policarbonato, poliéster, polietileno, polipropileno, poliestireno, polisulfona, polietersulfona y fluoruro de polivinilideno. Algunos ejemplos de materiales elastoméricos útiles para formar andamiajes de espuma adecuados son: poliamida poliéster, polietileno, polipropileno, poliestireno, poliuretano, polialcohol vinílico, vinilacetato de polietileno y silicona.

Se prefieren los andamiajes de espuma termoplásticos hechos de polisulfona y polietersulfona, y los andamiajes de espuma de elastómeros termoplásticos hechos de poliuretano y polialcohol vinílico.

La espuma debe tener algunos poros (pero no necesariamente todos) de un tamaño que permita que las células se fijen a las paredes o superficies en los poros. El tamaño de poro, la densidad de poro y el volumen de vacío del andamiaje de espuma pueden variar. La forma de poro puede ser circular, elíptica o irregular. Dado que la forma de poro puede variar considerablemente, sus dimensiones pueden variar de acuerdo con el eje que se mide. Para los fines de la presente invención, al menos algunos poros de la espuma deben tener un diámetro de poro de entre 20-500 μm , preferentemente entre 50-150 μm . Preferentemente las dimensiones anteriores representan el tamaño de poro medio de la espuma. Si no es circular, el poro puede tener dimensiones variables, siempre que su tamaño sea suficiente para permitir que las células adherentes se fijen a las paredes o superficies dentro del poro. En una realización, se contemplan espumas que tienen algunos poros elípticos que poseen un diámetro de 20-500 μm a lo largo del eje menor y un diámetro de hasta 1.500 μm a lo largo del eje mayor.

Además de los tamaños de poro permisivos de las células anteriores, preferentemente al menos una fracción de los poros en la espuma debe ser inferior a 10 μm para ser una célula no permisiva pero que proporcione canales para el transporte de nutrientes y moléculas biológicamente activas en toda la espuma.

La densidad de poro de la espuma (es decir, el número por volumen de poros que pueden caber en las células, tal como se describe anteriormente) puede variar entre el 20-90%, preferentemente entre el 50-70%.

De forma similar, el volumen de vacío de la espuma puede variar entre el 20-90%, preferentemente entre el 30-70%.

Las paredes o superficies de los poros pueden estar recubiertas con una molécula o moléculas de matriz extracelular, u otra molécula adecuada. Este recubrimiento puede usarse para facilitar la adherencia de las células a las paredes de los poros, para mantener las células de un fenotipo determinado y/o para inducir diferenciación celular.

Los ejemplos preferidos de moléculas de matriz extracelular (ECM) que pueden adherirse a las superficies en los poros de las espumas incluyen: colágeno, laminina, vitronectina, poliornitina y fibronectina. Otras moléculas ECM adecuadas incluyen glucosaminoglucanos y proteoglucanos; tales como sulfato de condroitina, sulfato de heparina, hialurónico, sulfato de dermatano, sulfato de queratina, proteoglucano sulfato de heparano (HSPG) y elastina.

Las ECM pueden obtenerse mediante cultivo de células que según se conoce depositan ECM, entre ellas células de origen mesenquimatoso o de astrocitos. Pueden inducirse células de Schwann para sintetizar ECM cuando se trata con ascorbato y AMPc. Véase, por ejemplo, Baron-Van Evercooren y col., "Schwann Cell Differentiation in vitro: Extracellular Matrix Deposition and Interaction," Dev. Springer-Verlag, pp. 182-96, 1986).

Asimismo, se ha determinado que los fragmentos de péptidos de adhesión, por ejemplo, secuencias que contienen RGD (ArgGlyAsp), secuencias que contienen YIGSR (TyrIleGlySerArg), así como secuencias que contienen IKVAV (IleLysValAlaVal), son útiles para la promoción de la fijación celular. Existen algunas moléculas que contienen RGD disponibles comercialmente como, por ejemplo, PepTite-2000.TM. (Telios).

Los andamiajes de espuma de la presente invención también pueden tratarse con otros materiales que mejoran la distribución celular en el dispositivo. Por ejemplo, los poros de la espuma pueden llenarse con un hidrogel no permisivo que inhibe la proliferación o migración celular. Dicha modificación puede mejorar la fijación de células adherentes al andamiaje de espuma. Los hidrogeles adecuados incluyen hidrogeles aniónicos (por ejemplo, alginato o carragenano) que pueden repeler las células debido a la carga. Alternativamente, pueden usarse también hidrogeles "sólidos" (por ejemplo, agarosa u óxido de polietileno) para inhibir la proliferación celular al desincentivar la unión de las moléculas de matriz extracelular secretadas por las células.

El tratamiento del andamiaje de espuma con regiones de un material no permisivo permite la encapsulación de dos o

más poblaciones de células distintas en el dispositivo sin que una población predomine sobre la otra. Así los materiales no permisivos pueden usarse en el andamiaje de espuma para segregar poblaciones independientes de células encapsuladas. Las distintas poblaciones de células pueden ser del mismo tipo celular o de tipos celulares diferentes, y pueden producir las mismas moléculas biológicamente activas u otras diferentes. En una realización, una población celular produce una sustancia que aumenta el crecimiento y/o la supervivencia de la otra población celular. En otra realización, se encapsulan múltiples tipos celulares que producen múltiples moléculas biológicamente activas. Así se proporciona al receptor una mezcla o "cóctel" de sustancias terapéuticas.

Los dispositivos de la presente invención pueden conformarse de acuerdo con cualquier procedimiento adecuado. En una realización, el andamiaje de espuma puede ser preformado e insertado en una camisa prefabricada, por ejemplo, una membrana de fibra hueca, como componente discreto.

Cualquier material de andamiaje de espuma adecuado termoplástico o elastomérico termoplástico puede preformarse para su inserción en una camisa prefabricada. En una realización los autores de la invención prefieren esponjas de polialcohol vinílico (PVA) para su uso como andamiaje de la espuma. Existen varias esponjas de PVA disponibles comercialmente. Por ejemplo, las esponjas de espumas de PVA #D-3, de 60 μm de tamaño de poro son adecuadas (Rippey Corp, Kanebo). De forma similar, existen esponjas de PVA disponibles comercialmente en Inc. (San Diego, Calif.) e Hydrofera (Cleveland, Ohio). Las esponjas de PVA son espumas insolubles en agua formadas por la reacción de solución aireada de poli(alcohol vinílico) con vapor de formaldehído como elemento de reticulación. Los grupos hidroxilo en PVA se reticulan de forma covalente con los grupos aldehído para formar la red de polímeros. Las espumas son flexibles y elásticas cuando se humedecen y semirrígidas cuando se secan.

Los filamentos usados para formar el andamiaje interno de hebra o malla están hechos de cualquier material biocompatible, sustancialmente no degradable, adecuado. Los materiales útiles para formar hebras o mallas trenzadas incluyen cualquier polímero biocompatible que sea susceptible de conformarse en fibras tal como, por ejemplo, acrílico, poliéster, polietileno, polipropileno, poliacrilonitrilo, tereftalato de polietileno, nailon, poliamidas, poliuretanos, polibutiléster, o fibras naturales tales como algodón, seda, quitina o carbono. Cualquier polímero termoplástico, elastómero termoplástico u otro material natural o sintético adecuado con propiedades de formación de fibra puede insertarse en una membrana de fibra hueca prefabricada o un cilindro hueco formado a partir de una lámina de membrana plana. Por ejemplo, los filamentos de seda, PET o nailon usados para materiales de sutura o en la fabricación de injertos vasculares son muy aptos para este tipo de aplicación. En otras realizaciones, puede usarse y trenzarse cinta o alambre metálico. Cada uno de estos materiales de filamentos tiene propiedades de superficie y geométricas bien controladas, puede producirse en masa y tiene una larga historia de uso en implantes. En algunas realizaciones, los filamentos pueden "texturizarse" para proporcionar superficies rugosas y "sujeciones" en las que puedan fijarse las proyecciones celulares. Los filamentos pueden estar recubiertos con moléculas de matriz extracelular o tratados en superficie (por ejemplo, irradiación de plasma o grabado con NaOH o KOH) para mejorar la adhesión celular a los filamentos.

En una realización, los filamentos, organizados preferentemente en una orientación unidireccional no aleatoria, se retuercen en haces para formar hebras de grosor y volumen de vacío variables. El volumen de vacío se define como los espacios existentes entre filamentos. El volumen de vacío en la hebra debe variar entre el 20-95%, pero está preferentemente entre el 50-95%. El espacio de vacío preferido entre los filamentos está entre 20-200 μm , suficiente para permitir la siembra de células en el andamiaje en toda la longitud de la hebra, y para permitir que las células se fijen a los filamentos. El diámetro preferido de los filamentos que comprenden la hebra está entre 5-100 μm . Estos filamentos deben tener una resistencia mecánica suficiente para permitir la torsión en un haz y formar una hebra. La forma en sección transversal del filamento puede variar, siendo preferidas las secciones transversales circular, rectangular, elíptica, triangular y en estrella.

En otra realización, los filamentos o hebras se trenzan en una malla. La malla puede producirse en un elemento de trenzado que usa soportes, similares a bobinas, que contienen monofilamentos o multifilamentos, que sirven para alimentar la hebra o los filamentos en la malla durante el trenzado. El número de soportes puede ajustarse y éstos pueden arrollarse con los mismos filamentos o una combinación de filamentos con diferentes composiciones y estructuras. El ángulo de la trenza, definido por el recuento de hilos de trama, está controlado por la velocidad de rotación de los soportes y la velocidad de producción. En una realización, se usa un mandril para producir un tubo hueco de malla. En algunas realizaciones, la trenza se construye como una sola capa, en otras realizaciones es una estructura con múltiples capas. La resistencia a la tracción de la trenza es la suma lineal de las resistencias a la tracción de los filamentos individuales.

Se encuentran ejemplos de monofilamentos adecuados para su uso en la presente invención en el documento US-6.627.422. Un ejemplo es una hebra de PET trenzada en una trenza. Esta trenza de PET se construyó a partir de

una hebra de multifilamento de 34, 44 denier trenzada en un mandril de 760 μm de diámetro exterior con un elemento de trenzado de 16 soportes a un recuento de hilos de trama de 20 hilos de trama por pulgada (ppi). La hebra de PET también puede usarse en hebras no tejidas. Otro ejemplo es monofilamentos de nailon trenzados en una trenza. Esta trenza de nailon se construyó a partir de una hebra de multifilamentos de 13, 40 denier trenzada en un mandril de 760 μm de diámetro exterior con un elemento de trenzado de 16 soportes a un recuento de hilos de trama de 18 ppi. Un ejemplo adicional incluye multifilamentos de acero inoxidable trenzados en una trenza. Esta trenza de acero inoxidable se construyó a partir de una cinta trenzada en un mandril de 900 μm de diámetro exterior con un elemento de trenzado de 16 soportes a un recuento de hilos de trama de 90 ppi. La resistencia a la tracción de estas trenzas de PET, nailon y acero inoxidable fue de 2,7, 2,4 y 3,6 kg de resistencia a la rotura, respectivamente.

En una realización, se construye una trenza tubular. En una realización adicional, la trenza se inserta en una membrana de fibra hueca. En una realización adicional, se siembran células en la membrana de fibra hueca. En una realización adicional, se permite que las células se infiltren en la pared del tubo de malla para elevar al máximo el área superficial disponible para la fijación de las células. En esta realización, la trenza sirve como matriz de andamiaje de células y como soporte interno para el dispositivo. El aumento en la resistencia a la tracción para el dispositivo soportado por trenzas es significativamente mayor que en enfoques alternativos.

En los dispositivos de acuerdo con la presente invención pueden encapsularse muchos tipos celulares diferentes. Entre ellos se incluyen líneas celulares inmortalizadas disponibles públicamente y bien conocidas, líneas celulares inmortalizadas espontáneamente así como cultivos celulares de división primaria. Dado que las líneas celulares en algunas realizaciones deben someterse a transfección o transducción, y deben seleccionarse clones, expandirse y guardarse en bancos de células, es preferible que las células o líneas celulares tengan capacidad para experimentar un número de divisiones importante.

Las líneas celulares con potencial de propagación a largo plazo pueden crearse a partir de una amplia variedad de células, que incluyen células progenitoras y/o precursoras. También son adecuadas las células madre que incluyen células madre pluripotentes y multipotentes, células madre embrionarias, células madre neurales y células madre hematopoyéticas.

Los ejemplos de líneas celulares incluyen células de ovario de hámster chino (CHO); células de riñón de hámster bebé (BHK); células de fibroblastos-3T3 de ratón; líneas celulares del mono verde africano (que incluyen COS-1, COS-7, BSC-1, BSC-40, BMT-10 y Vero); feocromocitoma suprarrenal de ratas (PC12 y PC12A); AT3, tumor glial de ratas (C6); células madre expandidas con factores de crecimiento; neuroesferas que responden a EGF; células madre progenitoras neurales que responden a bFGF derivadas del SNC de mamíferos [Richards y col., PNAS 89: 8591-8595 (1992); Ray y col., PNAS 90: 3602-3606 (1993)]; fibroblastos primarios; células de Schwann; astrocitos; células β -TC; células Hep-G2; oligodendrocitos y sus precursores; células C2C12 de mioblastos de ratón; células Hs683 derivadas de glía humana; células A172 derivadas de glía humana; glioblastos porcinos; condroblastos aislados de huesos largos humanos; células derivadas de córnea de conejo (SIRC) y células CAC.

La invención contempla también la encapsulación de dos o más células o líneas celulares transfectadas por separado en el mismo dispositivo, donde cada línea celular secreta al menos una de las moléculas deseadas. Alternativamente, pueden implantarse dispositivos independientes que producen cada molécula por separado.

La elección de la célula depende de la aplicación deseada. Las células pueden producir naturalmente la molécula biológicamente activa deseada o pueden estar diseñadas genéticamente para hacerlo.

En una realización preferida, las células son de origen humano para reducir el riesgo de reacción inmunitaria en un receptor humano. Aun cuando las células se encapsulen detrás de una membrana semipermeable, una línea celular no humana produce intrínsecamente proteínas y metabolitos no humanos, que, aunque secretados a bajo nivel, pueden desencadenar una respuesta inmunitaria en un huésped humano. En el caso de implantación en mamíferos no humanos es preferible que las células sean de la misma especie que el mamífero en el que se implantarán las cápsulas.

En el aspecto más extenso esto incluye cualquier cultivo celular o línea celular humanos, ya sean policlonales o monoclonales. Las líneas celulares monoclonales son más preferibles, ya que pueden caracterizarse mejor.

Las líneas celulares humanas pueden haber sido inmortalizadas mediante la inserción de un gen de inmortalización heterólogo, pueden ser inmortales espontáneamente o pueden ser células primarias o células madre expandidas por factores de crecimiento.

- Preferentemente, la línea celular es una línea celular con contacto inhibido o una línea celular, que puede diferenciarse dentro de la cápsula, por ejemplo una célula madre. Por línea celular de contacto inhibido se entiende una línea celular que cuando se cultiva en cultivos 2-D crece hasta confluencia y después sustancialmente deja de dividirse. Esto no excluye la posibilidad de que un número limitado de células escapen de la capa 2D. Las células de contacto inhibido también pueden cultivarse en 3D, por ejemplo dentro de una cápsula. También dentro de las cápsulas, las células crecen hasta confluencia y después ralentizan significativamente la tasa de proliferación o dejan completamente de dividirse.
- 5
- 10 Un tipo de células preferido especialmente incluye células epiteliales que por su naturaleza son de contacto inhibido y que forman monocapas estables en cultivo. Se prefieren más todavía las células epiteliales de pigmento de la retina (células RPE). La fuente de células RPE es el aislamiento primario a partir de la retina de mamíferos. Los protocolos para la recogida de las células RPE están bien definidos (Li y Turner, 1988, Exp. Eye Res. 47:911-917; Lopez y col., 1989, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 30:586-588) y se consideran una metodología de rutina. En la
- 15 mayoría de los informes publicados de cotrasplante de células RPE, las células se obtienen de la rata (Li y Turner, 1988; Lopez y col., 1989). De acuerdo con la presente invención las células RPE se obtienen de seres humanos. Además de células RPE primarias aisladas, en la práctica de la invención pueden usarse líneas celulares RPE humanas cultivadas.
- 20 Todas las células de vertebrados diploides normales tienen una capacidad limitada de proliferación, un fenómeno que se ha dado en conocer como límite de Hayflick o senescencia replicadora. En fibroblastos humanos, este límite tiene lugar después de 50-80 duplicaciones de población, después de que las células permanezcan en un estado viable pero senescente sin división durante muchos meses. Esto contrasta con el comportamiento de la mayoría de las células cancerosas, que han escapado de los controles que limitan su capacidad proliferativa y son en la práctica
- 25 inmortales.
- Es preferible que las células tengan capacidad de experimentar un cierto número de divisiones celulares para que puedan ser modificadas y ampliadas genéticamente para producir células suficientes para la terapia celular encapsulada o la terapia de trasplante. En consecuencia una línea celular preferida puede experimentar al menos 50
- 30 duplicaciones, más preferentemente al menos 60 duplicaciones, más preferentemente al menos 70 duplicaciones, más preferentemente al menos 80 duplicaciones, más preferentemente al menos 90 duplicaciones, tal como aproximadamente 100 duplicaciones.
- Para la encapsulación, las células son capaces preferentemente de sobrevivir y mantener una secreción de una
- 35 molécula terapéutica en niveles de tensión de oxígeno baja del cuerpo humano, por ejemplo en el SNC. Preferentemente la línea celular de la invención puede sobrevivir en una tensión de oxígeno por debajo del 5%, más preferentemente por debajo del 2%, más preferentemente por debajo del 1%. La tensión de oxígeno del 1% corresponde al nivel de oxígeno del encéfalo.
- 40 Una línea celular para el biosuministro de células encapsuladas debe tener el máximo número posible de las siguientes características: (1) Las células deben ser resistentes en condiciones astringentes (las células encapsuladas deben ser funcionales en las cavidades de tejido vascular y avascular tales como el sistema nervioso central intraparenquimatosamente o en los espacios de líquido ventricular o intratecal o en el ojo, especialmente en el entorno intraocular). (2) Las células deben poder ser modificadas genéticamente para expresar una molécula
- 45 terapéutica. (3) Las células deben poder experimentar un número relativamente alto de divisiones y tener una vida relativamente larga (las células deben producir suficientes progenies para poder ser catalogadas, caracterizadas, diseñadas, sometidas a pruebas de seguridad y fabricadas en lotes clínicos). (4) Las células deben ser de origen humano (que aumenta compatibilidad entre las células encapsuladas y el huésped). (5) Las células deben mostrar una viabilidad de más del 80% durante un periodo de más de un mes in vivo en el dispositivo (lo que asegura un
- 50 suministro a largo plazo). (6) Las células encapsuladas deben suministrar una cantidad eficaz de una molécula terapéutica (lo que asegura la efectividad del tratamiento). (7) Cuando están encapsuladas, las células no deben causar una reacción inmunitaria importante en el huésped (lo que asegura la longevidad del injerto). (8) Las células deben ser no tumorígenas (para proporcionar al huésped una seguridad añadida, en caso de fuga del dispositivo).
- 55 En un cribado y caracterización de varias líneas celulares se ha encontrado que la línea celular ARPE-19 (Dunn y col., 62 Exp. Eye Res. 155-69 (1996), Dunn y col., 39 Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2744-9 (1998), Finnemann y col., 94 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 12932-7 (1997), Handa y col., 66 Exp. Eye. 411-9 (1998), Holtkamp y col., 112 Clin. Exp. Immunol. 34-43 (1998), Maidji y col., 70 J. Virol. 8402-10 (1996)) tiene todas las características de una célula de
- 60 plataforma exitosa para un sistema de suministro basado en células encapsuladas (documento US-6.361.771, Tao y col.). La línea celular ARPE-19 fue superior a las demás líneas celulares sometidas a ensayo.

La línea celular ARPE-19 está disponible en la American Type Culture Collection (número ATCC CRL-2302). La línea celular ARPE-19 se obtiene de cultivos de células epiteliales de pigmento de la retina (RPE) normales y expresa los marcadores específicos de células epiteliales de pigmento de la retina CRALBP y RPE-65. Las células ARPE-19 forman monocapas estables, que muestran polaridad morfológica y funcional. Las células ARPE-19 pueden cultivarse en Medio de cultivo completo, el medio que contiene suero recomendado por el depositante de las células. El Medio de cultivo completo es una mezcla 1:1 de medio de Eagle modificado de Dulbecco y medio F12 de Ham con L-glutamina 3 mM, 90%; suero bovino fetal, 10% o bien una mezcla 1:1 de medio de Eagle modificado de Dulbecco y medio F12 de Ham con tampón HEPES que contiene suero bovino fetal al 10%, bicarbonato de sodio de concentración final 56 mM y L-glutamina 2 mM. Las células se incuban preferentemente a 37°C en CO₂ al 5%. Normalmente las células se siembran en placa y se cultivan en cultivo tisular Falcon tratado en placas de 6 ó 12 pocillos o matraces T25 o T75. Para subcultivo, se retira el medio, y las células ARPE-19 preferentemente se lavan con tripsina al 0,05%, solución EDTA al 0,02%, y se retira la tripsina. Se añaden 1-2 ml de solución de tripsina adicional. El cultivo se incuba a temperatura ambiente (o a 37°C) hasta que las células ARPE-19 se desprenden. Se recomienda una proporción de subcultivo de 1:3 a 1:5.

En otra realización la línea celular se selecciona de entre el grupo que consiste en: líneas celulares de fibroblastos inmortalizadas humanas, líneas de células madre mesenquimatosas inmortalizadas humanas, líneas celulares de astrocitos inmortalizadas humanas, líneas celulares mesencefálicas inmortalizadas humanas y líneas celulares endoteliales inmortalizadas humanas, preferentemente inmortalizadas con SV40T, vmyc, o la subunidad catalítica de telomerasa (TERT).

Otro tipo de células humanas preferidas de acuerdo con la invención son líneas celulares de astrocitos humanas inmortalizadas. El procedimiento para generar unas líneas celulares de astrocitos humanas inmortalizadas se ha descrito previamente (Price TN, Burke JF, Mayne LV. A novel human astrocyte cell line (A735) with astrocyte-specific neurotransmitter function. In vitro Cell Dev Biol Anim. 1999(5): 279-88). Este protocolo puede usarse para generar líneas celulares de astrocitos.

También se han expuesto los procedimientos para controlar la distribución de células en un dispositivo de encapsulación. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 5.795.790, incorporada en la presente memoria como referencia. Las células se exponen a un tratamiento que inhibe la proliferación celular, promueve la diferenciación celular o influye en la fijación celular para una superficie de crecimiento dentro del órgano bioartificial. Dichos tratamientos incluyen las etapas de (1) manipulación genética de las células, (2) exposición de las células a un compuesto inhibidor de la proliferación o un compuesto inductor de la diferenciación o la eliminación de las células de la exposición a un compuesto estimulador de la proliferación o un compuesto inhibidor de la diferenciación; exposición de las células a irradiación, y (3) modificación de una superficie de crecimiento del dispositivo de encapsulación con moléculas de matriz extracelular, moléculas que afectan a la proliferación o adhesión celular, o un andamiaje inerte, o una combinación de los mismos. Estos tratamientos pueden usarse de forma combinada. En un tratamiento preferido, las células se exponen a y después se retiran de la exposición a un compuesto estimulador de la proliferación e inhibidor de la diferenciación antes de la encapsulación de las células en la membrana biocompatible semipermeable. Tras la implantación in vivo del dispositivo de encapsulación en un huésped, se inhibe la proliferación celular y se promueve la diferenciación celular.

Ingeniería genética de células para encapsulación

Las células pueden ser diseñadas genéticamente para expresar en exceso una molécula terapéutica. Los términos "modificación genética" e "ingeniería genética" se refieren a la alteración estable o transitoria del genotipo de una célula por la introducción intencionada de ADN exógeno. El ADN puede ser sintético, o de origen natural, y puede contener genes, partes de genes u otras secuencias útiles de ADN. El término "modificación genética" no pretende incluir alteraciones de origen natural como las que se producen a través de una actividad vírica natural, recombinación genética natural o similares.

Cualquier modificación genética útil de las células está dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, las células pueden modificarse para producir o aumentar la producción de una sustancia biológicamente activa tal como un neurotransmisor o un factor de crecimiento o similares. La modificación genética puede realizarse por infección con vectores víricos (retrovirus, virus del herpes modificado, virus del herpes, adenovirus, virus adenoasociado y similares) o transfección usando procedimientos conocidos en la técnica (lipofección, transfección con fosfato de calcio, DEAE-dextrano, electroporación y similares) (véase, Maniatis y col., en Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y., 1982)). Por ejemplo, las construcciones génicas quiméricas pueden contener virus, por ejemplo repeticiones de terminales largos (LTR) de retrovirus, virus del simio 40 (SV40),

citomegalovirus (CMV); o promotores específicos de células de mamíferos. Asimismo, los vectores pueden incluir un marcador de selección de fármacos, tal como el gen aminoglucósido fosfotransferasa de *E. coli*, que cuando establece coinfección con el gen de prueba, confiere resistencia a la geneticina (G418), un inhibidor de la síntesis de proteínas.

5

Las células pueden modificarse genéticamente usando transfección con vectores de expresión. Un "vector de expresión" es un ácido nucleico integrado en el genoma o presente en el citoplasma, y capaz de permitir la expresión del polipéptido, proteína o vector vírico. En un protocolo, el ADN de vector que contiene los genes se diluye en 0,1xTE (Tris 1 mM pH 8,0, EDTA 0,1 mM) a una concentración de 40 µg/ml. Se añaden 22 µl del ADN a
 10 250 µl de 2xHBS (NaCl 280 mM, KCl 10 mM, Na₂HPO₄ 1,5 mM, dextrosa 12 mM, HEPES 50 mM) en un tubo de plástico estéril desechable de 5 ml. Se añaden 31 µl de CaCl₂ 2 M añade lentamente y se incuba la mezcla durante 30 minutos (min) a temperatura ambiente. Durante esta incubación de 30 min, se centrifugan las células a 800 g durante 5 min a 4°C. Se vuelven a suspender las células en 20 volúmenes de PBS enfriado en hielo y se dividen en partes alícuotas de 1x10⁷ células, que se centrifugan de nuevo. Cada parte alícuota de células se vuelve a suspender
 15 en 1 ml de la suspensión de ADN-CaCl₂, y se incuba durante 20 min a temperatura ambiente. A continuación se diluyen las células en medio de crecimiento y se incuban durante 6-24 h a 37°C en CO₂ al 5%-7%. Se centrifugan de nuevo las células, se lavan en PBS y se devuelven a 10 ml de medio de crecimiento durante 48 h.

Los vehículos adecuados para administración de ADN directo, polinucleótidos de plásmidos o vectores
 20 recombinantes incluyen, sin limitación, solución salina, o sacarosa, protamina, polibreno, polilisina, policaciones, proteínas, fosfato de calcio o espermidina. Véase por ejemplo el documento WO-94/01.139.

Las células también pueden modificarse genéticamente usando técnicas de transfección con fosfato de calcio. Para transfección con fosfato de calcio estándar, se disocian mecánicamente las células en una suspensión celular
 25 individual y se siembran en placa en placas tratadas con cultivo tisular a confluencia del 50% (50.000-75.000 células/cm²) y se deja fijar durante toda la noche. En un protocolo, el procedimiento modificado de transfección con fosfato de calcio se realiza del modo siguiente: ADN (15-25 µg) en tampón TE estéril (Tris 10 mM, EDTA 0,25 mM, pH 7,5) diluido a 440 µl con TE, y se añaden 60 µl de CaCl₂ 2 M (pH a 5,8 con tampón HEPES 1 M) al ADN/tampón TE. A esta mezcla se le añade gota a gota un total de 500 µl de 2xHeBS (solución salina con tampón HEPES; NaCl
 30 275 mM, KCl 10 mM, Na₂HPO₄ 1,4 mM, dextrosa, polvo de tampón HEPES 40 mM, pH 6,92). Se deja que la mezcla permanezca a temperatura ambiente durante 20 min. Se lavan las células brevemente con 1xHeBS y se añade 1 ml de la solución de ADN precipitada con fosfato de calcio a cada placa, y se incuban las células a 37°C durante 20 min. Después de esta incubación, se añaden 10 ml de "Medio completo" a las células, y se colocan las placas en una incubadora (37°C, 9,5% CO₂) durante 3-6 horas más. Se retiran el ADN y el medio por aspiración al final del
 35 periodo de incubación. Se lavan las células, se añade medio nuevo y a continuación se devuelven las células a la incubadora.

Alternativamente, la técnica de coprecipitación con fosfato de calcio puede usarse, tal como se describe en el
 documento WO-93/06.222.

40

Por otra parte, las células pueden diseñarse genéticamente para producir un factor secretado deseado. El factor secretado deseado puede ser codificado por un polinucleótido sintético o recombinante. El término "recombinante" se refiere a la tecnología de biología molecular para combinar polinucleótidos y producir productos biológicos útiles, y a los polinucleótidos y péptidos producidos mediante esta tecnología. El polinucleótido puede ser una construcción
 45 recombinante (tal como un vector o un plásmido) que contiene el polinucleótido que codifica el factor secretado deseado bajo el control operativo de polinucleótidos que codifican elementos reguladores tales como promotores, señales de terminación y similares. "Unido operativamente" se refiere a una yuxtaposición donde los componentes así descritos están en una relación que les permite funcionar de la manera pretendida. Una secuencia de control unida operativamente a una secuencia codificante está ligada de manera que la expresión de la secuencia
 50 codificante se consigue en condiciones compatibles con las secuencias de control. "Secuencia de control" se refiere a secuencias de polinucleótidos que son necesarias para realizar la expresión de secuencias codificantes y no codificantes a las que están ligados. Las secuencias de control incluyen generalmente un promotor, un sitio de unión ribosómico y secuencia de terminación de transcripción. Asimismo, "secuencias de control" se refiere a secuencias que controlan el procesamiento del péptido codificado en la secuencia codificante; estas pueden incluir, pero no se
 55 limitan a secuencias que controlan la secreción, la escisión de proteasa y la glucosilación del péptido. El término "secuencias de control" pretende incluir, como mínimo, componentes cuya presencia puede influir en la expresión, y pueden incluir también componentes adicionales cuya presencia es ventajosa, por ejemplo, secuencias delanteras y secuencias de compañeros de fusión. Una "secuencia codificante" es una secuencia de polinucleótidos que se transcribe y se traduce en un polipéptido. Dos polinucleótidos codificantes están "unidos operativamente" si la unión
 60 produce una secuencia traducible continuamente sin alteración o interrupción del marco de lectura triple. Un

polinucleótido está unido operativamente a un elemento de expresión génica si la unión produce la función adecuada de ese elemento de expresión génica para dar lugar a la expresión del factor secretado deseado. "Transformación" es la inserción de un polinucleótido exógeno (es decir, un "transgén") en una célula huésped. El polinucleótido exógeno está integrado en el genoma del huésped. Un polinucleótido es "capaz de expresar" un factor secretado deseado si contiene secuencias de nucleótidos que contienen información reguladora de transcripción y traducción y dichas secuencias están "unidas operativamente" a polinucleótidos que codifican el factor secretado deseado. Un polinucleótido que codifica una región codificante de péptidos puede amplificarse a continuación, por ejemplo, por preparación en un vector bacteriano, de acuerdo con procedimientos convencionales, por ejemplo, descritos en el trabajo estándar Sambrook y col., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Press 1989). Los vehículos de expresión incluyen plásmidos u otros vectores.

Los polinucleótidos que codifican el factor secretado deseado pueden prepararse mediante procedimientos de síntesis química o por técnicas recombinantes. Los polipéptidos pueden prepararse convencionalmente mediante técnicas de síntesis química, tales como las descritas por Merrifield, 85 *J. Amer. Chem. Soc.* 2149-2154 (1963) (véase, Stemmer y col., 164 *Gene* 49 (1995)). Los genes sintéticos, cuya transcripción y traducción in vitro o in vivo llevará a la producción de la proteína del factor secretado deseado pueden construirse mediante técnicas bien conocidas en la técnica (véase Brown y col., 68 *Methods in Enzymology* 109-151 (1979)). El polinucleótido codificante puede generarse usando un aparato de síntesis de ADN convencional tal como los aparatos de síntesis Applied Biosystems Model 380A o 380B DNA (disponibles comercialmente en Applied Biosystems, Inc., 850 Lincoln Center Drive, Foster City, Calif., EE.UU.).

Los elementos de expresión génica de polinucleótidos útiles para la expresión de ADNc que codifica factor secretado deseado incluyen, pero no se limitan a (a) promotores de transcripción vírica y sus elementos potenciadores, tales como el promotor temprano SV40, LTR de virus del sarcoma de Rous y LTR del virus de la leucemia murina de Moloney LTR; (b) regiones de splicing y sitios de poliadenilación tales como los derivados de la región tardía SV40; y (c) sitios de poliadenilación tales como en SV40. A continuación se someten a transfección las células receptoras capaces de expresar el factor secretado deseado. Las células receptoras sometidas a transfección son cultivadas en condiciones que permiten la expresión del factor secretado deseado, que se recupera del cultivo. Las células pueden usarse en relación con vectores de poxvirus, tales como vaccinia o viruela porcina. Los virus no patógenos adecuados que pueden diseñarse para que transporten el gen sintético en las células del huésped incluyen poxvirus, tales como vaccinia, adenovirus, retrovirus y similares. Una serie de dichos virus no patógenos se usan comúnmente para terapia génica humana, y como vehículo para otros agentes de vacunas, y son conocidos y pueden ser seleccionados por un experto en la materia. La selección de otras células del huésped y procedimientos adecuados para transformación, cultivo, amplificación, cribado y producción y purificación de productos puede ser realizada por un experto en la materia por referencia a técnicas conocidas (véase, por ejemplo, Gething & Sambrook, 293 *Nature* 620-625 (1981)). Otro sistema preferido incluye el sistema de expresión y los vectores de baculovirus.

El polinucleótido que codifica el factor secretado deseado puede usarse de diversas formas. Por ejemplo, un polinucleótido puede expresar el péptido del factor secretado deseado in vitro en un cultivo de células huésped. El factor secretado deseado expresado, después de una purificación adecuada, puede incorporarse a continuación en un reactivo farmacéutico o vacuna (descrito más adelante).

El término "agente biológico" se refiere a cualquier agente, tal como un virus, proteína, péptido, aminoácido, lípido, hidrato de carbono, ácido nucleico, nucleótido, fármaco, profármaco u otra sustancia que puede tener un efecto en las células nerviosas si dicho efecto es perjudicial, beneficioso u otro. Los agentes biológicos que son beneficiosos para las células nerviosas son "agentes neurológicos", un término que comprende cualquier sustancia biológica o farmacéuticamente activa que puede demostrar ser potencialmente útil para la proliferación, diferenciación o funcionamiento de las células del SNC o el ojo o para el tratamiento de una enfermedad o trastorno neurológico u oftalmológico. Por ejemplo, el término puede comprender ciertos neurotransmisores, receptores de neurotransmisores, factores de crecimiento, receptores de factores de crecimiento y similares, así como enzimas usadas en la síntesis de estos agentes.

Cuando la modificación genética es para la producción de un agente biológico, la sustancia puede ser aquella que sea útil para el tratamiento de un trastorno dado tal como un trastorno del SNC. Las células pueden modificarse para expresar un agente biológicamente activo, tales como factores de crecimiento, receptores de factores de crecimiento, neurotransmisores, genes de síntesis de neurotransmisores, neuropéptidos y transportador de aminas de gránulos cromafines. Por ejemplo, puede desearse modificar genéticamente células de manera que secreten un factor de crecimiento inductor de proliferación o un factor de crecimiento inductor de diferenciación.

El agente biológico puede ser factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF), factor de crecimiento de

fibroblastos ácido, factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento transformante α , factor de crecimiento transformante β , factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento de tipo insulina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor neurotrófico derivado de la línea celular glial, neurturina, persefina, Neublastina (Artemina), factor neurotrófico derivado del encéfalo, factor neurotrófico ciliar, forbol 12-miristato 13-acetato, trifotina, activina, hormona liberadora de la tiotropina, interleucinas, proteína morfogénica ósea, proteínas inflamatorias de macrófagos, sulfato de heparina, anfirregulina, ácido retinoico, factor de necrosis tumoral α , receptor de factor de crecimiento de fibroblastos, receptor de factor de crecimiento epidérmico u otros agentes que se espera que tengan efectos terapéuticamente útiles en tejidos diana potenciales. Los ejemplos de agentes biológicos incluyen factores tróficos tales como factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF); reguladores de vías intracelulares asociados con la actividad del factor de crecimiento tales como estaurosporina, CGP-4 1251, y similares; hormonas; diversas proteínas y polipéptidos tales como interleucinas; moléculas de tipo heparina; y una diversidad de otras moléculas que tienen un efecto en las células gliales radiales o células madres neural del SNC.

Las células de mamífero que secretan IL-2 pueden crearse por transfección con el vector de plásmido pBCMG-higro-hIL-2 (Roux y col., 159 J. Cell. Physiol. 101-113 (1994)), un vector de expresión episómico que contiene la secuencia de ADNc IL-2 humana bajo el control transcripcional de un promotor de citomegalovirus (CMV) que incluye un intrón de β -globina de conejo, seguido por una secuencia poli(A) y un gen resistente a la higromicina para la selección. Para introducir un vector de expresión que codifica la proteína hIL-2 en la línea celular de mamífero puede usarse la técnica de precipitación con fosfato de calcio. El plásmido pPCHIL (pBCMG-hIL-2) contiene la secuencia de ADNc hIL-2 seguida por el gen de resistencia a la higromicina B para selección. Las células que tienen ADN extraño integrado de forma estable en su genoma se seleccionan en presencia de higromicina B en el medio.

Pueden crearse células de mamífero que secretan IL-10. La interleucina-10 (IL-10), producida por la Th, subconjunto de células CD₄, suprime la producción de citocinas por la Th₁, subconjunto de linfocitos T auxiliares CD₄⁺. IL-10 inhibe también la producción de numerosas citocinas proinflamatorias por monocitos. La expresión de IL-10 se ha detectado en gliomas malignos humanos y en niveles superiores en tumores malignos frente a los de grado bajo. Esto ha conducido a la hipótesis de que la IL-10 endógena funciona para suprimir la inmunidad anti-glioma en el encéfalo. A pesar de las acciones potencialmente inmunodepresoras y antiinflamatorias de la IL-10 endógena, existen cada vez más evidencias de que la IL-10 transgénica producida en altos niveles por células tumorales diseñadas puede inhibir el crecimiento de tumores sistémicos por la estimulación de la inmunidad antitumoral o la inhibición de la angiogenia asociada a tumores. La IL-10 que produce células de mamífero puede crearse por transfección con el plásmido pBMGneo. IL-10 en presencia de lipofectamina (GIBCO) usando un procedimiento similar al de Kundu y col., 88 J. Natl. Cancer Inst. 536-41 (1996)).

Pueden crearse células de mamífero que secretan FGF. El factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) es un mitógeno de células endoteliales que puede ser neuroprotector para otros tipos celulares en el sistema nervioso central. La línea celular de mamíferos puede alterarse genéticamente para expresar un gen FGF-1 humano quimérico que consiste en la secuencia de señal hst/KS3 de FGF-4 fusionada en marco con FGF-1 (sp-hst/KS3:FGF-1) (Forough y col., 268 J. Biol. Chem. 2960-8 (1993)).

Las células de mamífero pueden diseñarse para producir diversos neurotransmisores o sus receptores tales como serotonina, L-dopa, dopamina, norepinefrina, epinefrina, taquicinina, sustancia P, endorfina, encefalina, histamina, N-metil D-aspartato, glicina, glutamato, GABA, ACh, y similares. Los genes de síntesis de neurotransmisores útiles incluyen TH, DDC, DBH, PNMT, GAD, triptófano hidroxilasa, ChAT e histidina descarboxilasa. Los genes que codifican diversos neuropéptidos, que pueden mostrarse útiles en el tratamiento de trastornos del SNC, incluyen sustancia-P, neuropéptido-Y, encefalina, vasopresina, VIP, glucagón, bombesina, CCK, somatostatina, péptido relacionado con el gen de la calcitonina, y similares.

Alternativamente, pueden construirse células de mamífero para producir vectores de transferencia de genes de retrovirus usando los procedimientos de la patente de EE.UU. n.º 5.614.404, que describe vectores víricos recombinantes que coexpresan polipéptidos heterólogos capaces de ensamblarse en partículas virales no de autopropagación defectivas. Los virus útiles como vectores de transferencia génica incluyen retrovirus, que son los vectores usados más comúnmente en ensayos clínicos humanos. Para generar un vector de terapia génica, el gen de interés se clona en un plásmido retroviral de replicación defectuosa que contiene dos repeticiones terminales largas (LTR), un sitio de unión a cebador, una señal de empaquetado y un tracto de polipurina esencial para transcripción inversa y las funciones de integración de retrovirus después de la infección. Para producir vector vírico, se somete a transfección la forma de plásmido de un vector en una línea celular empaquetada que produce Gag, Pol y Env de las proteínas estructurales retrovirales requeridas para el ensamblaje de partículas. Una línea celular de productor se genera normalmente usando un marcador selectivo, a menudo un gen resistente G418 transportado por el vector retroviral. La línea celular resultante puede encapsularse, tal como se describe en el documento WO-97/44.065, que describe cápsulas biocompatibles que contienen células empaquetadas vivas que secretan un vector

vírico para la infección de una célula diana, y procedimientos de suministro para una infectividad ventajosa de las células diana.

Los efectos de los agentes biológicos en células del SNC o el ojo en el huésped receptor pueden identificarse in vitro basándose en las diferencias significativas entre los cultivos celulares modelo para células del sistema nervioso central (tales como células PC12 de feocromocitoma de rata, neuronas nerviosas centrales primarias cultivadas, etc.); o células del ojo (tales como la línea celular IO/LD7/4, células ARPE-19, células epiteliales cultivadas de pigmento de la retina, etc.) con respecto a cultivos de control de acuerdo con criterios tales como las proporciones de fenotipos expresados (neuronas, células gliales o neurotransmisores u otros marcadores), viabilidad celular y alteraciones en la expresión génica. Las características físicas de las células pueden analizarse observando al microscopio la morfología y el crecimiento de las células y las neuritas. La inducción de la expresión de niveles nuevos o incrementados de proteínas tales como enzimas, receptores y otras moléculas de la superficie celular, o de neurotransmisores, aminoácidos, neuropéptidos y aminos biogénicas puede analizarse con cualquier técnica conocida en la técnica que pueda identificar la alteración del nivel de dichas moléculas. Estas técnicas incluyen inmunohistoquímica que usa anticuerpos frente a dichas moléculas, o análisis bioquímico. Dicho análisis bioquímico incluye ensayos de proteínas, ensayos enzimáticos, ensayos de unión a receptores, ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA), análisis electroforético, análisis con cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), Western blots y ensayos radioinmunitarios (RIA). El análisis de ácidos nucleicos tal como Northern blots y PCR puede usarse para examinar los niveles de ARNm que codifican estas moléculas, o para enzimas que sintetizan estas moléculas. Además, la detección celular de transcripciones del factor secretado deseado in vivo puede mostrarse por inmunohistoquímica o por otros procedimientos inmunológicos.

Utilidad terapéutica de suministro de células encapsuladas de polímeros de factores de crecimiento

El sistema nervioso central es un lugar que está sujeto a degeneración crónica. Se sabe que los factores de crecimiento tienen un enorme potencial terapéutico para tratar un trastorno neurodegenerativo. Por ejemplo, las células xenógenas encapsuladas en polímeros que han sido diseñadas genéticamente para secretar factores de crecimiento pueden proteger frente a pérdida celular inducida por lesión en el sistema nervioso central en ratas (Winn y col., 91 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2324-8 (1994)), primates (Emerich y col., 349 J. Comp. Neurol. 148-64 (1994)), y primates de edad avanzada (Kordower y col., 91 Proc. Natl. Acad. Sci. 124, 10898-902, 1994). Se han producido efectos terapéuticos con dispositivos celulares encapsulados con polímeros suministrando directamente diversos factores de crecimiento en una serie de sitios diana en el sistema nervioso central sin evidencia de efectos adversos (Emerich y col., 130 Exp. Neurol. 141-50 (1994), Emerich y col., 736 Brain Res. 99-110 (1996), Emerich y col., 349 J. Comp. Neurol. 148-64 (1994), Hoffman y col., 122 Exp. Neurol. 100-6 (1993), Kordower y col., 72 Neuroscience 63-77 (1996), Kordower y col., 91 Proc. Natl. Acad. Sci. 111, 10898-902, 1994; Wang y cols., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2324-8 (1994)). La seguridad del suministro de células encapsuladas con polímeros de factores de crecimiento está avalada por estudios que no encuentran efectos adversos en animales que reciben factores de crecimiento suministrados al encéfalo durante hasta un año (Lindner y col., 5 Cell Transplant. 205-23 (1996), Winn y col., 140 Exp. Neurol. 126-38 (1996)). Estos estudios no encontraron efectos adversos ni siquiera en pruebas de comportamientos aprendidos, que son extremadamente sensibles a la neurotoxicidad.

En una realización específica los materiales y dimensiones pueden seleccionarse del modo siguiente:

Ejemplo 1: Fabricación de cápsula y carga de células

45

Cápsulas

Los dispositivos se fabrican a partir de polisulfona (PS), o poliéter sulfona (PES) o una membrana de fibra hueca de polímero equivalente con un diámetro exterior de 800-1000 μm y un grosor de pared de aproximadamente 100 μm . Un material de andamiaje poroso consistente en polialcohol vinílico (PVA) insertado en la cavidad de fibra de membrana asegura la distribución apropiada de las células y la fijación de la línea celular. Finalmente, un anclaje fabricado a partir de poliuretano (PU) o un material equivalente fijado al extremo del dispositivo proporciona un medio para la recuperación de la cápsula después de la implantación.

55 Las cápsulas usadas para pruebas preclínicas (en ratas) tienen aproximadamente 5 mm de longitud. Las cápsulas contempladas para la implantación en encéfalos humanos tienen 5-100 mm de longitud.

La carga celular tiene lugar a través de un segmento conector y un orificio unido al dispositivo de fibra hueca en el extremo distal al anclaje (Figura 8). Las células preparadas como suspensión de células únicas se infunden en el orificio, se recupera el segmento del conector y se cierra el orificio de infusión de forma estanca con cola. Para cada

mm de longitud de los dispositivos, se cargan aproximadamente 10.000 células (células ARPE-19). La línea celular ARPE-19 está disponible en la American Type Culture Collection (número de ATCC CRL-2302). Los dispositivos se mantienen en medios hasta su uso.

5 Las cápsulas para implantación en encéfalos de rata se prepararon con los materiales siguientes:

Membrana: Membrana de fibra hueca de polisulfona (PS90/700 de Minntech Corp, Minneapolis, Minnesota, EE.UU.), con un corte de peso molecular de 90 kDA. Dimensiones: 700 μm +/- 50 μm diámetro interior, 100 μm +/- 20 μm pared. La fibra hueca se cortó a longitudes de aproximadamente 5 mm.

10 Espuma: Espuma de PVA, producto n.º 160 LD de Hydrofera Inc, Cleveland, Ohio, EE.UU. La espuma de PVA se cortó para ajustarse al diámetro interior de la fibra hueca.

Tubo de carga: Copolímero de perfluoroalcoxi, ,0037" +/- ,0005" ID; ,005" +/- ,001" pared. De Zeus Industrial Products, Orangeburg, South Carolina, EE.UU. El tubo de carga se encola a la fibra hueca en un extremo y al conector en el otro extremo.

Conector: Producto n.º P/N 02030200 Rev 1, de Abtec, Bristol, PA, EE.UU.

15 Cola para encolar el tubo de carga al conector: Dymax 201-CTH de Diatom, Hvidovre, Dinamarca

Cola para fibra hueca: Dymax 1181-M de Diatom, Hvidovre, Dinamarca.

Las cápsulas se ensamblaron en un entorno controlado.

20 Ejemplo 2: Fabricación de anclaje, refuerzo y mango.

Anclaje:

Material Poliuretano (p. ej. Carbotano de Noveon), u otro tubo de polímero flexible.

Longitud 150 +/- 5 mm

Diámetro exterior: 1 +/- 0,125 mm

Diámetro interior: 0,25 +/- 0,05 mm

Diámetro reducido: 0,50 +/- 0,05 mm

Longitud de diámetro reducido: 1,5 +/- 0,1 mm

Refuerzo:

Material Serie 042" x ,032" 316 Acero inoxidable soldado y estirado

Serie ,032" x ,020" 316 Acero inoxidable soldado y estirado

Serie ,020" x ,010" 316 Acero inoxidable soldado y estirado

Serie ,009" 316 Alambre de acero inoxidable

...u otro material sólido adecuado para mecanización de pequeñas dimensiones (p. ej., carbono).

Longitud Corte de alambre de acero para interrupción de inmediato antes de anclaje/unión a membrana.

Fabricante Tubo de acero inoxidable cortado según especificaciones por EDM o corte mediante láser y soldado conjuntamente por soldadura láser.

25

Mango independiente:

Material Serie ,042" x ,032" 316 Acero inoxidable soldado y estirado u otro material flexible duro (p. ej., carbono).

Fabricante Corte según especificaciones por láser o EDM.

Elemento de presión:

Material Silicona u otro polímero biocompatible flexible con alto rozamiento de deslizamiento en ajuste por apriete.

Fabricante Los elementos de presión se vierten individualmente usando un molde diseñado a

medida.

Ejemplo 3: fabricación y envasado del sistema de terapia

- 5 1. El anclaje y la cápsula (con segmento de conector) se unen usando una cola curable por UV.
2. El refuerzo se inserta en una cavidad del anclaje.
3. El elemento de presión se monta en el anclaje.
4. El sistema se monta en una bandeja adecuada y se esteriliza mediante un haz electrónico o un gas o similar.
- 10 5. La cápsula se llena con células tal como se describe anteriormente y se cierra de forma estanca.
6. El extremo proximal del refuerzo se fija a un cierre estanco del cierre del recipiente por ajuste por apriete.
7. El recipiente se llena con un medio de crecimiento/almacenamiento de fluidos y se cierra de forma estanca uniéndolo al cierre.

Ejemplo 4: Implantación del dispositivo:

- 15 1. Preparatorio a la inserción del sistema de terapia en el paciente, el sistema de terapia se retira del recipiente retirando el cierre.
2. El sistema se retira del cierre y se fija al mango independiente.
- 20 3. La punta del dispositivo se inserta en la cánula de guiado sosteniendo el elemento de presión y el mango independiente.
4. El elemento de presión se retira y el sistema se inserta aún más en la cánula.
5. La punta del sistema se coloca en la punta de la cánula. El mango independiente facilita esta operación.
6. El sitio de inserción se expone quirúrgicamente, y una cánula y el sistema se insertan en el sitio de implantación o de tratamiento.
- 25 7. La cánula se retira mientras se mantiene la posición del sistema mediante el uso del mango independiente.
8. El refuerzo se retira.
9. El anclaje se corta según su longitud y se fija en el sitio de inserción, por ejemplo en el cráneo.

30 De acuerdo con la invención, el profesional médico puede realizar todas las etapas mencionadas anteriormente sin tocar la cápsula u otras partes del sistema que se insertarán en el sitio de tratamiento, y por tanto se reduce el riesgo de contaminar las partes insertadas del sistema de terapia.

REIVINDICACIONES

1. Un sistema de terapia implantable (1) para proporcionar un compuesto biológicamente activo a un sujeto, comprendiendo dicho sistema:
- 5 - una cápsula (2) que comprende una membrana exterior semipermeable biocompatible (3) que encapsula células que tienen capacidad de secretar un compuesto biológicamente activo, permitiendo la membrana el paso de dicho compuesto, y
- un anclaje alargado (4) que, en un extremo distal, está unido a la cápsula y que se extiende desde el extremo distal (5) en una dirección longitudinal hacia un extremo proximal opuesto axialmente (6), **caracterizado por que** el
- 10 sistema comprende además un refuerzo (7) que se extiende desde un extremo distal en una dirección longitudinal hacia un extremo proximal opuesto axialmente y unido al anclaje para hacer el anclaje más rígido, y donde el refuerzo se extiende además en la dirección longitudinal al anclaje y forma una parte de extremo proximal expuesta por la que puede manipularse el sistema.
- 15 2. Un sistema de acuerdo con la reivindicación 1, donde la cápsula es más estrecha que el anclaje en una dirección en sección transversal perpendicular a la dirección longitudinal
3. Un sistema de acuerdo con las reivindicaciones 1 ó 2, donde la cápsula y el anclaje están unidos coaxialmente.
- 20 4. Un sistema de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el refuerzo está situado al menos en parte en una cavidad del anclaje.
5. Un sistema de acuerdo con la reivindicación 4, donde el anclaje es tubular y donde el refuerzo se
- 25 extiende coaxialmente dentro del anclaje.
6. Un sistema de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 3, donde el anclaje está situado al menos en parte en una cavidad del refuerzo.
- 30 7. Un sistema de acuerdo con la reivindicación 6, donde el anclaje es tubular y donde el anclaje se extiende coaxialmente dentro del refuerzo.
8. Un sistema de acuerdo con las reivindicaciones 4 a 7, donde el extremo proximal del refuerzo tiene un tamaño y una forma en sección transversal que se corresponde con el tamaño y la forma en sección transversal del
- 35 extremo proximal del anclaje para establecer un ajuste por apriete entre ellos para fijar así de forma desprendible el refuerzo al anclaje.
9. Un sistema de acuerdo con la reivindicación 1, donde el extremo proximal del refuerzo es más ancho en la dirección en sección transversal que el extremo distal del refuerzo.
- 40 10. Un sistema de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el refuerzo se coextiende sustancialmente por la longitud total del anclaje, preferentemente donde existe un espacio libre entre el extremo distal del refuerzo y la cápsula.
- 45 11. Un sistema de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el refuerzo está unido de forma adhesiva al anclaje.
12. Un sistema de acuerdo con la reivindicación 11, donde una superficie exterior de al menos uno de entre el anclaje y el refuerzo comprende un medio de fijación para fijar un mango independiente al anclaje y/o al
- 50 refuerzo.
13. Un sistema de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además un elemento de presión de forma desprendible unido al anclaje y/o al refuerzo.
- 55 14. Un sistema de acuerdo con la reivindicación 13, donde el elemento de presión forma un paso con una forma y tamaño en sección transversal, pudiendo el elemento de presión cambiar entre un estado relajado donde una superficie interior del paso entra en contacto con una superficie exterior del anclaje y/o el refuerzo para fijar el elemento de presión al sistema de terapia y un estado comprimido donde el paso se desvía para liberar el sistema de terapia del elemento de presión.
- 60

15. Un sistema de acuerdo con las reivindicaciones 14, donde el elemento de presión está hecho de un material resiliente.
16. Un sistema de acuerdo con las reivindicaciones 14 y 15, donde el elemento de presión puede 5 cambiar entre el estado relajado y el comprimido mediante la aplicación de una presión de liberación a una superficie exterior del elemento de presión.
17. Un sistema de acuerdo con la reivindicación 16, donde el elemento de presión comprende además un primer y un segundo segmento de brazo que se extiende desde el paso en diferentes direcciones para facilitar la 10 aplicación de la presión de liberación.
18. Un sistema de acuerdo con las reivindicaciones 14 a 17, donde el paso define la forma de una incisión semicircular entre los segmentos de brazo primero y segundo.
- 15 19. Un sistema de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, contenido en un recipiente que evita la contaminación de la cápsula.
20. Un sistema de acuerdo con las reivindicaciones 14 y 19, donde el elemento de presión está 20 dimensionado con respecto al recipiente para impedir el contacto entre el sistema y las paredes internas del recipiente.
21. Un sistema de acuerdo con las reivindicaciones 19 y 20, donde el recipiente forma una abertura que se cierra mediante un cierre, donde el sistema de terapia se fija al cierre, preferentemente por medio del refuerzo.
- 25 22. Un sistema de acuerdo con la reivindicación 21, donde el cierre comprende un saliente hecho de un material resiliente y provisto de una cavidad dimensionada para ajustarse estrechamente alrededor de una parte de al menos uno de entre el refuerzo y el anclaje.
23. Un sistema de acuerdo con las reivindicaciones 21 y 22, donde una superficie exterior del cierre 30 comprende un medio de fijación para fijar un mango independiente al cierre.
24. Un sistema de acuerdo con las reivindicaciones 21 a 23, donde al menos uno de entre el anclaje y el refuerzo se extiende a través del cierre y forma una parte expuesta situada fuera del recipiente.
- 35 25. Un sistema de acuerdo con la reivindicación 24, donde la parte expuesta comprende un medio de fijación para fijar un mango independiente al anclaje y/o al refuerzo.
26. Un sistema de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además un mango independiente para fijación con un medio de fijación del anclaje, el refuerzo o el cierre.
- 40

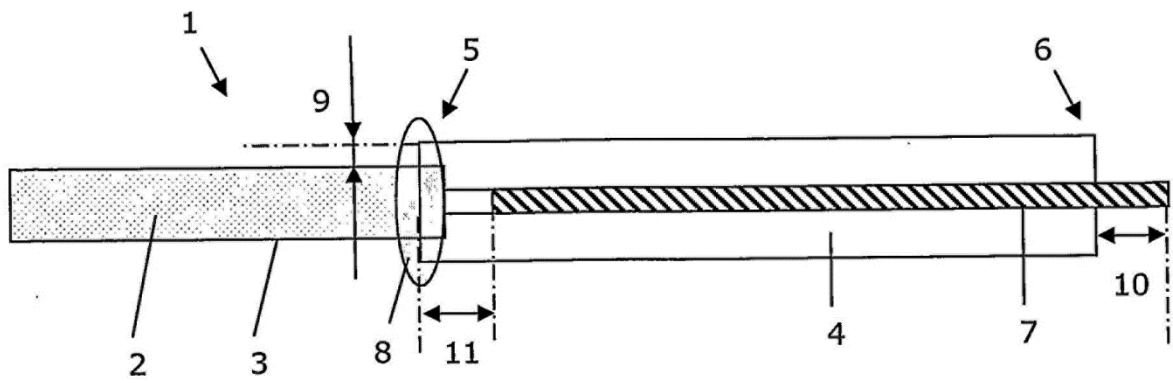


Fig. 1

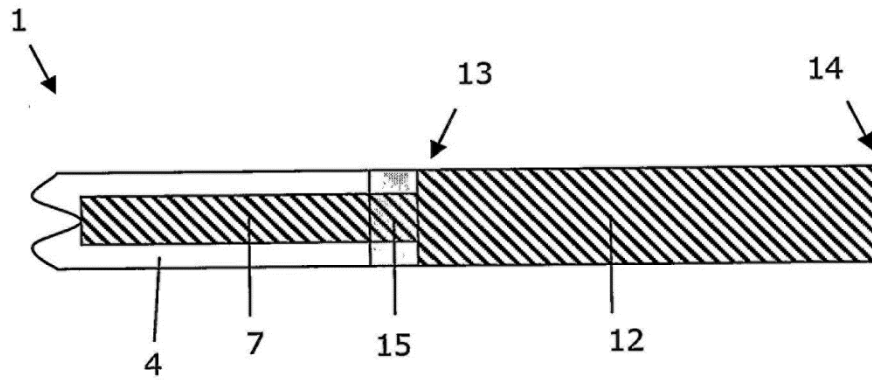


Fig. 2

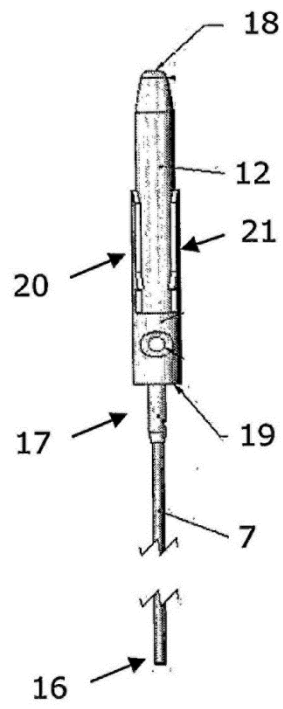


Fig. 3

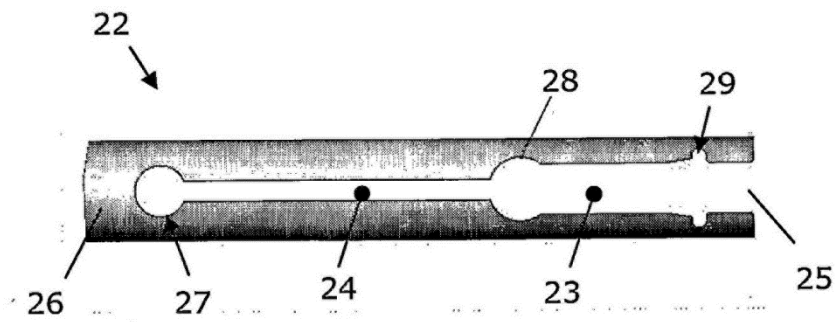


Fig. 4

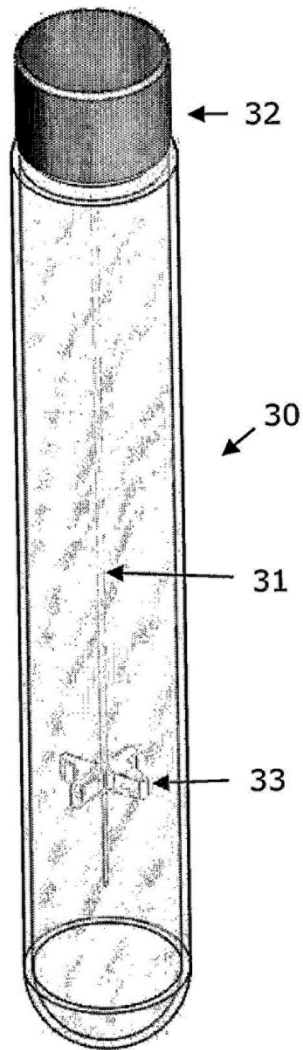


Fig. 5

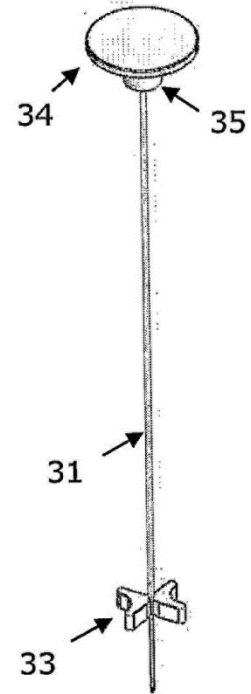


Fig. 6

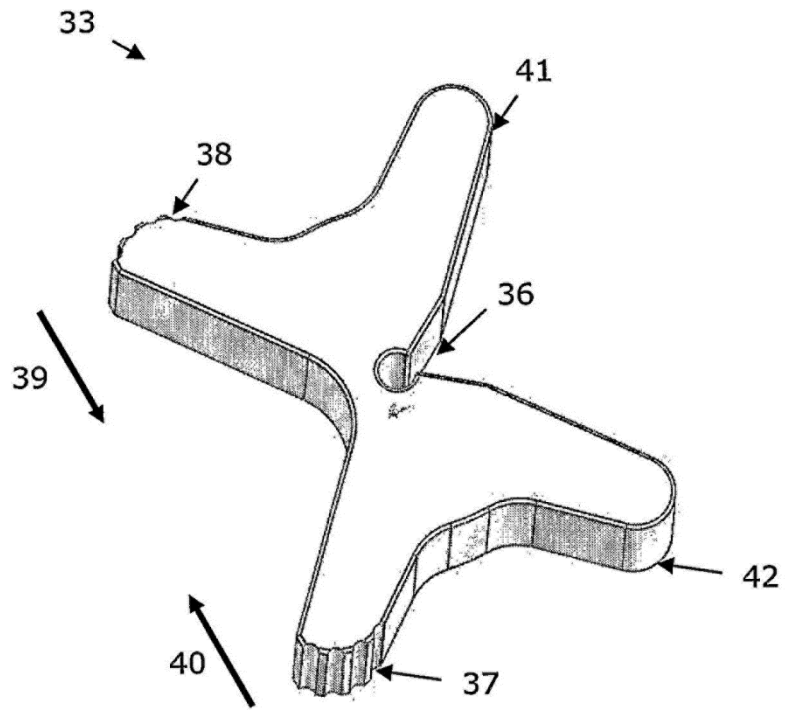


Fig. 7

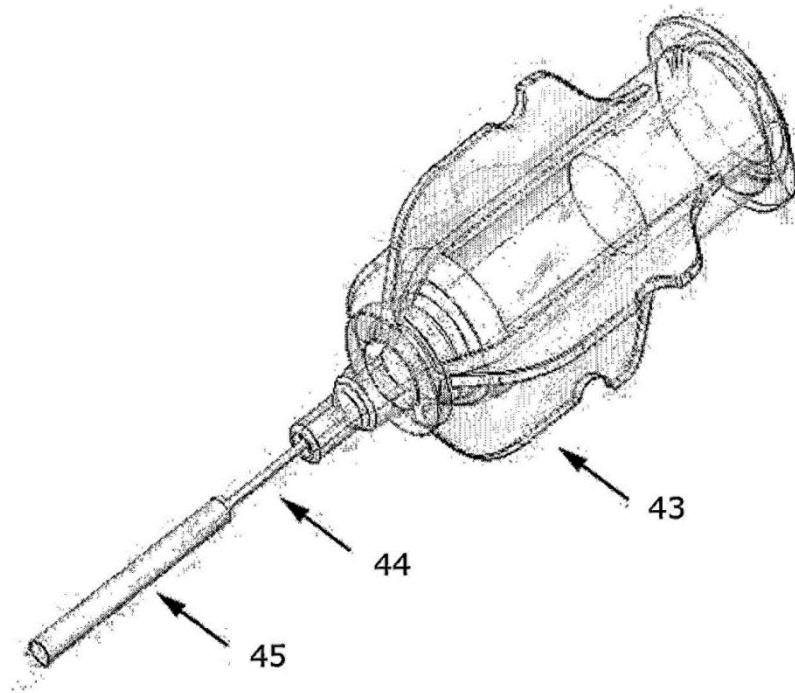


Fig. 8

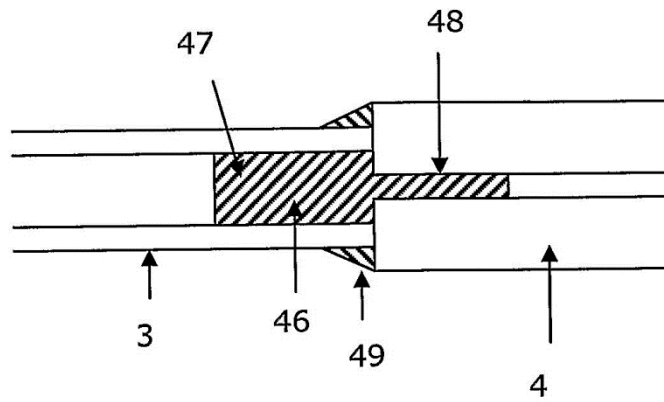


Fig. 9a

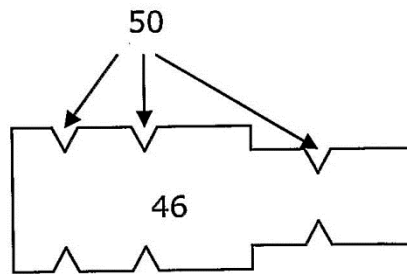


Fig. 9b