

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 681 602**

51 Int. Cl.:

A61F 2/02 (2006.01)

A61M 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.03.2014 PCT/US2014/022109**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.09.2014 WO14138691**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.03.2014 E 14717903 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.05.2018 EP 2964147**

54 Título: **Ensamblaje de dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad**

30 Prioridad:

07.03.2013 US 201361774443 P

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

14.09.2018

73 Titular/es:

**VIACYTE, INC. (100.0%)
3550 General Atomics Court
San Diego, CA 92121, US**

72 Inventor/es:

**SO, VINCENT;
MARTINSON, LAURA;
GREEN, CHAD y
SCOTT, MICHAEL**

74 Agente/Representante:

RIZZO, Sergio

ES 2 681 602 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

Ensamblaje de dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad

CAMPO DE LA INVENCION

5 **[0001]** El campo de la invención se refiere a dispositivos médicos y por extensión a terapias celulares que utilizan el dispositivo. En particular, los modos de realización descritos en el presente documento se refieren a la encapsulación de células de gran capacidad de células por un dispositivo implantable semipermeable. Se describen dispositivos implantables conocidos, por ejemplo, en el documento de patente US 2009/0105811, que describe una estructura tubular que define un vacío que puede mantener las células en su lugar con un material de superficie interna.

10 **RESUMEN DE LA INVENCION**

[0002] Los modos de realización descritos en el presente documento hacen referencia a un ensamblaje de encapsulación celular tridimensional, tal como se describe en las reivindicaciones adjuntas. El ensamblaje puede ser para implantar una población celular viva en un huésped mamífero.

15 **[0003]** El ensamblaje de la invención comprende al menos dos cámaras celulares y al menos dos configuraciones plegadas y desplegadas en las que la configuración plegada tiene una huella más pequeña que la configuración desplegada.

20 **[0004]** Huella, tal como se entiende en el presente documento, hace referencia a una proyección planar bidimensional del dispositivo sobre el lugar anatómico. El ensamblaje puede comprender además un primer sello en un borde perimetral del ensamblaje, formando de este modo el ensamblaje de encapsulación, y al menos un segundo sello, en el que el segundo sello está dentro de dicho ensamblaje de encapsulación celular y forma el perímetro interno de las cámaras celulares. El ensamblaje de encapsulación celular puede comprender un tercer o cuarto sello que divide de manera adicional cada una de las cámaras celulares, es decir, un sello de división.

25 **[0005]** El ensamblaje es tridimensional y puede tener la forma de cortinas romanas, forma de U, de vieira, de aleta, de tubo plano, de espiral, de abanico, de radiador, o cualquier otra forma tridimensional capaz de encapsular una dosis terapéutica efectiva de células mientras reduce la huella del ensamblaje.

[0006] El ensamblaje puede ser un ensamblaje tridimensional capaz de intercalarse en el cuerpo del huésped y mantiene su configuración, forma y ubicación.

30 **[0007]** Las cámaras celulares del ensamblaje de encapsulación celular pueden comprender una matriz luminal celular, en el que la matriz proporciona un intercambio de oxígeno y nutrientes mejorado para las células de la cámara, en particular, para las células del núcleo o centro de la cámara. La matriz luminal puede comprender una matriz elastomérica incluyendo, pero sin carácter limitativo, un elastómero de silicona, como una espuma o fibras de silicona. De forma alternativa, la matriz luminal puede ser cualquier agente bioestable que funcione como un conducto y proporcione y aumente el flujo de oxígeno y nutrientes para las células encapsuladas, fomentando la supervivencia de las células a corto y a largo plazo tras la implantación.

35 **[0008]** El ensamblaje puede comprender al menos dos cámaras celulares y al menos dos configuraciones plegadas y desplegadas donde la configuración plegada tiene una huella más pequeña pero la misma zona de superficie que la configuración desplegada.

40 **[0009]** El ensamblaje puede comprender al menos dos cámaras celulares en una configuración plegada que se aplana o despliega una vez implantada en el huésped mamífero. El área de incisión es pequeña pero una vez implantado el ensamblaje se aplana para reducir la extrusión del huésped y maximizar la intercalación.

[0010] El ensamblaje puede comprender una primera configuración desplegada, una segunda configuración plegada y una tercera configuración implantada que es más plana que la configuración plegada.

[0011] El ensamblaje puede comprender al menos dos cámaras celulares en una configuración plegada que tiene al menos el doble de células vivas que un ensamblaje plano con la misma huella.

45 **[0012]** Las características y aspectos preferidos de la presente invención son tal como se definen en las reivindicaciones adjuntas.

[0013] El ensamblaje de la invención comprende al menos 2 cámaras celulares para encapsular células vivas.

50 **[0014]** El ensamblaje de la invención comprende una región sin células a lo largo del eje más largo que separa las cámaras celulares. La región sin células está plegada para formar pliegues. Los pliegues disminuyen la huella del ensamblaje comparado con el conjunto sin los pliegues.

[0015] El ensamblaje puede mantener sustancialmente la misma capacidad de volumen celular con o sin los pliegues.

[0016] El ensamblaje puede comprender una membrana semipermeable.

[0017] El ensamblaje puede comprender al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o más cámaras celulares.

[0018] El ensamblaje puede comprender al menos un puerto de carga. En modos de realización preferidos, el ensamblaje comprende dos puertos de carga.

5 **[0019]** Las células vivas pueden ser células de linaje endodérmico definitivo. Las células vivas pueden ser células progenitoras pancreáticas positivas en el gen homeobox pancreático y duodenal 1 (PDX1) humano. Las células vivas pueden ser células precursoras endocrinas humanas. Las células vivas pueden ser células beta inmaduras humanas. Las células pueden estar dispersas dentro de la cámara.

10 **[0020]** La cámara celular puede tener una matriz con una pluralidad de poros o cavidades interconectadas para dispersar las células vivas y para mejorar la distribución de oxígeno dentro de la cámara celular. Las cavidades interconectadas pueden tener diferentes dimensiones de cavidad. La matriz puede ser polidimetilsiloxano (PDMS), monoacrilato de polidimetilsiloxano, y monometacrilato de polidimetilsiloxano. La matriz puede ser un elastómero de silicona.

15 **[0021]** Las cámaras celulares pueden ser paralelas entre sí. Las cámaras celulares pueden estar separadas en aproximadamente 20 grados. Las cámaras celulares pueden estar separadas en aproximadamente 40 grados. La cámara puede comprender un sello de división dentro de la cámara celular.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0022]

20 La **FIG. 1** es un gráfico que muestra la masa de células beta y los equivalentes insulares (IEQ) relativos/kg de peso corporal (PC). El gráfico también describe el inicio de la diabetes como tener aproximadamente un 10 %-20 % de masa de células beta, mientras que los pacientes con menos de un 10 % de masa de células beta no tienen péptido C perceptible en el suero; y aunque hay un amplio intervalo en el índice terapéutico, aproximadamente 200 000 IEQ es una dosis eficaz potencial a suministrar por un injerto de PEC encapsulado.

25 La **FIG. 2** son gráficos que relacionan el IEQ de los islotes humanos y el péptido C con el del péptido C de los injertos de células del endodermo pancreático (PEC) encapsuladas maduras.

30 Las **FIGS. 3A-B** son vistas en perspectiva de un ensamblaje de dispositivo tridimensional de gran capacidad. La FIG. 3B es una sección transversal de la FIG. 3A que muestra la naturaleza tridimensional de ensamblaje del dispositivo plegado en ángulos de manera que las cámaras celulares son sustancialmente paralelas entre sí.

Las **FIGS. 4A-B** son fotografías de un ensamblaje de dispositivo tridimensional de gran capacidad. La FIG. 4A muestra un dispositivo de ocho cámaras celulares liso y plano y la FIG. 4B muestra el mismo dispositivo de la FIG. 4A plegado de manera que las cámaras celulares están sustancialmente paralelas entre sí.

35 Las **FIGS. 5A-B** son fotografías de dispositivos de encapsulación de células. La FIG. 5A es un ensamblaje de dispositivo tridimensional de gran capacidad con puertos dobles; y se compara con el dispositivo plano de menor capacidad que se muestra en la FIG. 5B.

40 Las **FIGS. 6A-C** son vistas en perspectiva de un ensamblaje de dispositivo tridimensional de gran capacidad sin puertos. La FIG. 6A muestra la naturaleza tridimensional del conjunto del dispositivo con los pliegues en ángulos de manera que las cámaras celulares sean sustancialmente paralelas, o con cero grados de separación, entre sí; la FIG. 6B muestra una vista desde arriba del dispositivo; y la FIG. 6C muestra una sección transversal del dispositivo.

45 Las **FIGS. 7A-B** son vistas en perspectiva de un ensamblaje de dispositivo tridimensional de gran capacidad con puertos. La FIG. 7A muestra la naturaleza tridimensional del ensamblaje del dispositivo; y la FIG. 7B muestra una sección transversal del dispositivo con puertos, con cada cámara celular y puerto separados por aproximadamente 20 grados.

Las **FIGS. 8A-B** son vistas en perspectiva de un ensamblaje de dispositivo tridimensional de gran capacidad con puertos. La FIG. 8A muestra la naturaleza tridimensional del ensamblaje del dispositivo; y la FIG. 8B muestra una sección transversal del dispositivo con puertos, con cada cámara celular y puerto separados por aproximadamente 40 grados.

50 Las **FIGS. 9A-C** son vistas en perspectiva de un ensamblaje de dispositivo tridimensional de gran capacidad sin puertos ("cortina romana"). La FIG. 9A muestra la naturaleza tridimensional del ensamblaje del dispositivo; la FIG. 9B muestra una vista desde arriba del dispositivo; y la FIG. 9C muestra una sección transversal del dispositivo sin puertos. Las cámaras celulares son paralelas entre ellas pero formando un ángulo.

Las **FIGS. 10A-C** son vista en perspectiva de un ensamblaje de dispositivo tridimensional de gran capacidad en el que la cámara es un tubo continuo. La FIG. 10A muestra una sección transversal del dispositivo tubular de la FIG. 10B, de manera que la FIG. 10B está cortada por la mitad para mostrar los detalles de la(s) cámara(s) celular(es) serpenteante(s); la FIG. 10B muestra el dispositivo tubular de hoja plana con aberturas en ambos extremos; y la FIG. 10C muestra la vista desde arriba del dispositivo tubular.

Las **FIGS. 11A-C** son vistas en perspectiva de un ensamblaje de dispositivo tridimensional de gran capacidad. La FIG. 11A muestra un dispositivo tridimensional de gran capacidad; la FIG. 11B muestra la vista superior del dispositivo; la FIG. 11C muestra una sección transversal del dispositivo con las cámaras celulares paralelas entre sí, con un lado fijado a la base.

Las **FIGS. 12A-C** son vistas en perspectiva de un ensamblaje de dispositivo tridimensional de gran capacidad ("persiana"). La FIG. 12A muestra un dispositivo tridimensional de gran capacidad; la FIG. 13B muestra la vista superior del dispositivo; la FIG. 12C muestra una sección transversal del dispositivo con las cámaras celulares paralelas interconectadas a una base.

Las **FIGS. 13A-B** son vistas superiores en perspectiva de dos ensamblajes de dispositivos de encapsulación celular de gran capacidad que contienen ocho cámaras celulares presentando o bien uno (FIG. 13A) o dos puertos (FIG. 13B) antes de formar o plegarse para convertirse en un ensamblaje de dispositivo tridimensional de gran capacidad.

Las **FIGS. 14A-B** son vistas superiores en perspectiva de dos ensamblajes de dispositivos de encapsulación celular de gran capacidad que contienen dieciséis cámaras celulares que presentan un puerto (FIG. 14A); y la fabricación modular de ensamblajes de dispositivo con uno, dos, tres o más cámaras celulares presentando un puerto.

La **FIG. 15** es una vista en perspectiva del ensamblaje o dispositivo de encapsulación tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y un único puerto por cámara celular.

La **FIG. 16** es una vista en alzado de la parte trasera del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y un único puerto por cámara celular.

La **FIG. 17** es una vista en alzado de la parte de delante del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y un único puerto por cámara celular.

La **FIG. 18** es una vista en planta desde arriba del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y un único puerto por cámara celular.

La **FIG. 19** es una vista en planta desde abajo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y un único puerto por cámara celular.

La **FIG. 20** es una vista en alzado del lado derecho del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares presentando cada una un puerto (círculo), y por donde las cámaras celulares son paralelas entre sí.

La **FIG. 21** es una vista en alzado del lado izquierdo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares presentando cada una un puerto (círculo), y por donde las cámaras celulares son paralelas entre sí.

La **FIG. 22** es una vista en perspectiva del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y un único puerto por cámara celular.

La **FIG. 23** es una vista en alzado de la parte de atrás del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y un único puerto por cámara celular.

La **FIG. 24** es una vista en alzado de la parte de delante del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y un único puerto por cámara celular.

La **FIG. 25** es una vista en planta desde arriba del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y un único puerto por cámara celular.

La **FIG. 26** es una vista en planta desde abajo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y un único puerto por cámara celular.

La **FIG. 27** es una vista en alzado del lado derecho del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares presentando cada una un puerto (círculo), y por donde las cámaras celulares son paralelas entre sí.

La **FIG. 28** es una vista en alzado del lado izquierdo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares presentando cada una un puerto (círculo), y por donde las cámaras celulares son paralelas entre sí.

La **FIG. 29** es una vista en perspectiva del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular en forma y configuración de un tubo y presentando un puerto en cada extremo.

5 La **FIG. 30** es una vista en alzado de la parte de atrás del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y un único puerto por cámara celular.

La **FIG. 31** es una vista en alzado la parte de delante del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular en forma y configuración de un tubo y presentando un puerto en cada extremo.

10 La **FIG. 32** es una vista en planta desde arriba del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular en forma y configuración de un tubo y presentando un puerto en cada extremo.

La **FIG. 33** es una vista en planta desde abajo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular en forma y configuración de un tubo y presentando un puerto en cada extremo.

15 La **FIG. 34** es una vista en perspectiva del lado derecho del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular en forma y configuración de un tubo y presentando un puerto en cada extremo.

20 La **FIG. 35** es una vista en alzado del lado izquierdo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular en forma y configuración de un tubo y presentando un puerto en cada extremo.

La **FIG. 36** es una vista en perspectiva del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad construido a partir de unidades modulares individuales con cámaras celulares a cada lado.

25 La **FIG. 37** es una vista en alzado de la parte de atrás del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad construido a partir de unidades modulares individuales con cámaras celulares a cada lado.

30 La **FIG. 38** es una vista en alzado de la parte de delante del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad construido a partir de unidades de cámaras celulares modulares, y aunque los dibujos de las figuras muestran ocho de dichas unidades ensambladas, pueden ensamblarse más o menos unidades para el dispositivo,

La **FIG. 39** es una vista en planta desde arriba del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad construido a partir de unidades modulares individuales con cámaras celulares a cada lado.

35 La **FIG. 40** es una vista en planta desde abajo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad construido a partir de unidades modulares individuales con cámaras celulares a cada lado.

La **FIG. 41** es una vista en alzado del lado derecho del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad construido a partir de unidades modulares individuales con cámaras celulares a cada lado.

40 La **FIG. 42** es una vista en alzado del lado izquierdo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad construido a partir de unidades modulares individuales con cámaras celulares a cada lado.

La **FIG. 43** es una vista en perspectiva del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales.

45 La **FIG. 44** es una vista en alzado de la parte de atrás del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales.

La **FIG. 45** es una vista en alzado de delante del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales.

50 La **FIG. 46** es una vista en planta desde arriba del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales.

La **FIG. 47** es una vista en planta desde abajo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales.

55 La **FIG. 48** es una vista en alzado del lado derecho del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales (círculo), por donde las cámaras celulares están enfrente unas de otras y son paralelas entre sí.

- La **FIG. 49** es una vista en alzado del lado izquierdo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales (círculo), por donde las cámaras celulares son paralelas entre sí.
- 5 La **FIG. 50** es una vista en perspectiva del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un puerto.
- La **FIG. 51** es una vista en alzado de la parte de atrás del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un puerto.
- La **FIG. 52** es una vista en alzado de la parte de delante del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un puerto.
- 10 La **FIG. 53** es una vista en planta desde arriba del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un puerto.
- La **FIG. 54** es una vista en planta desde abajo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un puerto.
- La **FIG. 55** es una vista en alzado del lado derecho del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un puerto.
- 15 La **FIG. 56** es una vista en alzado del lado izquierdo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un puerto.
- La **FIG. 57** es una vista en perspectiva del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales, el ensamblaje parece un diseño de persianas venecianas.
- 20 La **FIG. 58** es una vista en alzado desde la parte de atrás del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales.
- La **FIG. 59** es una vista en planta desde la parte de delante del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales.
- 25 La **FIG. 60** es una vista en planta desde arriba del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales.
- La **FIG. 61** es una vista en planta desde abajo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales.
- 30 La **FIG. 62** es una vista en alzado del lado derecho del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales (círculo), el ensamblaje parece un diseño de persianas venecianas.
- La **FIG. 63** es una vista en alzado del lado izquierdo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con múltiples cámaras celulares y puertos individuales con múltiples cámaras celulares y puertos individuales, el ensamblaje parece un diseño de persianas venecianas.
- 35 La **FIG. 64** es una vista en perspectiva del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un único puerto, el ensamblaje parece un diseño de persianas venecianas.
- La **FIG. 65** es una vista en alzado desde detrás del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un único puerto.
- 40 La **FIG. 66** es una vista en alzado desde delante del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un único puerto.
- La **FIG. 67** es una vista en planta desde arriba del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un único puerto.
- La **FIG. 68** es una vista en planta desde abajo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un único puerto.
- 45 La **FIG. 69** es una vista en alzado del lado derecho del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un único puerto, el ensamblaje parece un diseño de persianas venecianas.
- La **FIG. 70** es una vista en alzado del lado izquierdo del ensamblaje o dispositivo de encapsulación celular tridimensional de gran capacidad con una única cámara celular y un único puerto, el ensamblaje parece un diseño de persianas venecianas.
- 50

Las **FIGS. 71A-C** son fotografías de tubos de fibra hueca a base de silicona tejidos para formar una estera (FIG. 71A-B) y espuma de elastómero a base de silicona (FIG. 7C) para su uso dentro de las cámaras celulares de los ensamblajes de dispositivo de encapsulación celular.

5 La **FIG. 72** es un gráfico que muestra las concentraciones de péptido C humano en sueros de ratones implantados para seis animales de experimentación y seis animales de control. El nivel de la función de respuesta a la glucosa *in vivo* se analizó en ayunas a los 13 días tras la implantación o injerto, y 30 min y 60 min después de la administración de glucosa de manera intraperitoneal. Todos los animales recibieron injertos de PEC encapsuladas (Encaptra® EN20, o EN20, ViaCyte, San Diego, California), con o sin una matriz luminal de fibra hueca de silicona.

10 Las **FIGS. 73A-B** son fotografías de secciones histológicas de injertos de PEC explantadas con fibras huecas de silicona. Las fibras huecas son las estructuras blancas redondas entre las membranas semipermeables del dispositivo. Las secciones se tizaron con tinción de eosina y hematoxilina estándar (FIG. 73A) y anticuerpos anti-insulina que tiñen de marrón las células que expresan insulina (FIG. 73B).

15 Las **FIGS. 74A-C** son imágenes de ultrasonidos que muestran un prototipo de ensamblaje de dispositivo de encapsulación celular tridimensional de un dispositivo E250 (FIG. 74A) implantado en un cadáver humano (fresco) y cuyas imágenes se obtuvieron por ultrasonidos. El prototipo de dispositivo EN250 en forma de U que se muestra puede ser observado antes, durante y después de que se aplicara una carga compresiva al cadáver en las (FIGS. 74B y C).

20 Las **FIGS. 75A-B** son imágenes obtenidas por ultrasonidos de un dispositivo vacío humedecido y dispositivos EN250 y EN20 rellenos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL MODO DE REALIZACIÓN PREFERIDO

[0023] A menos que se indique de otra manera, los términos empleados en el presente documento deben entenderse según el uso convencional por los expertos en la materia pertinente. A lo largo de esta solicitud, se hace referencia a varias publicaciones de patente y no patente.

25 [0024] Asimismo, a efectos de esta memoria y de las reivindicaciones adjuntas, a menos que se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades o ingredientes, porcentajes o proporciones de materiales, condiciones de reacción, y otros valores numéricos utilizados en la memoria y reivindicaciones, deben entenderse como que se modifican en todos los ejemplos por el término "aproximadamente".

30 [0025] En consecuencia, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos expuestos en la siguiente memoria y en las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se pretendan obtener. Como mínimo, y no como un intento de limitar la aplicación de la doctrina de equivalentes al alcance de las reivindicaciones, cada parámetro numérico debe al menos interpretarse en el contexto del número de dígitos significativos presentados y aplicando técnicas de redondeo ordinarias.

35 [0026] Puede proporcionarse un dispositivo implantable biológicamente compatible. Dichos dispositivos de macroencapsulación están descritos en los documentos de patente estadounidense N.º 6,773,458; 6,156,305; 6,060,640; 5,964,804; 5,964,261; 5,882,354; 5,807,406; 5,800,529; 5,782,912; 5,741,330; 5,733,336; 5,713,888; 5,653,756; 5,593,440; 5,569,462; 5,549,675; 5,545,223; 5,453,278; 5,421,923; 5,344,454; 5,314,471; 5,324,518; 5,219,361; 5,100,392; y 5,011,494; todos ellos asignados a Baxter.

40 [0027] Otros ejemplos adecuados descritos en el presente documento se describen de manera adicional detalladamente en al menos los documentos de patente estadounidense N.º 8,211,699, METHODS FOR CULTURING PLURIPOTENT STEM CELLS IN SUSPENSION USING ERBB3 LIGANDS, publicado el 3 de julio de 2012; 7,958,585, PREPRIMITIVE STREAK AND MESENTERODERM CELLS, publicado el 26 de julio 2011; 7,510,876 y 8,216,836 DEFINITIVE ENDODERM, publicados el 31 de marzo de 2009 y el 10 de julio de 2012, respectivamente; 7,541,185, METHODS FOR IDENTIFYING FACTORS FOR DIFFERENTIATING DEFINITIVE
45 ENDODERM, publicado el 2 de junio de 2009; 7,625,753, EXPANSION OF DEFINITIVE ENDODERM, publicado el 1 de diciembre de 2009; 7,695,963, METHODS FOR INCREASING DEFINITIVE ENDODERM PRODUCTION, publicado el 13 de abril de 2010; 7,704,738, DEFINITIVE ENDODERM, publicado el 27 de abril de 2010; 7,993,916, METHODS FOR INCREASING DEFINITIVE ENDODERM PRODUCTION, publicado el 9 de agosto de 2011;
50 8,008,075, STEM CELL AGGREGATE SUSPENSION COMPOSITIONS AND METHODS OF DIFFERENTIATION THEREOF, publicado el 30 de agosto de 2011; 8,178,878, COMPOSITIONS AND METHODS FOR SELF-RENEWAL AND DIFFERENTIATION IN HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS, publicado el 29 de mayo de 2012; 8,216,836, METHODS FOR IDENTIFYING FACTORS FOR DIFFERENTIATING DEFINITIVE ENDODERM, publicado el 10 de julio de 2012; 7,534,608, 7,695,965, y 7,993,920 publicados el 19
55 de mayo de 2009, 13 de abril de 2010; y el 9 de agosto de 2011, respectivamente; 8,129,182, ENDOCRINE PRECURSOR CELLS, PANCREATIC HORMONE EXPRESSING CELLS AND METHODS OF PRODUCTION, publicado el 6 de marzo de 2012; 8,338,170 METHODS FOR PURIFYING ENDODERM AND PANCREATIC ENDODERM CELLS DERIVED FROM HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS, publicado el 25 de diciembre de

2012; 8,334,138, METHODS AND COMPOSITIONS FOR FEEDER-FREE PLURIPOTENT STEM CELL MEDIA CONTAINING HUMAN SERUM, publicado el 18 de diciembre de 2012 ; 8,278,106, ENCAPSULATION OF PANCREATIC CELLS DERIVED FROM HUMAN PLURIPOTENT STEM CELLS, publicado el 2 de octubre de 2012; 8,338,170, titulado METHOD FOR PURIFYING ENDODERM AND PANCREATIC ENDODERM CELLS DERIVED FROM HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS (CYTHERA.063A), publicado el 25 de diciembre 2012; la solicitud de patente estadounidense N.º 13/761,078, CELL COMPOSITIONS DERIVED FROM DEDIFFERENTIATED REPROGRAMMED CELLS, presentada el 6 de febrero de 2013; la solicitud de patente estadounidense N.º 13/672,688, SCALABLE PRIMATE PLURIPOTENT STEM CELL AGGREGATE SUSPENSION CULTURE AND DIFFERENTIATION THEREOF, presentada el 8 de noviembre de 2012; las solicitudes de diseño de patente N.º 29/408,366; 29/408,368 y 29/408,370, presentadas el 12 de diciembre de 2001 y 29/423,365, en 31 de mayo de 2012.

Definiciones

[0028] Tal como se entiende en el presente documento, "aproximadamente" como se utiliza en el presente documento significa que un número al que se hace referencia como "aproximadamente" comprende el número expuesto más o menos el 1-10 % de ese número. Por ejemplo, "aproximadamente" 100 células puede significar 95-105 células o tan solo 99-101 células, dependiendo de la situación. Cada vez que aparezca en el presente documento, un rango numérico como "1 a 20" hace referencia a cada número entero dentro del intervalo determinado; por ejemplo, "1 a 20 células" significa 1 célula, 2 células, 3 células, etc., hasta e incluyendo 20 células. Donde aproximadamente modifique un intervalo expresado en números no enteros, hace referencia al número expuesto más o menos el 1-10 % en la misma medida que las cifras expresadas. Por ejemplo, aproximadamente 1,50 a 2,50 mM puede significar tan solo 1,35 M o tanto como 2,75M o cualquier cantidad entre ellos con incrementos de 0,01.

[0029] Tal como se entiende en el presente documento, en relación con la composición de una población celular, el término "esencialmente" o "sustancialmente" significa predominante o principalmente.

[0030] Tal como se entiende en el presente documento, el término "cantidad eficaz" de un compuesto o equivalentes de la misma se refiere a la concentración del compuesto que es suficiente en la presencia del resto de los componentes del medio determinado, para efectuar la estabilización de la célula diferenciable en cultivo durante más de un mes en ausencia de una célula alimentadora y en ausencia de suero o reemplazo de suero. Esta concentración se determina fácilmente por un experto habitual en la técnica.

[0031] Tal como se entiende en el presente documento cuando se refiere a una "célula", "línea celular", "cultivo celular" o "población celular" o "población de células", el término "aislado" se refiere a estar separado sustancialmente de la fuente de las células de manera que la célula viva, línea celular, cultivo celular, población celular o población de células son capaces de cultivarse *in vitro* durante largos periodos de tiempo. Además, el término "aislar" puede emplearse para referirse a la selección física de una o más células de un grupo de dos o más células, en donde las células se seleccionan basándose en la morfología y/o la expresión celular de varios marcadores.

[0032] Tal como se entiende en el presente documento, el término "sustancialmente" se refiere a en gran medida o en gran parte, por ejemplo, "sustancialmente similar" en el contexto se utilizaría para describir un método que es en gran medida o en gran parte similar o diferente a otro método. Sin embargo, tal como se entiende en el presente documento, el término "sustancialmente libre", por ejemplo "sustancialmente libre" o "sustancialmente libre de contaminantes", o "sustancialmente libre de suero" o "sustancialmente libre de insulina o factor de crecimiento similar a insulina" o equivalentes de los mismos, significa que la solución, medio, suplemento, excipiente y similares, está al menos 98 %, o al menos 98,5 %, o al menos 99 %, o al menos 99,5 %, o al menos 100 % libre de suero, contaminantes o equivalentes de los mismos. En un modo de realización, se proporciona un medio de cultivo determinado sin suero, o está 100 % libre de suero, o está sustancialmente libre de suero. En cambio, tal como se entiende en el presente documento, el término "sustancialmente similar" o equivalentes de los mismos significa que la composición, proceso, método, solución, medio, suplemento, excipiente y similares significa que el proceso, método, disolución, etc., es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, o al menos 99 % similar al descrito anteriormente en el presente documento, o en un proceso o método descrito anteriormente.

[0033] Tal como se entiende en el presente documento, una célula adecuada para el trasplante se refiere a una célula o a una población de células lo suficientemente viable y/o funcional para un tratamiento *in vivo* de un trastorno metabólico. Por ejemplo, la diabetes, o uno o más síntomas de la misma, se puede mejorar o reducir durante un periodo de tiempo tras la implantación de una célula adecuada para el trasplante en un sujeto que padezca diabetes. En un modo de realización preferido, una célula o población celular adecuada para el trasplante es una célula o población celular progenitora pancreática, o una célula o población celular progenitora pancreática positiva en PDX1 o una célula o población celular precursora endocrina, o una célula endocrina mono o poli-hormonal y/o cualquier combinación de células o poblaciones de células, o PEC o incluso células o poblaciones de células de las mismas purificadas o enriquecidas.

Dispositivos implantables de gran capacidad

[0034] Descritos en el presente documento se encuentran dispositivos de encapsulación, en particular dispositivos de encapsulación de células, en particular dispositivos de encapsulación de macrocélulas, en particular ensamblajes de dispositivos de gran capacidad, en particular ensamblajes de dispositivos de encapsulación de células de cualquier tamaño que consisten en dispositivos de al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más cámaras celulares. Tal como se entiende en el presente documento, "ensamblaje" se refiere a un dispositivo de encapsulación celular que consiste en múltiples o una pluralidad de cámaras celulares. El ensamblaje puede consistir en al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más cámaras celulares. El ensamblaje puede estar hecho de manera que un ensamblaje pueda consistir en cualquier número de cámaras celulares (o una unidad modular). Por ejemplo, una unidad modular puede consistir en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más cámaras celulares, que pueden depender del número de dosis o de células que se necesitan para el tratamiento de la enfermedad. Por consiguiente, tal como se entiende en el presente documento, el término "dispositivo" puede significar un único dispositivo que consiste en una cámara celular como la que se ha descrito previamente o un dispositivo que consiste en varias cámaras celulares como el dispositivo tridimensional o los ensamblajes de dispositivo descritos en el presente documento. Por lo tanto, en algunos ejemplos, dispositivo y ensamblaje pueden utilizarse de forma intercambiable.

[0035] Los dispositivos o ensamblajes pueden fabricarse de manera que tengan un volumen total superior a aproximadamente 20 μ L, 50 μ L, 100 μ L, 150 μ L, 200 μ L, 250 μ L, 300 μ L, 350 μ L, 400 μ L, 450 μ L, 500 μ L, 550 μ L, 600 μ L, 650 μ L, 700 μ L, 750 μ L, 800 μ L, 850 μ L, 900 μ L, 950 μ L, 1000 μ L o más. El volumen celular total puede consistir en un dispositivo con una cámara celular presentando la dosis de células deseada, o puede consistir en 1 o más dispositivos o ensamblajes presentando cualquier número, o una pluralidad, de cámaras celulares que conjuntamente tienen la dosis celular deseada. El dispositivo puede mejorarse creando uno o más compartimentos en la cámara celular tal como se ha descrito previamente en la patente estadounidense 8,425,928. Las FIGS. 3-70 son ejemplos de un dispositivo o ensamblaje, pero los dispositivos o ensamblajes no pretenden estar vinculados solamente a los ilustrados en las FIGS. 3-70. En su lugar, el dispositivo o ensamblaje puede incluir variaciones basadas en las que se han descrito en el presente documento y se considerarían habituales en la técnica. El diseño del dispositivo se puede modificar dependiendo del tipo de agentes activos biológicamente y/o células encapsuladas y para satisfacer las necesidades y la función del estudio.

[0036] Tales dispositivos y/o ensamblajes pueden implantarse en un mamífero para tratar una variedad de enfermedades y trastornos. El dispositivo puede comprender un dispositivo de inmunoaislamiento compatible biológicamente que sea capaz de encapsular por completo un agente activo de manera terapéutica y biológica y/o células en él. Por ejemplo, tales dispositivos pueden albergar cantidades terapéuticamente eficaces de células en una membrana semipermeable que tiene tal tamaño de poro que el oxígeno y otras moléculas importantes para la supervivencia y la función celular se pueden mover a través de la membrana semipermeable, pero las células del sistema inmunológico no pueden penetrar o atravesar por los poros. De manera similar, tales dispositivos pueden contener cantidades terapéuticamente eficaces de un agente biológicamente activo, por ejemplo, un factor angiogénico, un factor de crecimiento, una hormona, y similares; o un agente biológicamente activo secretado por una célula, por ejemplo, un anticuerpo, una proteína, una hormona, y similares.

[0037] Los dispositivos y/o ensamblajes descritos en el presente documento se pueden emplear para tratar patologías que requieren un suministro continuo de sustancias biológicamente activas al organismo. También puede hacerse referencia a tales dispositivos, por ejemplo, como órganos bioartificiales, que contienen mezclas homogéneas o heterogéneas de agentes activos biológicamente y/o células, o células que producen una o más sustancias biológicamente activas de interés. Idealmente, los agentes biológicamente activos y/o células se encapsulan o encierran totalmente en al menos un espacio interno o en cámaras de encapsulación, que se unen mediante al menos una o más membranas semipermeables. Tal membrana semipermeable debería permitir que la sustancia encapsulada activa biológicamente de interés (por ejemplo, insulina, glucagón, polipéptido pancreático, y similares) pasara, poniendo a disposición la sustancia activa para las células diana fuera del dispositivo y en el cuerpo del paciente. La membrana semipermeable puede permitir que los nutrientes presentes de manera natural en el sujeto pasen a través de la membrana para proporcionar nutrientes esenciales a las células encapsuladas. Al mismo tiempo, tal membrana semipermeable impide o evita que las células del paciente, más en particular las células del sistema inmunológico, pasen a través del dispositivo y dañen las células encapsuladas en el dispositivo. Por ejemplo, en el caso de la diabetes, este enfoque puede permitir que la glucosa y el oxígeno estimulen las células que producen insulina para liberar insulina según lo requiera el organismo en tiempo real, mientras evita que las células del sistema inmunológico reconozcan y destruyan a las células implantadas. La membrana semipermeable puede impedir que las células implantadas escapen de la encapsulación.

[0038] Los dispositivos o ensamblajes preferidos pueden tener determinadas características que son aconsejables pero no se limitan a una o una combinación de las siguientes: i) comprender una configuración tridimensional que permita la distribución de dosis altas o elevadas de células mientras reduce al mismo tiempo la huella del dispositivo, por ejemplo, el espacio que ocupa el dispositivo o ensamblaje en el lugar anatómico; ii) comprender pliegues o dobleces o ángulos o bien en las juntas o donde el dispositivo está sellado o incluso en la

cámara celular, por donde el ángulo de los pliegues varía de 0 (o 180) hasta 90 grados, preferiblemente de 0 a 50 grados; preferiblemente de 0 a 40 grados; iii) comprender un material biocompatible que funcione bajo condiciones fisiológicas, incluyendo el pH y la temperatura; los ejemplos incluyen, pero sin carácter limitativo, materiales anisotrópicos, polisulfona (PSF), esteras de nanofibras, poliimida, tetrafluoroetileno/politetrafluoroetileno (PTFE; también conocido como Teflon®), ePTFE (politetrafluoroetileno expandido), poliacrilonitrilo, polietersulfona, resina acrílica, acetato de celulosa, nitrato de celulosa, poliamida, así como membranas de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC); iv) no liberar compuestos tóxicos que dañen al agente activo biológicamente y/o a las células encapsuladas dentro del dispositivo; v) promover la secreción o liberación de un agente biológicamente activo o de una macromolécula a lo largo del dispositivo; iv) promover cinéticas rápidas de difusión de la macromolécula; vi) promover la estabilidad a largo plazo de las células encapsuladas; vii) promover la vascularización; viii) estar compuesto por membranas o una estructura/cubierta que sea químicamente inerte; ix) proporcionar propiedades mecánicas estables; x) mantener la integridad de la estructura/cubierta (por ejemplo, evitar la fuga accidental de agentes y/o células tóxicas o dañinas); xi) ser recargable y/o desechable; xii) ser expandible mecánicamente; xiii) no contener puertos o al menos uno, dos, tres o más puertos; xiv) aislar de manera inmune las células trasplantadas del tejido huésped; xv) ser fácil de fabricar y producir; xvi) poder esterilizarse, xvii) puede fabricarse de manera modular, xviii) puede recuperarse tras la implantación, xix) se descomprime mientras se cargan las células o el agente terapéutico.

[0039] Los dispositivos de encapsulación descritos en el presente documento no pretenden limitarse a determinados tamaños, formas, diseños, capacidad de volumen, y/o materiales empleados para fabricar los dispositivos de encapsulación, siempre y cuando se alcance uno o más de los elementos anteriores.

[0040] La encapsulación proporciona una barrera protectora que dificulta que los elementos del sistema inmune del huésped destruyan las células. Esto permite el uso de tejido disparejo humano o incluso animal, sin inmunosupresión por parte del recipiente y por tanto resulta en un aumento de la diversidad de tipos de células que pueden emplearse en la terapia. De manera adicional, como las células implantadas se retienen por una membrana, la encapsulación de las células evita el riesgo inherente de formación de tumores que estarían presentes de otro modo en algunos tratamientos basados en células.

[0041] El tejido de las células en el núcleo del dispositivo puede inmovilizarse de manera adicional en una matriz inmovilizadora, como un hidrogel o componentes de matriz extracelular. Además, el núcleo del dispositivo puede contener una inserción para crear una zona "libre de células" en el centro del núcleo, a fin de reducir de manera adicional la posibilidad de necrosis en el núcleo o en las células del centro del dispositivo.

[0042] Los dispositivos pueden ser inmunoaisladores. Un dispositivo "inmunoaislador", tras la implantación en un huésped mamífero, minimiza los efectos perjudiciales del sistema inmune del huésped en las células del núcleo del dispositivo. Para ser inmunoaisladora, la región periférica o adyacente del dispositivo debería (a) proteger a las células encapsuladas del sistema inmune del huésped en el que se implanta el dispositivo o ensamblaje, (b) evitar que entren sustancias dañinas del cuerpo del huésped en el núcleo del dispositivo, y (c) proporcionar una barrera física suficiente para evitar un contacto inmunológico perjudicial entre las células aisladas y el sistema inmune del huésped. El espesor de esta barrera física puede variar, pero siempre será lo suficientemente gruesa para evitar un contacto directo entre las células y/o las sustancias en cada lado de la barrera. El espesor de esta región es de entre 5 y 200 micras; se prefiere un grosor de 10 a 100 micras, y un grosor de 20 a 75 micras se prefiere particularmente. Entre los tipos de ataques inmunológicos que pueden prevenirse o minimizarse por el uso del vehículo instantáneo se incluyen, pero sin carácter limitativo, ataques por macrófagos, neutrófilos, respuestas inmunes celulares (p.ej., células asesinas naturales y citólisis mediada por células T dependientes de anticuerpos (ADCC)), y respuesta humoral (p.ej., dependiente de anticuerpos, citólisis mediada por complementos).

[0043] El dispositivo puede tener cualquier configuración apropiada para mantener la actividad biológica y proporcionar acceso para la distribución del producto o función, incluyendo, por ejemplo, forma cilíndrica, rectangular, de disco, de parche, ovoide, estrellada o esférica. Además, el dispositivo puede tener forma enrollada o tubular o envolverse en una estructura similar a una red o anidada. Si el dispositivo tiene que retirarse en algún momento después de implantarlo, deben evitarse las configuraciones que tienden a provocar la migración de los dispositivos del área de implantación (como dispositivos esféricos lo suficientemente pequeños para moverse por los vasos sanguíneos del receptor). Las exposiciones en el presente documento incluyen formas que ofrecen una alta integridad estructural y son fáciles de retirar del huésped. Tales formas incluyen parches rectangulares, discos, cilindros, y hojas planas.

[0044] El dispositivo o ensamblaje puede recuperarse tras la implantación, y el dispositivo puede tener una cuerda que ayude a retirarlo. Tales cuerdas son muy conocidas en la técnica.

[0045] El dispositivo o ensamblaje puede estar suturado en o cerca del lugar anatómico deseado para evitar que se desplace, se mueva o atraviese dentro del paciente. Cualquier medio para suturar o asegurar el dispositivo o ensamblaje está dentro de las habilidades de un experto en la materia, p.ej., pueden fabricarse aletas de sutura en el dispositivo o ensamblaje similares a las descritas en las solicitudes de diseño de patente estadounidense del solicitante N.º 29/423,365. Puede esperarse que los ensamblajes del dispositivo protejan los

aloinjertos del rechazo en receptores roedores y humanos no inmunizados, tal como han demostrado dispositivos de encapsulación similares, p.ej., el dispositivo Theracyte™. Véase Brauker, et al. *Neovascularization of synthetic membranes directed by membrane microarchitecture*. J. Biomed. Mater. Res. 29:1517-1524; 1995; Tibell, et al. *Survival of macroencapsulated allogeneic parathyroid tissue one year after transplantation in nonimmunosuppressed humans*. *Cell Transplant*. 10:591-599; 2001; y Kumagai-Braescha, et al., *The TheraCyte™ Device Protects against Islet Allograft Rejection in Immunized Hosts*, *Cell Transplant*. 3 oct 2012. De forma similar, los injertos xenogénicos no están protegidos por el dispositivo Theracyte™, al contrario, la filtración de xenoantígenos causa una fuerte reacción inflamatoria alrededor del implante. Véase Brauker, et al. *Local inflammatory response around diffusion chambers containing xenografts. Nonspecific destruction of tissues and decreased local vascularization*. *Transplantation* 61:1671-1677; 1996; Loudovaris, et al. *Destruction of xenografts but not allografts within cell impermeable membranes*. *Transplant. Proc.* 24:2291-2292; Loudovaris, et al., *CD4+ T cell mediated destruction of xenografts within cell-impermeable membranes in the absence of CD8+ T cells and B cells*. *Transplantation* 61:1678-1684; 1996; y McKenzie, et al. *Protection of xenografts by a combination of immunoisolation and a single dose of anti-CD4 antibody*. *Cell Transplant*. 10:183-193; 2001.

[0046] Los ensamblajes del dispositivo pueden consistir en uno o dos o más sellos que dividen de manera adicional el lumen del dispositivo, es decir, un sello de división. Véase los documentos de las solicitudes de diseño de patente de EE. UU del solicitante N.º 29/408366, 29/408368, 29/408370 y 29/423,365. Tales diseños prohíben, reducen o no promueven las grandes agrupaciones o agregados celulares de manera que las células situadas en el centro de las grandes agrupaciones/aglomeraciones se rechazan, o reciben menos, nutrientes y oxígeno y, por tanto, posiblemente no sobrevivan. Por lo tanto, los dispositivos que contienen una pluralidad de cámaras o compartimentos son más capaces de dispersar las células por toda la cámara/compartimento o cámaras/compartimentos. En este sentido, las células tienen más oportunidades de recibir nutrientes y oxígeno, promoviendo así la supervivencia celular e impidiendo la muerte celular.

[0047] Expuesto en el presente documento está un dispositivo o ensamblaje que consiste en cámaras celulares de forma sustancialmente elíptica a rectangular. De manera adicional, estos dispositivos se compartimentan o reconfiguran para que haya una costura o soldadura a través del centro del dispositivo, o bien sellando cada mitad del dispositivo, formando por tanto dos depósitos, lúmenes, cámaras, espacios vacíos, recipientes o compartimentos separados; o bien la soldadura o costura crea una cámara con forma de acordeón que se separa o divide en la mitad debido a la soldadura, pero en este caso tal soldadura no sella por completo las cámaras.

[0048] Expuesto también en el presente documento está un dispositivo o ensamblaje que consiste en cámaras celulares de forma sustancialmente elíptica o rectangular presentando 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más soldaduras a lo largo del plano del dispositivo (por ejemplo, véase el documento de patente estadounidense N.º 8,425,928). En algunos ejemplos, las soldaduras están a lo largo del lado o plano horizontal del dispositivo. En otros ejemplos, las soldaduras están a lo largo del lado o plano vertical del dispositivo. Aún en otros ejemplos, se presentan soldaduras entrecruzadas a lo largo de ambos lados o planos horizontal y vertical. En algunos ejemplos, las soldaduras son paralelas y equidistantes entre sí. En otros ejemplos, las soldaduras son perpendiculares. Aún en otros ejemplos, las soldaduras son paralelas pero no equidistantes. Como en el ejemplo anterior, tal diseño puede formar de manera eficaz hasta 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más cámaras, separadas completamente si la soldadura atraviesa y conecta ambos límites del dispositivo, o puede crear una cámara continua pero interdigitada, formando regiones discretas dentro de la misma cámara. Además, aunque se describen determinados ejemplos de dispositivos con soldaduras paralelas o paralelas y equidistantes, se pueden personalizar o fabricar otros dispositivos con soldaduras en cualquier dirección u orientación, incluyendo largas soldaduras que tengan regiones ininterrumpidas por soldaduras. El tipo y número de soldaduras que se utilicen puede depender de la población celular o del agente empleado y para qué tratamiento o propósito. Las soldaduras se pueden disponer para modificar el aspecto del dispositivo.

[0049] Las figuras 3-14 muestran ejemplos de ensamblajes o dispositivos de encapsulación celular tridimensionales, pero tal como se ha descrito anteriormente, estos son solo ejemplos ilustrados, y un experto en la materia puede considerarlo formando diferentes configuraciones utilizando soldaduras o costuras en cualquiera de estos dispositivos, o modificar la forma, o añadir otras características descritas anteriormente por el Solicitante para personalizar el dispositivo o ensamblaje adecuado para el fin previsto. Por ejemplo, el dispositivo se puede unir por ultrasonidos alrededor de todo el perímetro para crear un lumen interno completamente cerrado o para formar una pluralidad de lúmenes. Se pueden emplear otros medios para sellar o cerrar las membranas para formar la bolsa similar al dispositivo. El lumen se compartimenta de manera adicional mediante una soldadura interna que se localiza en el centro y se extiende a lo largo del eje del dispositivo. Esta soldadura se extiende hasta un punto que limita eficazmente el espesor o profundidad de cada compartimento, aunque no segrega completamente el lumen interno. Con este método se controla la anchura y la profundidad de los compartimentos y se pueden variar según se requiera para permitir la supervivencia y el rendimiento del producto celular. Asimismo, todas las dimensiones del dispositivo, que incluyen pero sin carácter limitativo, la longitud total, anchura total, espesor de la soldadura del perímetro, anchura de la soldadura del perímetro, longitud del compartimento, anchura del compartimento, profundidad del compartimento, longitud de la soldadura interna,

anchura de la soldadura interna y posición de los puertos, son especificaciones de diseño que se pueden modificar para optimizar el dispositivo para productos y/o agentes biológicamente activos particulares.

5 **[0050]** En las FIGS. 3-70, por ejemplo, el compartimento se carga con un producto celular o agente biológicamente activo mediante los dos puertos individuales que se incorporan en el dispositivo durante la soldadura ultrasónica del perímetro. Estos puertos se extienden hacia dentro del lumen o de los compartimentos y permiten el acceso al compartimento con el propósito de distribuir las células y/o agentes de manera uniforme durante la carga. Los puertos pueden ayudar a descomprimir la cámara celular mientras se cargan las células o el agente terapéutico en otro puerto, evitando por tanto la acumulación de presión en el dispositivo.

10 **[0051]** De forma alternativa, los dispositivos o ensamblajes descritos en el presente documento no contienen puertos de entrada o salida, es decir, se dice que los dispositivos carecen de puertos. En otro ejemplo, el perímetro exterior y los puntos de soldadura de compartimentación se crean primero mediante soldadura ultrasónica. Los puntos de soldadura funcionan de forma similar a la soldadura interna, y se pueden situar de manera que crucen el dispositivo para limitar periódicamente la expansión del lumen o del compartimento en cualquier punto dado. De nuevo, el lumen o compartimentos creados por los puntos de soldadura interconectan por lo tanto los compartimentos y no aíslan o separan por completo ningún lumen o compartimento. Este enfoque puede conseguirse para una cámara celular en un dispositivo o para una pluralidad de cámaras celulares en un dispositivo o ensamblaje, o para cualquier cámara celular en un dispositivo o ensamblaje. Asimismo, el número total, diámetro y distribución de los puntos de soldadura son parámetros de diseño que se pueden optimizar para alojar las dinámicas de carga y las tasas de crecimiento de cualquier producto o agente celular.

20 **[0052]** Una vez que las células se cargan en el dispositivo, el perímetro externo se sella completa y asépticamente mediante una segunda soldadura ultrasónica a lo largo del borde del dispositivo. El resultado del proceso de sellado en múltiples etapas es que los dispositivos terminados están totalmente cerrados y carecen de puertos que se extienden desde el perímetro. Este enfoque simplifica el proceso de carga y mejora la integridad y seguridad total del dispositivo, ya que los puertos pueden ser un área del perímetro en la que puedan aparecer fisuras como resultado de una soldadura ultrasónica deficiente.

25 **[0053]** De manera adicional, aunque el proceso anterior se describió en 2 etapas secuenciales, los medios para encapsular las células y/o agentes no se limitan a las 2 etapas descritas sino a cualquier número de etapas, en cualquier orden, necesarias para encapsular las células y al mismo tiempo evitar o reducir el nivel de rotura del dispositivo.

30 **[0054]** Un experto habitual en la materia puede conseguirlo de varias maneras, por ejemplo, utilizando un sonotrodo ultrasónico que tenga un borde afilado interno que pueda cortar el material inmediatamente después de la soldadura. Estas soldaduras recortadas tienen la ventaja de que se integran más fácilmente con el tejido del huésped ya que las soldaduras recortadas fomentan la vascularización del dispositivo, mejorando por tanto la supervivencia y el rendimiento de los productos y/o agentes celulares dependientes de oxígeno. Como consecuencia de facilitar y fomentar una nueva vascularización a través del dispositivo, existe un transporte de oxígeno difusivo mejorado en la dirección X-Y, que se limita normalmente hacia el centro de los dispositivos de hoja plana.

35 **[0055]** El diseño del dispositivo puede tener diferentes formas, por ejemplo, el dispositivo de encapsulación celular puede tener forma de tubo o tubo aplanado o cualquier otra forma que satisfaga uno de los requerimientos anteriores.

Materiales del dispositivo

[0056] Los dispositivos poliméricos biocompatibles útiles comprenden (a) un núcleo que contiene tejido o células; y (b) una región periférica o adyacente de membrana biocompatible semipermeable (cubierta) que no contiene células aisladas (es decir, la membrana por sí misma no inmoviliza las células).

45 **[0057]** La naturaleza "semipermeable" de la membrana del dispositivo permite que las moléculas producidas por las células (metabolitos, nutrientes y sustancias terapéuticas) se esparzan desde el dispositivo al tejido adyacente del huésped, pero es lo suficientemente impermeable para proteger las células del núcleo de un ataque inmunológico perjudicial por parte del huésped.

50 **[0058]** Las membranas celulares permeables e impermeables comprendidas se han descrito en la técnica, incluyendo las patentes descritas anteriormente por Baxter, incluyendo los documentos de patente estadounidense N.º 6,773,458; 6,520,997; 6,156,305; 6,060,640; 5,964,804; 5,964,261; 5,882,354; 5,807,406; 5,800,529; 5,782,912; 5,741,330; 5,733,336; 5,713,888; 5,653,756; 5,593,440; 5,569,462; 5,549,675; 5,545,223; 5,453,278; 5,421,923; 5,344,454; 5,314,471; 5,324,518; 5,219,361; 5,100,392; y 5,011,494.

55 **[0059]** Pueden utilizarse varios polímeros y mezclas poliméricas para fabricar la cubierta del dispositivo, incluyendo, pero sin carácter limitativo, poliacrilatos (incluyendo copolímeros acrílicos), polivinilidenos, copolímeros de policloruro de vinilo, poliuretanos, poliestirenos, poliamidas, acetatos de celulosa, nitratos de celulosa, polisulfona (incluyendo polietersulfonas), polifosfaceno, poliacrilonitrilos, poli(acrilonitrilo/cloruro de vinilo), PTFE, además de sus derivados, copolímeros y mezclas de los anteriores.

[0060] Se exponen membranas de fibras huecas semipermeables biocompatibles, y métodos para fabricarlos, en los documentos de patente estadounidense con N.º 5,284,761 y 5,158,881 (véase también el documento de patente WO 95/05452). En un modo de realización, la cubierta del dispositivo está formada por una fibra hueca de polietersulfona, como las descritos en los documentos de patente estadounidense con N.º 4.976.859 y 4.968.733.

[0061] Los dispositivos de encapsulación pueden estar comprendidos de un material biocompatible que incluye, pero sin carácter limitativo, materiales anisotrópicos, polisulfona (PSF), láminas de nanofibra, poliimida, tetrafluoroetileno/politetrafluoroetileno (PTFE; también conocido como Teflon®), ePTFE (politetrafluoroetileno expandido), poliacrilonitrilo, polietersulfona, resina acrílica, acetato de celulosa, nitrato de celulosa, poliamida, así como membranas de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC). Al menos Gore®, Phillips Scientific®, Zeus®, Pall® y Dewal® por mencionar algunos, fabrican estos componentes y tipos de membranas y otros sustancialmente similares.

Carga del dispositivo

[0062] Un ejemplo para cargar agentes terapéuticos incluyendo células en el dispositivo implantable o dispositivo se describe en la publicación del solicitante WO/2012/115619 (PCT/US11/25628), **LOADING SYSTEM FOR AN ENCAPSULATION DEVICE**, presentada el 21 de febrero de 2011.

[0063] El dispositivo de carga celular anterior puede ser completamente automático de manera que desde el periodo en el que las PEC se descongelan y se cultivan hasta que los agregados celulares se cuentan y se cargan en el dispositivo, se contienen en un entorno cerrado y estéril.

[0064] Los agregados celulares pueden cargarse en los dispositivos utilizando un sistema similar a una jeringa.

[0065] Estos y otros métodos similares resultarán evidentes para un experto en la materia.

Densidad celular

[0066] La densidad de carga celular puede variar en una amplia gama. El número de células cargadas en cualquier dispositivo dependerá de la dosis contemplada o la dosis requerida por el tratamiento y el número de dispositivos de macroencapsulación empleados en el tratamiento.

[0067] Pueden cargarse entre 10×10^3 y 10×10^9 células en cada cámara (compartimento o lumen) de un dispositivo o ensamblaje. En un ejemplo, los métodos para producir PEC resultan en aproximadamente de 3 a 4 millones de células por 10 μ L de una suspensión de agregado de células, o un volumen teórico de aproximadamente 367 000 células por microlitro. En un ejemplo, para un dispositivo EN250, un dispositivo capaz de contener aproximadamente 250 μ L de una suspensión de agregado de células, el número total de células es en torno a 91-92 millones de células. En otro ejemplo, se cargan con células dispositivos con múltiples cámaras celulares, cada una con la capacidad de contener aproximadamente 100 μ L de una suspensión de agregado de células (por ejemplo, las FIGS. 3-70). Por ejemplo, un ensamblaje que contenga ocho cámaras celulares de 100 μ L (o aproximadamente 3-4 millones de células por cámara), o aproximadamente de 240 a 320 millones de células. Las cámaras celulares pueden ser de cualquier tamaño, por ejemplo, en la FIG. 5, las cámaras celulares del dispositivo tridimensional son de aproximadamente 121 μ L (basado en un lumen de 200 μ L). Por tanto, un dispositivo o ensamblaje presentando 8 cámaras celulares, presentando una capacidad de aproximadamente 121 μ L cada una, es aproximadamente 968 μ L, y presentando una capacidad celular total de aproximadamente 36 a 44 millones de células por cámara (121 μ L a 367 000 células por 1 μ L = 44,4 millones de células por cámara; y si hay 8 cámaras celulares, un total de aproximadamente 354,9 millones de células por ensamblaje, tal como se describe en el presente documento.

[0068] Lo anterior describe los números o la dosis celular teórica basándose en la capacidad de volumen máxima de un único dispositivo o una cámara celular individual dentro de un dispositivo más grande; la dosis real puede depender de los tipos de células y/o del medio en el que están las células a efectos de la carga. La dosis de células real también puede depender de si el cultivo celular es un cultivo de células terapéuticas puro homogéneo o una población que consiste en diferentes poblaciones de células, de manera que la dosis de células real para cualquier célula terapéutica es un porcentaje del número total de células cargadas o sembradas en el dispositivo o cámara celular. De forma similar, para la distribución de la encapsulación macrocelular, es preferible implantar tan pocos dispositivos o tan pocas cámaras celulares como sea posible, preferible no más de diez, preferiblemente no más de 9, preferiblemente no más de 8 cámaras celulares en un dispositivo, no más de 7 cámaras celulares en un dispositivo, no más de 6 cámaras celulares en un dispositivo, no más de 5 cámaras celulares en un dispositivo, no más de 4 cámaras celulares en un dispositivo, no más de 3 cámaras celulares en un dispositivo, no más de 2 cámaras celulares en un dispositivo, no más de 1 cámara celular por dispositivo, a ser posible. Cualquier número de cámaras celulares requerido dependerá de la capacidad luminal de la cámara.

Dispositivos modulares con múltiples cámaras

[0069] Pueden proporcionarse dispositivos o ensamblajes que contengan una pluralidad o una multiplicidad de cámaras celulares interconectadas por zonas libres de células, por ejemplo, pliegues o dobleces. Por ejemplo, un

ejemplo comprende múltiples cámaras celulares porosas que están conectadas lateralmente entre sí (véase las FIGS. 3-70). En un ejemplo, las múltiples cámaras celulares porosas se forman, por ejemplo, uniendo por ultrasonidos la superficie superior e inferior de un material poroso a lo largo de una línea sustancialmente paralela a un eje longitudinal del dispositivo y aloja cualquiera de las 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o más cámaras celulares. Cada cámara celular tiene una capacidad de volumen fija, por ejemplo 100 μL , con uno o más puertos y una espuma o soporte de la matriz interna, y, si es conveniente, una soldadura o soldaduras internas para limitar periódicamente la expansión del lumen o compartimento, el dispositivo de encapsulación descrito en el presente documento puede comprender al menos dos cámaras porosas o suficientes cámaras para alojar una dosis humana adecuada de islotes derivados de células madre pluripotentes para tratar y hacer que mejore un sujeto con diabetes una vez implantadas. En algunos ejemplos, cada cámara tiene sustancialmente el mismo diámetro interno, y puede contener aproximadamente el mismo número de células. La disponibilidad de múltiples cámaras permite el uso de cualquier número o combinación de cámaras dependiendo del volumen de preparación celular requerido, prescrito por la pauta de tratamiento de la enfermedad, que deben determinarla los conocimientos y habilidades de los expertos en la materia.

[0070] Las cámaras celulares adyacentes en un dispositivo o ensamblaje de múltiples cámaras pueden adoptar diferentes diseños, capacidad de volumen, dimensiones transversales y zonas de superficie. En un ejemplo, pueden formarse múltiples cámaras celulares porosas uniendo por ultrasonidos la red polimérica desde un extremo proximal hasta un extremo distal creando zonas libres de células en cada soldadura. Las superficies superior e inferior de las cámaras celulares son continuas a lo largo de la una o más cámaras celulares, excepto donde están interrumpidas por líneas soldadas por ultrasonidos o por otras formas de crear zonas libres de células. El núcleo o centro de cada cámara celular puede contener un sello o una soldadura en el interior de la cámara celular para crear una zona "libre de células" en el centro de la cámara, con el fin de dividir la cámara y reducir la posibilidad de un núcleo necrótico de células en el centro del dispositivo; que puede ocurrir cuando el diámetro de las cámaras celulares se vuelve demasiado grande o demasiado ancho. Tales soldaduras o zonas libres de células también se describen en el documento de patente estadounidense del Solicitante N.º 8,278,106, en concreto en las Figuras 2-7, y en las solicitudes de diseño de patente del solicitante mencionadas anteriormente. Estas soldaduras o zonas libres de células pueden doblarse o plegarse en un ángulo, por ejemplo, de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, y 180 grados, que proporciona una configuración para aumentar el volumen celular añadiendo más cámaras celulares al ensamblaje del dispositivo, mientras al mismo tiempo limita, o en ocasiones reduce o disminuye la huella de todo el ensamblaje de dispositivo de cámaras múltiples.

[0071] Los dispositivos pueden estar conectados lateralmente entre sí y separados por soldaduras y/o zonas libres de células. Véanse, por ejemplo, las FIGS. 13-14. En uno de esos ejemplos, las múltiples cámaras celulares porosas se forman uniendo por ultrasonidos las superficies superiores e inferiores de un material poroso a lo largo de una línea sustancialmente paralela a un eje longitudinal del dispositivo y aloja al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o más cámaras celulares. Cada cámara puede alojar uno o más puertos en el mismo lado o en lados opuestos. De manera adicional, cada cámara puede tener un soporte de matriz interna y/o contener una soldadura interna.

[0072] De forma alternativa, las cámaras celulares individuales en cualquier dispositivo o ensamblaje no necesitan tener la misma configuración o diseño. Cada cámara puede adoptar diferentes diseños característicos incluyendo, pero sin carácter limitativo, cámaras celulares que puedan contener una espuma elastomérica, cámaras celulares con divisiones de soldaduras interiores tal como se ha descrito previamente en el documento de patente estadounidense del solicitante N.º 8,278,106, cámaras celulares con diferentes capas exteriores de redes, cámaras celulares con diferentes membranas porosas, cámaras celulares con membranas porosas adicionales (p.ej., una membrana vascularizante, o una membrana que eluya determinados factores para promover la vascularización), cámaras celulares de distinto tamaño para personalizar la dosis de células, etc. Los dispositivos o ensamblajes de múltiples cámaras celulares son importantes para distribuir altas dosis terapéuticas eficaces a un paciente mientras al mismo tiempo proporciona flexibilidad en las pautas posológicas y no aumenta la huella del dispositivo.

Fabricación del dispositivo

[0073] En el presente documento se expone un proceso de fabricación para fabricar uno o más de los dispositivos o ensamblajes con una o más cámaras celulares que consisten en varios componentes incluyendo, pero sin carácter limitativo, una red externa, una capa impermeable a las células pero porosa, la capa o película adhesiva y cualquier otro componente necesario para el dispositivo (p.ej., el puerto). Los métodos de fabricación pueden incluir, pero sin carácter limitativo, estampar, soldar, fundir, moldear, extrudir, matricería y/o troquelar y/o cortar (p.ej., cortar con láser, cortar con agua a presión, cortar con una herramienta de corte, etc.), cada uno de los componentes en capas de la cámara celular. Una o más capas pueden alinearse y estamparse o cortarse juntas, por ejemplo, con un láser.

[0074] En otro proceso de fabricación, pueden formarse una o más capas del dispositivo generando una imagen informática o dibujada a máquina del dispositivo o de una o más partes del dispositivo. Un paquete de *software* comercial común es AutoCAD, pero están disponibles y pueden utilizarse otros paquetes de *software* de dibujo informático. Estas capas se adhieren entre sí con técnicas habituales en la materia incluyendo, pero sin carácter limitativo, calafateo térmico, soldar (incluyendo por alta frecuencia o por ultrasonidos), encolar, pegar con cinta, adherir y fusionar por calor y presión mediante adhesivos o películas convencionales farmacéuticamente aceptables, y similares. Las soldaduras por ultrasonidos pueden utilizarse para unir las distintas hojas flexibles del dispositivo o la cámara celular por su velocidad, limpieza (no utiliza disolventes), y producción de costuras estrechas y delgadas y su fuerza.

10 Sellado o cerrado del dispositivo

[0075] Tal como se describe en el presente documento, los ensamblajes del dispositivo pueden consistir en al menos uno, preferiblemente al menos dos cámaras celulares que se forman soldando para sellar o cerrar por completo las células en la cámara celular. Se utiliza un número de técnicas para soldar plásticos y cualquiera de ellas se contempla en esta invención como un medio para sellar los dispositivos o ensamblajes de cámaras celulares. Por ejemplo, aunque los dispositivos descritos en el presente documento utilizan adhesivos, abrazaderas y soldaduras ultrasónicas de alta frecuencia, se contemplan otros métodos para soldar plásticos incluyendo, pero sin carácter limitativo, soldaduras por gas caliente o por aire caliente utilizando una pistola de calor o que produce un chorro de aire caliente que ablanda ambas partes a unir y una varilla de relleno de plástico; soldadura por aire/gas caliente; sellado por calor, incluyendo, pero sin carácter limitativo, un sellador de barra caliente, un sellador por impulso; soldar a mano donde el aire caliente (o aire inerte) esté en el área a soldar y en la punta de la varilla de soldar al mismo tiempo; soldadura por punta rápida; soldadura por extrusión, en particular, para unir materiales de en torno a 6 mm de espesor; soldadura por contacto; soldadura por placa térmica; soldadura por radiofrecuencia; soldadura por inyección, soldadura por ultrasonidos soldadura por fricción; soldadura por rozamiento; soldadura con láser; soldadura de plásticos transparentes por láser; y sellado con solvente. Estos y otros métodos para soldar plásticos se conocen bien en la técnica, y un experto en la materia puede emplear cualquier medio para satisfacer las necesidades de adherir o unir materiales.

[0076] Tal como se describe en el presente documento, puede usarse cualquier método adecuado para sellar las cámaras celulares. Los métodos preferidos para sellar incluyen el uso de adhesivos de polímero, engazar, anudar y sellar por calor. Estas técnicas de sellado son conocidas en la técnica. En otros modos de realización preferidos, se utiliza cualquier método de sellado "seco" adecuado, tal como se describe en el documento de patente estadounidense N.º 5,738,673. En dichos métodos, se proporciona una pieza de conexión sustancialmente no porosa mediante la cual se introduce la solución que contiene las células. Después de llenarlo, el dispositivo se sella. Los métodos para sellar los dispositivos se conocen bien en la técnica.

[0077] Tal como se describe en el presente documento, se expone un método para cerrar una cámara celular o dispositivo que comprende humedecer al menos una parte de una membrana polimérica permeable del dispositivo con un líquido y aplicar calor en al menos una parte del polímero termoplástico húmedo en asociación con la membrana para crear un cierre. En el presente documento, se hace referencia a este cierre como un "sello húmedo". En este proceso de "sellado húmedo", el polímero termoplástico se funde a menor temperatura que la membrana polimérica. Una vez fundido, el polímero de termoplástico se integra con la membrana polimérica y fluye a lo largo de las superficies y hacia los intersticios disponibles de la membrana. A través de pasajes se llenan con el polímero fundido, bloqueando por tanto la comunicación de los fluidos en la membrana polimérica en la región del cierre. Cuando el polímero termoplástico se enfría por debajo de su temperatura de fundición, se forma un cierre en el dispositivo. El cierre es a prueba de células y a menudo de líquidos. La parte del dispositivo que presenta un cierre formado por un sello húmedo delinea una región del dispositivo impermeable a las células.

[0078] Descrito en el presente documento también hay un método para cerrar un dispositivo de contención que comprende humedecer una membrana de politetrafluoroetileno expandido (ePTFE) del dispositivo de contención con un líquido, y aplicar calor a una parte de la membrana en contacto con un polímero termoplástico, como etileno propileno fluorado (FEP), para crear un cierre. El cierre se forma fundiendo y fusionando el polímero a sí mismo y a la membrana en presencia del líquido.

[0079] También está descrito en el presente documento un método para cerrar una cámara celular o dispositivo que comprende aplicar suficiente calor a una parte de la membrana permeable en conjunto con un polímero termoplástico para fundir y hacer fluir el polímero termoplástico, seguido de doblar la membrana/combinación de polímero termoplástico en la región de que se ha calentado para formar un cierre. La membrana/combinación de polímero termoplástico también es alargada mientras se calientan o doblan los materiales. Después de calentarlo, doblarlo, y estirarlo, se forma una región de separación y la membrana se corta en la región de separación.

[0080] Estos y otros métodos de "sellado húmedo" se describen en detalle en el documento de patente estadounidense N.º 6,617,151.

Dispositivos inmovilizados

[0081] En el presente documento se describe un dispositivo implantable, que puede inmovilizarse en un lugar de implantación para mantener la célula encapsulada y/o agente biológico activo en el lugar de implantación y permitir la difusión de, por ejemplo, un polipéptido terapéutico expresado y secretado a partir del lugar de implantación. Tales medios para inmovilización del dispositivo en la implantación pueden ser aletas de sutura en el dispositivo tal como se ha descrito anteriormente o se conciben otros medios para fijar o encolar el dispositivo al lugar anatómico. El lugar de implantación puede estar en, o cerca y próximo a, el tejido u órgano que sea centro del tratamiento. Cuando la distribución del agente secretado a partir del dispositivo no depende de la ubicación y la biodistribución del agente depende de la vasculatura, el dispositivo se puede implantar en una ubicación distante o cerca de un gran vaso sanguíneo o un lecho capilar. Por ejemplo, el dispositivo biocompatible puede implantarse subcutáneamente bajo la piel en el antebrazo, o en el costado, o en la espalda, o en el glúteo, o en la pierna y similares, donde permanece sustancialmente hasta el momento en el que se requiera que se retire o explante.

Dispositivos expandibles

[0082] Los dispositivos implantables convencionales están fabricados normalmente de materiales biocompatibles rígidos no expandibles. En un ejemplo, los dispositivos o ensamblajes son expandibles. Si el dispositivo es capaz de expandirse puede ser una parte inherente de los materiales empleados para fabricar el dispositivo, por ejemplo, un recubrimiento polimérico que sea expandible, o se puede diseñar para que sea expandible o tenga capacidades expandibles. Por ejemplo, se proporciona un dispositivo que se expande en tamaño para albergar células adicionales o para recargar un dispositivo existente.

[0083] El ensamblaje o dispositivo de gran capacidad puede contenerse en una estructura más grande o en un recipiente o caja, que sea algo más rígida, y no expandible pero que permita que uno o más dispositivos de encapsulación celular se contengan en el mismo. El recipiente puede ser análogo a una caja de casete capaz de contener uno o más casetes. Alternativamente, el recipiente puede contener una pluralidad de dispositivos donde sólo algunos de ellos estén cargados con células encapsuladas o tengan células encapsuladas, mientras que otros están vacíos, y se pueden cargar y llenar con las células o los agentes en un periodo de tiempo posterior o en cualquier periodo de tiempo posterior a la implantación inicial. Tal carcasa implantable comprende materiales inertes adecuados para la implantación en el cuerpo, por ejemplo, metal, titanio, aleación de titanio o una aleación de acero inoxidable, plástico, y cerámica apropiados para la implantación en un mamífero, más específicamente, en el cuerpo humano.

Dispositivos de encapsulación celular recargables

[0084] Descrito en el presente documento se encuentra un dispositivo de encapsulación con una reserva, lumen, depósito o compartimento recargable, que se puede llenar o descargar periódicamente con agentes activos y/o células terapéuticas o biológicamente adecuados. Tal llenado se puede realizar inyectando una cantidad terapéuticamente eficaz de las células y/o agentes activos terapéuticos o biológicamente apropiados en un depósito, lumen, recipiente o compartimento implantado, por ejemplo, subdérmica o subcutáneamente empleando una jeringa u otro medio estándar en la técnica para llenar recipientes, lúmenes, depósitos o compartimentos *in vivo*.

Células encapsuladas

[0085] Las células encapsuladas en los ensamblajes de dispositivo tridimensional de gran capacidad incluyen, pero sin carácter limitativo, mesendodermo, células de tipo linaje endodérmico definitivo, incluyendo, pero sin carácter limitativo, intestino cefálico negativo en PDX-1, intestino cefálico positivo en PDX-1, endodermo pancreático (PE o PEC), progenitores pancreáticos, progenitores o precursores endocrinos, células endocrinas como células beta inmaduras y similares. En general, las células de linaje endodérmico definitivo también pueden incluir cualquier célula derivada del endodermo definitivo y sus derivados y descendientes, incluyendo, pero sin carácter limitativo, los órganos que se derivan del tracto digestivo como los pulmones, hígado, timo, glándulas tiroideas y paratiroides, vesícula biliar y páncreas. Véase Grapin-Botton y Melton, 2000; Kimelman y Griffin, 2000; Tremblay et al., 2000; Wells y Melton, 1999; Wells y Melton, 2000. Estas y otras células de tipo linaje endodérmico definitivo se han descrito en detalle por el Solicitante. Otros ejemplos descritos en el presente documento se describen de manera adicional en detalle en al menos los documentos de patente estadounidense N.º: 7,958,585, PREPRIMITIVE STREAK AND MESENODERM CELLS; 7,510,876, 8,216,836, 8,623,645 DEFINITIVE ENDODERM; 8,129,182, ENDOCRINE PRECURSOR CELLS, PANCREATIC HORMONEEXPRESSING CELLS AND METHODS OF PRODUCTION; 8,278,106, ENCAPSULATION OF PANCREATIC CELLS DERIVED FROM HUMAN PLURIPOTENT STEM CELLS; y el documento de solicitud de patente estadounidense N.º 14/106,330, IN VITRO DIFFERENTIATION OF PLURIPOTENT STEM CELLS TO PANCREATIC ENDODERM CELLS (PEC) AND ENDOCRINE CELLS, presentado el 13 de diciembre de 2013.

5 **[0086]** Los aspectos descritos en la presente memoria contemplan también células diferenciables a partir de cualquier fuente dentro de un animal, siempre que las células sean diferenciables tal como se define en la presente memoria. Por ejemplo, las células diferenciables se pueden recolectar de embriones, o de cualquier estrato germinal primigenio del mismo, a partir de un tejido placentario o del corion, o a partir de más tejidos maduros tales como células madre adultas que incluyen, pero no se limitan a, tejido adiposo, médula ósea, tejido nervioso, tejido mamario, tejido hepático, tejido del páncreas, tejido epitelial, tejido respiratorio, tejido de las gónadas y tejido muscular. Las células diferenciables pueden ser células madre embrionarias. Las células diferenciables pueden ser células madres adultas. Las células madre pueden ser células madre derivadas de la placenta o del corion.

10 **[0087]** Por supuesto, las exposiciones del presente documento contemplan el empleo de células diferenciables a partir de cualquier animal capaz de generar células diferenciables. Los animales de los que se recolectan las células diferenciables pueden ser vertebrados o invertebrados, mamíferos o no mamíferos, seres humanos o no humanos. Ejemplos de fuentes animales incluyen, pero sin carácter limitativo, primates, roedores, cánidos, felinos, équidos, bovinos y porcinos.

15 **[0088]** Las células diferenciables pueden derivarse empleando cualquier método conocido por los expertos en la técnica. Por ejemplo, las células pluripotentes humanas pueden producirse empleando desdiferenciación. Las células del ectodermo primitivo se pueden generar en un cultivo adherente o como agregados en un cultivo en suspensión, como se describe en WO 99/53021. Además, las células pluripotentes humanas se pueden cultivar empleando cualquier método conocido por los expertos en la materia, incluyendo métodos de cultivo manual, y
20 métodos de cultivo masivo, tales como el cultivo enzimático o no enzimático.

[0089] Las composiciones y métodos descritos en el presente documento a modo de referencia solo contemplan el uso de varias células madre pluripotentes diferenciables incluyendo células madre pluripotentes humanas como hESC, incluyendo, pero sin carácter limitativo, CyT49, CyT212, CyT203, CyT25 (disponible en el mercado al menos en el momento de presentar este formulario instantáneo desde ViaCyte Inc., situada en 3550
25 General Atomics Court, San Diego CA 92121), BGO1, BG02 y MEL1, y células madre pluripotentes inducidas (iPS), células como iPSC-482c7 y iPSC-603 (Cellular Dynamics International, Inc., Madison, Wisconsin) y iPSC-G4 (en adelante, "G4") y iPSC-B7 (en adelante, "B7") (Shinya Yamanaka, Center for iPS Cell Research, Kyoto University); a continuación se describen en detalle estudios que utilizan G4 y B7. Determinadas de estas células madre pluripotentes humanas están registradas con registros nacionales como los Institutos Nacionales de la Salud (NIH) de EE. UU., e incluidas en el Registro de Células Madre Humanas de los NIH (por ejemplo, CyT49, N.º de Registro. #0041). Puede encontrarse información sobre las CyT49, y también otras líneas celulares disponibles en la red informática mundial en stemcells.nih.gov/research/registry. Otras líneas celulares, por ejemplo, BG01 y BG01v, se venden y se distribuyen a terceras partes por WiCell®, un afiliado del Banco Internacional de Células Madre de Wisconsin (WISC) (Nombre de catálogo, BG01) y ATCC (N.º de catálogo SCRC-2002), respectivamente. Mientras que otras líneas celulares descritas en el presente documento pueden no estar registradas o ser distribuidas por un depósito biológico, como WiCell® o ATCC, tales líneas celulares están disponibles para el público directamente o indirectamente en los principales investigadores, laboratorios y/o
30 instituciones. Las solicitudes públicas de líneas celulares y reactivos, por ejemplo, son habituales para los expertos en la materia en las ciencias de la vida. Normalmente, la transferencia de estas células o materiales se realiza mediante un acuerdo de transferencia de materiales estándar entre el propietario de la línea celular o del material y el destinatario. Estos tipos de transferencias de materiales ocurren frecuentemente en un entorno de investigación, particularmente en las ciencias de la vida.

[0090] En agosto de 2006, Klimanskaya et al. demostraron que el hESC puede derivarse de blastómeros individuales, manteniendo por tanto el embrión intacto y evitando su destrucción. Las biopsias de cada embrión se llevaban a cabo utilizando técnicas de micromanipulación y diecinueve (19) excrecencias similares a células madre embrionarias y se obtuvieron (2) líneas de hESC estables. Estas líneas de hESC eran capaces de mantenerse en un estado indiferenciado durante unos seis (6) meses, y mostraron cariotipos normales y expresiones de marcadores de pluripotencia, incluyendo Oct-4, SSEA-3, SSEA-4, TRA-1-60, TRA-1-81, Nanog y fosfatasa alcalina. Estos hESC pueden diferenciar y formar derivados de las tres (3) capas germinales embrionarias y formarse *in vitro* y en teratomas *in vivo*. Estos métodos para crear nuevas líneas de células madre sin destruir embriones abordan la cuestión ética de utilizar embriones humanos. Véase Klimanskaya, et al. (2006) *Nature* 444:481-5, Epub 23 Ago 2006. No obstante, Klimanskaya et al. cocultivaron la línea de hESC derivada con otro hESC. Después, in 2008, Chung Y. et al. pudieron volver a obtener líneas celulares de hES a partir de un único blastómero pero sin cocultivarla con hESC. Véase Chung Y. et al., *Cell Stem Cell* 2008, 2(2),
55 113-117. Por consiguiente, la producción de células para la encapsulación tal como se proporciona en el presente documento puede practicarse sin destruir o comercializar embriones humanos.

[0091] Las bases de datos existentes describen y proporcionan información sobre varias líneas de células madre pluripotentes y se actualizan periódicamente. Estas bases de datos incluyen, pero sin carácter limitativo, el Registro de Células Madre Humanas de los Institutos Nacionales de la Salud (NIH), el Registro de Células Madre Embrionarias Humanas y el Registro Internacional de Células Madre situado en el University of Massachusetts Medical School, Worcester, Massachusetts, EE. UU.

Métodos para incrementar la viabilidad celular

[0092] Un obstáculo en el campo de la encapsulación/inmunoaislamiento celular y tisular ha sido la falta de transporte de nutrientes y oxígeno suficientes a través de las membranas de polímero empleadas para encapsular células y tejidos. El resultado de este intercambio insuficiente de nutrientes y de gas es la disminución de la actividad metabólica y la muerte celular. Las exposiciones de la presente memoria se refieren a un dispositivo de encapsulación celular implantable que resuelve esta deficiencia de la técnica anterior.

[0093] Se han medido las presiones parciales de oxígeno dentro de los islotes, en su entorno de origen, después del aislamiento, y después del trasplante en varios dispositivos poliméricos, así como puras o libres, por ejemplo, bajo la cápsula del riñón. Las presiones parciales de oxígeno en los islotes pancreáticos son las más altas de cualquier órgano del cuerpo (37-46 mm Hg). Sin embargo, tras el aislamiento, estos valores caen drásticamente (14-19 mm Hg). Tras el trasplante de los islotes pancreáticos en animales normoglucémicos los valores descienden ligeramente (9-15 mmHg) en comparación con sus valores aislados. Véase Dionne et al., *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs.* 1989; 35: 739-741; y Carlsson et al., *Diabetes* Julio 1998 47 (7) :1027-32. Estos estudios demuestran que cuando los tejidos se inmoaislan y trasplantan, incluso en una región vascularizada, tal como la cápsula del riñón, las presiones parciales de oxígeno disminuyen en comparación con sus estados originales (37-46 mmHg). Por lo tanto, estas condiciones casi anóxicas pueden dar como resultado la muerte celular, en particular cuanto más cerca esté una célula al núcleo de una agrupación celular o al núcleo de un dispositivo de encapsulación.

[0094] Para alcanzar una mejor disponibilidad y reparto del oxígeno para las células o tejidos encapsulados y/o a los agentes activos biológicamente, los dispositivos descritos en el presente documento se refieren al uso de, por ejemplo, sustancias perfluoradas en el diseño y/o formulación del dispositivo, por ejemplo, en las membranas o materiales empleados para ensamblar el dispositivo. En particular, los compuestos orgánicos perfluorados, por ejemplo, perfluorocarbonos (PFC), son buenos disolventes ya que tienen una solubilidad varias veces mayor para el oxígeno que para el agua. Por ejemplo, bajo condiciones normales, los PFC líquidos disuelven entre el 40 % y 55 % en volumen de oxígeno y entre el 100 y 150 % en volumen del CO₂. Los PFC se utilizan principalmente como sustitutos sanguíneos y como conservantes tisulares. Adicionalmente, los derivados de PFC son compuestos densos, químicamente inertes, e insolubles en agua que no se pueden metabolizar.

[0095] El aumento de la distribución de O₂ puede llevarse a cabo por una emulsión de PEC o por una mezcla de PEC con alguna matriz. Los componentes o células del dispositivo se podrían, por ejemplo, suspender o impregnar o incubar en la emulsión/matriz para formar un recubrimiento. Se han conocido determinadas emulsiones de PFC con mayores concentraciones en peso/volumen por tener un mejor reparto de oxígeno y retención de las propiedades. Y debido a la mayor presión parcial de oxígeno creada por las capacidades de transporte de O₂ de los PFC, se crea un gradiente de presión del O₂ que lleva la difusión del oxígeno disuelto al tejido, mejorando así la distribución de O₂ a las células.

[0096] La sustancia PFC incluye, pero no se limita a, perfluorotributilamina (FC-43), perfluorodecalina, bromuro de perfluorooctilo, bis-perfluorobutiletano, u otros PFC adecuados. Los PFC preferidos contienen normalmente desde aproximadamente 60 hasta aproximadamente 76 por ciento en peso de flúor unido a carbono. Los fluidos perfluorados pueden ser compuestos individuales, pero a menudo serán una mezcla de tales compuestos. Patentes estadounidenses con N.º 2,500,388 (Simons); 2,519,983 (Simons); 2,594,272 (Kauck et al.); 2,616,927 (Kauck et al.); y 4,788,339 (Moore et al.). Los PFC útiles en los dispositivos y aparatos descritos en el presente documento incluyen también los descritos en la *Encyclopedia of Chemical Technology*, Kirk-Othmer, 3ª Ed., Vol. 10, pp. 874-81, John Wiley & Sons (1980). Por ejemplo, entre los PFC útiles se incluyen: perfluoro-4-metilmorfolina, perfluorotrietilamina, perfluoro-2-etiltetrahidrofurano, perfluoro-2-butiltetrahidrofurano, perfluoropentano, perfluoro-2-metilpentano, perfluorohexano, perfluoro-4-isopropilmorfolina, perfluorodibutyleter, perfluoroheptano, perfluorooctano, y mezclas de los mismos. Entre los líquidos fluoroquímicos inertes preferidos se incluyen el perfluorohexano, perfluoro-2-butiltetrahidrofurano, perfluoroheptano, perfluorooctano, y mezclas de los mismos. Entre los PFC disponibles comercialmente útiles en los dispositivos y aparatos descritos en el presente documento se incluyen los fluidos FLUORINERT, por ejemplo, FC-72, FC-75, FC-77 y FC-84, descritos en el boletín del producto 1990 #98-0211-5347-7 (101.5) NPI, fluidos FLUORINERT, (disponibles en Minnesota Mining and Manufacturing Company, St. Paul, Minn.) y mezclas de los mismos.

Soporte, espuma o matriz lumenal

[0097] Pueden utilizarse estrategias para aumentar el suministro de oxígeno a lo largo de la cámara de encapsulación, en particular, un aumento del suministro de oxígeno en las proximidades de las partes internas de la cámara celular.

[0098] Un método o medio para aumentar el oxígeno en el núcleo de la cámara celular puede consistir en proporcionar un soporte, espuma o matriz de cámara o lumenal o inserción entre las paredes del dispositivo de encapsulación celular que forman la cámara celular. Dicha matriz consiste sustancialmente en cavidades o poros interconectados de un tamaño que permite que las células, o agrupación celular o agregados celulares residan en los espacios abiertos o en los poros y también son conductos, tuberías o canales para transportar oxígeno y

otros nutrientes a las células a lo largo de la matriz de espuma. El tamaño de los poros, la densidad de los poros y el volumen en vacío del soporte de espuma puede variar. La forma de los poros puede ser circular, elíptica o irregular, capaz de contener células individuales, agrupaciones de células o agregados. Como la forma de los poros puede variar considerablemente, sus dimensiones pueden variar según el eje que se mida. Tal como se expone en el presente documento, al menos algunos poros en la espuma deberían tener un diámetro de entre 40 a menos de 1000 μm , preferiblemente entre 50 y 500 μm , preferiblemente entre 50 y 400 μm , preferiblemente entre 50 y 300 μm , preferiblemente entre 50 y 200 μm , y preferiblemente entre 50 y 100 μm . Los poros de la espuma pueden ser circulares y/o no circulares, y si no son circulares (p. ej., elípticos), el poro puede tener dimensiones variables, en tanto que su tamaño sea suficiente para permitir que una célula permanezca en la cavidad o superficies de dentro del poro. Además de los tamaños de poros de células permisivos anteriores, preferiblemente al menos una fracción de las cavidades y poros en la espuma debe ser de menos de 10 μm para no permitir células pero sí proporcionar canales para el transporte de nutrientes y moléculas biológicamente activas a través de la espuma, incluyendo oxígeno.

[0099] La densidad de los poros de la espuma (es decir, el número por volumen de poros que pueden alojar células, tal como se ha descrito anteriormente) puede variar entre el 20-90 %, preferiblemente entre el 50-70 %.

[0100] La espuma o matriz luminal puede ser una matriz de elastómero. Se han descrito varios polímeros elastoméricos, por ejemplo, el documento WO2010/121024 de Stabler et al. describe un compuesto para distribuir oxígeno que incluye un soporte polimérico biocompatible incluyendo, pero sin carácter limitativo, siliconas, poliolefinas, poliésteres, poliestireno, copolímeros de los mismos, y mezclas de los mismos. El soporte polimérico puede incluir de manera adicional un polímero que contenga siloxisilano incluyendo, pero sin carácter limitativo, vinil-, alquil-, o alquilarilsiloxisilano formado a partir de precursores de polímero que incluyen monómeros, oligómeros y polímeros incluyendo, pero sin carácter limitativo, polidimetilsiloxano (PDMS), monoacrilato de polidimetilsiloxano, monometacrilato de polidimetilsiloxano, y mezclas de los mismos.

[0101] El término "elastómero de silicona" o "composición de silicona" o "matriz de silicona" tal como se entiende en el presente documento es un término amplio, y debe dársele su significado normal y habitual para una persona experta en la materia (y no debe limitarse a un significado especial o personalizado), y hace referencia sin carácter limitativo a una constitución de materia que comprende polímeros que presentan al menos átomos de silicio y oxígeno en la cadena principal.

[0102] Otros materiales no bioabsorbibles pueden incluir polímeros como polietileno, poliacetato de vinilo, polimetilmetacrilato, silicona, óxido de polietileno; polietilenglicol, poliuretanos, alcohol polivinílico, biopolímeros naturales (por ejemplo, partículas de celulosa, quitina, queratina, seda y partículas de colágeno), y polímeros y copolímeros fluorados (p.ej., fluoruro de polivinilideno, politetrafluoroetileno, y hexafluoropropileno).

[0103] El PDMS puede estar formulado con PFC oxigenado tal como se ha descrito anteriormente o con hidróxido de calcio como una fuente de oxígeno.

Síntesis de soportes de espuma generalmente

[0104] El soporte de espuma se adapta para ajustarse al dispositivo, según sea apropiado. Para dispositivos tubulares (o de fibras huecas), la estructura de espuma puede formar un tubo o una barra cilíndrica, un tubo o una barra rectangular, o cualquier otra forma oblicua, en tanto que pueda ajustarse dentro del lumen de la fibra hueca. Se apreciará que, en algunos ejemplos, la estructura de espuma puede tener aletas u otras protuberancias que pueden entrar en contacto con la pared interior de la fibra hueca.

[0105] El dispositivo celular puede estar formado a partir de una membrana de fibra hueca con una estructura de espuma interna cilíndrica.

[0106] El dispositivo también puede tener la forma de un dispositivo de hoja plana. Los dispositivos de hoja plana se describen en detalle en el documento WO92/19195, en las solicitudes de diseño estadounidense N.º 29/408366, 29/408368, 29/408370 y 29/423,365 y en las publicaciones de Baxter mencionadas anteriormente. Dicho dispositivo de hoja plana de esta invención se caracteriza generalmente por una primera membrana de hoja plana con una primera superficie interior, y una segunda membrana de hoja plana con una segunda superficie interior, selladas las dos membranas en la periferia, con la estructura de espuma situada entre ambas membranas. Entonces pueden introducirse las células a través de un puerto de acceso, y completar el sellado con una clavija insertada en el puerto.

[0107] Los dispositivos pueden formarse según cualquier método adecuado. En un ejemplo, el soporte de espuma puede formarse previamente e insertarse en una cubierta prefabricada, p.ej., una membrana de fibra hueca, como un componente discreto.

Capacidad de imagen *in vivo*

[0108] En el presente documento también se describen medios para la obtención de imágenes o detección de las células dentro de los dispositivos de encapsulación *in vivo*. Las imágenes desempeñan importantes funciones en las terapias de células madre. Por ejemplo, la obtención de imágenes de forma no invasiva se puede emplear

para: (1) determinar la presencia, gravedad o fenotipo de la célula y/o enfermedad a tratar; (2) controlar las terapias celulares de implante para la aparición de tipos celulares y estructuras perjudiciales o que no sean dianas, tal como quistes o microquistes; (3) guiar la distribución de la terapia; (4) seguir el trascurso de la enfermedad y evaluar los efectos o la eficacia de la terapia; (5) proporcionar marcadores y definir mecanismos terapéuticos; (6) analizar y evaluar la supervivencia y la función de las células injertadas; (7) detectar y monitorizar la vascularización de los dispositivos, que es importante para la supervivencia de las células encapsuladas; y (8) generalmente facilitar el proceso de cualquier terapia celular, por ejemplo, determinando el injerto, supervivencia, y función local de la terapia celular, incluyendo las terapias celulares descritas en el presente documento para el tratamiento de la diabetes mediante la sustitución y/o implantación de células progenitoras pancreáticas. Además, aunque las terapias celulares tienen como objetivo disminuir la morbilidad/mortalidad, las técnicas no invasivas de obtención de imágenes tal como se describen en el presente documento y con más detalle más abajo, pueden servir como un criterio de valoración indirecto útil, por ejemplo, en ensayos preliminares o en estudios preclínicos.

[0109] Cualquier tecnología de obtención de imágenes *in vivo* es idealmente: i) no invasiva; ii) repetitiva de forma fiable; iii) capaz de penetrar en el tejido hasta una profundidad de al menos 3 mm; iv) capacidades de resolución de no más de 500 μm y preferiblemente no mayor de 50 μm a 100 μm ; v) la obtención de imágenes no se atenúa por los materiales del dispositivo, por ejemplo, se puede obtener una imagen a través de PTFE; vi) compatible clínicamente y no ser técnicamente incómoda o complicada; vii) disponible comercialmente; viii) uso humano aprobado por la FDA; ix) bastante rentable; y x) puede obtener imágenes de células en un periodo de tiempo razonable (por ejemplo, segundos o minutos), o cualquier combinación de lo anterior.

[0110] Hasta la fecha, los métodos actuales incluyen, pero no se limitan a, microscopía confocal, microscopía de 2 fotones, ultrasonido de alta y baja frecuencia, tomografía de coherencia óptica (OCT), tomografía fotoacústica (PAT), tomografía computarizada (CT), imagen de resonancia magnética (MRI), tomografía computarizada de emisión de un solo fotón (SPECT) y tomografía por emisión de positrones (PET). Estas tecnologías en solitario o combinadas pueden proporcionar medios útiles para vigilar las células trasplantadas. Asimismo, se espera que tales tecnologías mejoren a lo largo del tiempo pero que los principios esenciales de cómo funciona cada tecnología o su utilidad sea sustancialmente similar. Dicho esto, las imágenes *in vivo* descritas en el presente documento no pretenden limitarse a las tecnologías descritas a continuación, sino a las tecnologías descubiertas y descritas posteriormente que podrían tener la misma utilidad que las que se describen en la presente memoria.

[0111] Tal como se describe en el presente documento, la técnica de obtención de imágenes empleada será no invasiva y proporcionará datos tomográficos 3-dimensionales, tendrá una alta resolución temporal y espacial, permitirá imágenes moleculares, y será económica y portátil. Aunque en la actualidad ninguna modalidad en solitario es ideal (discutido con más detalle a continuación), cada una tiene diferentes atributos y estas modalidades juntas pueden proporcionar información complementaria.

[0112] La microscopía confocal es una técnica óptica de obtención de imágenes que incrementa el contraste de la micrografía y es capaz de reconstruir imágenes tridimensionales mediante el empleo de un agujero estenopeico espacial para eliminar la luz desenfocada de los especímenes que son más gruesos que el plano focal. Como solo se ilumina un punto en la muestra al mismo tiempo, las imágenes en 2D o 3D requieren el escaneo sobre una trama regular (es decir, un patrón rectangular de líneas de escaneo paralelo) en el espécimen. Se emplean normalmente tres variaciones de escaneo principal para producir imágenes de microscopía confocal. Se puede conseguir una operación confocal prácticamente equivalente empleando una etapa de transformación lateral del espécimen acoplada a un haz de luz de iluminación estacionaria (etapa de escaneado), un haz de luz escaneado con una etapa estacionaria (haz de escaneado), o mediante el mantenimiento de tanto la etapa como la fuente de luz estacionaria mientras se escanea el espécimen con un conjunto de puntos de luz que se transmiten a través de la aperturas en un disco giratorio Nipkow o Nipkov. Cada técnica tiene características de rendimiento que las hace ventajosas para aplicaciones confocales específicas, pero que limitan el uso de la característica para otras aplicaciones.

[0113] Todas las microscopías confocales cuentan con la capacidad de la técnica para producir imágenes de alta resolución, secciones ópticas terminadas, en secuencia a través de las secciones relativamente gruesas o del montaje completo de los especímenes. Basándose en la sección óptica como la unidad de imagen básica, los datos se pueden recoger a partir de especímenes fijados y teñidos en modos de iluminación con longitudes de onda individuales, dobles, triples o múltiples, y las imágenes recogidas con las diferentes estrategias de iluminación y marcaje estarán en coincidencia entre sí. Son posibles las secuencias y las imágenes de células vivas en un periodo de tiempo, y los métodos de procesamiento de imagen digital aplicado a las secuencias de imágenes permiten la representación de series-z y tridimensionales de los especímenes, así como la presentación de datos 3D de secuencias a lo largo del tiempo como imágenes en cuatro dimensiones. El uso de los microscopios confocales anteriores no es limitativo ya que otros microscopios confocales actuales o que se descubran posteriormente también se abarcan tal como se describe en el presente documento.

[0114] Hay disponible un gran número de sondas fluorescentes que, cuando se incorporan en protocolos relativamente simples, pueden teñir determinados marcadores de superficie celular y/o proteínas y estructuras y

orgánulos intracelulares, por ejemplo, Celltracker, Dll, colorantes vitales nucleares, y similares. Los marcadores fluorescentes que se unen de forma específica directa o indirectamente a determinados marcadores de superficie celular, pueden ser útiles especialmente para la identificación de, por ejemplo, tipos celulares indeseados. Las imágenes *in vivo* en tiempo real para la presencia de células pluripotentes encapsuladas pueden proporcionar un medio para detectar, y por lo tanto, el potencial para prevenir, la formación de teratomas causada por las células madre pluripotentes, tal como hES o células gonadales embrionarias humanas o por células madre pluripotentes inducidas (IPS) o células *parthenote*, y similares. Los mismos medios de detección también pueden identificar células madre pluripotentes que se hayan escapado o fugado del dispositivo (o que ya no están encapsuladas). La identificación de tales células también se puede realizar empleando genes promotores marcados fluorescentemente OCT4 y NANOG que están regulados al alza en la expresión de células madre pluripotentes. De manera similar, determinados marcadores fluorescentes intracelulares que marcan el núcleo, el aparato de Golgi, el retículo endoplásmico, y la mitocondria, e incluso tintes tales como faloidinas marcadas fluorescentemente que marcan la actina polimerizada en las células, están también disponibles comercialmente y pueden proporcionar información crucial a cerca del destino de una célula.

[0115] Tal como se describe en el presente documento, la microscopía de fluorescencia de excitación de dos fotones (TPEF) es un medio no invasivo para controlar la diferenciación o, de forma inversa, para identificar células madre pluripotentes (por ejemplo, células hESCs o IPS o células *parthenote*) que no se diferenciaron y se implantaron inadvertidamente como un porcentaje muy pequeño de células de producto que se encapsularon en el dispositivo descrito en la presente memoria. La microscopía de fluorescencia de excitación de dos fotones se basa sustancialmente en fuentes endógenas de contraste, pero puede detectar también, por ejemplo, moléculas de matriz fibrilar a través de una generación armónica secundaria. En resumen, la microscopía de dos fotones se basa en una emisión de fluorescencia similar a la que se emplea en la microscopía confocal. Rice et al. (2007) describieron que la TPEF se puede emplear para revelar diferencias cuantitativas en el estado bioquímico y en la forma de diferenciación y no diferenciación de las células madre en dos dimensiones (2-D). Véase Rice et al. (2007) *J Biomed Opt.* 2007 Nov-Dic; 12 (6). Las células madre pluripotentes se pueden modificar genéticamente para expresar una proteína fluorescente, por ejemplo, una proteína fluorescente verde mejorada, e impulsada por células madre pluripotentes promotoras (por ejemplo, OCT4 o NANOG o cualquier otra célula madre pluripotente promotora identificada posteriormente). Para los dispositivos implantables que son más profundos que los implantes subcutáneos, es decir, por debajo de la superficie de la piel, la microscopía de fluorescencia de dos fotones proporciona imágenes no invasivas más profundas que la microscopía confocal. Además, la luz infrarroja que se usa es menos dañina para las células vivas que la exposición a la luz visible o ultravioleta, ya que la energía del fotón requerida para la excitación de fluorescencia sólo ocurre en el plano de enfoque y no se experimenta en las células o tejidos en los planos desenfocados.

[0116] Tal como se describe en el presente documento, el ultrasonido es portátil, esencialmente inocuo, versátil, y se puede realizar a tiempo real en el momento de la implantación del producto celular encapsulado y/o agente activo biológicamente encapsulado o como una herramienta de monitorización a lo largo de la implantación. En particular, los ultrasonidos de baja frecuencia convencionales y/o los correspondientes de alta frecuencia pueden utilizarse para proporcionar datos espectroscópicos cualitativos además de cuantitativos. Aunque el ultrasonido de alta frecuencia es capaz de aumentar la resolución de la imagen (30-80 μm sobre 20-50 MHz) en comparación con ultrasonidos clínicos de baja frecuencia (80 μm - 1,5 mm sobre 1-20 MHz), su profundidad de penetración en el tejido es limitada y limita su uso a sitios tisulares superficiales. Las imágenes de alta resolución permiten la evaluación *in vivo* de las estructuras anatómicas y de la función hemodinámica en estudios longitudinales de un mamífero. Por ejemplo, Vevo de VisualSonics ofrece: (1) la capacidad de realizar estudios longitudinales de la progresión y regresión de una enfermedad en sujetos individuales; (2) resolución de imagen de estructuras anatómicas y fisiológicas de hasta 30 micras; (3) capacidad para visualizar inyecciones y extracciones de aguja guiadas por imágenes; (4) valoración del flujo sanguíneo microcirculatorio y cardiovascular; (5) alto rendimiento a través de equipos de uso sencillo y una interfaz orientada a la investigación; y (6) arquitectura abierta que permite la medición completa y anotaciones y análisis de datos sin conexión. La capacidad para evaluar el flujo sanguíneo microcirculatorio y cardiovascular ayudará a determinar la viabilidad de las células, por ejemplo, el flujo y la distribución de O₂. En comparación, se ha mostrado que los ultrasonidos de baja frecuencia (aproximadamente 7-10 mHz) detectan cambios en el tejido microestructural que está relacionado con la muerte celular histológica en células de leucemia mielógena aguda expuestas a quimioterapia. Véase Azrif et al., *Conventional low-frequency ultrasound detection in apoptosis, Proceedings of the American Institute of Ultrasound in Medicine*, Nueva York, NY 2007 (AIUM Laura M.D., 2007) p.S185.

[0117] Tal como se describe en el presente documento, la imagen de resonancia magnética (MRI) se puede utilizar para distinguir entre un tejido sano y uno enfermo usando un agente de contraste. Pero, en otro modo de realización, se puede utilizar la tomografía computarizada (CT) o escaneos por CT para crear un dibujo detallado de los tejidos y estructuras corporales. De nuevo aquí, se utiliza un agente de contraste y facilita la visualización del tejido anormal debido a tasas de absorción específicas. Un uso de un agente de contraste, tal como el Indio-111 (I-111) oxina, es el seguimiento de las células madre, aunque tiene una vida media corta. Se puede emplear la tomografía por emisión de positrones (PET) para medir las emisiones a partir de moléculas que emiten positrones, por ejemplo, carbono, nitrógeno, y oxígeno por nombrar algunas, y proporcionar información funcional

útil. Se puede emplear también la tomografía de coherencia óptica (OCT) o la tomografía fotoacústica (PAT) para examinar las células y los tejidos dentro y fuera del dispositivo. La OCT detecta diferencias en la reflectividad de varios tejidos, mientras que la PAT detecta ondas ultrasónicas creadas cuando los tejidos se calientan mediante la exposición a luz láser de baja energía.

- 5 **[0118]** Se pueden emplear varios métodos y técnicas o herramientas, solos o combinados, para visualizar, analizar y evaluar las células implantadas dentro del dispositivo *in vivo*. Estas y otras tecnologías ahora conocidas o que se desarrollen más tarde se pueden utilizar en tanto que permitan obtener imágenes *in vivo* y monitorizar las células y/o agentes tal como se describe en la presente memoria.

EJEMPLOS

10 EJEMPLO 1

EXTRAPOLACIÓN DE UNA DOSIS DE PEC TERAPÉUTICAMENTE EFICAZ

- 15 **[0119]** Para ayudar a asegurar la adopción por la población del paciente, una terapia de encapsulación celular para el tratamiento de la diabetes como la que el Solicitante tiene como objetivo debe consistir preferiblemente en el mínimo número de productos celulares macroencapsulados (a los que también se hace referencia como el "producto combinado de VC") necesarios para proporcionar la dosis terapéuticamente eficaz para tratar al paciente con la enfermedad.

- 20 **[0120]** Para pacientes con diabetes insulino dependiente, la independencia de insulina requiere aproximadamente ~200 000 equivalentes insulares o "IEQ". El IEQ se calcula basándose en el número y diámetro de islotes presentes en la preparación, corregidos matemáticamente para el volumen de islotes. Un islote tiene aproximadamente 150 μm de diámetro. Los islotes con un diámetro variable se normalizan a un número de IEQ de 150 μm de diámetro compensando matemáticamente sus volúmenes. El número de IEQ terapéutico para tratar un paciente con diabetes de tipo insulino dependiente se ha determinado basándose en la descripción disponible para alotransplantes de islotes (por ejemplo, islotes de un donante cadáver), autotransplantes y masa de las células beta al inicio de la diabetes. Para alotransplantes, el IEQ diana es de 25 aproximadamente 10 000 IEQ por kilogramo de peso corporal; no obstante, solo aproximadamente el 40 % de los islotes sobreviven, proporcionando por tanto un efecto terapéutico de aproximadamente 4 000 IEQ/kg. En los autotransplantes de islotes, se devuelve toda la masa de islotes aislada del páncreas del paciente, y el IEQ total suele ser de 200 000 a 300 000 IEQ (distribución total) y frecuentemente hace que el paciente sea independiente de la insulina exógena. De forma similar, la supervivencia de los islotes en los autotransplantes también es un problema. Véase Korsgren et al. (2005), *Current Status of Clinical Islet Transplantation*, *Transplantation* 79: 1289-1293.

- 30 **[0121]** En vista de lo anterior, los Solicitantes estiman que el IEQ total necesario de un injerto de PEC está en el intervalo de aproximadamente 200 000 IEQ. La Figura 1 muestra un gráfico que representa la masa de células beta a la izquierda y el IEQ comparable a la derecha para obtener niveles similares de masa de células beta y/o función a la izquierda. El inicio de la diabetes ocurre cuando hay aproximadamente un 10-20 % de masa de células beta. No obstante, existe un amplio índice (de seguridad) de células terapéuticas, de manera que no tiene que restaurarse un 100 % de masa de células beta ("normal", estado sin diabetes) para conseguir la independencia de la insulina o la mejora de la enfermedad. Como las células de PEC implantadas no contienen islotes y por tanto no son equivalentes al IEQ hasta después de la maduración *in vivo*, los Solicitantes han medido la masa de células beta conseguidas *in vivo* basándose en el contenido total de proteína de péptido C de injertos de PEC encapsulados (o injertos VC-01) explantados después de la maduración *in vivo*. El péptido C también se mide en números conocidos de IEQ para extrapolar el contenido de péptido C injertado a IEQ. La Figura 2A es un gráfico que muestra el contenido total de proteína de péptido C humano de varios números de islotes cadáver humanos. Las partes alícuotas de islotes humanos en cantidades de IEQ definidas se obtuvieron de una fuente de terceros en un intervalo que oscila entre los 500 y los 5000 IEQ. El contenido en péptido C humano se midió utilizando la técnica ELISA, y tal como se muestra en la Figura 1A, existe una relación lineal entre el número de islotes humanos (IEQ) y el contenido total en proteína de péptido C (pM).

- 45 **[0122]** Utilizando esta relación lineal definida entre el número de IEQ y el contenido en proteína de péptido C, los Solicitantes pudieron medir el contenido total en proteína de péptido C humana de los injertos de PEC encapsulados, que sobre el periodo de 4 a 11 meses produjeron niveles de contenido total de péptido C en un intervalo de aproximadamente 1400-2000 pM. Véase la Figura 1B. Estos niveles de contenido total de péptido C humano pueden relacionarse después con la Figura 1A para determinar el intervalo de IEQ distribuido por el producto VC-01 en la maduración. En concreto, véanse las líneas discontinuas en la Figura 2B, que muestran el 25° percentil y la mediana del péptido C humano total encontrado en injertos de VC-01 madurados entre esos 55 sesenta animales. Cuando se relaciona con la Figura 1A, estos niveles de péptido C corresponden de aproximadamente 2500 a aproximadamente 3500 IEQ distribuidos por injertos de VC-01. Por tanto, un pequeño dispositivo de encapsulación (con un volumen funcional de aproximadamente 20 μL , o un dispositivo EN20) puede contener aproximadamente de 2 500 a 3 500 IEQ de masa de células beta o más de 80 000 IEQ por kg en

un ratón. Asumiendo la linealidad de la relación entre el volumen funcional del dispositivo de encapsulación y la capacidad de contener un volumen proporcionalmente mayor de células terapéuticas, un dispositivo de distribución de fármacos más grande, por ejemplo, un dispositivo que contenga aproximadamente 250 µL de volumen funcional (un dispositivo EN250) y sea aproximadamente 12,5 veces (12,5X) más grande que el dispositivo EN20 y pueda contener de aproximadamente ~30 000 a 45 000 IEQ. De forma similar, para un dispositivo EN100 (6,5X del dispositivo EN20) puede contener de aproximadamente 16 250 a 22 750 IEQ; y un dispositivo EN-LC (gran capacidad) (48,4X del dispositivo EN20) que contiene 4 cámaras celulares, puede contener de aproximadamente 121 000 hasta aproximadamente 169 400 IEQ, y así sucesivamente. Por tanto, para que se distribuya una dosis terapéuticamente eficaz a un paciente, se anticipa que se necesitará una encapsulación que utilice al menos aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 6, aproximadamente 7, aproximadamente 8 dispositivos EN250 o aproximadamente 2 dispositivos EN-LC para distribuir suficientes cantidades de PEC. Los dispositivos con mayor capacidad se describirán a continuación con más detalle.

EJEMPLO 2

15 ENSAMBLAJES DE DISPOSITIVOS TRIDIMENSIONALES DE GRAN CAPACIDAD PARA OPTIMIZAR LA ZONA DE SUPERFICIE Y EL VOLUMEN CELULAR PARA TERAPÉUTICAS CELULARES

[0123] En relación con el Ejemplo 1, los Solicitantes se propusieron establecer un dispositivo de gran capacidad que aumente la dosis celular funcional por dispositivo, mientras al mismo tiempo limitan el dispositivo para que ocupe la menor superficie efectiva (o huella), por ejemplo, el menor espacio posible en el lugar anatómico del cuerpo humano.

[0124] Los dispositivos de distribución de los Solicitantes se han descrito previamente en las solicitudes de diseño de patente estadounidense N.º 29/408,366; 29/408,368 y 29/408,370, presentadas el 12 de diciembre de 2001 y 29/423,365 el 31 de mayo de 2012, y en el documento de patente estadounidense N.º 8,278,106, ENCAPSULATION OF PANCREATIC CELLS DERIVED FROM HUMAN PLURIPOTENT STEM CELLS, publicado el 10 de octubre de 2012.

[0125] La superficie efectiva o huella de un dispositivo es un área bidimensional en las dimensiones x e y que está ocupada por el dispositivo, por ejemplo, ocupada por el dispositivo en el cuerpo humano. Los dispositivos descritos previamente son bidimensionales, lisos o planos, y, por tanto, tienen determinados límites de tamaño al considerar su uso en humanos, por ejemplo, tales dispositivos solo pueden crecer (aumenta su superficie efectiva o huella) para alojar más productos celulares o más masa celular. Es bien sabido que los islotes humanos (cadavéricos) tienen muy poca capacidad de proliferación y hay una pérdida celular masiva tras el trasplante. Korsgren et al. (2005) *supra*, informó de que el índice de supervivencia de los islotes humanos implantados se estima que es tan solo de aproximadamente el 10 % al 20 %, lo que se atribuye a una reacción inflamatoria/trombótica que se provoca cuando los islotes entran en contacto directo con sangre compatible con ABO, y en cuestión de minutos tras el trasplante, se ve cómo los leucocitos se infiltran en los islotes, causando una reacción inflamatoria instantánea mediada en la sangre (IBMIR) y provocando pérdidas celulares. Se ha observado la misma pérdida de células de islotes tras el trasplante de islotes humanos y de roedores en estudios experimentales. Véase Korsgren et al., *supra*, pág. 1291. Estudios anteriores de los Solicitantes mostraron que las células PEC tienen un potencial proliferativo, e independientemente del número de células sembradas inicialmente en el dispositivo (por ejemplo, 1, 1,5, 3, 4,5, 6 o 9 millones de células), estas proliferan y maduran para convertirse en células productoras de insulina. Véase, por ejemplo, el documento de patente estadounidense N.º 8,278,106. Por consiguiente, es en el tamaño, diseño y construcción del dispositivo y no el número de células cargadas en el dispositivo lo que limita y determina el número de células (o dosis) presentes tras la maduración. Y, el límite principal en el número máximo de células no es un problema de capacidad celular, sino un problema de la capacidad física del dispositivo.

[0126] Las FIGS. 3-70 ilustran varios modos de realización de un ensamblaje de dispositivo de gran capacidad. Tal como se muestra en las figuras, los ensamblajes contienen al menos 2, preferiblemente 3, preferiblemente 4, preferiblemente 5, preferiblemente 6, preferiblemente 7, preferiblemente 8 o más cámaras celulares **100** por ensamblaje, o cualquier número de una pluralidad de cámaras celulares **100** necesario para una dosis terapéutica. Los dispositivos de gran capacidad son tridimensionales y no lisos o planos como se ha descrito previamente para los dispositivos EN250 o EN100 las solicitudes de diseño de patente de EE. UU. N.º 29/408366, 29/408368 y 29/408370 presentadas el 12 de diciembre de 2011; 29/423,365 presentada el 31 de mayo de 2012; y el documento de patente estadounidense N.º 8,278,106.

[0127] Las FIGS. 3-8 ilustran ensamblajes que consisten en 8 cámaras celulares **100** o compartimentos. Las FIGS. 3, 4, 5A y 6 ilustran ensamblajes de dispositivos plegados con un ángulo de aproximadamente cero grados (en relación con las cámaras situadas en paralelo) entre cada lumen o cámara celular **100** compartimentada. El doblez o pliegue **40** solo ocurre en la parte de mamparo (o sello o región libre de células entre cámaras celulares compartimentadas) del ensamblaje del dispositivo. Las FIGS. 7 y 8 ilustran ensamblajes en los que las cámaras celulares **100** están separados entre sí en un ángulo de aproximadamente 20 grados o 40 grados

respectivamente. De nuevo, los ensamblajes forman un dispositivo tridimensional al plegar o doblar los mamparos o regiones libres de células **40**. La altura total (dimensión z) y anchura (dimensión x) variarán ligeramente dependiendo del grado de los dobleces o pliegues **40** en las regiones de mamparo, por ejemplo, cuando está plegado a 0 grados, la altura y anchura totales son aproximadamente 10,5 mm y 25,2 mm, pero cuando están plegados a 20 grados la altura y anchura totales son aproximadamente 9,2 mm y 44,0 mm. Por consiguiente, la superficie efectiva total o huella del ensamblaje del dispositivo puede cambiarse y manipularse cambiando la naturaleza de los pliegues del dispositivo. Las FIGS. 4A, 13 y 14 muestran ensamblajes de dispositivos antes de plegar los ensamblajes.

[0128] En general, para optimizar el volumen celular o la densidad celular dentro de una cámara celular en cualquier dispositivo determinado, existe la necesidad de maximizar una relación entre el volumen y la superficie efectiva. La superficie efectiva o huella es un área bidimensional en las dimensiones x e y que ocupa el dispositivo, por ejemplo, el área ocupada por el dispositivo en el cuerpo humano. La Tabla 1 muestra en un modo de realización, un ensamblaje de dispositivo tridimensional de gran capacidad (3-D EN-LC) que presenta 8 cámaras celulares, presentando cada cámara celular en este prototipo un volumen de aproximadamente 120 µL, para un volumen máximo (MV) de aproximadamente 968 µL. Este 3-D EN-LC tiene una superficie efectiva (EA; planos x e y) de aproximadamente 3420 mm² (38 mm x 90 mm). La proporción entre el volumen y la superficie efectiva (MV/EA) del dispositivo 3-D EN-LC es de aproximadamente 0,283 (es decir, 968/3420). Compare esto con un modo de realización de un dispositivo plano, un dispositivo EN250 que tiene un volumen máximo de aproximadamente 249 µL y una superficie efectiva de 2295 mm² (27 mm x 85 mm). La proporción entre el volumen y la superficie efectiva (MV/EA) de este dispositivo plano EN250 es de aproximadamente 0,108 (es decir, 249/2295). Por tanto, el dispositivo 3-D EN-LC puede contener 4 veces el volumen del dispositivo plano EN250, pero sin ocupar 4 veces la superficie efectiva. Esto es, la proporción entre el volumen y la superficie efectiva del dispositivo 3-D EN-LC es mayor (o mejor) comparada con el dispositivo plano EN250, permitiendo por tanto que se encapsulen más células en la misma superficie efectiva o huella. El dispositivo 3-D EN-LC puede conseguir este aumento en la proporción entre el volumen y la superficie efectiva porque puede plegarse en la dimensión z (altura) sin restricciones; y tiene aproximadamente de 9 a 10 pliegues más de altura que el dispositivo EN250. El dispositivo EN250 está limitado en la dimensión z por su diámetro máximo de lumen de aproximadamente 1 mm.

[0129]

Tabla 1: Comparación de dispositivos planos vs. dispositivos tridimensionales

	3-D EN-LC (8 cámaras celulares)	Dispositivo EN250 plano (1 cámara celular)
Volumen máximo (µL)	968 µL	249 µL
Superficie efectiva de X, Y (EA, mm²)	38 mm x 90 mm	27 mm x 85 mm
Volumen máximo/EA	0,283	0,108
Altura (Z)	9-10 mm	-1 mm

[0130] La Tabla 1 compara ensamblajes de dispositivos tal como se ilustran en las FIGS. 3, 4 y 5A, pueden conseguirse otros diseños que emplean el principio de creación de ángulos y/o pliegues **40** en el ensamblaje del dispositivo para aumentar la proporción entre el volumen total y la superficie efectiva sin alejarse de la descripción anterior y descrita en el presente documento. Por ejemplo, las FIGS. 6-14 ilustran ensamblajes de dispositivos en la forma de cortina romana (FIGS. 9, 15-28), de tubo o serie de tubos, o tubo plano (FIGS. 10, 29-42), similar a un peine o a una aleta (FIGS. 11, 43-56), en forma de ola o de U o de persiana (FIGS. 3, 4, 5A, 6, 7), de persiana (FIGS. 12, 57-70), de radiador, texturización de superficies, forma de oblea, espiral, y similares. Estos dispositivos pueden tener múltiples cámaras celulares 100, puertos 20, 30, y grados variables de los pliegues o dobleces **40**. Todos estos dispositivos se incluyen en el presente documento y se ilustran porque tales diseños aumentarían de forma similar la proporción entre el volumen y la superficie efectiva del dispositivo.

[0131] La Tabla 2 compara la proporción entre el volumen y la superficie efectiva de modos de realización adicionales de ensamblajes de dispositivos tridimensionales de gran capacidad. Para el propósito de comparar los diferentes modos de realización, la superficie efectiva (o huella) se mantiene constante en 50 x 20 mm, o 1000 mm². Para los cálculos de la Tabla 2, la altura total (dimensión z) también se mantiene constante en aproximadamente 2 mm para todos los modos de realización, excepto para el dispositivo plano, que tiene una anchura de lumen de aproximadamente 0,2 mm (la anchura está limitada por el espesor de la propia cámara

celular). De forma adicional, para los ensamblajes de dispositivos tridimensionales de gran capacidad, también hay un hueco de aproximadamente 0,6 mm entre cada cámara celular. El volumen de cada modo de realización es el volumen máximo para el dispositivo. El diseño de cortina romana (FIG. 9) es capaz de presentar el mayor volumen, mientras que el dispositivo liso (plano, bidimensional) es capaz de presentar el menor volumen. Por tanto, el modo de realización con la mayor proporción entre el volumen máximo y la superficie efectiva es también el dispositivo de cortina romana y el modo de realización con la menor proporción entre el volumen máximo y la superficie efectiva es el dispositivo plano.

[0132]

Tabla 2: Comparación de modos de realización de ensamblajes de dispositivos tridimensionales de gran capacidad

	Cortina romana (FIG. 9)	Aleta (FIG. 11)	Forma de U (FIG. 3, 4, 6)	Persiana (FIG. 12)	Tubo plano (FIG. 10)	Plano
Superficie efectiva (EA, mm²)	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Volumen máximo (V, µL)	710	693	560	500	493	200
Volumen máximo/EA	0,71	0,69	0,56	0,5	0,49	0,2
Volumen máximo/Vol. plano	3,55	3,46	2,8	2,5	2,46	1

[0133] Por consiguiente, de manera similar a la Tabla 1, la Tabla 2 demuestra que a menos que los dispositivos puedan sacar partido de la dimensión z (altura), se limitará la proporción entre el volumen máximo y la superficie efectiva. Añadiendo esta dimensión z extra, y varias configuraciones de diseños descritas en el presente documento que tienen en cuenta esta dimensión z, los ensamblajes de dispositivos tridimensionales de gran capacidad del presente documento pueden optimizar la distribución de células para aquellas terapias celulares o sustituciones en las que se necesite una dosis celular alta o un gran número de células (por ejemplo, la diabetes mellitus de tipo 1).

[0134] Los modos de realización del ensamblaje de dispositivo del presente documento se fabrican generalmente con modalidades de corte estándar, incluyendo, pero sin carácter limitativo, cortar con un troquel y/o con láser cada una de las capas o componentes, por ejemplo, la red, la película adhesiva y la capa impermeable a las células. Los componentes se alinean de manera que cuando cada componente o capa se sitúa en el soldador, cada uno de los lúmenes puede alinearse o ponerse en capas uno encima de otro de manera apropiada. La FIG. 13 ilustra un primer sello **10** a lo largo de la periferia de una primera cámara celular formada al soldar todas las capas para formar una hoja plana de manera simultánea. Puede facilitarse la precisión de la soldadura añadiendo elementos de alineación unidos al mismo como partes de cada capa al cortarlos con láser, que luego puede cortarse al soldarlo o al formar la primera capa o después. Los sellos también pueden conseguirse utilizando soldaduras por alta frecuencia, sellado por calor, unión por adhesivo, y sujeción. Para formar el ensamblaje tridimensional después de que se hayan creado las cámaras celulares, el ensamblaje se trata previamente utilizando suficiente calor, que permite que las regiones libres de células entre las cámaras celulares adopten o impartan un ángulo más pequeño para la estructura tridimensional. El ensamblaje del dispositivo se coloca después en un molde y se utiliza calor para impartir una estructura sustancialmente permanente. Aun así, puede formarse el ensamblaje tridimensional de diversas formas, de las que un experto en la materia estará al corriente. Por ejemplo, el ensamblaje del dispositivo puede estar moldeado o formado (por ejemplo, por fijación) o extrudido, o puede estar unido un marco/material exterior con la forma plegada impartida. El material/marco externo puede unirse de diversas maneras (por ejemplo, utilizando soldaduras por alta frecuencia, sellado por calor, unión por adhesivo, y sujeción). Las FIGS. 3-70 ilustran que el ángulo de los pliegues o dobleces **40** durante dicha construcción puede ser de ángulos variables tal como se muestra en las FIGS. 3-70. De forma alternativa, se han formado otros dispositivos tridimensionales de gran capacidad moldeando un único dispositivo de gran capacidad, por ejemplo.

[0135] Para la producción modular, la FIG. 14 ilustra que cualquier número de cámaras celulares **100** puede formarse con cualquier número de segundos sellos, terceros, cuartos, quintos, sextos, séptimos, u ocho o más sellos adicionales **10** para formar el número deseado correspondiente de cámaras celulares. De forma alternativa, el dispositivo con múltiples cámaras entero puede realizarse en un paso por el que la soldadura forma todas las cámaras celulares de forma simultánea. Preferiblemente, el ensamblaje del dispositivo puede fabricarse construyendo cada ensamblaje de dispositivo, o incluso cada cámara celular en el ensamblaje de

dispositivo, discretamente, de modo que el número de cámaras celulares se elige basándose en la dosis celular para cualquier paciente determinado. De forma similar a lo anterior, la producción modular puede emplear cualquier método disponible en la técnica, incluyendo soldaduras por alta frecuencia, sellado por calor, unión por adhesivo, y sujeciones, en tanto que estos métodos no comprometan la integridad o funcionamiento del ensamblaje del dispositivo.

- 5 [0136] De forma adicional, las regiones libres de células o pliegues en la estructura tridimensional del dispositivo pueden perforarse para permitir la invasión de las células huésped, por ejemplo, permitiendo que los vasos sanguíneos atraviesen las perforaciones desde cualquier superficie o lado del dispositivo y por tanto aumentando la angiogénesis del dispositivo y de las células del mismo.
- 10 [0137] Las FIGS. 3-70 también ilustran que los ensamblajes del dispositivo son similares a otros sistemas planos de distribución de fármacos, cada cámara celular **100** del ensamblaje del dispositivo puede contener un puerto **20**, **30** o tubo de carga en un extremo o en ambos extremos. Aun así, otras cámaras celulares pueden contener un soporte, preferiblemente, una espuma o soporte reticular, preferiblemente cualquier matriz interna que proporcione un aumento de la perfusión o penetración del oxígeno en el interior de cada cámara celular o del
- 15 núcleo de la cámara celular, para facilitar la supervivencia celular y/o la distribución del producto celular tal como se ha analizará con más detalle a continuación y tal como se muestra en la FIG. 71.

EJEMPLO 3

MÉTODOS PARA OPTIMIZAR EL TRANSPORTE DE OXÍGENO Y AUMENTAR LA PRODUCCIÓN DE INSULINA

- 20 [0138] Los solicitantes han demostrado previamente que las PEC progenitoras toleran condiciones hipóxicas, como las que ocurren durante y después del trasplante, en comparación con islotes adultos maduros. Por ejemplo, en alo- y autotrasplantes, la falta de vascularización y la hipoxia celular en y durante los trasplantes es un grave problema de supervivencia celular. Aun así, mejorar y proporcionar suficientes nutrientes a las células del núcleo de la cámara se puede optimizar.
- 25 [0139] Se han explorado varias matrices para mejorar la vascularización en la interfaz entre el huésped y el dispositivo, sin embargo, no se ha descrito bien una matriz o espuma situada en el interior de la cámara celular. Como dicha matriz consiste en cavidades y bolsillos interconectados, proporciona una arquitectura adecuada para alojar e incluso distribuir agregados celulares a lo largo de la cámara celular o lumen, mientras al mismo tiempo actúa como un conducto o canal para proporcionar oxígeno y otros nutrientes a las células para fomentar
- 30 la supervivencia. Al menos una ventaja de utilizar elastómeros derivados de la silicona como el material de la matriz es por su gran solubilidad con el oxígeno, lo que permite que el material funcione como un conductor de oxígeno o un medio para transportar oxígeno o fluidos o suspensiones oxigenadas a lo largo del núcleo de la cámara celular.
- 35 [0140] Para determinar si los elastómeros de silicona pueden mejorar potencialmente la supervivencia celular en el núcleo de la cámara celular, se analizaron inicialmente dos (2) matrices derivadas de la silicona: fibras de silicona o fibras huecas de silicona, y espuma hecha de una mezcla basada en silicona. Las fibras huecas de silicona tienen propiedades excepcionales para transportar gases (módulos de membrana PermSelect, por MedArray) ya que la silicona es densa (no porosa) y evita que los líquidos pasen a través de las aplicaciones de membranas; permitiendo por consiguiente su amplio uso con líquidos independientemente de su tensión
- 40 superficial. Los módulos de membrana PermSelect proporcionan, por ejemplo, haces empaquetados de fibras huecas espaciadas de manera uniforme con varias zonas de superficie de membrana de 10 cm² (PDMSXA-10), 2 500 cm² (PDMSXA-2500), 1 m² (PDMSXA-1.0) y 2,1 m² 2(PDMSXA-2.1), sin embargo, pueden fabricarse y probarse otras zonas de superficie de membrana para otros usos personalizados. Estas fibras huecas de silicona se ensamblaron en una estera para situarla dentro de un dispositivo. La Tabla 4 muestra las dimensiones de los
- 45 componentes de la estera y las FIGS. 71A-B muestran imágenes que demuestran cómo se tejen o se entrelazan las fibras huecas utilizando un hilo de poliéster. Estas esteras de fibras de silicona pueden fabricarse como una única o una pluralidad de capas, o pueden apilarse varias esteras individuales. Las esteras se cortaron luego para que encajasen dentro del lumen de un dispositivo, por ejemplo, un dispositivo EN20. Los dispositivos se cargaron después con aproximadamente 6 millones de PEC, y se implantaron en ratones sustancialmente tal como el Solicitante ha descrito previamente en documentos de patente y no patentes.
- 50 [0141]

Tabla 4: Estera de fibras huecas de silicona

DIMENSIONES	
Silicona (PDMS)	Dimensiones

Diámetro exterior de la fibra (OD)	300 mm (0,0118 in.)
Diámetro interior de la fibra (ID)	190 mm (0,0075 in.)
Espesor de la membrana (pared de fibras)	55 mm (0,0022 in.)

[0142] De forma similar a las esteras de fibras huecas de silicona, la espuma basada en silicona se fabricó para introducirla en la cámara celular. Algunos métodos para la producción de matrices porosas o material de silicona poroso se describen detalladamente en los documentos de patente estadounidense N.º 7,192,450 de Dexcom, Inc., 5,624,674 y 5,605,693 de SM TECHNOLOGIES. Igualmente, un experto en la materia conoce otros métodos para fabricar otros tipos de espumas bioestables que pueden emplearse para crear la estructura de los modos de realización preferidos. Por ejemplo, el documento de patente estadounidense N.º 3,929,971 de Roby expone un método para fabricar una membrana sintética presentando una microestructura porosa, fabricada convirtiendo los materiales de coral de carbonato de calcio en hidroxiapatita mientras retiene al mismo tiempo la microestructura única del material de coral. En otro ejemplo, el documento de patente estadounidense N.º 6,520,997 de Pekkarinen expone un proceso fotolítico para crear una membrana porosa. En un ejemplo de modos de realización, la espuma se formó mezclando aproximadamente 500 gramos de cristales de azúcar con aproximadamente 15 gramos de agua durante aproximadamente 3-6 minutos. Pueden obtenerse diferentes arquitecturas o tamaños de cavidades variando el tamaño de los cristales de azúcar (por ejemplo, el diámetro medio de aproximadamente 90 a aproximadamente 250 micras) y la cantidad de agua añadida al azúcar antes de ponerlo en el molde. La mezcla se prensa en una placa de cultivo de tejidos de 6 pocillos que sirvió de molde y se secó a temperatura ambiente durante toda la noche. Pueden emplearse otros métodos para secar la mezcla de cristales de azúcar, por ejemplo, cociéndola a temperaturas adecuadas durante un periodo de tiempo adecuado. Un elastómero de silicona, en concreto un elastómero de silicona curada con dos partes de platino (NuSil Silicone Technology, Part # MED-6015) se mezcló en una proporción de aproximadamente 10:1, parte A:B, según las instrucciones del fabricante, y se aplicó de manera uniforme en la superficie del molde de azúcar en una proporción de aproximadamente 3 gramos de silicona por una zona de superficie de 962 mm² de molde de azúcar. Se aplicó un vacío al molde para que la silicona saliera a través de los poros del molde durante aproximadamente 6 minutos o un tiempo razonable de manera que toda la silicona haya llenado las cavidades del molde y se haya curado a aproximadamente 40 °C o alguna temperatura adecuada durante toda la noche. El molde de azúcar se disolvió después utilizando agua desionizada, dando como resultado un cilindro superficial de silicona porosa (espuma) en la forma del pocillo de cultivo tisular de seis pocillos. La FIG. 71C muestra una sección transversal de un modo de realización de una matriz luminal comprendiendo una espuma o matriz tridimensional de silicona insertado entre las membranas que forman la cámara celular. La FIG. 71C también muestra que la espuma tiene una pluralidad de cavidades interconectadas o espacios abiertos y las cavidades se interconectan sustancialmente por todas partes y puede formarse en capas que presentan diferentes dimensiones de cavidad.

[0143] La espuma, sin embargo, es demasiado gruesa para incorporarse por completo en al menos un dispositivo EN20, de modo que se cortó en trozos de 300 micras de ancho incrustándolo en un compuesto para la temperatura óptima de corte (OCT) antes de cortarlo en un criostato. De forma alternativa, la espuma de silicona también puede situarse en un procesador de tejido histológico e incrustarse con parafina y seccionarse en un micrótopo. El compuesto para la OCT se retiró lavándolo muchas veces en agua, y la parafina se retiró lavándola muchas veces en xileno, seguido de alcohol y luego agua. La inserción de espuma se cortó después en dimensiones para encajar dentro de un dispositivo, en concreto un dispositivo EN20. El dispositivo de espuma EN20 se cargó después con aproximadamente 6 millones de PEC, se selló y se implantó de manera subcutánea tal como se ha descrito previamente.

[0144] En total, seis dispositivos EN20 se cargaron previamente con cada una de las esteras de fibras huecas de silicona (Animales N.º 4174, 4175, 4176, 4177, 4178 y 4179) y una matriz de película de silicona porosa (no se muestran datos) y el mismo número de controles o dispositivos EN20 sin matriz (Animales N.º 4180, 4181, 4182, 4183, 4184 y 4185); véase la FIG. 72. Los 12 dispositivos recibieron aproximadamente 6 millones de PEC (aproximadamente el doble de cantidad que se carga normalmente en un dispositivo de este tamaño) y se implantó de manera subcutánea en el dorso de un ratón inmunocomprometido (por ejemplo, con Rag2 y SCID-Beige). A las 13 semanas tras la implantación, se dejó a los ratones en ayunas durante toda la noche, y se les inyectó de forma intraperitoneal una solución de glucosa en una dosis de 3 mg/kg de peso corporal. Se tomaron muestras de sangre en ayunas y después a los 30 min y a los 60 min tras la administración de glucosa. El péptido C del suero se midió utilizando un kit ELISA que es específico para péptido C humano y los resultados se muestran en la FIG. 72. De nuevo, los métodos para determinar el péptido C del suero se han descrito bien previamente en la patente del Solicitante y en publicaciones no patentadas.

[0145] Los resultados de la FIG. 72 indican que, en comparación con los animales de control, los injertos de PEC encapsulados con las fibras huecas de silicona parecen tener una función comparable según se evalúa por

los niveles de péptido C del suero a las 13 semanas tras la implantación. Por ejemplo, comparemos los niveles de péptido C humano en el suero 60 minutos después de la estimulación por glucosa de los animales N.º 4174 (1270 pM), 4175 (977 pM) y 4176 (327 pM), de injertos de PEC con fibras huecas, con los animales N.º 4181 (1112 pM) y 4184 (462 pM), de injertos de PEC sin fibras huecas. No obstante, ningún injerto de fibras huecas de PEC tenía una función tan sólida como la que se observó en el animal de control n.º 4182.

[0146] El animal n.º 4174 se sacrificó para un análisis histológico del injerto de fibras huecas de PEC. La FIG. 73 muestra una sección transversal del injerto encapsulado o explante y teñido con hematoxilina y eosina (FIG. 73A) e insulina (FIG. 73B). Las células de los injertos de PEC llenan la cámara y se encuentran muy cerca de las fibras huecas. Es interesante señalar que las células teñidas positivas en insulina (marrón, FIG. 73B) aparecen en la grieta que hay entre fibras huecas adyacentes (aproximadamente 256 µm de la membrana de la cámara exterior), indicando que las fibras de silicona funcionan como un conducto para atraer más oxígeno al núcleo de la cámara. Las células del núcleo, comparadas con las células que están más cerca de la membrana semipermeable a largo plazo pueden llegar a necrosarse. De este modo, aunque estos injertos de fibras huecas con PEC no superaron a los más robustos de los injertos de PEC de control, las fibras huecas basadas en la silicona pueden proporcionar ventajas de supervivencia celular a largo plazo para aquellas células que están cerca del núcleo de la cámara.

EJEMPLO 4

DISPOSITIVOS TRIDIMENSIONALES QUE SE INTERCALAN EN EL CUERPO AL IMPLANTARSE Y QUE SOPORTAN GRANDES CARGAS COMPRESIVAS SIN CAMBIAR DE FORMA

[0147] Uno de los modos de realización más importantes de esta invención es un dispositivo tridimensional capaz de contener una gran capacidad de volumen celular mientras al mismo tiempo limita la zona de superficie total o huella del dispositivo cuando se implanta. Para determinar si los dispositivos tridimensionales de gran capacidad tal como se describen en el presente documento se intercalarían por completo en el cuerpo una vez implantados y mantendrían su forma y configuración en vista de varias cargas compresivas, un dispositivo EN250 liso (plano) se plegó sustancialmente en un dispositivo tridimensional en forma de acordeón, tal como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 2 (FIG. 74A). La huella de este nuevo dispositivo tridimensional fue de aproximadamente el 50 % de la del dispositivo original liso con una altura de aproximadamente 10 mm. El dispositivo tridimensional (FIG. 74A) se implantó en un cadáver humano (fresco) y luego se obtuvieron imágenes por ultrasonidos. La FIG. 74B muestra que la grasa subcutánea o la piel se intercala fácilmente en los valles del dispositivo tridimensional ondulado, y que el contorno del dispositivo puede observarse fácilmente con imágenes por ultrasonidos.

[0148] Como el dispositivo se intercaló bien, se llevó a cabo un test para determinar si bajo condiciones de alta presión, el dispositivo mantendría su forma tridimensional plegada, o se aplastaría y se mantendría así, o se movería de su lugar de implantación original. Se aplicó una carga compresiva de aproximadamente 20-30 lbs. (44-66 kg) directamente en el lugar donde se había implantado el dispositivo de forma subcutánea (bajo la fascia de Scarpa). La FIG. 74C muestra el mismo dispositivo del que se obtuvieron imágenes antes, durante y después de la aplicación de la carga compresiva en el mismo lugar de implantación. El dispositivo se aplastó con el aumento de la carga compresiva en el lugar de implantación, no obstante, al liberar la carga, el dispositivo recupera sus pliegues originales y su forma de acordeón. El dispositivo no se mueve sustancialmente y la piel se queda intercalada en los pliegues y valles del dispositivo.

[0149] Esta prueba demuestra que los dispositivos de macroencapsulación tridimensionales descritos en la presente memoria pueden intercalarse en el cuerpo cuando se implantan, soportar grandes cargas compresivas sin cambiar su forma o cambiar en su huella total, y no se mueven sustancialmente de su lugar inicial de implantación.

EJEMPLO 5

DISPOSITIVOS DE LOS QUE PUEDEN OBTENERSE IMÁGENES *IN VIVO* UTILIZANDO ULTRASONIDOS

[0150] Una de las principales preocupaciones para cualquier terapia de encapsulación celular es la seguridad, no solo respecto al producto celular sino también respecto a la seguridad e integridad del dispositivo. Y aunque la fabricación del ensamblaje del dispositivo incluye la realización de una serie de pruebas de control de calidad para asegurar la integridad del dispositivo (por ejemplo, caídas de presión y similares), es remoto pero posible que una vez que el dispositivo encapsulado se haya implantado en el cuerpo, puede producirse un momento y evento que pueda causar una rotura (fuga) del dispositivo. Una rotura del dispositivo puede estar causada por un crecimiento anormal de las células dentro del dispositivo (por ejemplo, un quiste, un tumor benigno) y provocar que el dispositivo se expanda en una manera inconsistente con, por ejemplo, un producto de injertos celulares normales. De forma alternativa, un dispositivo puede romperse mecánicamente o físicamente en el lugar de implantación debido a lesión o perforación en el cuerpo. Por tanto, existe la necesidad de monitorizar el

dispositivo, preferiblemente monitorizar visualmente el dispositivo periódicamente para asegurar que está intacto y que no se ha roto *in vivo*.

5 **[0151]** Por consiguiente, los Solicitantes exploraron si procedimientos simples utilizados comúnmente en muchos hospitales y consultas médicas como los ultrasonidos podían aprovecharse para vigilar los dispositivos
 10 trasplantados. Los ultrasonidos utilizan ondas de sonido de alta frecuencia para crear imágenes de estructuras internas del cuerpo. Son no invasivos y no utilizan radiación, y determinadas tecnologías de ultrasonidos permiten generar imágenes tridimensionales. Los exámenes por ultrasonidos no suelen tomar más de 30 o 60 minutos y suelen ser indoloros. Los ultrasonidos se utilizan mucho en exámenes y pueden revelar el
 15 agrandamiento de los vasos sanguíneos, coágulos de sangre, o estrechamiento de arterias o puede localizar bultos en órganos y tejidos, y frecuentemente se utilizan para guiar una biopsia por punción. Como la implantación del producto celular encapsulado se prevé que sea subcutáneo (por ejemplo, en el costado, espalda, parte superior del brazo y regiones similares), los exámenes por ultrasonidos son procedimientos
 20 ambulatorios fáciles y convenientes.

15 **[0152]** Para evaluar la viabilidad de la obtención de imágenes por ultrasonidos, se implantaron bajo la piel dispositivos de administración de fármacos del tamaño del EN20 y EN250 lisos (planos) cargados y vacíos y se obtuvieron imágenes. La FIG. 75 demuestra que la obtención de imágenes por ultrasonidos puede detectar un dispositivo vacío (pero húmedo para la obtención de imágenes) además de dispositivos cargados para expandirse hasta aproximadamente 1,5 mm y aproximadamente 2,5 mm. De manera adicional, los Solicitantes han mostrado previamente que los ultrasonidos de alta frecuencia no solo muestran la separación de la
 20 membrana, sino que también muestran el crecimiento de los quistes y con medios de contraste, el flujo sanguíneo alrededor del dispositivo. Por consiguiente, la obtención de imágenes por ultrasonidos es un medio fácil y no invasivo de monitorizar periódicamente la integridad del dispositivo. En caso de que hubiese una expansión anormal del dispositivo o hubiese una rotura del dispositivo, el dispositivo puede retirarse del cuerpo con cirugía; de nuevo, en un procedimiento ambulatorio.

25 **[0153]** Los Ejemplos 4 y 5 demuestran que no es necesaria ninguna invención para obtener imágenes y monitorizar el dispositivo *in vivo*. Estos y otros medios de obtención de imágenes y de hacer pruebas externas para la integridad del dispositivo *in vivo* se contemplan en el presente documento.

30 **[0154]** En consecuencia, será evidente para un experto en la materia que pueden variarse las sustituciones, modificaciones u optimizaciones, o combinaciones de los modos de realización expuestos en el presente documento sin apartarse del alcance y el espíritu de la invención.

35 Tal como se utiliza en las reivindicaciones a continuación y a lo largo de esta descripción, la frase "que consiste esencialmente en" significa que incluye cualquiera de los elementos enumerados después de la frase, y limita a otros elementos que no interfieren con, o contribuyen en la actividad o acción especificada en la exposición para los elementos enumerados. Por tanto, la frase "que consiste esencialmente en" indica que los elementos enumerados se requieren o son obligatorios, pero que otros elementos son opcionales y pueden o no presentarse dependiendo de si afectan o no a la actividad o acción de los elementos enumerados.

REIVINDICACIONES

1. Un ensamblaje de encapsulación celular tridimensional, comprendiendo dicho ensamblaje al menos dos cámaras celulares (100) para encapsular células vivas, una región sin células (40) a lo largo del eje más largo que separa las cámaras celulares (100), **caracterizado por que** la región sin células (40) está doblada para formar pliegues (40) y **por que** los pliegues (40) disminuyen la superficie efectiva del ensamblaje en comparación con el ensamblaje sin los pliegues (40), formando por tanto un dispositivo de encapsulación celular tridimensional.
2. El ensamblaje de la reivindicación 1, en el que el ensamblaje comprende una membrana semipermeable.
3. El ensamblaje de la reivindicación 1, en el que el ensamblaje comprende al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o más cámaras celulares (100).
4. El ensamblaje de la reivindicación 1 comprendiendo además al menos un puerto de carga (20, 30).
5. El ensamblaje de la reivindicación 1, comprendiendo además células humanas seleccionadas del grupo consistente en células de linaje endodérmico definitivo, células progenitoras pancreáticas positivas en el gen homeobox pancreático y duodenal 1 (PDX1), células precursoras endocrinas, células beta inmaduras.
6. El ensamblaje de la reivindicación 1, comprendiendo además una matriz de cámara celular presentando una pluralidad de poros o cavidades interconectadas para dispersar las células vivas y para mejorar la distribución de oxígeno dentro de la cámara celular (100).
7. El ensamblaje de la reivindicación 6, en el que las cavidades interconectadas tienen diferentes dimensiones de cavidad.
8. El ensamblaje de la reivindicación 6, en el que la matriz es polidimetilsiloxano (PDMS), monoacrilato de polidimetilsiloxano, y monometacrilato de polidimetilsiloxano.
9. El ensamblaje de la reivindicación 6, en el que la matriz es un elastómero de silicona.
10. El ensamblaje de la reivindicación 1, en el que las cámaras celulares (100) son paralelas entre sí.
11. El ensamblaje de la reivindicación 1, en el que las cámaras celulares (100) están separadas por aproximadamente 20 grados.
12. El conjunto de la reivindicación 1, en el que las cámaras celulares (100) están separadas por aproximadamente 40 grados.
13. El ensamblaje de la reivindicación 1, comprendiendo además un sello de división dentro de la cámara celular (100).

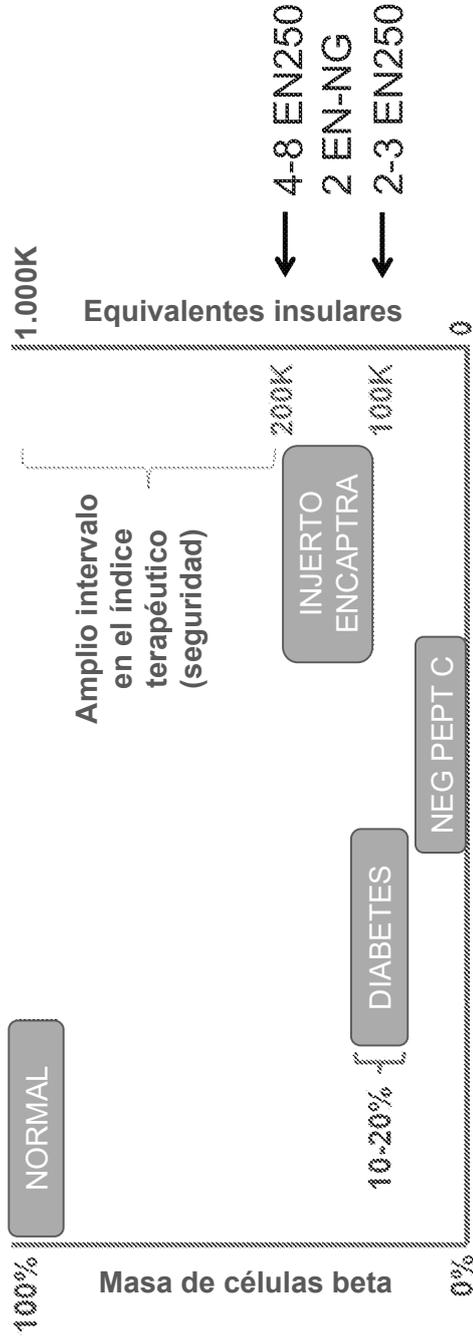


FIG.1

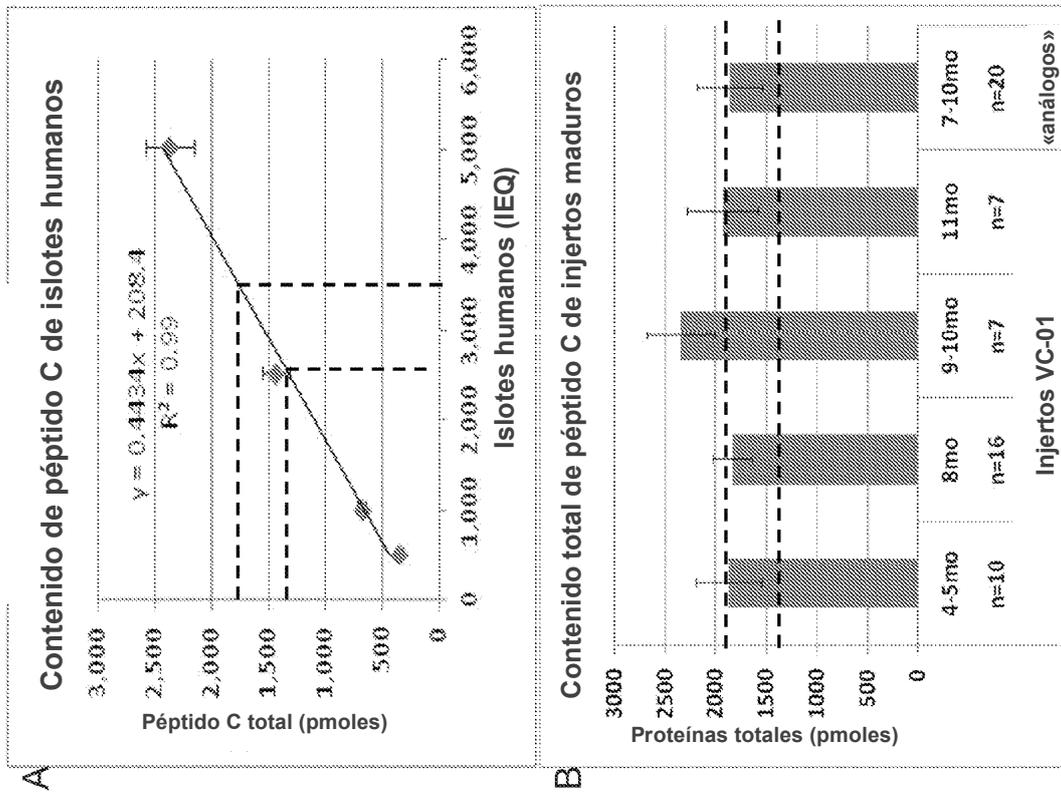
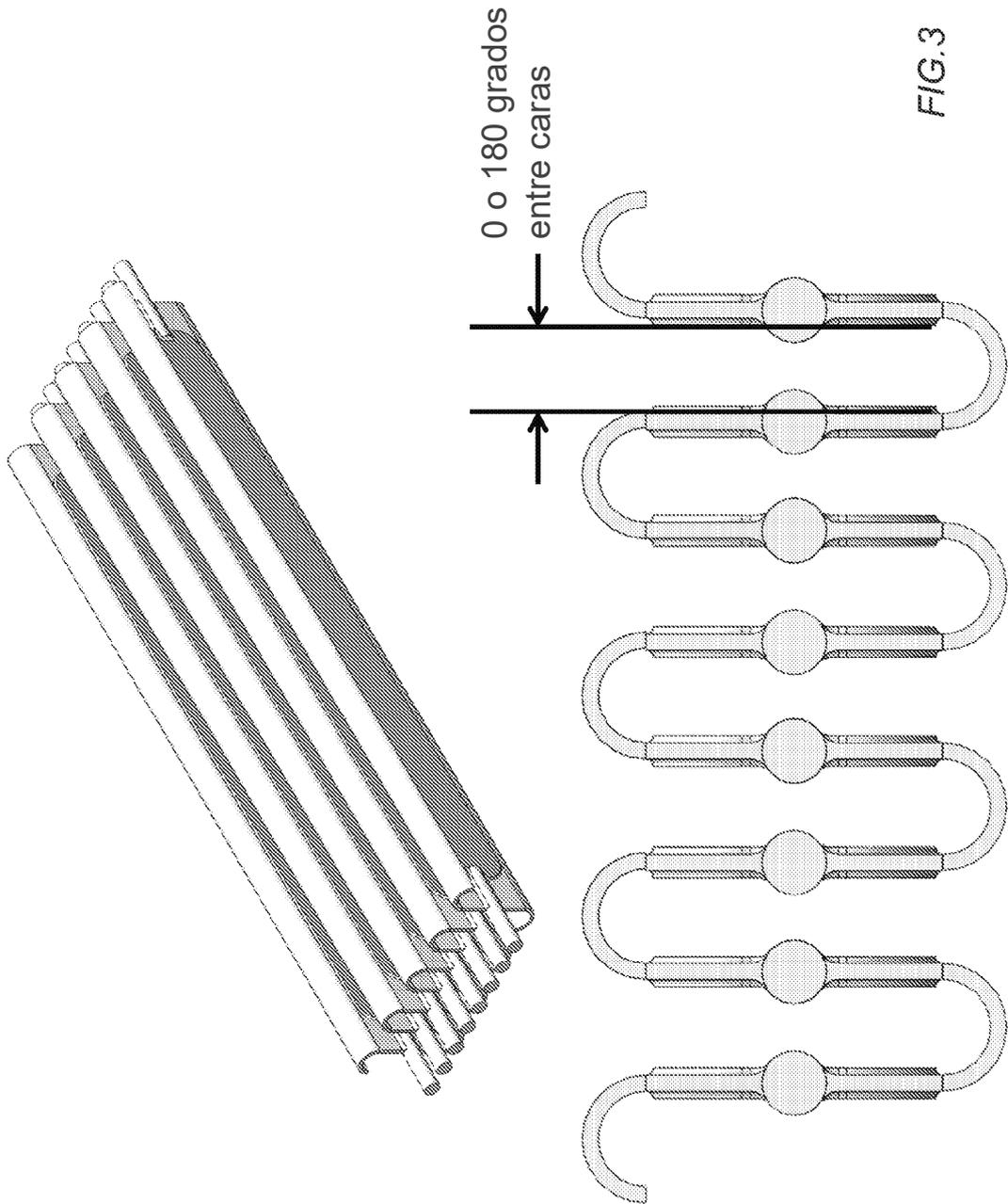


FIG.2



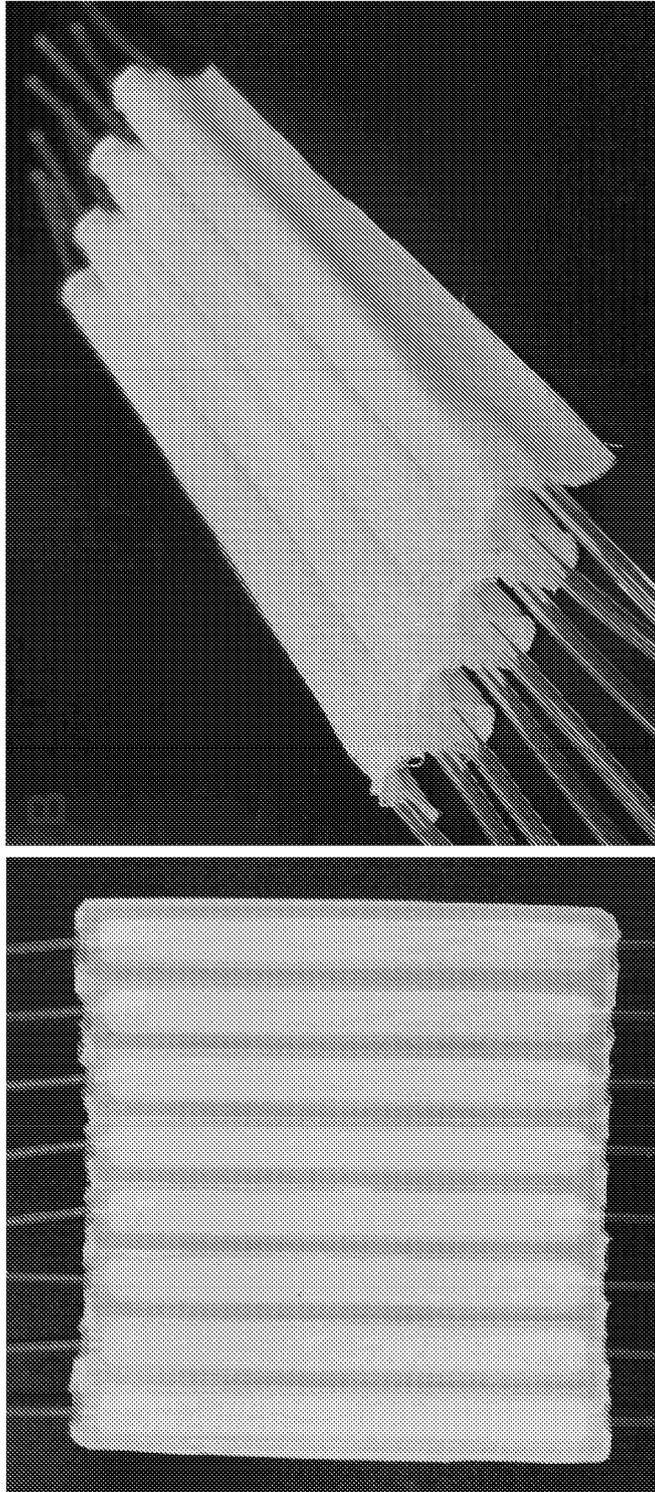


FIG.4

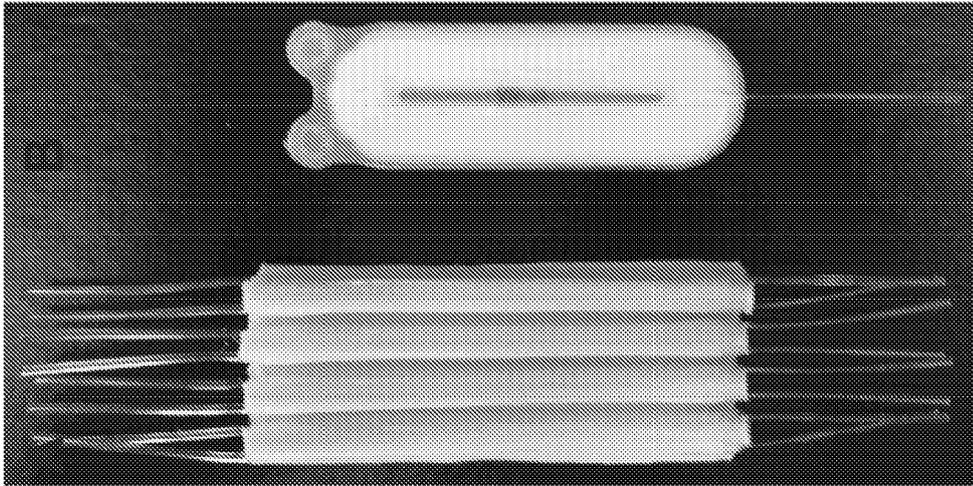


FIG.5

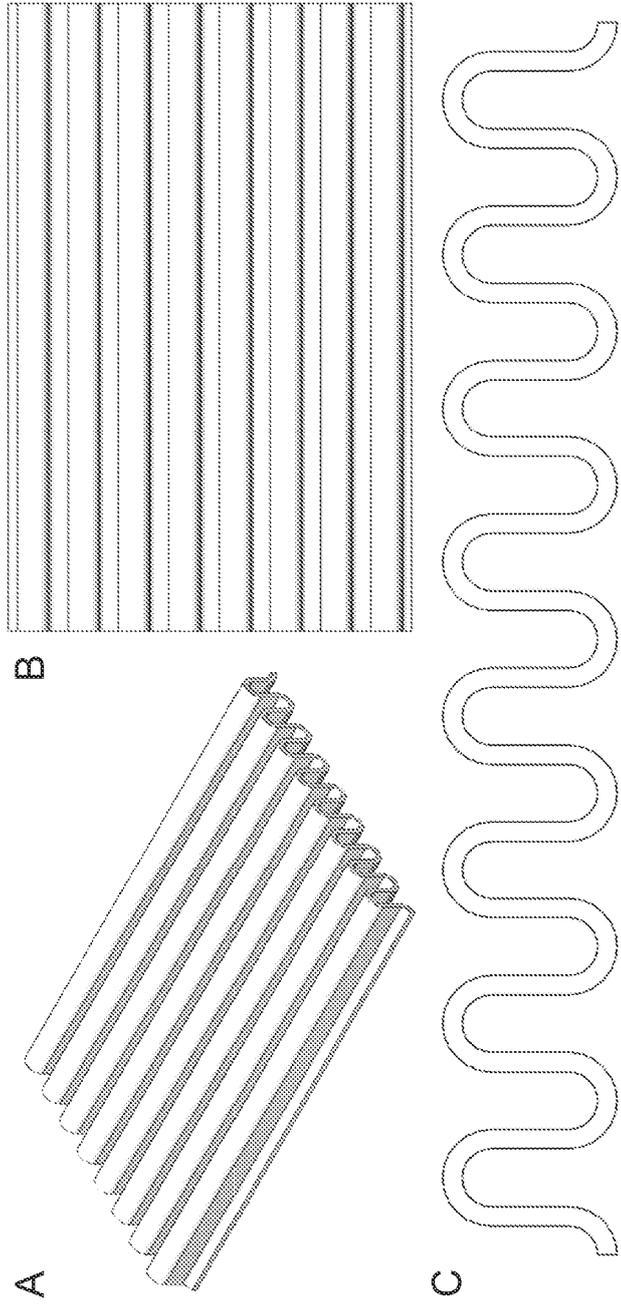
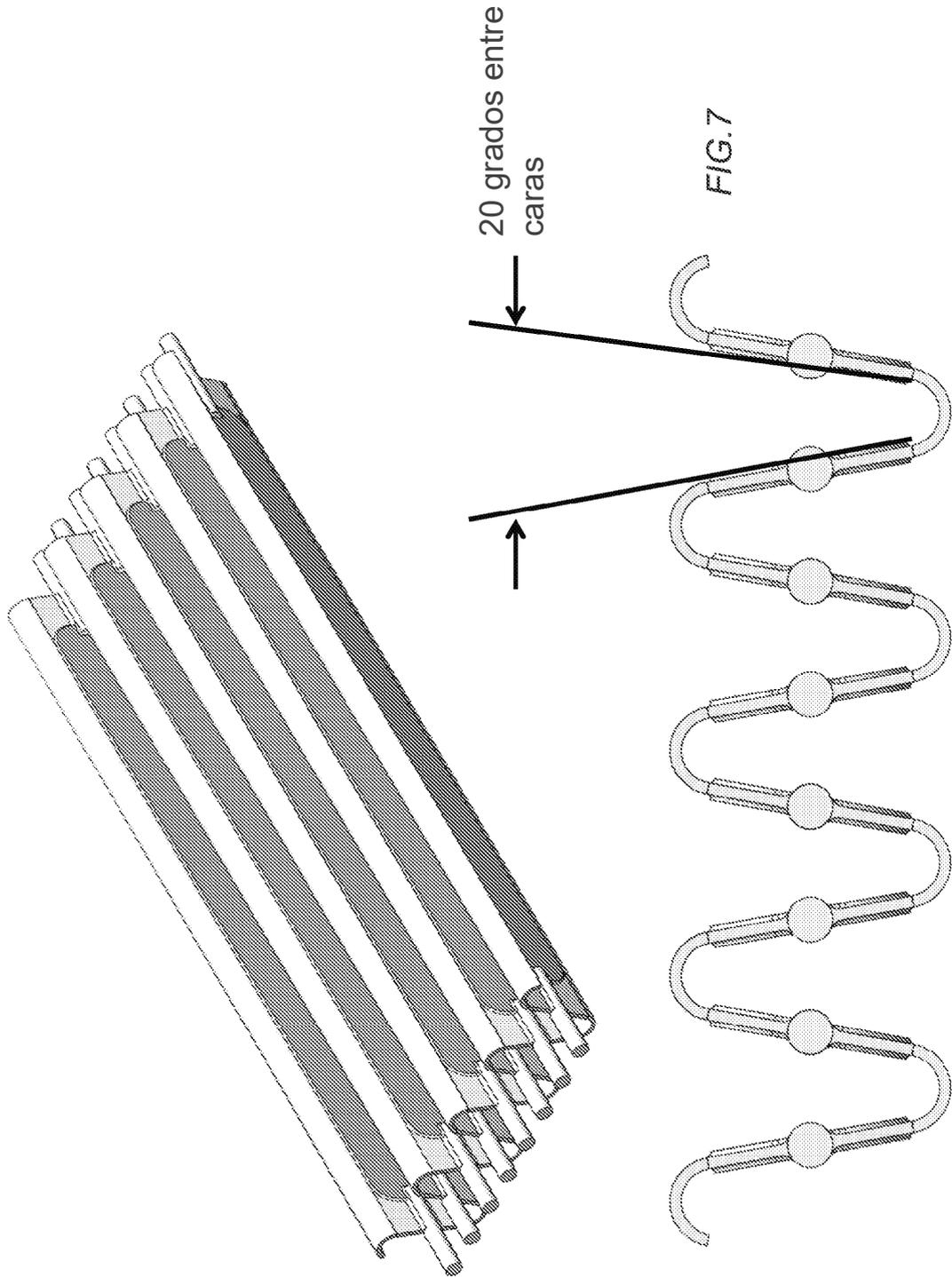
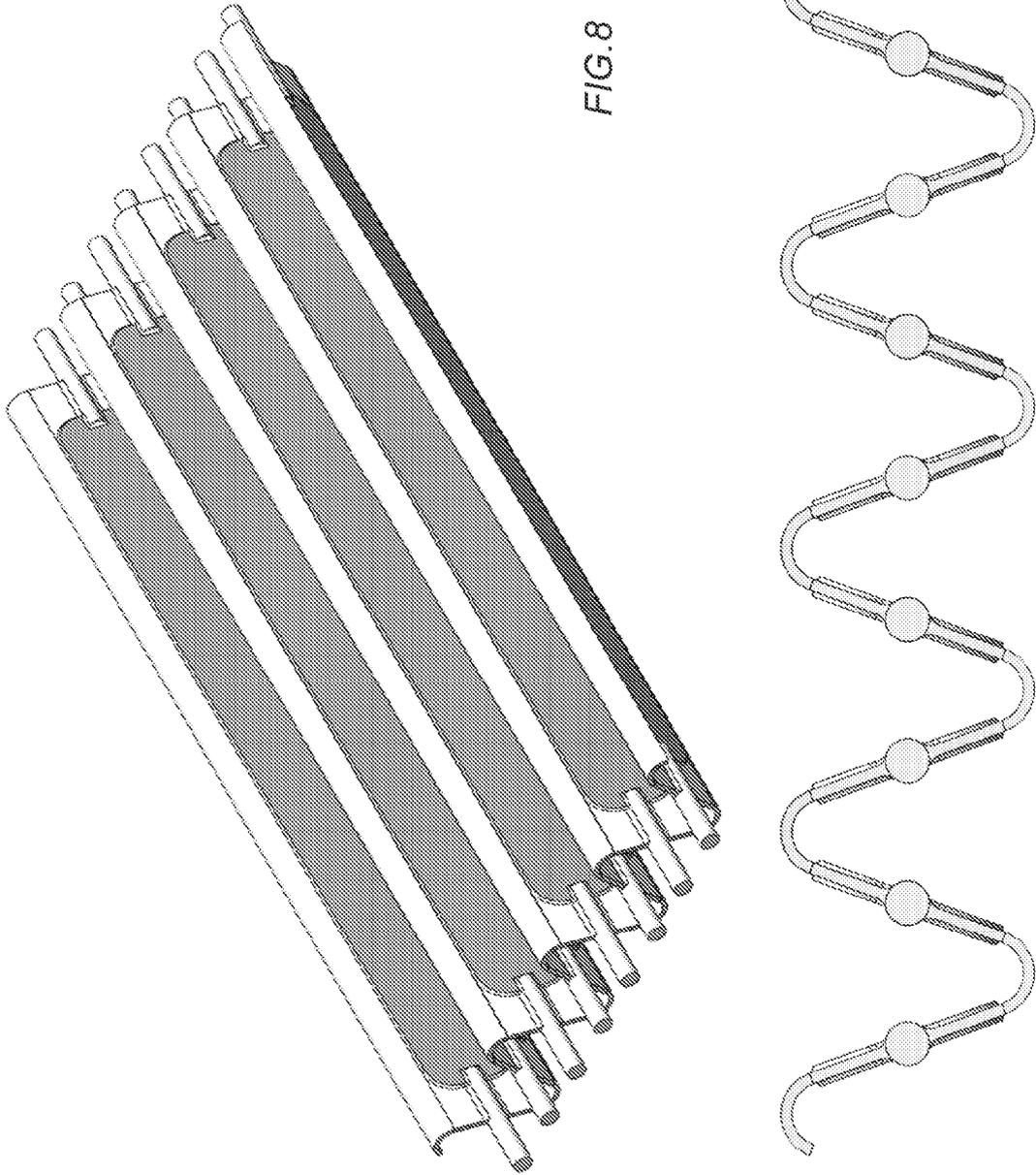


FIG. 6





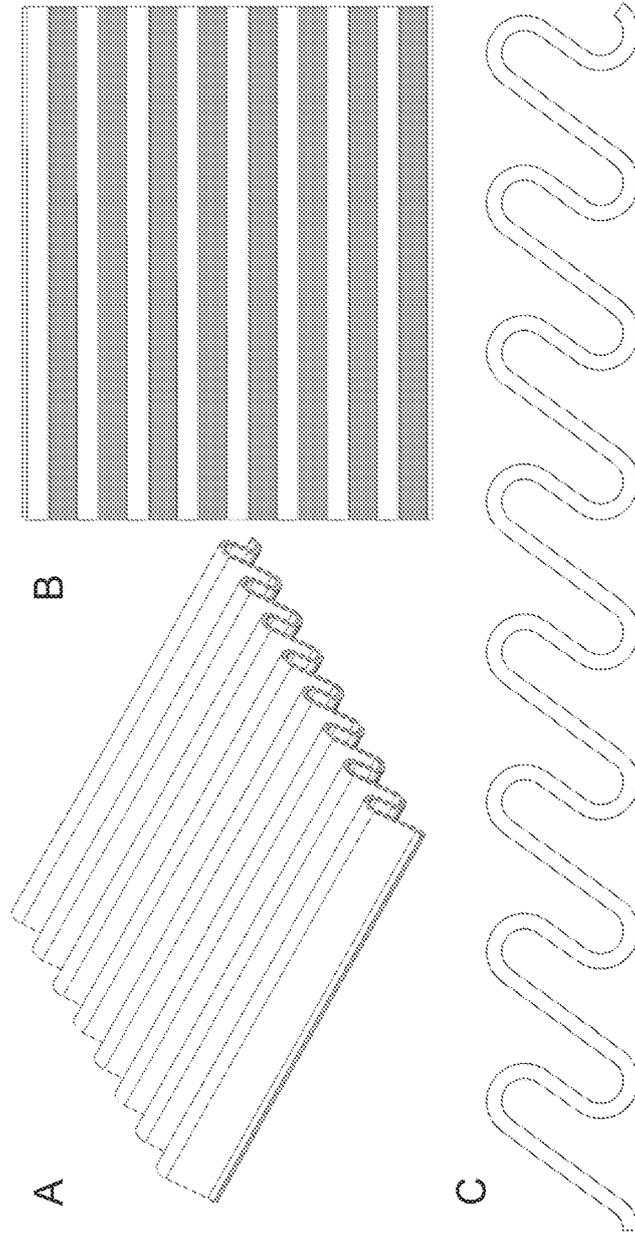
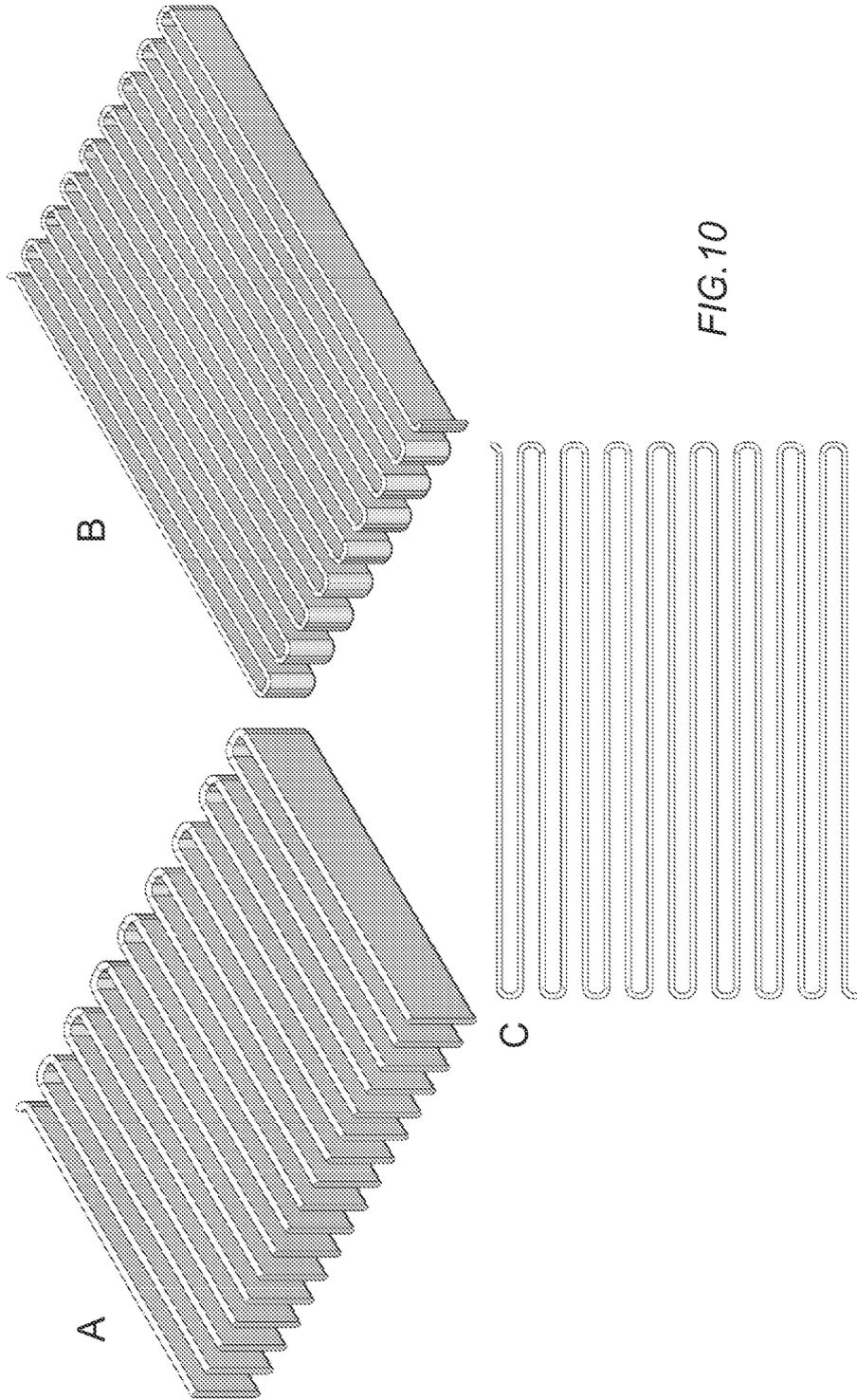


FIG.9



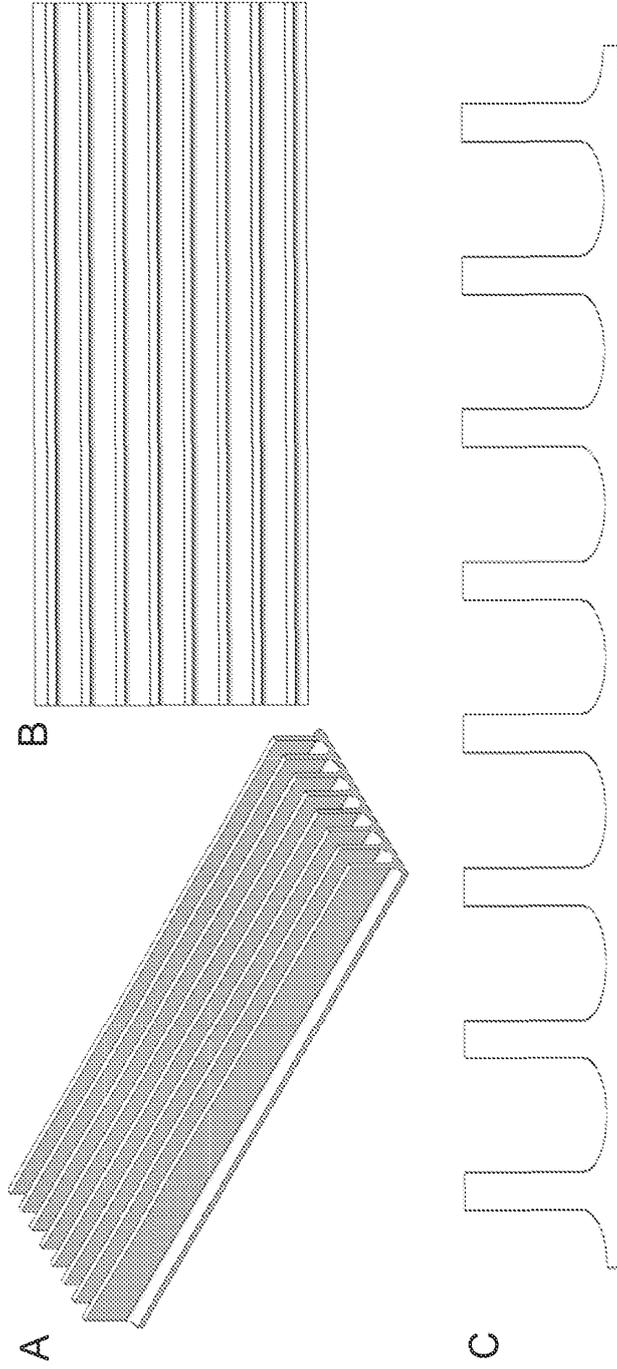


FIG.11

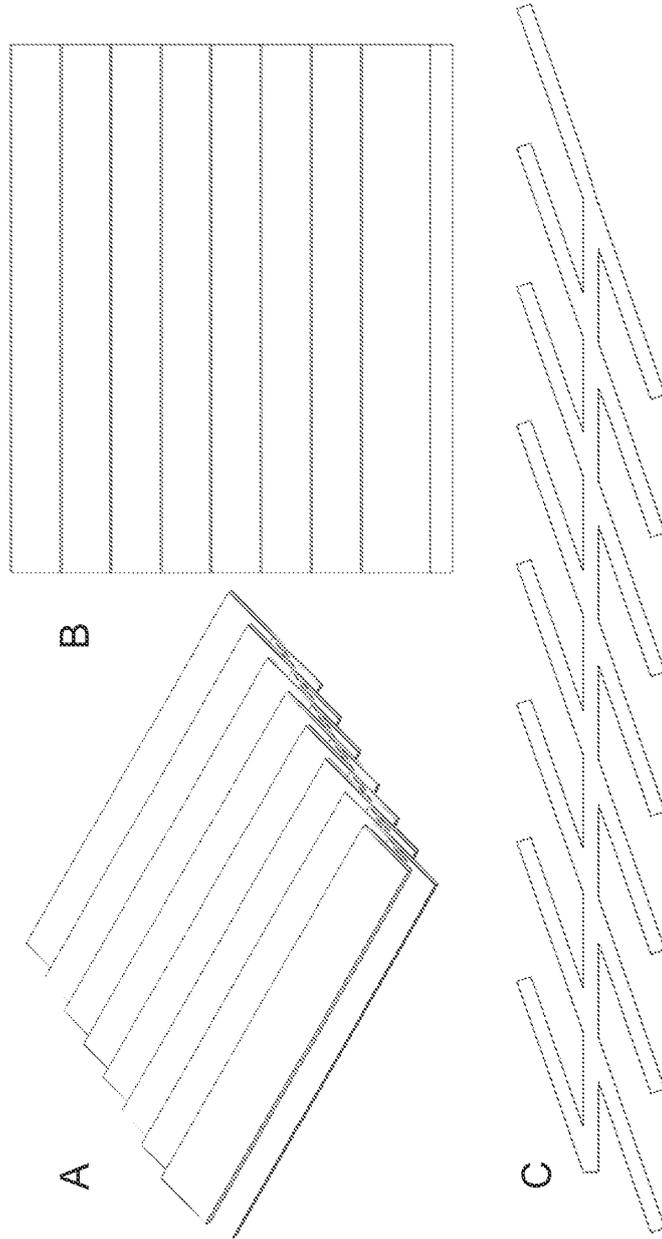


FIG.12

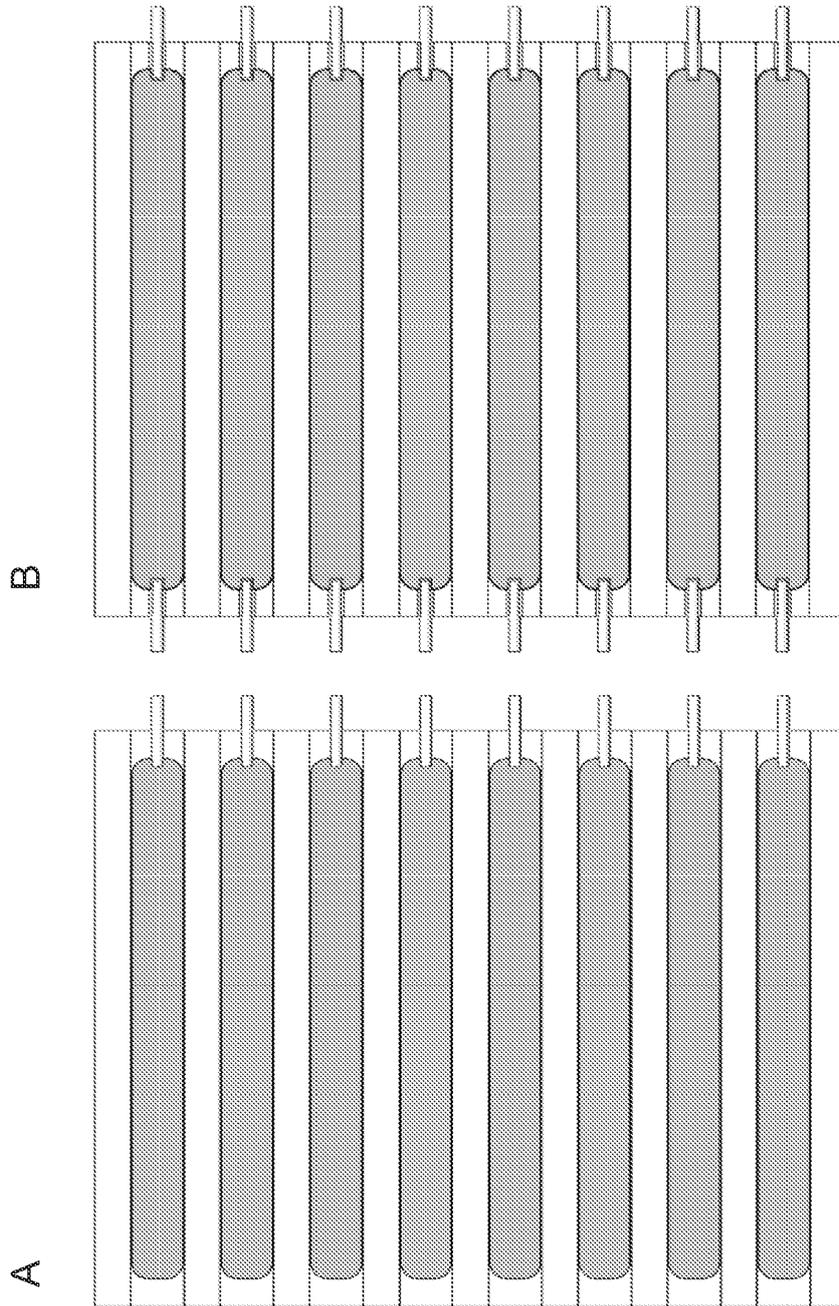


FIG.13

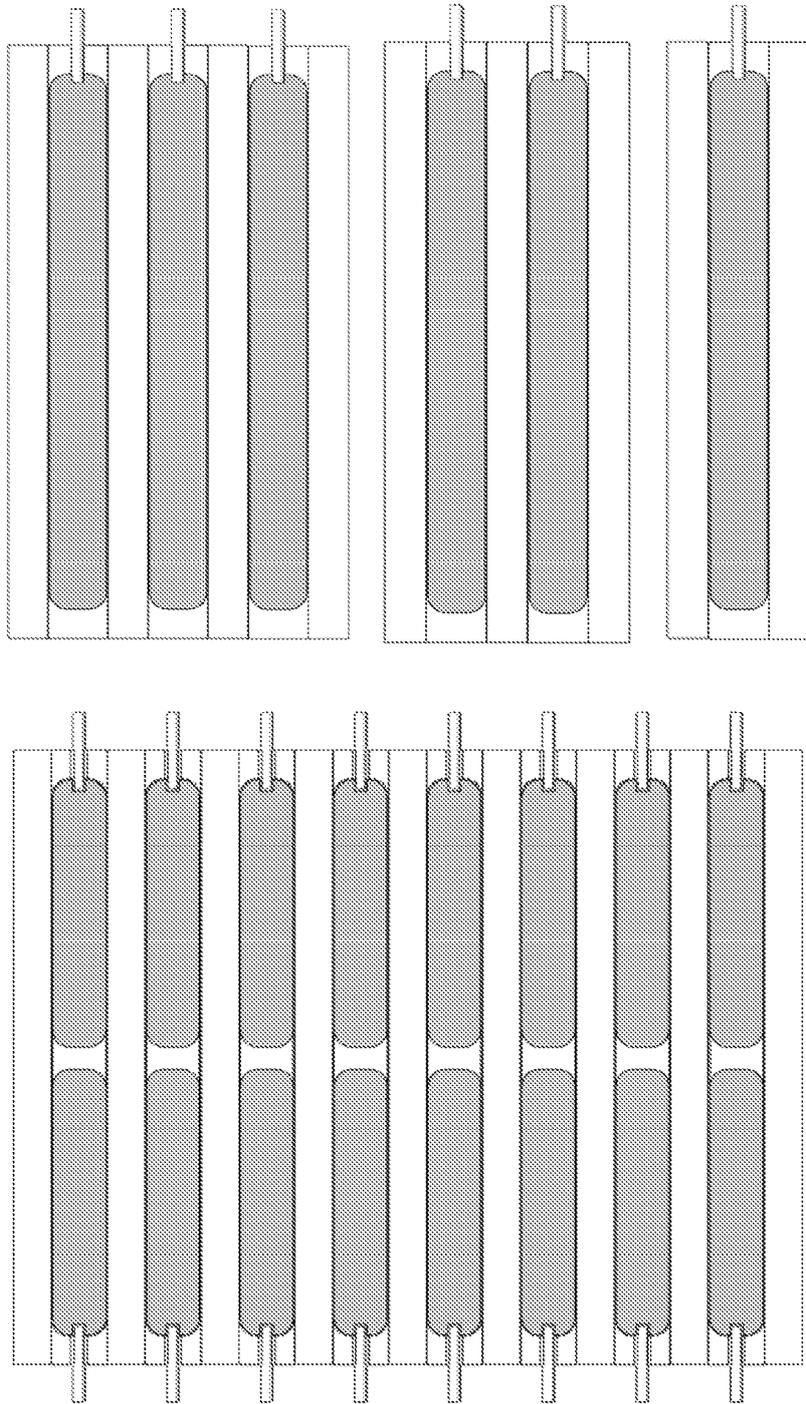


FIG.14

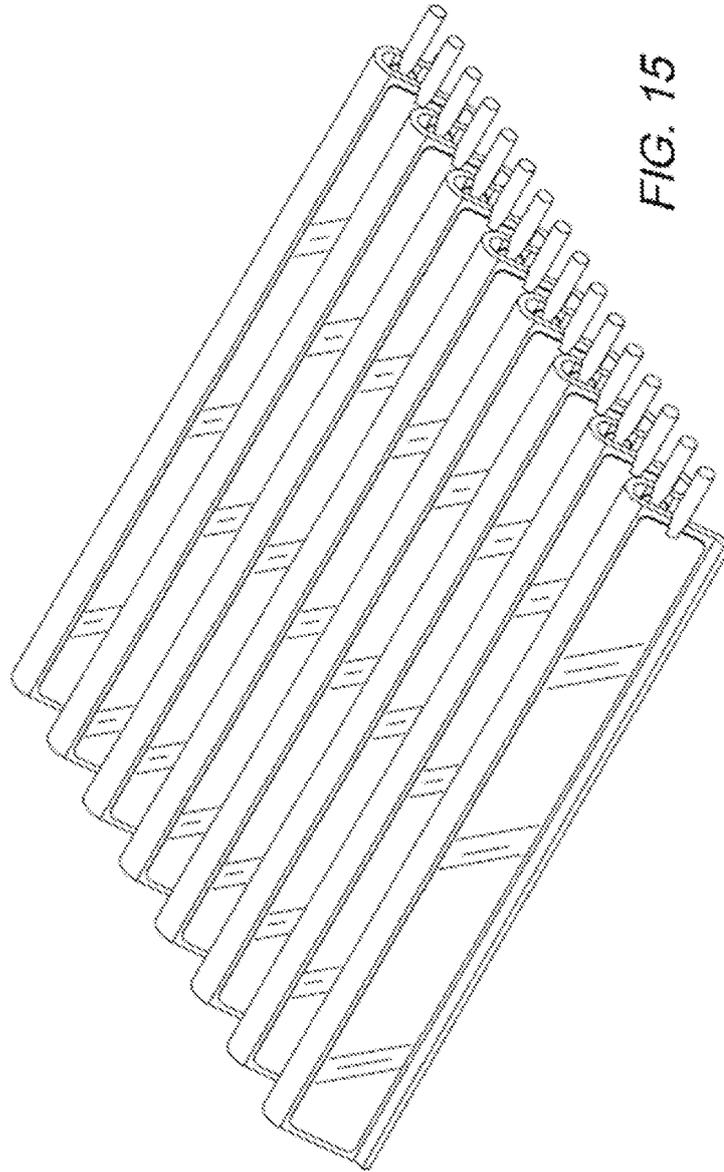


FIG. 15



FIG. 17

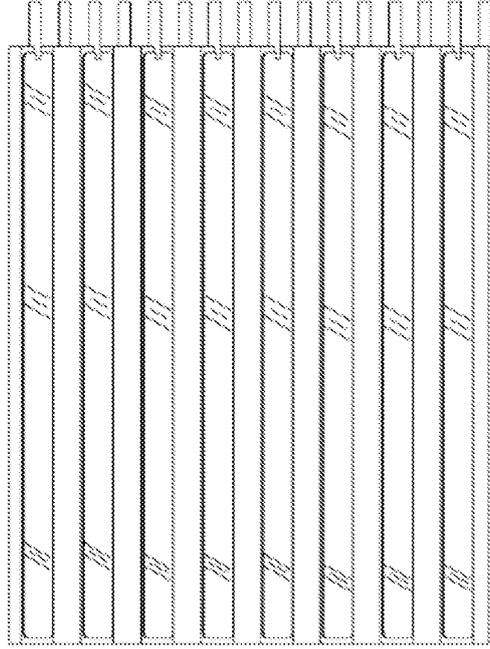


FIG. 19



FIG. 16

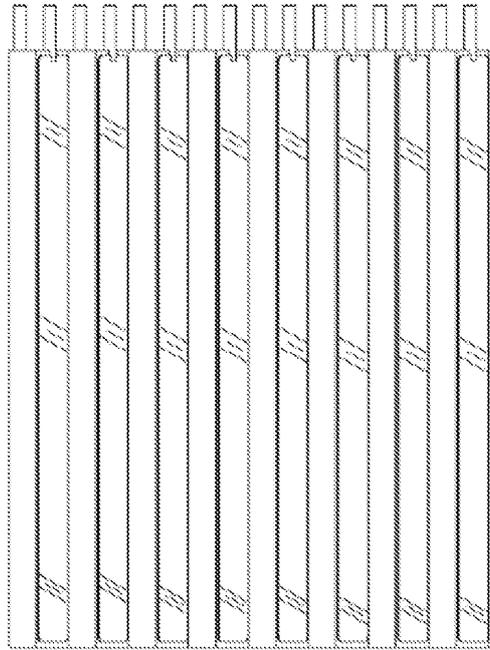


FIG. 18

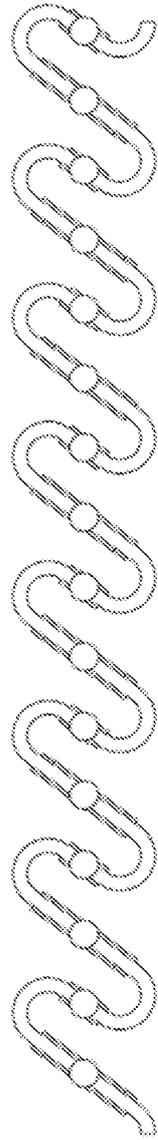


FIG. 20

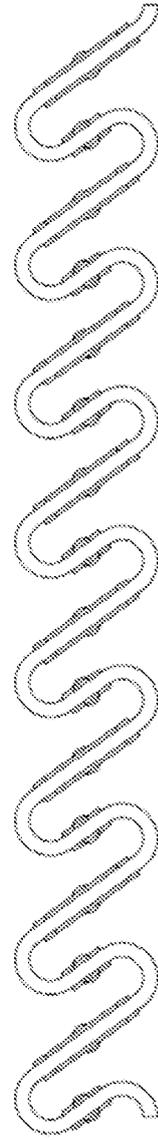


FIG. 21

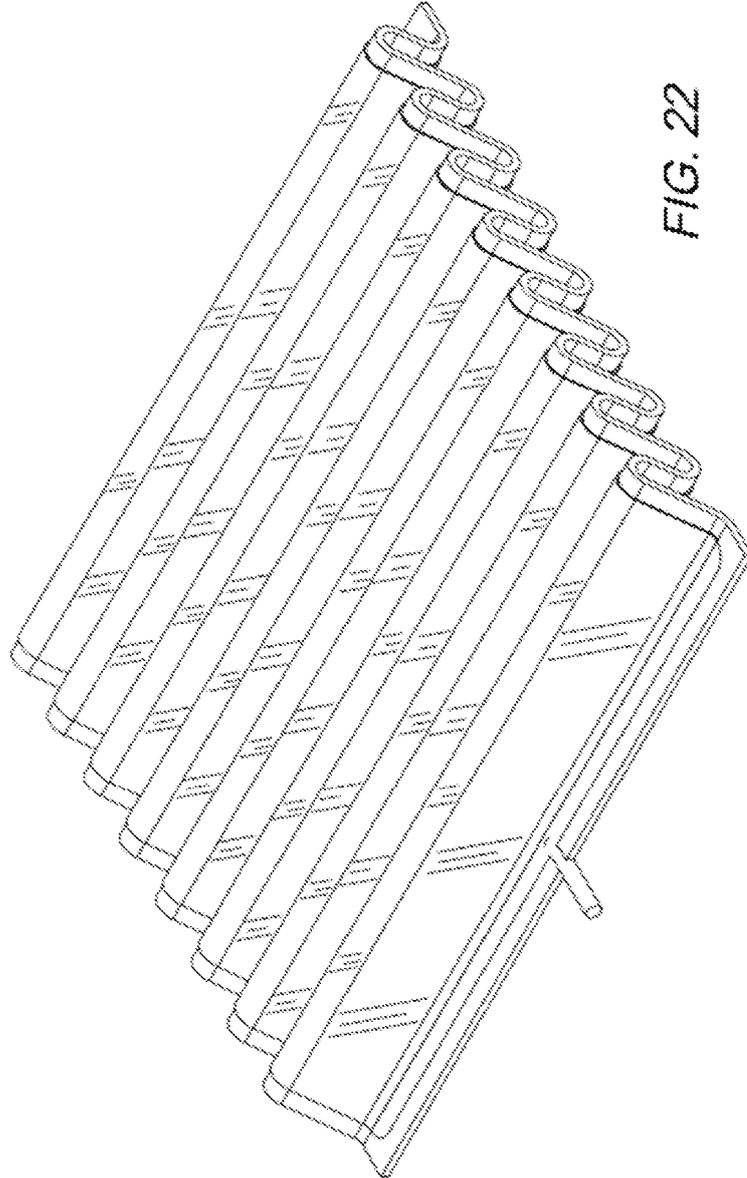


FIG. 22



FIG. 24

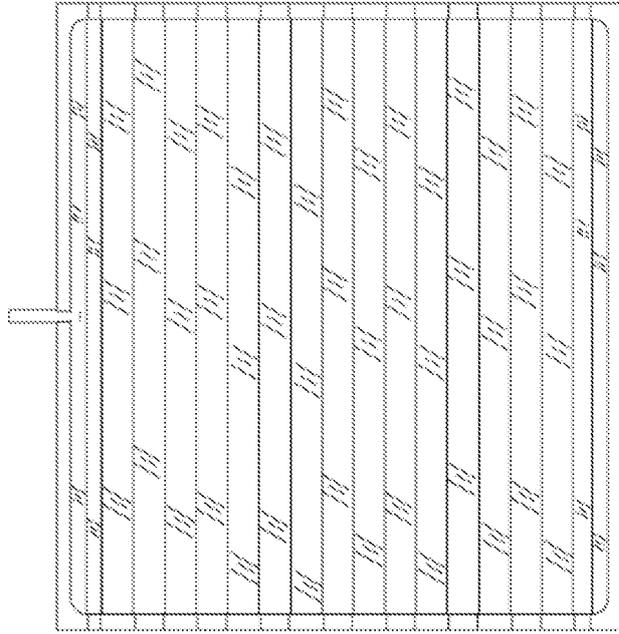


FIG. 26



FIG. 23

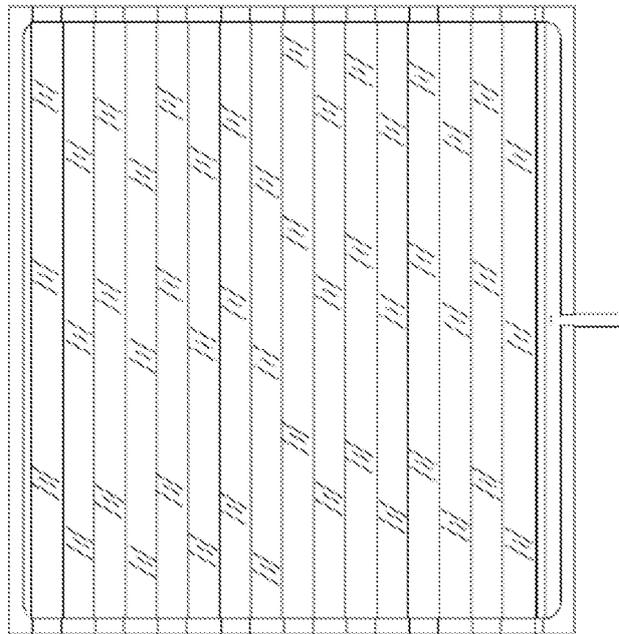


FIG. 25

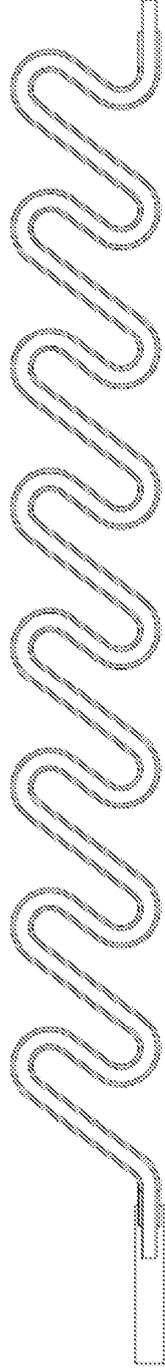


FIG. 27

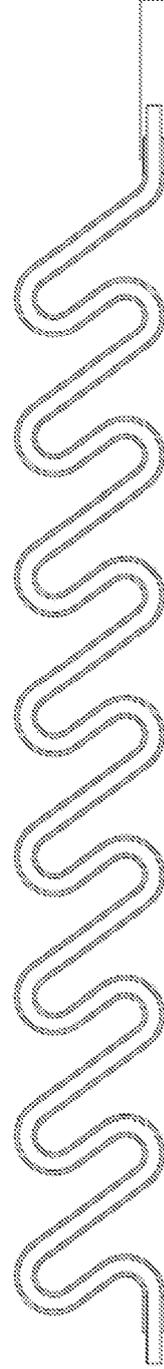


FIG. 28

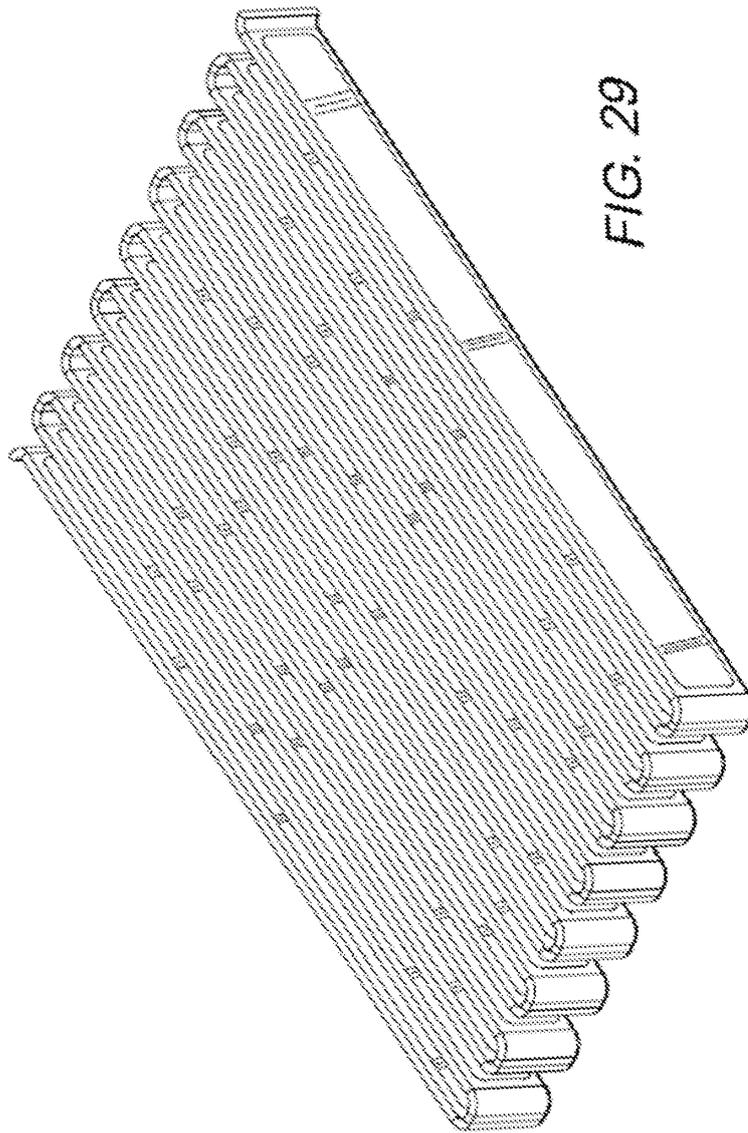


FIG. 29



FIG. 30



FIG. 31

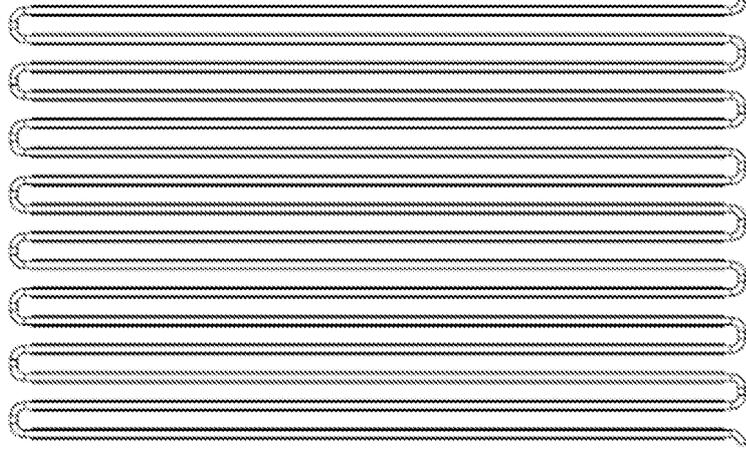


FIG. 32

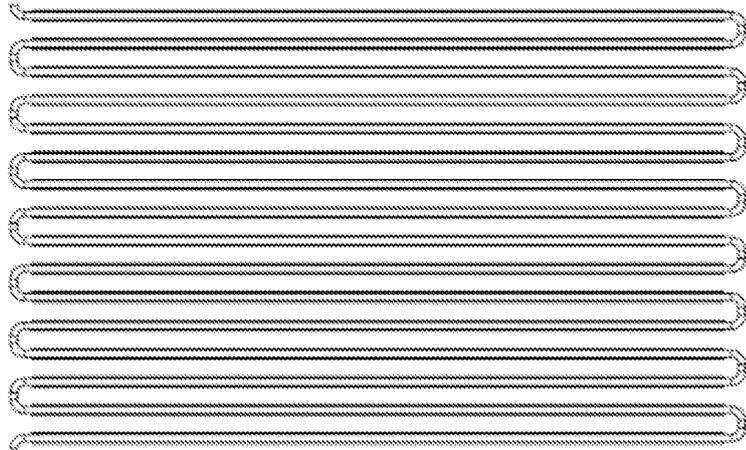


FIG. 33



FIG. 34

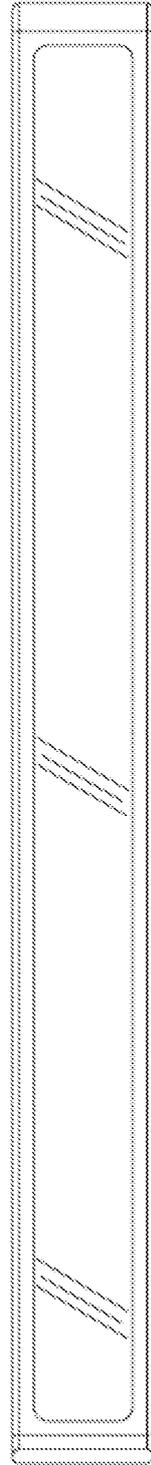


FIG. 35

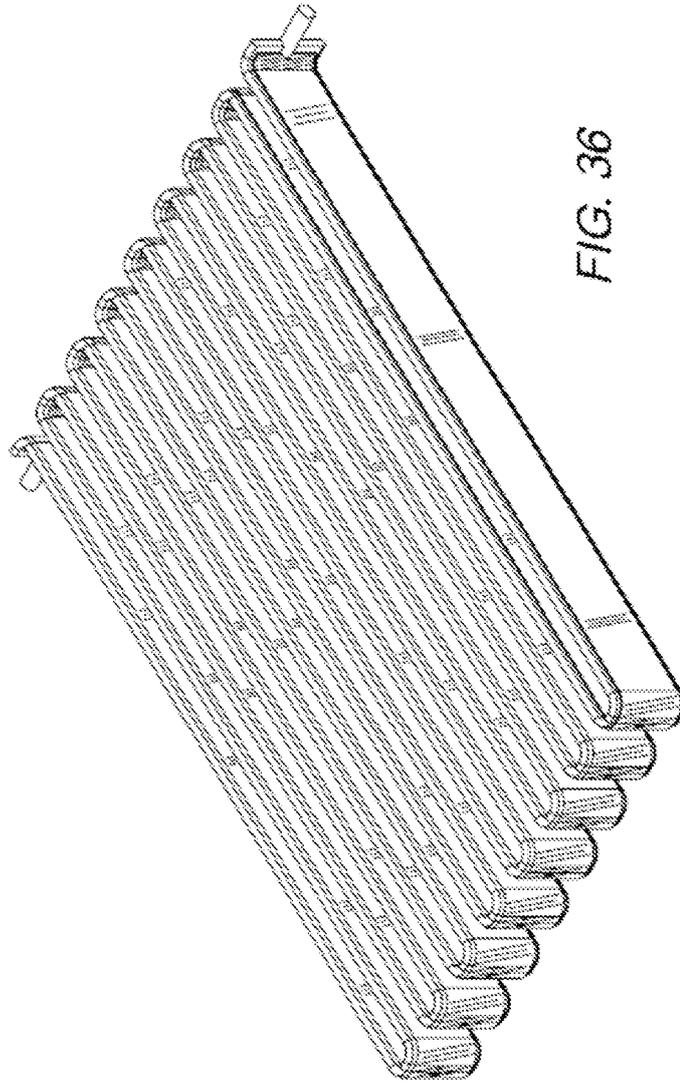


FIG. 36



FIG. 37



FIG. 38

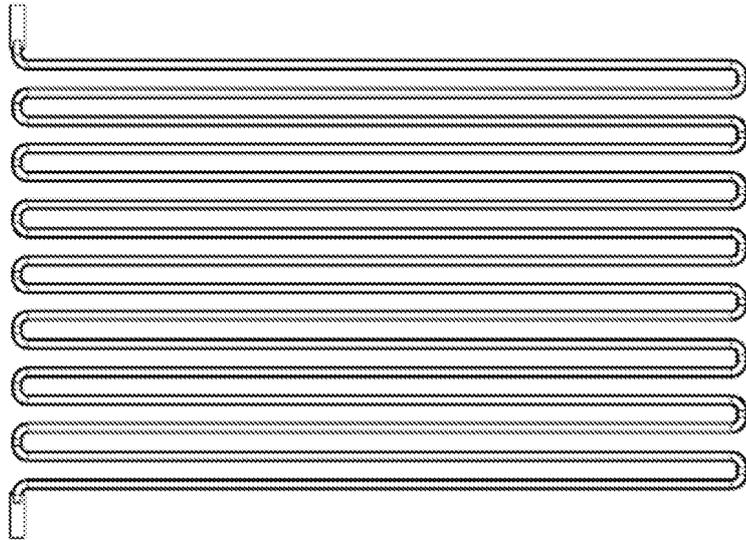


FIG. 39

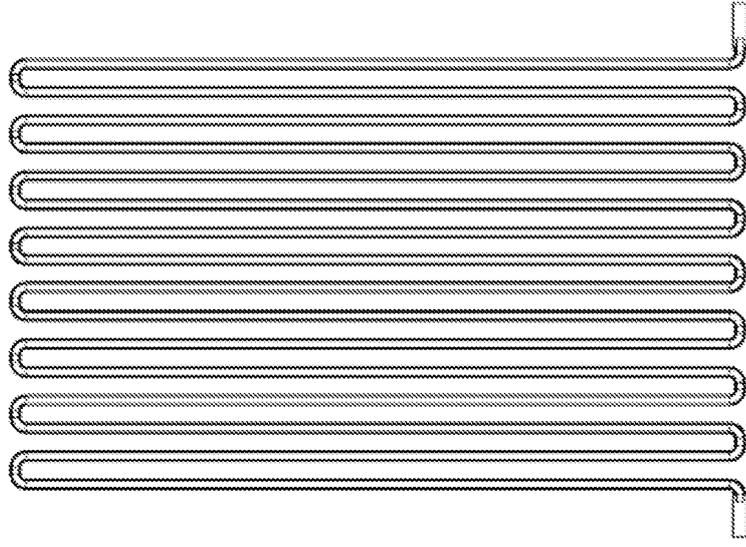


FIG. 40

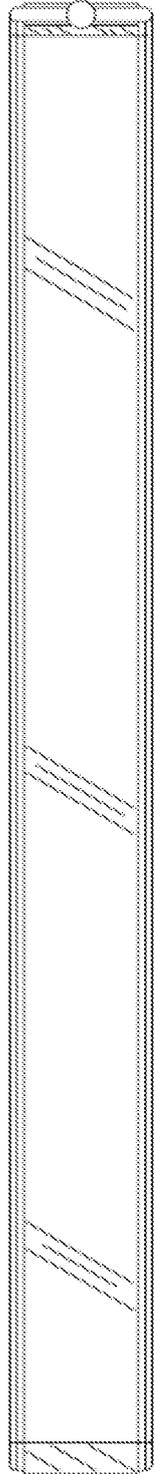


FIG. 41

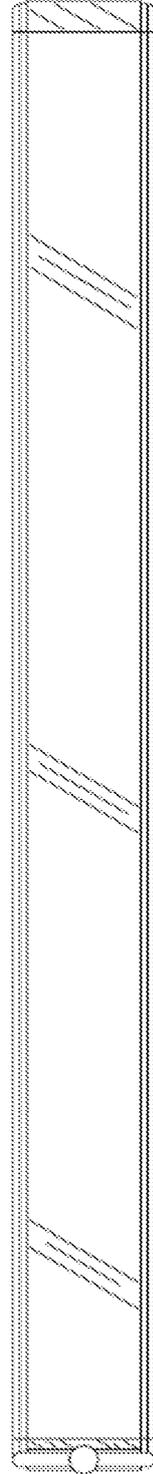


FIG. 42

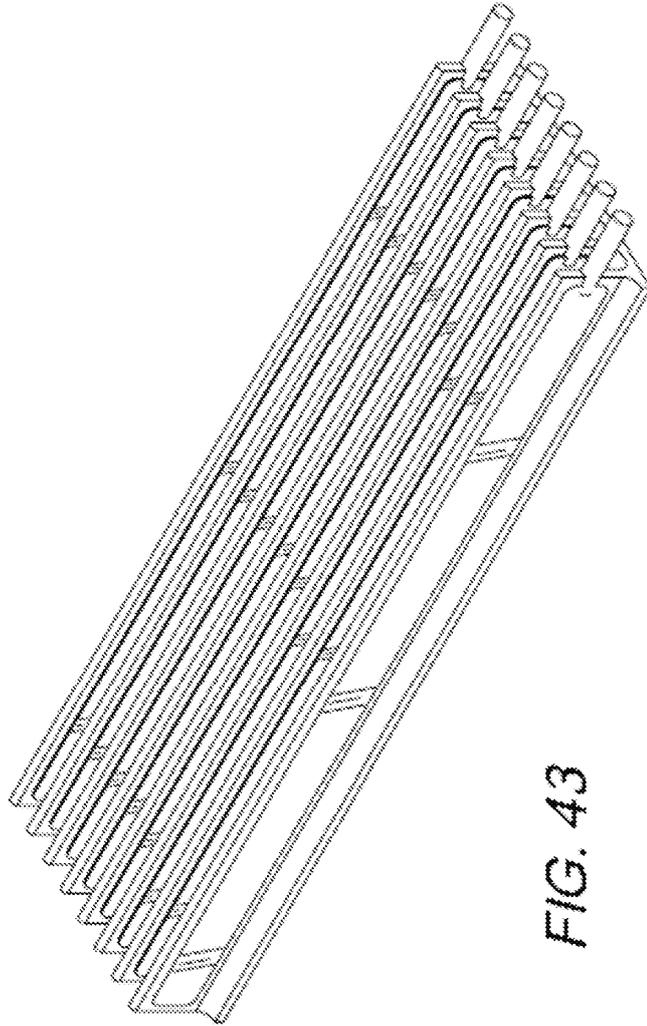




FIG. 45



FIG. 44

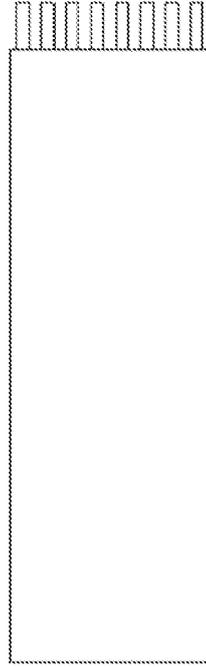


FIG. 47

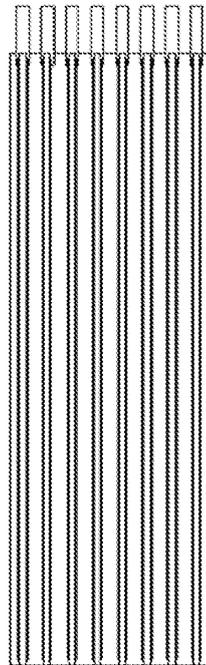


FIG. 46

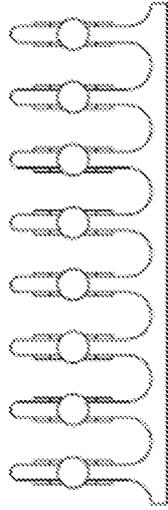


FIG. 48

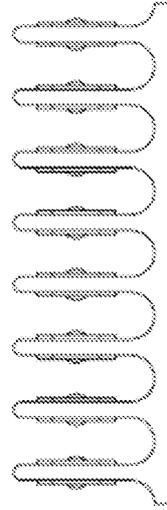


FIG. 49

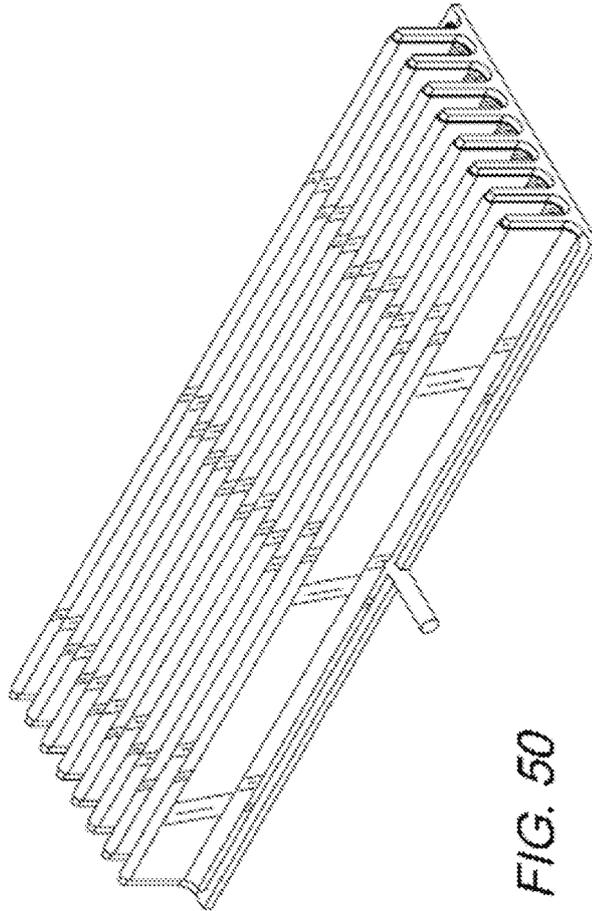


FIG. 50



FIG. 52



FIG. 51

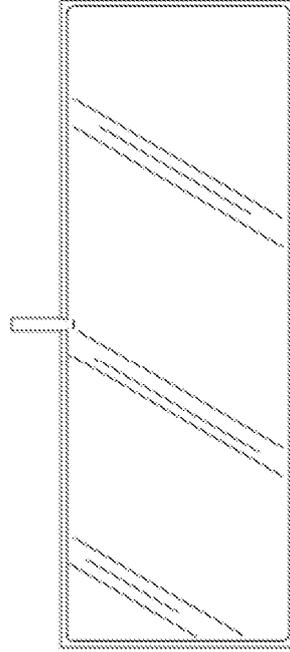


FIG. 54

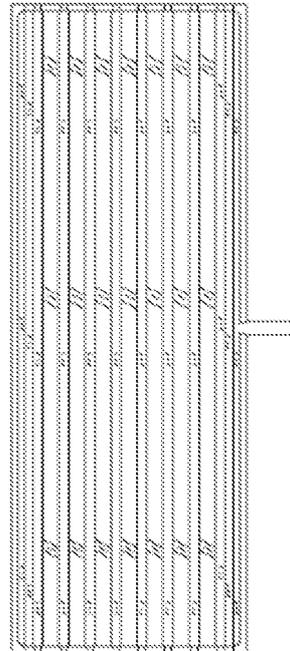


FIG. 53

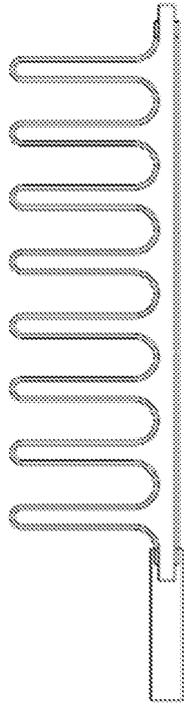


FIG. 55

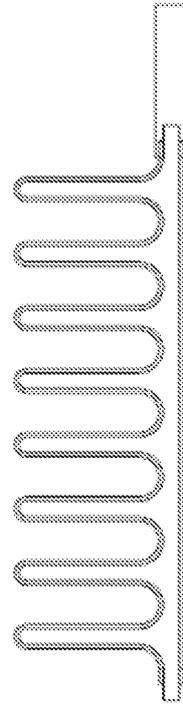


FIG. 56

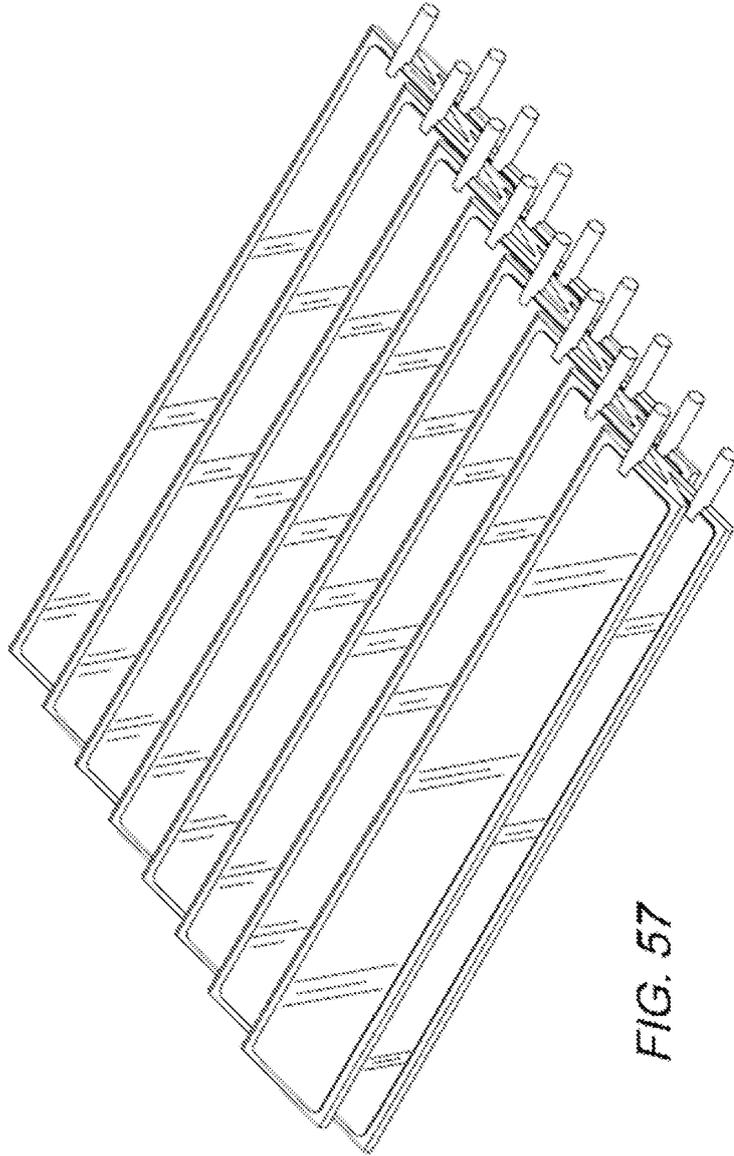


FIG. 57

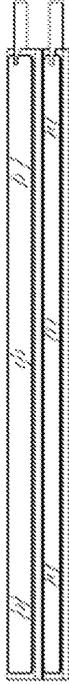


FIG. 58

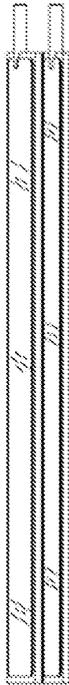


FIG. 59

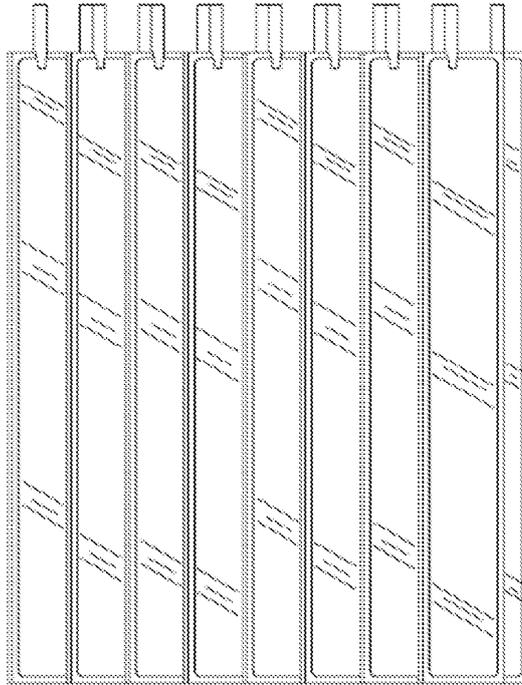


FIG. 60

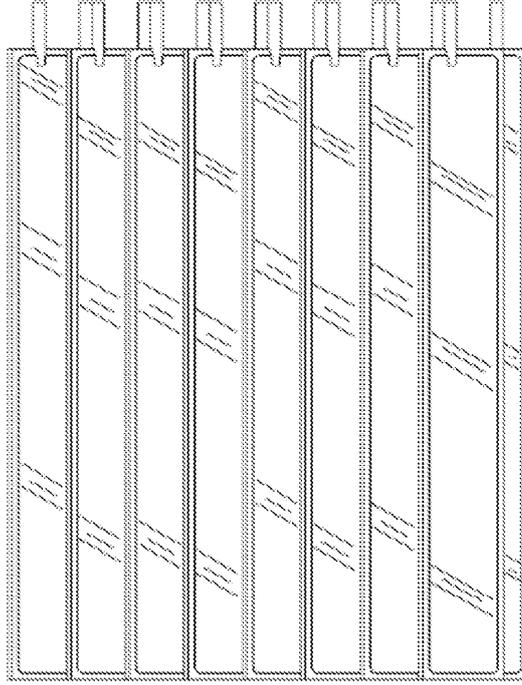


FIG. 61

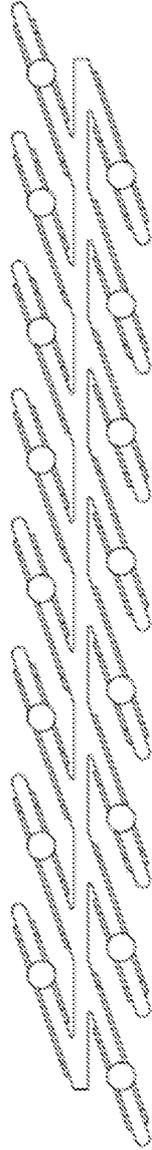


FIG. 62



FIG. 63

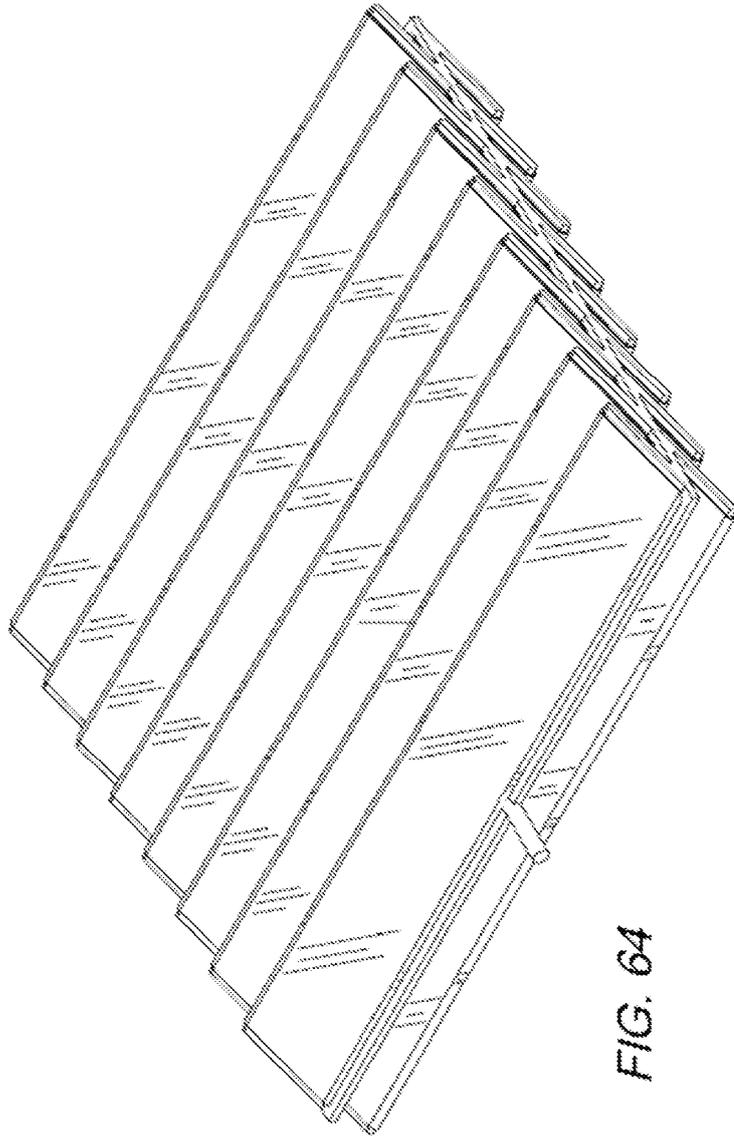




FIG. 65

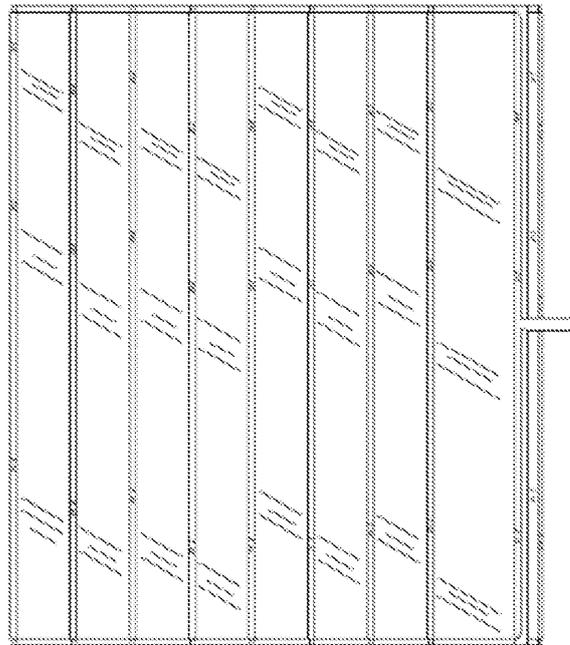


FIG. 67



FIG. 66

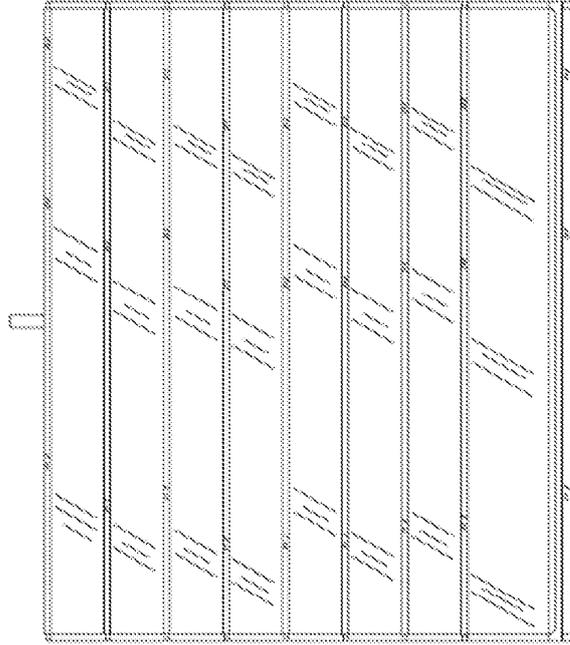


FIG. 68

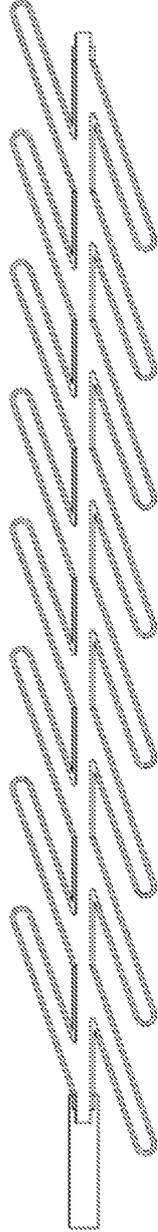


FIG. 69

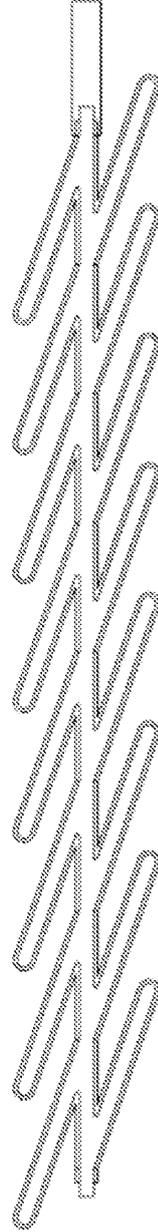


FIG. 70

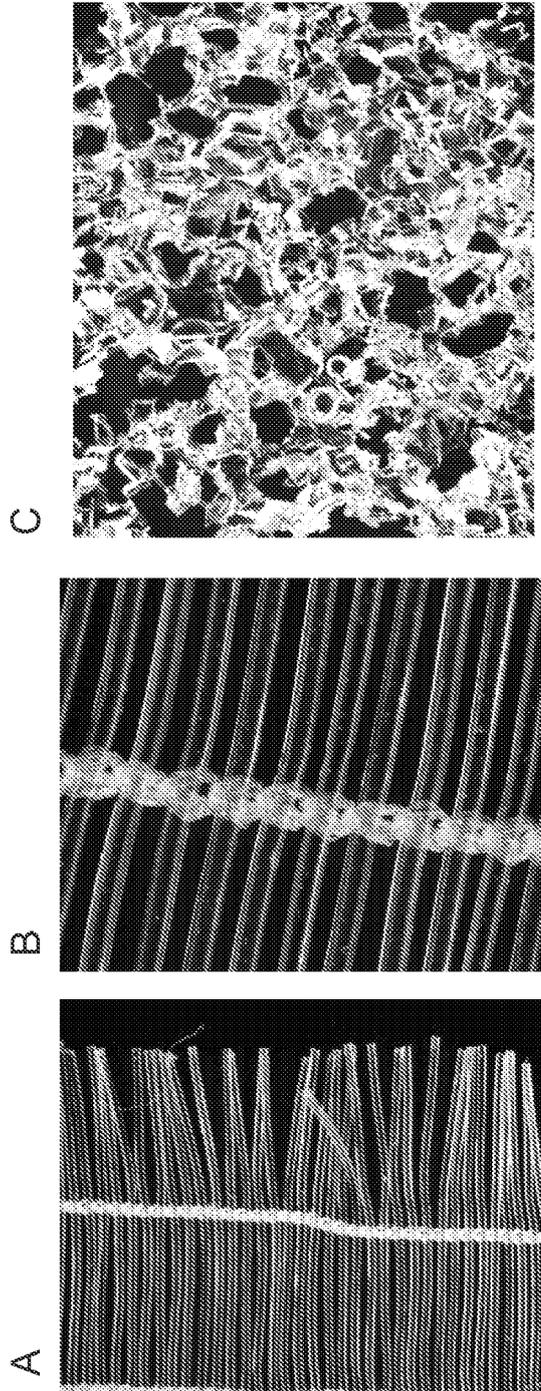


FIG.71

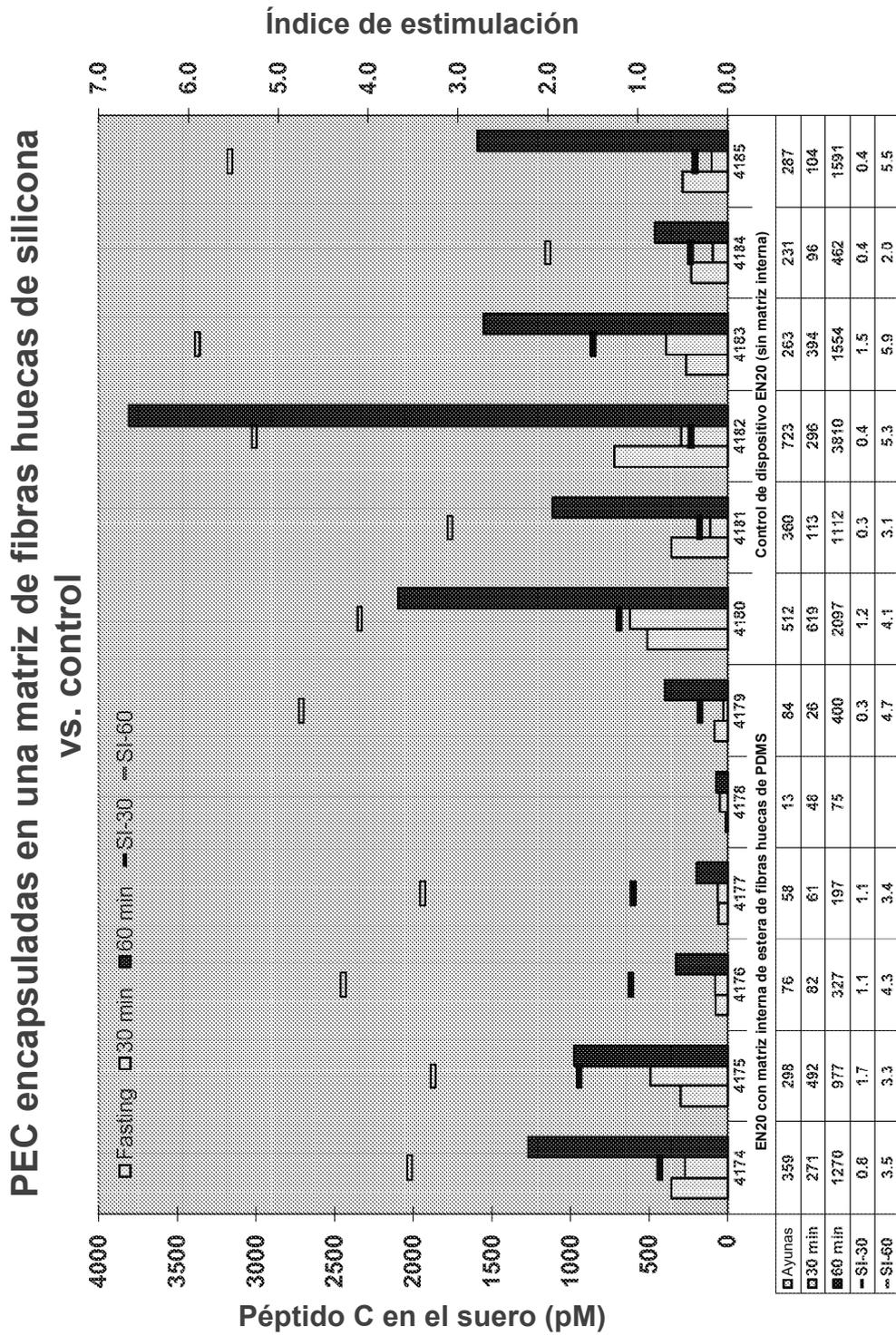


FIG.72

FIG.73



B



A

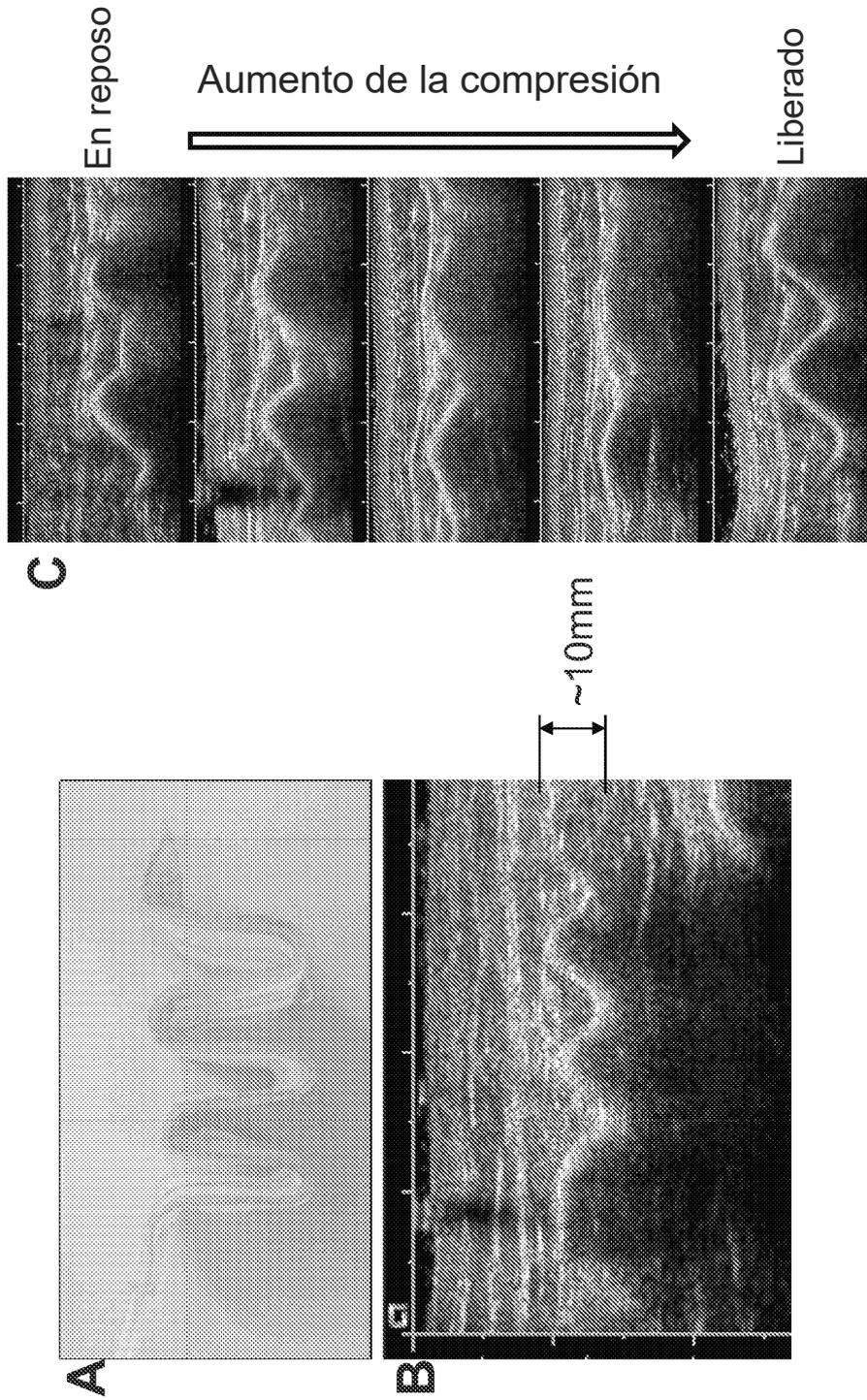
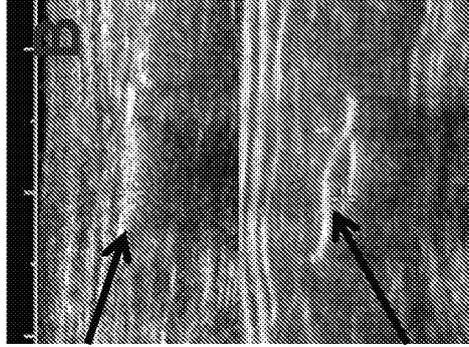


FIG.74

ENCAPTRA EN20



Dispositivo
húmedecido,
vacío

Lumen de ~1,5
mm

Lumen de ~2,5
mm

ENCAPTRA EN250

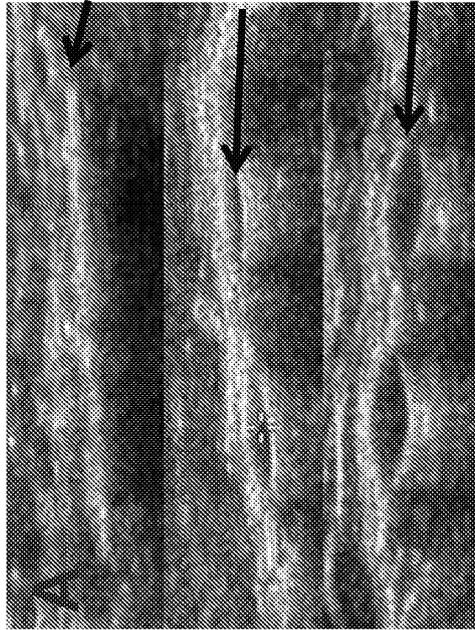


FIG.75