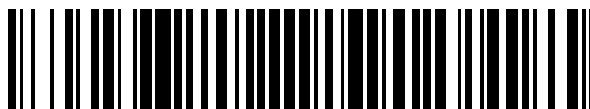


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 653 241**

51 Int. Cl.:

A61L 27/54 (2006.01)
C12N 5/071 (2010.01)
A61L 27/58 (2006.01)
A61M 39/02 (2006.01)
A61L 27/56 (2006.01)
A61K 35/12 (2015.01)
A61L 27/16 (2006.01)
A61L 27/38 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.08.2010** **PCT/US2010/047028**
87 Fecha y número de publicación internacional: **03.03.2011** **WO11025977**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.08.2010** **E 10751750 (0)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2017** **EP 2470228**

54 Título: **Métodos y dispositivos para trasplante celular**

30 Prioridad:

28.08.2009 US 238011 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.02.2018

73 Titular/es:

SERNOVA CORPORATION (100.0%)
700 Collip Circle
London, Ontario N6G 4X8, CA

72 Inventor/es:

HASILO, CRAIG;
LEUSHNER, JUSTIN;
HAWORTH, DANIEL, NICHOLAS;
SHOHET, SIMON;
TOLEIKIS, PHILIP, MICHAEL y
SIROEN, DELFINA, MARIA, MAZZUCA

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 653 241 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).

Métodos y dispositivos para trasplante celular

Descripción

5 La presente divulgación está relacionada con el campo de la terapia celular, y más específicamente, con métodos y dispositivos para el trasplante de células a un cuerpo huésped.

10 Los descubrimientos recientes en el campo de la terapia celular presentan nuevas oportunidades para el uso del trasplante de células en áreas de enfermedades, con necesidades médicas críticas, no satisfechas. Actualmente, no hay terapias de fármacos completamente efectivas para muchas afecciones de enfermedades adquiridas y congénitas, como diabetes o enfermedad de Parkinson, que están provocadas por la pérdida o daño a células que producen biomoléculas necesarias para controlar las funciones biológicas. La terapia celular mantiene la promesa de reemplazar células perdidas o dañadas con células donantes o células madre para mejorar las funciones fisiológicas deterioradas. Por ejemplo, el trasplante de islotes de células de Langerhans proporcionaría un medio de restablecer el control de los carbohidratos en pacientes con diabetes dependiente de insulina. De manera similar, el trasplante de neuronas dopaminérgicas o células madre neurales se ha convertido en una terapia basada en células prometedora para la enfermedad de Parkinson.

20 Los principales factores limitativos en la aplicación de terapia celular es la dificultad de trasplantar células al tejido huésped y asegurar que las células trasplantadas continúen funcionando sin provocar una respuesta inmune o provocar otros efectos secundarios perjudiciales en el huésped. Se han realizado intentos de administrar células terapéuticas directamente al cuerpo del huésped, por ejemplo, en el sistema vascular o por implantación en un órgano o tejido. Sin embargo, con el trasplante celular directo, se requiere que el paciente permanezca con terapia inmunosupresora de por vida, y los fármacos inmunosupresores pueden provocar toxicidad al huésped y las células implantadas. Adicionalmente, la exposición directa de las células a la sangre puede llevar a una reacción inflamatoria mediada por la sangre (IBMIR) que inicia una cascada de coagulación y puede destruir una parte significativa de las células trasplantadas. Además, las células pueden quedar atrapadas en microvasos y provocar bloqueo y trombosis de los vasos, lo que puede dar lugar a una pérdida de la función de las células trasplantadas y daño al tejido local.

30 Otro enfoque terapéutico es la administración de células usando dispositivos que proporcionan un ambiente biológicamente adecuado para que las células residan en el cuerpo huésped. Los desafíos principales con este enfoque son la pobre incorporación de los vasos sanguíneos al dispositivo para nutrir las células y mantener un ambiente óptimo dentro del dispositivo para la supervivencia a largo plazo de las células. En ausencia de un ambiente vascularizado inmediatamente, las células trasplantadas no son capaces de obtener oxígeno suficiente o eliminar fácilmente los desechos, y pueden morir o dañarse rápidamente por los efectos de la isquemia o hipoxia. Además, incluso en situaciones en las que algunos vasos crezcan temprano, los vasos pueden no ser sostenidos. Adicionalmente, la cascada inflamatoria natural del cuerpo puede también dar lugar a la muerte o daño de las células. Algunas otras dificultades encontradas con este enfoque incluyen cicatrización y/o encapsulamiento del dispositivo, incompatibilidad del material del dispositivo con el medio biológico, dificultades para la obtención de imágenes del dispositivo y el ambiente de implantación, dimensiones inapropiadas del dispositivo que afectan a la función biológica de las células, incapacidad de cargar el número apropiado de células para un efecto terapéutico sostenido, y dificultad de retirar el dispositivo cuando necesita reemplazo. Además, la configuración del dispositivo puede no ser compatible con los contornos externos del cuerpo, lo que da lugar a protrusiones anormales del dispositivo haciendo el dispositivo inaceptable para el paciente desde una perspectiva estética.

45 La WO 93/08850 A1 describe implantes poliméricos prevascularizados par trasplante de órganos. En particular la WO 93/08850 A1 describe implantes que se degradan a una tasa controlada durante un periodo de tiempo en el que la matriz o estructura de soporte es un polímero sintético biodegradable.

50 La US 5.733.336 describe un dispositivo implantado que contiene células a ser insertadas en un huésped. El dispositivo tiene un límite poroso en el que el tamaño del poro es suficiente para aislar las células del tejido del implante de la respuesta inmune del huésped y en el que el tamaño del poro bloquea el ingreso de estructuras vasculares del huésped.

55 Por lo tanto, sigue habiendo una necesidad de encontrar una técnica efectiva para el trasplante con éxito de células terapéuticas. La presente divulgación proporciona métodos y dispositivos para administrar y mantener células in vivo durante un periodo de tiempo extendido, a la vez que mejora muchos de los problemas asociados con los enfoques de terapia celular basados en dispositivos existentes.

60 En un aspecto de la presente invención se proporciona un dispositivo para trasplantar células en un cuerpo del paciente. El dispositivo para implantar células en un cuerpo del paciente comprende: un andamiaje poroso que comprende por lo menos una cámara que tiene un extremo proximal y un extremo distal, el andamiaje poroso teniendo poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejidos vasculares y conectivos en por lo menos una cámara; y al menos un tapón extraíble configurado para ser posicionado dentro de la por lo menos una cámara; en el que el andamiaje poroso comprende una malla de polipropileno.

Otra realización de la presente divulgación es un dispositivo para implantar células en un cuerpo del huésped, en el que el dispositivo comprende un andamiaje poroso que comprende una o más cámaras que tienen un extremo proximal y un extremo distal, y una abertura en cualquiera o ambos del extremo proximal y el extremo distal. El andamiaje poroso comprende poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejidos vasculares y conectivos en la menos una o más cámaras. El dispositivo también comprende uno o más sistemas de dos tapones que comprenden un tapón exterior configurado para ser posicionado dentro de una o más cámaras, y un tapón interior configurado para ser posicionado dentro del tapón exterior. Adicionalmente, el dispositivo comprende al menos un sello configurado para encerrar el sistema de tapones en la cámara y encerrar la abertura en cualquiera o ambos del extremo proximal y el extremo distal de la cámara.

En otro aspecto de la presente divulgación, se divulga un método para trasplantar células en un cuerpo del huésped. El método comprende los pasos de implantar un dispositivo para mantener las células en el cuerpo del huésped, en el que el dispositivo comprende un andamiaje poroso que comprende por lo menos una cámara que tiene un extremo proximal y un extremo distal. El andamiaje poroso comprende una malla que tiene poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejidos vasculares y conectivos en por lo menos una cámara. En algunas realizaciones, el andamiaje poroso comprende una malla de polipropileno. El dispositivo comprende además por lo menos un tapón configurado para ser posicionado dentro de por lo menos una cámara, y la por lo menos una cámara comprende una abertura en cualquiera o ambos del extremo proximal y el extremo distal. El método comprende los pasos de cerrar la abertura en cualquiera o ambos del extremo proximal y el extremo distal de la cámara tras implantar el dispositivo. El método comprende además mantener el dispositivo en el cuerpo del huésped hasta que el andamiaje poroso se infiltra con tejidos vasculares y conectivos, acceder al dispositivo a través de una incisión quirúrgica, reabrir cualquiera o ambos del extremo proximal y el extremo distal de la cámara, extraer el tapón de la cámara para crear un espacio dentro del andamiaje poroso que está encapsulado en la matriz de colágeno vascularizada, administrar una preparación celular al espacio vascularizado, y volver a cerrar la abertura en cualquiera o ambos del extremo proximal y el extremo distal de la cámara.

En otra realización alternativa, se proporciona un dispositivo para su uso en un método para implantar células en un cuerpo del huésped que comprende los pasos de: (a) proporcionar un dispositivo implantable para mantener células en el cuerpo del huésped, el dispositivo implantable comprendiendo: un andamiaje poroso que comprende por lo menos una cámara que tiene una abertura en cualquiera o ambos de un extremo proximal y un extremo distal de la cámara, en andamiaje poroso teniendo poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejidos vasculares y conectivos en el andamiaje poroso, por lo menos un sistema de dos tapones configurado para ser posicionado dentro del andamiaje poroso; por lo menos un sistema de dos tapones configurado para ser posicionado en la por lo menos una cámara; y por lo menos un sello configurado para encerrar la abertura en cualquiera o ambos de los extremos proximal y distal de la por lo menos una cámara; en el que el por lo menos un sistema de dos tapones comprende un tapón exterior configurado para ser posicionado dentro de la por lo menos una cámara y un tapón interior configurado para ser posicionado dentro del tapón exterior; (b) implantar el dispositivo en el cuerpo del huésped; (c) mantener el dispositivo en el cuerpo del huésped hasta que el dispositivo es infiltrado con tejidos vasculares y conectivos; (d) proporcionar un dispositivo de administración de células que comprende por lo menos un tubo de infusión celular cargado con una preparación de celular, el tubo de infusión de células configurado para ser posicionado dentro del tapón exterior; (e) acceder al dispositivo implantado a través de una incisión quirúrgica y abrir el por lo menos un sello; (f) retirar el tapón interior del sistema de dos tapones; (g) insertar el tubo de infusión de células en el tapón exterior; (h) retirar el tapón exterior de la por lo menos una cámara e infundir simultáneamente la cámara con la preparación celular; y (i) volver a cerrar el por lo menos un sello. Debe entenderse que tanto la descripción general precedente como la siguiente descripción detallada son ejemplares y explicativas solamente y no son restrictivas de la invención, como se reivindica.

Otro aspecto de la divulgación proporciona un dispositivo de trasplante celular que comprende un andamiaje poroso que tiene poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejidos vasculares y conectivos en el andamiaje poroso que comprende por lo menos una cámara y preferiblemente entre 2-12 cámaras, en donde el andamiaje poroso está recubierto con un material biocompatible, biodegradable diseñado para rellenar temporalmente los poros del andamiaje. En ciertas realizaciones, el andamiaje poroso comprende una malla de polipropileno. Los materiales biocompatibles, biodegradables adecuados incluyen, por ejemplo, colágeno, fibronectina, proteínas de la matriz extracelular y proteínas del citoesqueleto de la membrana. La divulgación también proporciona un método para trasplantar células en un cuerpo del huésped que comprende implantar un dispositivo de trasplante que comprende un andamiaje poroso que tiene poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejidos vasculares y conectivos en el andamiaje poroso que comprende por lo menos una cámara y preferiblemente entre 2-12 cámaras, en el que el andamiaje poroso está recubierto con un material biocompatible, biodegradable que rellena temporalmente los poros del andamiaje, y en el que la por lo menos una cámara se llena con las células a ser trasplantadas y la cámara se sella.

Los dibujos acompañantes, que se incorporan en y constituyen una parte de esta especificación, junto con la descripción, ilustran métodos y realizaciones de la invención.

Breve Descripción de los Dibujos

Las FIGS. 1A-1E ilustran varias realizaciones de un dispositivo de trasplante de células de cámara única consistente con la presente divulgación;

5 La FIG. 1F ilustra una realización de un dispositivo de trasplante de células multi-cámara consistente con la presente divulgación;

Las FIGS. 2A-2D ilustran varias configuraciones de mallas que pueden usarse para formar un dispositivo de trasplante de células consistente con la presente divulgación;

10 La FIG. 3A ilustra un dispositivo de trasplante de células de acuerdo con una realización de la presente divulgación;

La FIG. 3B ilustra los componentes del dispositivo de trasplante de células de la FIG. 1A;

La FIG. 4 ilustra un andamiaje poroso de un dispositivo de trasplante de células consistente con una realización la presente divulgación;

15 La FIG. 5A ilustra un sello de un dispositivo de trasplante de células consistente con una realización la presente divulgación;

La FIG. 5B es una vista en sección transversal del sello mostrado en la FIG. 5A;

La FIG. 6A ilustra múltiples tapones exteriores de un sistema de tapón de dos partes de un dispositivo de trasplante de células consistente con una realización la presente divulgación;

20 La FIG. 6B es una vista en sección transversal de un tapón exterior ilustrado en la FIG. 5A;

La FIG. 6C es una vista en sección transversal de un sistema de tapón y un montaje de andamiaje poroso individual antes del implante en un cuerpo del huésped;

La FIG. 6D es una vista en sección transversal del montaje ilustrado en la FIG. 4C tras la incubación en un cuerpo del huésped;

25 La FIG. 6E es una vista en sección transversal de un andamiaje poroso implantado en un cuerpo del huésped tras la retirada del sistema de tapón;

La FIG. 7 ilustra múltiples tapones interiores de un sistema de tapón de dos partes de un dispositivo de trasplante de células consistente con una realización la presente divulgación;

La FIG. 8 ilustra un sello para encerrar células dentro de una cámara vascularizada de un dispositivo de trasplante de células consistente con una realización la presente divulgación;

30 La FIG. 9A ilustra un dispositivo para administrar células a un dispositivo de trasplante de células consistente con una realización la presente divulgación;

La FIG. 9B muestra un mecanismo de infusión de células del dispositivo de administración ilustrado en la FIG. 8A;

35 La FIG. 9C muestra pasos adicionales del mecanismo de infusión de células del dispositivo de administración ilustrado en las FIGS. 8A-8B;

La FIG. 10 es un diagrama de flujo que muestra los pasos de un método de trasplante de células de acuerdo con la presente divulgación;

Las FIGS. 11A-11D muestran una vista general esquemática de ciertos pasos de un procedimiento de infusión de células de acuerdo con la presente divulgación;

40 La FIG. 12A muestra gráficos lineales de mediciones de glucosa en sangre tras el implante intraperitoneal de dispositivos de trasplante de células, como se describe en el Ejemplo 1;

La FIG. 12B muestra gráficos lineales de mediciones de glucosa en sangre tras el implante subcutáneo de dispositivos de trasplante de células, como se describe en el Ejemplo 1;

45 La FIG. 12C muestra gráficos lineales de respuestas IVGTT en ratas Lewis trasplantadas con células de islotes al de 40 días del trasplante, 80 días tras el trasplante, y tras la retirada del dispositivo (110 días tras el trasplante), como se describe en el Ejemplo 1;

La FIG. 12D muestra gráficos lineales de los niveles de insulina respuesta al desafío de glucosa en ratas Lewis trasplantadas con células de islote, como se describe en el Ejemplo 1;

50 La FIG. 13A demuestra la tinción histológica de insulina dentro de la cámara de un dispositivo implantado, como se describe en el Ejemplo 2;

La FIG. 13B demuestra la tinción histológica de vascularización (microvasculatura) dentro de la cámara de un dispositivo implantado, como se describe en el Ejemplo 2;

55 La FIG. 14 es una tabla del grosor de colágeno medio y vaso sanguíneo total/cm² calculados para cuatro dispositivos de trasplante de células consistentes con las realizaciones de la presente divulgación, como se describe en el Ejemplo 3;

La FIG. 15A demuestra la incorporación de tejido en un dispositivo de trasplante de células al de 2, 4 y 8 semanas tras la implantación, como se describe en el Ejemplo 3;

60 La FIG. 15B muestra la formación de vasos sanguíneos en varios márgenes de un dispositivo implantado antes del trasplante de células, como se describe en el Ejemplo 3;

La FIG. 16 muestra gráficos de barras de niveles de insulina producidos por islotes maduros e inmaduros, como se describe en el Ejemplo 4;

65 La FIG. 17A demuestra la tinción histológica de insulina y microvasculatura dentro de la cámara de un dispositivo implantado, como se describe en el Ejemplo 4;

La FIG. 17B demuestra la tinción histológica de insulina y microvasculatura dentro de la cámara de un dispositivo implantado, como se describe en el Ejemplo 4;

La FIG. 18 muestra gráficos lineales de niveles de glucosa en sangre tras el trasplante de autoinjertos de islotes, como se describe en el Ejemplo 4;

La FIG. 19A muestra gráficos lineales de niveles de glucosa en sangre absolutos en respuesta al desafío de glucosa en cerdos Yorkshire-Landrace trasplantados con células de islotes, como se describe en el Ejemplo 4;

La FIG. 19B muestra gráficos de barras de Área bajo una Curva (AUC) para niveles de glucosa en sangre en respuesta al desafío de glucosa en cerdos Yorkshire-Landrace trasplantados con células de islotes, como se describe en el Ejemplo 4;

La FIG. 19C muestra gráficos lineales de veces de cambio en niveles de péptido C en respuesta al desafío de glucosa en cerdos Yorkshire-Landrace trasplantados con células de islotes, como se describe en el Ejemplo 4.

Descripción de Realizaciones Ejemplares

Se hará ahora referencia en detalle a realizaciones de esta divulgación, ejemplos de las cuales se ilustran en los dibujos acompañantes. Siempre que sea posible, se usaran los mismos números de referencia a lo largo de los dibujos para referirse a partes iguales o similares. En toda la divulgación, los términos infusión de células y trasplante de células se usan de manera intercambiable.

Se proporciona un dispositivo de trasplante de células para contener células terapéuticas in vivo. En una realización ejemplar, el dispositivo de trasplante de células comprende al menos un andamiaje poroso que comprende una cámara en el mismo y que tiene una abertura en cualquiera o ambos de un extremo proximal y un extremo distal del andamiaje, y al menos un tapón configurado para ser alojado en la cámara. La abertura en uno o ambos extremos de la cámara está dimensionada para permitir la inserción y retracción del tapón de la cámara. En una realización, el por lo menos un andamiaje poroso es de forma tubular, y el por lo menos un andamiaje poroso comprende una cámara en el mismo y tiene una abertura en cualquiera o ambos del extremo proximal y el extremo distal del andamiaje, y por lo menos un tapón configurado para ser alojado en la cámara. La abertura en uno o ambos de los extremos de la cámara está dimensionada para permitir la inserción y retracción del tapón de la cámara. En una realización, el por lo menos un andamiaje poroso es de forma cilíndrica, y el por lo menos un tapón es de forma cilíndrica y se extiende a lo largo de un lumen de el por lo menos un andamiaje poroso. En algunas realizaciones, el andamiaje poroso está abierto sólo en el extremo proximal. En una de tales realizaciones, el extremo distal del andamiaje poroso tubular comprende una superficie redondeada o de fondo plano. En otra realización, los bordes en el extremo distal del andamiaje poroso están ahusados y puestos en contacto entre sí para sellar el extremo distal.

En otra realización ejemplar, el dispositivo de trasplante de células comprende un andamiaje poroso que comprende una o más cámaras que tienen un extremo proximal y un extremo distal. La una o más cámaras comprenden una abertura en el extremo proximal. El dispositivo también comprende uno o más sistemas de tapón que comprenden un tapón exterior configurado para ser posicionado dentro de la una o más cámaras, y un tapón interior configurado para ser posicionado dentro del tapón exterior. Adicionalmente, el dispositivo comprende al menos un sello configurado para encerrar el sistema de tapón dentro de la cámara y sellar la abertura en el extremo proximal de la cámara.

El andamiaje poroso está formado de un material biocompatible que debería provocar sólo una respuesta inflamatoria leve en el cuerpo. Los componentes inflamatorios leves estimulan la angiogénesis y promueven la incorporación de una matriz de colágeno vascularizada en el dispositivo, pero no da lugar a inflamación significativa alrededor del dispositivo. Un ejemplo de tal material biocompatible es el polipropileno. De acuerdo con la invención, el andamiaje poroso comprende una malla de polipropileno tejida que tiene rigidez suficiente para facilitar la fabricación del dispositivo. La malla de polipropileno también se selecciona para permitir que se introduzcan microvasos en el dispositivo y se mantengan como vasos robustos, sanos, lo que es crítico para la supervivencia y funcionamiento normal de las células terapéuticas infundidas en el dispositivo.

Fomentando el crecimiento regulado de tejido vascularizado en el dispositivo, el andamiaje poroso evita la encapsulación del dispositivo con tejido cicatrizal. Los tejidos crecidos interiormente también estabilizan el implante y evitan el movimiento inadvertido del dispositivo in situ. Adicionalmente, en algunas realizaciones, el andamiaje poroso está recubierto con agentes biológicos o no biológicos para estimular la incorporación de tejido y factor de crecimiento), NRP-1 (neuropilina-1), Ang-1, Ang2 (angioporelina 1,2), IGF- β , endoglin, MCP-1, $\alpha\text{v}\beta 3$, $\alpha\text{v}\beta 5$, CD-31, VE-cadherina, efrina, activadores de plasminógeno, angiogenina, Del-1, aFGF (factor de crecimiento de fibroblastos ácido), vF-GF (factor de crecimiento de fibroblastos básico), folistatina, G-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos), HGF (factor de crecimiento de hepatocitos), IL-8 (interleucina-8), leptina, midkine, factor de crecimiento placentario, PD-ECGF (factor de crecimiento endotelial derivado de plaquetas), PTN (pleiotropina), progranulina, proliferina, TGF- α y TNF- α .

En algunas realizaciones, la superficie exterior del andamiaje poroso es rugoso para estimular el ingreso de tejido. En ciertas realizaciones, el andamiaje poroso incluye varios recubrimientos de polímero eluyentes de

fármacos. En otras realizaciones, el andamiaje poroso puede estar recubierto con un polímero biodegradable o no biodegradable sin un fármaco. El andamiaje puede estar parcial o completamente recubierto con el polímero. Polímeros representativos que pueden usarse para recubrimiento y/o elución de fármacos incluyen, pero no están limitados a: polímeros de metacrilato, polietilenimina y sulfato de dextrano, poli(vinilsiloxano)ecopolímero-polietilenimina, fosforilcolina, poli(metacrilato de etilo), poliuretano, poli(etilenglicol), poli(ácido láctico-glicólico), hidroxiapatita, poli(ácido láctico), polihidroxievaleta y copolímeros, polihidroxibutirato y copolímeros, policaprolactona, polidioxanona, polianhídridos, policianocrilatos, poli(aminoácidos), poli(ortoésteres), poliésteres, colágeno, gelatina, polímeros de celulosa, quitosanos y alginatos o combinaciones de los mismos. Ejemplos adicionales que pueden usarse para recubrir el andamiaje incluyen, pero no están limitados a: colágeno, fibronectina, proteínas de la matriz extracelular, vinculina, agar y agarosa. Debe entenderse que se pueden usar varias mezclas de polímeros.

Con respecto a la elución de fármacos, en algunas realizaciones ilustrativas, el andamiaje poroso incluye un recubrimiento de antibióticos para minimizar las infecciones. Antibióticos representativos incluyen, pero no están limitados a: ampicilina, tetraciclina, nafcilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, vancomicina, kanamicina, gentamicina, estreptomina, clindamicina, trimetoprim-sulfametoxazol, linezolid, teicoplanina, eritromicina, ciprofloxacina, rifampicina, penicilina, amoxicilina, sulfonamidas, ácido nalidíxico, norfloxacina, ciprofloxacina, ofloxacina, esparfloxacina, lomefloxacina, fleroxacin, pefloxacina, amifloxacina, 5-fluorouracilo, cloranfenicol, polimixina, mitomicina, cloroquina, novobiocina, nitroimidazol. En otra realización el andamiaje poroso incluye un agente bactericida. Agentes bactericidas representativos incluyen, pero no están limitados a: cloruro de benzalconio, gluconato de clorohexidina, ácido sórbico y sales del mismo, timerosal, clorobutanol, alcohol fenilético y p-hidroxibenzoato.

En algunas realizaciones, partes del dispositivo de trasplante de células están recubiertas con fármacos antifibróticos para evitar la encapsulación de tejido fibroso. Agentes antifibróticos representativos incluyen, pero no están limitados a: paclitaxel, everolimus, tacrolimus, rapamicina, hidrobromuro de halofuginona, combretastatina y análogos y derivados de los mismos (como combretastatina A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-6, B-1, B-2, B-3, B-4, D-1, D-2, y combretastatina A-4 fosfato (Oxígeno)), docetaxel, vinblastina, vincristina, sulfato de vincristina, vindesina y vinorelbina, campotecina topotecan, irinotecán, antramicina de etopósido o tenipósido, mitoxantrona, menogaril, nogalamina, aclacinomicina A, olivomicina A, cromomicina A₃, y plicamicina, metotrexato, edatrexato, trimetrexato, raltitrexed, piritrexim, denopterina, tomudex, pteropterina, y derivados y análogos de los mismos. En algunas realizaciones, el dispositivo de trasplante de células pueden incluir también polimetil metacrilato o cemento óseo u otros tipos de cianoacrilatos.

En algunas realizaciones, el andamiaje poroso está formado de un material que permite la formación de imágenes del dispositivo implantado usando, por ejemplo, MRIs, fMRIs, escaneos CT, rayos X, ultrasonidos, escaneos PET, etc. En una de tales realizaciones, el andamiaje poroso comprende una malla de polímero (por ejemplo, polipropileno, politetrafluoroetileno (PTFE), poliuretano, poliésteres, mallas de seda, etc. que es inmunológicamente compatible y permite la formación de imágenes del tejido neovascularizado. En otras realización, el andamiaje poroso comprende una combinación de materiales. En una de tales realizaciones, el andamiaje poroso comprende polipropileno entretejido y hebras de seda.

El tamaño de poro del material del andamiaje se selecciona para facilitar la incorporación de tejido y la vascularización dentro de la cámara del andamiaje poroso. En algunas realizaciones, los tamaño de poro pueden variar de aproximadamente 50 nm a 5 mm. En una realización ejemplar, el andamiaje poroso comprende una malla de polipropileno tejida con un diámetro de poro de 0,53 mm.

En algunas realizaciones, el tamaño de poro se selecciona para excluir que penetren células inmunes o agentes inmunes en el dispositivo implantado. En algunas otras realizaciones, el tamaño de poro no necesita necesariamente excluir que se infiltren células inmunes o agentes inmunes en el dispositivo. Esto será el caso, por ejemplo, cuando el dispositivo se usa para trasplantar una combinación de células, incluyendo células inmuno-protectoras (por ejemplo Células de Sertoli, células madre mesenquimales, etc.) que pueden proporcionar protección inmune a las células co-trasplantadas. Esto será el caso, por ejemplo, cuando el dispositivo se usa para trasplantar células singénicas, o células derivadas de pacientes que reciben el trasplante.

El tapón o sistema de tapón del dispositivo de trasplante de células está configurado para ajustar en la cámara dentro del andamiaje poroso. El tapón o sistema de tapón puede comprender un material no poroso (por ejemplo, politetrafluoroetileno (PTFE), polipropileno, etc.) que inhibe el crecimiento interno de tejido biológico en el tapón o sistema de tapón. El tapón o sistema de tapón puede ser una estructura hueca o sólida. Sin embargo, si se usa un tapón hueco, debe tenerse cuidado de evitar la infiltración de colágeno o cualquier otro material biológico en el lumen del tapón cuando se implanta el dispositivo en el tejido del huésped. El sistema de tapón se trata con mayor detalle a continuación.

En algunas realizaciones, el extremo proximal del tapón o sistema de tapón está conectado con un sello. En dicha realización, el sello está configurado para cerrar la abertura proximal de la cámara cuando el tapón o sistema

de tapón está completamente insertado en la cámara del andamiaje poroso. El sello está estructurado para mantener el tapón o sistema de tapón en su sitio en el interior del andamiaje poroso. En otra realización, el sello está separado del tapón o sistema de tapón. En otra realización más, el sello está conectado con el andamiaje poroso. Además, en algunas realizaciones ejemplares, el extremo proximal de la cámara se cierra usando suturas quirúrgicas y/o clips vasculares sin usar un sello separado.

Cuando se implanta en un cuerpo del huésped, el andamiaje poroso del dispositivo fomenta el crecimiento interno del tejido vascular y conectivo, de tal manera que el tapón o sistema de tapón alojado dentro del andamiaje se encapsula en una matriz de tejido vascularizado. Cuando el tapón o sistema de tapón se retira del andamiaje poroso, se crea una cámara neovascularizada dentro del dispositivo, que puede usarse entonces para mantener una preparación de células en el cuerpo del huésped.

Los tamaños del andamiaje poroso y el tapón o sistema de tapón se seleccionan para proporcionar una proporción de área de superficie a volumen óptima para mantener células in vivo y para asegurar la supervivencia a largo plazo de las células dentro de la cámara neovascularizada. De manera similar, el número de cámaras en el dispositivo de trasplante se determina en base al volumen y/o número de células que se van a trasplantar. En algunas realizaciones, el volumen total del dispositivo de trasplante de células se ajusta aumentando o disminuyendo el número de cámaras a la vez que se mantiene una proporción de área de superficie a volumen óptima de cada cámara individual. En otras realizaciones la longitud de las cámaras se ajusta para alterar el volumen total. Alternativamente, en varias realizaciones, el dispositivo de trasplante de células comprende un número fijo de cámaras, pero sólo un número seleccionado de cámaras se infunden con células dependiendo del requisito de volumen total del dispositivo. En otras realizaciones se ajusta la longitud de las cámaras así como el número de cámaras para alterar el volumen total requerido.

El dispositivo de trasplante de células divulgado puede implantarse o subcutáneamente o intraperitonealmente en un cuerpo del huésped, incluyendo el epiplón u otro sitio apropiado. Alternativamente, el dispositivo de implante de células divulgado puede implantarse parcialmente intraperitonealmente en un cuerpo del huésped, incluyendo en el epiplón u otro sitio apropiado y extenderse en el ambiente subcutáneo. En una realización las células pueden cargarse en la porción del dispositivo que se extiende en el ambiente subcutáneo. En una realización las células pueden cargarse en la parte del dispositivo que se extiende en el ambiente subcutáneo mientras que el resto del dispositivo está en el ambiente intraperitoneal. En otra realización el dispositivo de trasplante de células puede implantarse en el cerebro, área de la médula espinal o cualquier otro órgano como se requiera para producir un efecto terapéutico de las células trasplantadas. En la mayoría de las situaciones, el huésped es un humano, pero puede ser otro animal mamífero o no mamífero. El procedimiento de trasplante de células es un proceso de dos pasos que comprende un paso de implantación del dispositivo seguido por un paso de infusión de células (trasplante de células). El paso de infusión de células se implementa tras un periodo de incubación in vivo durante el que el dispositivo implantado se infiltra con una matriz de colágeno vascularizado. En una realización, el periodo de incubación es aproximadamente treinta días, que permite el tiempo adecuado para la angiogénesis y la infiltración de colágeno del andamiaje poroso. El periodo de incubación puede alargarse o acortarse, dependiendo del grado de neovascularización y formación de tejido (colágeno con células) necesitado o deseado. Por ejemplo, los dispositivos de trasplante pueden vascularizarse a diferentes tasas dependiendo del material, dimensiones o recubrimientos del dispositivo, como, por ejemplo, recubrimientos antibióticos, factores de crecimiento, etc. Los dispositivos de trasplante pueden también vascularizarse a diferentes tasas en diferentes huéspedes, o cuando se localizan en diferentes tejidos corporales dentro del mismo huésped. Está dentro de la habilidad de un experto en la técnica determinar el periodo de incubación apropiado. Por ejemplo, pueden realizarse estudios de formación de imágenes antes de administrar células para asegurar que el tejido vascular y/o conectivo adecuado se deposita alrededor y a través de las paredes del andamiaje poroso durante el periodo de incubación. Para el paso de infusión de células, se accede al sitio de implantación a través de una incisión quirúrgica, y el tapón o sistema de tapón se retira del andamiaje poroso para crear un bolsillo forrado de colágeno y vasos sanguíneos dentro del andamiaje. La preparación de células se administra luego al bolsillo vascularizado, y se vuelve a sellar el andamiaje poroso. En otra realización el procedimiento de trasplante de células es un proceso de paso único por el que el dispositivo se coloca y las células se implantan al mismo tiempo. En esta circunstancia, las células pueden colocarse en una matriz de tal manera que no se filtren a través de los poros del dispositivo o alternativamente el dispositivo puede estar recubierto con un polímero degradable para evitar que las células se filtren del dispositivo durante el proceso de desarrollo de colágeno y angiogénesis.

En algunas realizaciones, las células a ser trasplantadas pueden combinarse con una solución viscosa biocompatible o formulación de polímero biodegradable antes de ser cargadas en la cámara de cualquiera de los dispositivos de trasplante descritos en la presente. Este polímero biodegradable protegerá las células hasta que el dispositivo está completamente vascularizado por el cuerpo del huésped. Estas formulaciones pueden colocarse en las cámaras antes de o tras la colocación del dispositivo en el huésped, pero antes de que se hayan formado una matriz de colágeno y estructuras vasculares en el dispositivo. Las células combinadas con una solución viscosa biocompatible o formulación de polímero biodegradable serán particularmente útiles en dispositivos diseñados para ser cargados con células antes de la implantación del dispositivo en el cuerpo del huésped. Polímeros representativos que pueden ser usados como una formulación biodegradable en conjunción con células incluyen

pero no están limitados a: polietilen-imina y sulfato de dextrano, poli(vinilsiloxano)ecopolimerpoli-etilenimina, fosforilcolina, poli(etilenglicol), poli(ácido láctico-glicólico), poli(ácido láctico), polihidroxiato y copolímeros, polihidroxibutirato y copolímeros, polidixanona, polianhídridos, poli(aminoácidos), poli(ortoésteres), poliésteres, colágeno, gelatina, polímeros de celulosa, quitosanos, alginatos, fibronectina, proteínas de la matriz extracelular, vinculina, agar, agarosa, ácido hialurónico, matrigel y combinaciones de los mismos.

Debe tenerse en cuenta que las células pueden colocarse en el dispositivo; sin embargo, las células también pueden encapsularse. Las siguientes son a modo de ejemplo y no a modo de limitación. Ejemplos de sistemas de encapsulación de células poliméricos incluyen encapsulación con alginato, hidrogeles de polisacáridos, quitosano, alginato de calcio o bario, una matriz estratificada de alginato y polilisina, polímero de poli(etilenglicol) fotopolimerizable para encapsular células individuales o grupos de células, poliácridatos, incluyendo a modo de limitación. Ejemplos de sistemas de encapsulación de células poliméricos incluyen encapsulación con alginato, hidrogeles de polisacáridos, quitosano, alginato de calcio o bario, una matriz estratificada de alginato y polilisina, polímero de poli(etilenglicol) fotopolimerizable para encapsular células individuales o grupos de células, poliácridatos, incluyendo hidroxietil metacrilato metil metacrilato, cápsulas de silicio, nanocápsulas de silicio, y polimembrana (cloruro de acrilonitrilo-covinilo).

Las FIGS. 1A-1E ilustran varias realizaciones ejemplares de un dispositivo de trasplante de células 1. El dispositivo 1 comprende una malla de polímero (por ejemplo una malla de polipropileno, una malla de PTFE, o cualquier otro material adecuado) que forma una cámara porosa 2 para contener células en un cuerpo del paciente. En algunas realizaciones, el dispositivo 1 puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más cámaras porosas 2. La disponibilidad de múltiples cámaras permite el uso de cualquier número o combinación de cámaras dependiendo del volumen de la preparación celular requerido, cuya determinación está dentro del conocimiento y habilidad de los expertos en la técnica.

Como se muestra en la FIG. 1A, el dispositivo 1 comprende un extremo proximal 3, un extremo distal 4, y un tapón 5 alojado en la cámara porosa 2. En una realización, la cámara porosa 2 es de forma tubular, y el tapón 5 es cilíndrico y se extiende a lo largo de un lumen de la cámara porosa 2. En otra realización ejemplar, la cámara porosa 2 comprende una abertura en el extremo proximal 3. La abertura en el extremo proximal 3 está dimensionada para permitir la inserción y retracción del tapón 5 de la cámara porosa 2. En una de dichas realizaciones, la abertura en el extremo proximal 3 se sella usando suturas quirúrgicas y/o pinzas vasculares durante la incubación del dispositivo y tras la infusión de las células en el dispositivo. Como se entenderá por un experto en la técnica, puede usarse cualquier otro elemento de sellado quirúrgico, por ejemplo, clips microvasculares, pinzas, etc. para sellar la abertura en el extremo proximal 3. En otra realización el dispositivo 1 comprende una aleta no porosa 6 en el extremo proximal 3, como se ilustra en la FIG. 1B. En una de tales realizaciones, la aleta 6 está hecha de silicona. La aleta 6 puede sellarse usando suturas quirúrgicas, pinzas o cualquier otro mecanismo de sellado adecuado durante la incubación del dispositivo y tras la infusión de las células en el dispositivo. En una realización ejemplar, el extremo distal 4 del dispositivo 1 comprende una superficie redonda o de fondo plano. En otra realización, el dispositivo 1 comprende una abertura en el extremo distal 4, que puede sellarse usando suturas quirúrgicas, pinzas o cualquier otro elemento de sellado, durante la incubación del dispositivo y tras la infusión de las células. En otra realización ejemplar más, como se muestra en la FIG. 1C, el extremo distal 4 comprende una parte no porosa 7, que evita que el crecimiento interno del tejido en el extremo distal de la abertura en el extremo proximal 3 cuando el tapón 5 está insertado en la cámara 5. El sello 8 está estructurado para mantener el tapón 5 en su sitio dentro de la cámara porosa. En otra realización, el tapón 5 es más largo que la cámara porosa 2 y actúa como un sello en tanto el extremo proximal 3 como el extremo distal 4 del dispositivo, como se muestra en la FIG. 1E. Los bordes de la cámara porosa 2 alrededor del tapón 5 se sellan usando suturas quirúrgicas y/o pegamento quirúrgico. Tras la retirada del tapón 5 antes de la infusión de células, las aberturas en el extremo proximal 3 y el extremo distal 4 pueden sellarse usando suturas quirúrgicas, pinzas vasculares, o cualquier otro mecanismo de sellado adecuado, como se entenderá por el experto en la técnica.

En algunas realizaciones ejemplares, el dispositivo 1 comprende múltiples cámaras porosas 2 que están conectadas lateralmente entre sí. En una de tales realizaciones, las múltiples cámaras porosas 2 se forman, por ejemplo, soldando ultrasónicamente las superficies superior e inferior de un material poroso a lo largo de una línea sustancialmente paralela a un eje longitudinal del dispositivo. La FIG. 1F ilustra un dispositivo de trasplante de células que tiene ocho cámaras porosas 2. Cada cámara 2 aloja un tapón 5 durante la fase de incubación del dispositivo. Los tapones 5 se retiran de las cámaras 2 antes de la infusión de células en las cámaras. En una realización, el dispositivo 1 comprende ocho cámaras porosas y tiene una longitud de 50 mm y anchura de 45 mm totales. Cada cámara porosa 2 tiene un diámetro interior no mayor de 3,5 mm y aloja un tapón 5 que tiene una longitud de aproximadamente 40 mm y un diámetro de 2,5 mm. En dicha realización, el tapón 5 está formado de un material no poroso, biocompatible, por ejemplo, politetrafluoroetileno (PTFE).

Realizaciones ejemplares del dispositivo de trasplante de células de la presente divulgación están formadas de mallas de polipropileno de grado médico, por ejemplo, Malla de Punto de Polipropileno (PPKM) adquirida de SURGICALMESH™, Brookfield, Connecticut, USA. En realizaciones ilustrativas, las mallas están formadas de monofilamentos que varían en diámetro de e 0,1 mm a 0,3 mm, y tamaños de poro de malla que varían de 0,3 mm a

1 mm, de 0,4 mm a 0,85 mm y de 0,5 mm a 0,6 mm. Las FIGS 2A-2D ilustran varias configuraciones de malla ejemplares que pueden usarse para formar los dispositivos de trasplante de células. La FIG. 2A ilustra una malla de polipropileno (PPKM601) que tiene un tamaño de poros de 0,5 mm y un grosor de monofilamento de 0,3 mm; la FIG. 2B muestra una malla de polipropileno (PPKM602) que tiene un tamaño de poro de 0,53 mm y un grosor de monofilamento de 0,18 mm; la FIG. 2C muestra una malla de polipropileno (PPKM404) que tiene un tamaño de poro de 0,53 mm y un grosor de monofilamento de 0,13 mm; y la FIG. 2D muestra una malla de polipropileno (PPKM604) que tiene un tamaño de poro de 0,85 mm y un grosor de monofilamento de 0,2 mm.

La FIG. 3A ilustra otra realización ejemplar de un dispositivo de trasplante de células 10. La FIG. 3B ilustra los componentes del dispositivo de trasplante de células 10. El dispositivo 10 comprende un andamiaje poroso 12, un sello primario 14, al menos un sistema de tapón que comprende un tapón exterior 16 y un tapón interior 18, y un sello secundario 20.

Como se ilustra en la FIG. 4, el andamiaje poroso 12 del dispositivo de trasplante de células 10 puede comprender una malla de polímero (por ejemplo, una malla de polipropileno, una malla de PTFE, o cualquier otro material adecuado) que forma una o más cámaras porosas 22 para contener células en un cuerpo del huésped. En algunas realizaciones, el andamiaje poroso 12 puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más cámaras porosas 22. La disponibilidad de múltiples cámaras permite el uso de cualquier número o combinación de cámaras dependiendo del volumen de la preparación celular requerido, cuya determinación está dentro del conocimiento y habilidad de los expertos en la técnica.

Las cámaras porosas 22 pueden crearse, por ejemplo, uniendo las superficies superior e inferior del andamiaje poroso 12 a lo largo de una línea sustancialmente paralela al eje longitudinal del dispositivo. Múltiples cámaras porosas 22 pueden tener dimensiones en sección transversal y áreas superficiales iguales o diferentes. En una realización, las múltiples cámaras porosas 22 se forman por soldadura ultrasónica de la malla de polímero desde un extremo proximal 24 a un extremo distal 26 del andamiaje. Las superficies superior e inferior del andamiaje poroso 12 son continuas a través de la una o más cámaras porosas 22, interrumpidas solamente por las líneas de soldadura ultrasónica 28, que discurren sustancialmente paralelas a un eje longitudinal del andamiaje poroso 12. Las superficies superior e inferior del andamiaje poroso 12 pueden estar ligeramente dentada en cada línea de soldadura, lo que ofrece área superficial adicional para la vascularización y proporciona estabilidad física al dispositivo 10 dentro de un huésped. En una realización, los bordes del extremo distal 26 están ahusados y soldados ultrasónicamente entre sí para sellar el extremo distal 26.

Con referencia a la FIG. 3B, el sello primario 14 está configurado para sellar la una o más cámaras porosas 22 durante la incubación del dispositivo y tras la infusión de células. El sello primario 14 comprende una película polimérica inerte y biocompatible o cualquier otro material adecuado. En una realización, el sello primario 14 se suelda ultrasónicamente en los bordes laterales y en el extremo proximal ahusado 31, como se ilustra en las FIGS. 5A y 5B. El extremo distal 32 del sello primario 14 está unido al extremo proximal 24 del andamiaje poroso 12. En una realización, el extremo distal 32 está soldado ultrasónicamente al extremo proximal 24 o andamiaje poroso 12.

En varias realizaciones, el sello primario 14 comprende un cierre re-sellable 34, que ayuda a mantener el por lo menos un tapón exterior 16 dentro de una cámara porosa 22 durante el periodo de incubación. La cerradura 34 también evita la filtración de la preparación celular durante el proceso de infusión de células. Puede usarse cualquier mecanismo de cierre re-sellable como cierre 34. En una realización, el cierre 34 comprende características de ranura y arista entrelazadas, que forman un sello hermético cuando se presionan entre sí y se abren cuando las superficies superior e inferior del sello 14 se separan en el extremo proximal 31. Tras el periodo de incubación del dispositivo, el acceso al tapón exterior 16 se logra recortando el extremo proximal 31 del sello primario 14 y abriendo el cierre re-sellable 34. Después de que la preparación de células se administra al andamiaje poroso 12, el cierre 34 se vuelve a cerrar y el extremo proximal 31 se re-sella usando, por ejemplo, suturas quirúrgicas, grapas o bioadhesivos, o sellos herméticos.

El número de sistemas de tapón puede corresponderse con el número de cámaras porosas 22 en el dispositivo de trasplante de células 10. El tapón exterior 16 está alojado dentro de la cámara porosa 22 durante el periodo de incubación del dispositivo. En algunas realizaciones, la longitud del tapón exterior 16 es aproximadamente igual a la longitud de la cámara porosa 22 respectiva. Como se ilustra en la FIG. 6A, en una realización, múltiples tapones exteriores 16 están conectados en un extremo proximal 40 usando un soporte común 42. El soporte común 42 puede incluir una o más ranuras 43 para facilitar la retirada de los tapones exteriores 16 de las cámaras porosas 22. Por ejemplo, las ranuras 43 pueden permitir que el soporte común 42 se agarre usando fórceps.

En algunas realizaciones, el tapón exterior 16 tiene un núcleo hueco 45 que aloja el tapón interior 18. Como se muestra en la FIG. 6B, en una realización, el núcleo hueco 45 está constreñido con una o más protuberancias internas 47 a lo largo de la longitud de la superficie interior del tapón. Las protuberancias internas 47 proporcionan una cámara de aire entre el tapón exterior 16 y el tapón interior 18, lo que permite que las burbujas de aire atrapadas escapen durante la administración de la preparación celular que se describe con más detalle a continuación. La

cámara de aire también evita la formación de vacío durante la retirada del tapón interior 18, y de este modo, mantiene la integridad de la matriz de colágeno vascularizada formada recientemente en y alrededor de la cámara porosa. Por lo tanto, en algunos aspectos, el sistema de tapón que comprende el tapón exterior 16 y el tapón interior 18 puede facilitar la administración de células al dispositivo de trasplante de células 10, y puede también aumentar las posibilidades de supervivencia de las células dentro de una matriz de colágeno intacta.

En algunas realizaciones, el extremo proximal 40 y el extremo distal 41 del tapón exterior 16 comprenden mecanismos de sellado, por ejemplo, ranuras internas o superficies ahusadas, para asegurar un sello efectivo con el tapón interior 18. Como se muestra en la FIG. 7, el extremo proximal 50 y el extremo distal 51 del tapón interior 18 pueden incluir mecanismos de sellado complementarios 53 para evitar la infiltración de la matriz de colágeno en el núcleo hueco 45 durante el periodo de incubación. Por ejemplo, en una realización, el mecanismo de sellado 53 comprende una ranura que se extiende alrededor de la periferia de los extremos proximal y distal del tapón interior 18, y el tapón exterior 16 comprende una arista alrededor de la periferia de sus extremos distal y proximal. Endicha realización, la arista en el tapón exterior 16 y la ranura en el tapón interior 18 se entrelazan cuando el tapón interior 18 se inserta en el núcleo hueco 45 del tapón exterior 16, para formar un sello completo entre los tapones interior y exterior y evitar la penetración de cualquier material biológico en el núcleo hueco 45. Adicionalmente, en tales realizaciones, si el tapón exterior 16 comprende una o más protuberancias internas 47, la altura de las aristas en los extremos distal y proximal del tapón exterior 16 puede ser mayor que la altura de las protuberancias internas 47.

Las FIGS. 6C y 6D ilustran vistas en sección transversal de la cámara porosa 22 y el montaje de tapón 16, 18, de acuerdo con una realización de la presente divulgación. La FIG. 6C es una vista en sección transversal del montaje antes de la implantación en un cuerpo del huésped, y la FIG. 6D ilustra la vista en sección transversal del montaje tras la incubación en un cuerpo del huésped. El diámetro interior de la cámara porosa 22 y el diámetro exterior del tapón exterior 16 se seleccionan para mantener un espacio 46 alrededor de la periferia del tapón exterior 16 para la formación de tejido. Por ejemplo, en una realización ilustrativa, el diámetro interior de la cámara porosa 22 no es mayor de 4,5 mm y el diámetro exterior del tapón 16 no es mayor de 3,5 mm. En otra realización, el diámetro interior de la cámara porosa 22 no es mayor de 3,5 mm y el diámetro exterior del tapón 16 no es mayor de 2,5 mm. Estas realizaciones proporcionan, por ejemplo, aproximadamente 0,5 mm del espacio alrededor del tapón exterior 16 para la formación de una matriz de colágeno vascularizada. El espacio alrededor del tapón exterior 16 también ofrece suficiente espacio para la inserción y retracción del tapón exterior en y fuera de la cámara porosa.

Cuando el dispositivo de trasplante de células 10 se implanta en un cuerpo del huésped, los tejidos vasculares y conectivos penetran a través de la cámara porosa 22 en el espacio 46 y forman una matriz de tejido vascularizada 48 alrededor del tapón exterior 16. El tapón 16 evita la penetración de la matriz de tejido 48 más allá del lumen de la cámara porosa 22. Cuando el tapón interior 18 y el tapón exterior se retraen de la cámara porosa 22, se crea un bolsillo 49 dentro de la cámara porosa 22, que puede usarse para contener células en el cuerpo del huésped. El bolsillo 49 está envuelto en la matriz de tejido vascularizada 48, como se muestra en la FIG. 6E.

El número de tapones interiores 18 puede corresponderse con el número de tapones exteriores 16. El tapón interior 18 está alojado dentro del núcleo hueco 45 del tapón exterior 16 durante la fase de incubación del dispositivo. En una realización, múltiples tapones interiores 18 están conectados en un extremo proximal 50 usando un soporte común 52. En algunas realizaciones, el soporte común 52 comprende una característica de presilla 54 para ayudar al manejo del tapón interior 18 durante la extracción del tapón exterior 16.

El sello secundario 20, como se ilustra en la FIG. 8 se usa para contener la preparación celular en las cámaras porosas cuando el sello primario 14 se vuelve a cerrar tras la administración de una preparación de células en el dispositivo de trasplante de células 10. El sello secundario 20 se posiciona en el extremo proximal 24 del andamiaje poroso 12 después de que la preparación de células se haya administrado completamente en la cámara porosa 22 y el tapón exterior 16 se haya retraído del dispositivo 10. En algunas realizaciones, el sello secundario 20 comprende ranuras 60 para facilitar la inserción en el dispositivo 10 usando tenacillas.

En otro aspecto de la presente divulgación, se divulgan un dispositivo y método para administrar células en un dispositivo de trasplante de células, y se explicarán con referencia al dispositivo de trasplante de células 10. La FIG. 9A ilustra los varios componentes de un dispositivo de administración de células 70. El dispositivo de administración de células 70 comprende al menos un tubo de infusión de células 71, la tapa del conector 72 que tiene una característica de presilla 73, y un espaciador del conector 74.

El tubo de infusión de células 71 puede comprender tubería polimérica (por ejemplo tubería de polietileno) o cualquier otro material adecuado para administrar la preparación de células en la cámara porosa 22 del dispositivo 10 durante el paso de infusión de células. El número de tubos de infusión de células en el sistema de administración puede corresponderse con el número de cámaras porosas 22.

El espaciador del conector 74 está posicionado en el extremo distal del tubo de infusión de células 71 y acopla o interactúa con el extremo proximal 40 del tapón exterior 16 durante el proceso de administración de células. El espaciador del conector 74 incluye uno o más orificios pasantes a través de los cuales se inserta el tubo de

infusión de células 71, como se muestra en la FIG. 9A. Los orificios pasantes están configurados para proporcionar un ajuste de interferencia ligera con el tubo de infusión de células 71. El ajuste está adaptado para mantener el tubo de infusión de células 71 en su sitio durante el proceso de infusión de células. Adicionalmente, en ciertas realizaciones, el espaciador del conector 74 comprende respiraderos 76 para expulsar aire desde las cámaras de aire en el tapón exterior 16 creadas por la protuberancia interna 47 durante el proceso de administración de células, como se describe con mayor detalle a continuación. En una realización, el tapón exterior 16 comprende un cubo 78 en el extremo proximal 40. En dicha realización, el espaciador del conector 74 se inserta en el cubo 78 durante el proceso de infusión de células para asegurar que el dispositivo de administración 70 al dispositivo de trasplante de células 10.

El extremo proximal del tubo de infusión de células 71 comprende la tapa del conector 72. A medida que el tubo se inserta en el tapón exterior 16, la tapa del conector 72 avanza distalmente hacia el espaciador del conector 74. Cuando el tubo 71 se ha insertado completamente en el tapón exterior 16, la tapa del conector 72 ajusta sobre el espaciador del conector 74 y/o el cubo 78, y la característica de presilla 73 conecta con el tapón exterior 16 o cubo 78 a lo largo del soporte común 42, como se muestra en la FIG. 9C. Esto permite que la tapa del conector 72, el espaciador del conector 74, y el tapón exterior 16 se retraigan como una única unidad a medida que la preparación de células se infunde en la cámara porosa 22.

En otro aspecto de la presente divulgación, se divulga un método para el trasplante celular y se explicará con referencia al dispositivo de trasplante de células 10 y el dispositivo de administración de células 70. El método de trasplante de células no está limitado a las realizaciones de dispositivos divulgadas en la presente y puede usarse cualquier dispositivo de trasplante de células y administración de células.

La FIG. 10 es un diagrama de flujo que ilustra los pasos de un procedimiento de trasplante de células ejemplar. El procedimiento de trasplante de células es generalmente un proceso de dos pasos que comprende un paso de implantación del dispositivo seguido por un paso de infusión de células. El dispositivo 10 se implanta en el cuerpo del huésped antes de la administración de células para permitir el tiempo adecuado para que el colágeno y los vasos sanguíneos se infiltren en el andamiaje poroso 12. En algunas realizaciones, el dispositivo 10 se esteriliza usando óxido de etileno antes de la implantación. El dispositivo 10 puede envasarse en un envase auto-sellante o cualquier otro envase esterilizable junto con una tira indicadora de esterilidad para un proceso de esterilización basado en óxido de etileno. En algunas otras realizaciones, se usa radiación gamma o autoclave de calor seco para esterilizar el dispositivo antes de la implantación. El tipo de método de esterilización usado depende del material del andamiaje, ya que se sabe que el autoclave de calor seco deforma ciertos materiales poliméricos (por ejemplo polipropileno) debido a la baja temperatura de deflexión de calor. La radiación gamma, a una dosis de esterilización de 6 M-Rad, puede esterilizar con éxito los dispositivos de implantación de células; sin embargo, la radiación gamma puede disminuir la vida útil de los dispositivos hechos de polipropileno.

El dispositivo 10 puede implantarse subcutáneamente o intraperitonealmente. Por ejemplo, para la implantación subcutánea del dispositivo en el cuerpo del huésped, se hace una incisión a través de la dermis y la epidermis seguido por disección roma cuidadosa del tejido conectivo y adiposo, creando un caudal de bolsillo subcutáneo para la línea de incisión (paso 810). Una vez que se ha creado el espacio adecuado (aproximadamente las dimensiones del dispositivo), el dispositivo 10 se implanta en el bolsillo subcutáneo, y se sutura la incisión (paso 820). Alternativamente, el dispositivo 10 puede implantarse en la cavidad peritoneal a través de una incisión abdominal. Los pasos de implantación del dispositivo (pasos 810 y 820) se siguen por un periodo de incubación del dispositivo (paso 830) durante el que se deposita una matriz de colágeno vascularizada en y alrededor del andamiaje poroso 12.

Tras el periodo de incubación, se accede al dispositivo 10 a través de una segunda incisión quirúrgica. Por ejemplo, el extremo proximal 31 del sello primario 12 puede recortarse in situ para abrir el dispositivo 10 (paso 840). Se extrae luego el tapón interior 18 del tapón exterior 16 y se descarta (paso 850). Durante el proceso de retirada del tapón interior, se facilita el movimiento de aire por las protuberancias internas 47, que evitan la formación de un vacío dentro del dispositivo, lo que puede provocar la rotura de cualquier vaso sanguíneo formado recientemente en y alrededor del dispositivo. La retirada del tapón interior 18 desacopla el extremo proximal 50 y el extremo distal 51 del tapón interior 18 del extremo proximal 40 y el extremo distal 41 del tapón exterior 16. Se administra luego una preparación celular al dispositivo 10 usando el dispositivo de administración de células 70.

Las FIGS. 11A-11D muestran una vista general esquemática de ciertos pasos de un procedimiento de infusión de células ejemplar y se explicará con referencia al diagrama de flujo mostrado en la FIG. 10. Para administrar las células en el dispositivo 10, el tubo de infusión de células 71 del dispositivo de administración 70 se carga con la preparación celular 79, y el tubo se inserta en el núcleo hueco 45 del tapón exterior 16, como se muestra en la FIG. 11A (paso 860). El espaciador del conector 74 acopla con el extremo proximal y/o cubo 78 del tapón exterior 16. A medida que se hace avanzar el tubo 71 en el tapón exterior, el aire se ventila a través de las protuberancias internas 47 del tapón exterior 16 y los respiraderos 76 del espaciador del conector 74. Cuando el tubo 71 se ha avanzado toda la distancia en el tapón exterior 16, la tapa del conector 72 interactúa con el espaciador del conector 74. La presilla 73 de la tapa del conector 72 se conecta entonces con el cubo 78 del tapón

exterior 16 (paso 870). En este caso, el tapón exterior 16, la tapa del conector 72 y el espaciador del conector 74 se retraen entonces ligeramente de la cámara porosa 22 como una única unidad para crear un espacio en el extremo distal de la cámara porosa 22 (paso 875). En algunas realizaciones, el tapón exterior 16 puede retraerse ligeramente de la cámara porosa 22 antes de conectar el dispositivo de administración 70 con el tapón exterior 16. En otras palabras, el paso 875 puede realizarse antes que el paso 870. Se aplica presión suave a una jeringuilla conectada al tubo de infusión de células 71 para administrar las células a la cámara porosa 22 (paso 880). Se tiene cuidado para asegurar que el tubo 71 permanezca en la cámara porosa 22 a medida que se aplica presión para administrar la preparación celular.

En una realización, el tapón exterior 16 se retrae aproximadamente 5 mm antes de que comience la infusión de células, como se ilustra en la FIG. 11B. A medida que se aplica presión (P) a la jeringuilla conectada al tubo de infusión de células 71, la preparación de células 79 se infunde en la cámara porosa 22. A medida que se administra la preparación de células en la cámara porosa 22, el tapón exterior 16 y el tubo de infusión de células 71 se extraen del dispositivo, como se muestra en las FIGS. 11C y 11D (paso 885). Cuando el dispositivo está completamente lleno con la preparación celular 79, se detiene la infusión de células y el tubo de infusión de células 71 se retrae completamente del dispositivo 10 (paso 890). La cámara porosa 22 se evalúa luego para la capacidad restante para la preparación celular, y cualquier preparación de células restante puede añadirse cuidadosamente al extremo de la cámara porosa. La preparación de células se contiene dentro de la cámara porosa 22 colocando el sello secundario 20 en el extremo proximal 40 de la cámara porosa 22, seguido por el cierre del cierre re-sellable 34 del sello primario 12, y asegurando el extremo proximal 31 del sello primario 12 con suturas quirúrgicas o grapas u otros mecanismos de sellado adecuados (paso 895). Finalmente, se cierra la incisión quirúrgica usando suturas quirúrgicas, grapas o adhesivos de tejido, completando de este modo el procedimiento de trasplante de células.

Los dispositivos y método para trasplante de células divulgados pueden usarse para el trasplante de cualquier células terapéutica, o una combinación de células, en un cuerpo del paciente para proporcionar material biológico terapéutico al huésped para el tratamiento de una afección de enfermedad. Las células pueden ser células donantes alogénicas, xenogénicas o singénicas, células derivadas del paciente, incluyendo células madre, células sanguíneas del cordón y células madre embrionarias. Las células madre pueden diferenciarse en las células terapéuticas apropiadas. Las células pueden ser inmaduras o estar parcialmente diferenciadas o completamente diferenciadas en células maduras cuando se colocan en el dispositivo. Las células también pueden ser células o líneas celulares diseñadas genéticamente. En un aspecto, se usa una realización consistente con la presente divulgación para el trasplante de islotes de células de Langerhans para proporcionar medios para la regulación de glucosa en sangre en el cuerpo del huésped. En otro aspecto, se usa una realización de un dispositivo de trasplante de células para el co-trasplante de islotes de células de Langerhans y Sertoli, donde las células de Sertoli proporcionan protección inmunológica a las células de islotes en el cuerpo del huésped. La protección inmune proporcionada por las células de Sertoli en un cuerpo del huésped se ha divulgado anteriormente, por ejemplo en la Patente U.S. Nº 5.725.854, que se incorpora en la presente por referencia en su totalidad. Por consiguiente, esta divulgación también contempla métodos para tratar varias enfermedades trasplantando cantidades terapéuticas de células a sujetos con necesidad de ello usando una realización de un dispositivo de trasplante de células como se divulga en la presente.

La densidad de las células, o combinaciones de células, terapéuticas trasplantadas se determina en base al peso corporal del huésped y los efectos terapéuticos de las células. Como se ha indicado anteriormente, las dimensiones del dispositivo de trasplante de células y el número de cámaras porosas a ser usadas (en un dispositivo multi-cámara) se determinan en base al número de células requeridas, la extensión de la vascularización alcanzable durante el periodo de incubación del dispositivo, y las características de difusión de nutrientes y productos celulares en y fuera de los dispositivos implantados.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se proporcionan para explicar mejor las varias realizaciones y no deben interpretarse de ninguna manera que limiten el alcance de la presente divulgación. Los dispositivos de trasplante de células usados en estos ejemplos están formados de mallas de polipropileno y comprende un tapón de PTFE individual en cada cámara porosa de los dispositivos.

1. Los Dispositivos de Trasplante de Células que Contienen Células de Islotes Son Capaces de Restaurar la Normoglucemia en Ratas Lewis

Se usaron dispositivos de trasplante de células para implantar células de islotes singénicas en ratas Lewis para restaurar la normoglucemia. La respuesta de glucosa de las células implantadas se comparó con la respuesta de glucosa de células de islotes administradas directamente en venas porta de las ratas. Las ratas Lewis se dividieron en tres grupos de estudio, con nueve ratas en cada grupo. En el primer y el segundo grupos de estudio, los dispositivos se implantaron en cavidades intraperitoneales y subcutáneas, respectivamente. En el tercer grupo, las células de islotes se administraron directamente a las venas porta.

Los dispositivos implantados se incubaron en las ratas Lewis durante al menos un mes para permitir el crecimiento interno vascular. Se indujo luego químicamente diabetes en las ratas inyectando estreptozotocina. Las ratas se consideraron diabéticas si tres lecturas de glucosa en sangre sucesivas eran de al menos 18,0 mM. Se infundieron luego células de islotes de rata Lewis aisladas (10.000 IEQ/Kg de peso) en los dispositivos implantados o directamente en las venas porta de las ratas diabéticas. Se retiraron al de 14 días tras el trasplante de islotes los pellets de insulina (indicados por el rectángulo cerrado encima de los gráficos en las FIGS. 11A y 11B). Se monitorizaron los niveles de glucosa en sangre en las ratas durante un periodo de 100 días. Al de 100 días tras el trasplante, se retiraron los dispositivos para confirmar que los islotes trasplantados eran responsables de la reversión de la diabetes.

Las FIGS. 12A y 12B muestran los resultados de normalización de glucosa para ratas que han recibido dispositivos de trasplante de células intraperitoneales (cámara del epiplón) y subcutáneos, respectivamente. El trasplante de células con éxito dio lugar a la normalización de los niveles de glucosa en sangre (lectura de glucosa menor de 8,0 mM), como se indica por los trazos sólidos. Los trasplantes que no lograron la normoglucemia se indican por trazos punteados. Los resultados indican que el nivel glucémico normal se mantuvo en un número estadísticamente significativo de ratas diabéticas que habían recibido las células de islotes. Tras la retirada de los dispositivos implantados al de 100 días tras el trasplante, las ratas que habían demostrado previamente niveles glucémicos normales volvieron a niveles hiperglucémicos, indicando que los dispositivos contenían injertos completamente funcionales que eran responsables de lograr la normoglucemia antes de la retirada del dispositivo. La tasa a la que las concentraciones de glucosa en sangre alcanzaron niveles no diabéticos era estadísticamente diferente entre los grupos de estudio ($p < 0.0001$, prueba t).

La FIG. 12C muestra respuestas IVGTT (prueba de tolerancia a la glucosa intravenosa) en ratas Lewis trasplantadas con células de islotes. Las IVGTTs se realizaron al de 40 días y al de 80 días tras el trasplante. La respuesta de glucosa de las ratas con trasplantes intraperitoneales y subcutáneos se comparó frente a la respuesta de glucosa de ratas que habían recibido células de islotes intra-porta. Las IVGTTs se realizaron en tres ratas en cada categoría de estudio. Al de 40 días y al de 60 días tras el trasplante, los niveles de glucosa en sangre en ratas trasplantadas con células de islotes cayeron por debajo de 8,0 mM al de 50 minutos de recibir un desafío de glucosa, como se muestra en la FIG. 12C. Los dispositivos de trasplante de células se retiraron al de 100 días. Los niveles de glucosa en sangre no cayeron cuando se administró un bolo de glucosa al de 110 días, indicando que las células de islotes trasplantadas eran responsable de la normoglucemia alcanzada en las ratas diabéticas antes de la retirada de los dispositivos implantados.

La FIG. 12D muestra las respuestas de insulina en ratas Lewis trasplantadas con células de islotes. Los niveles de insulina se probaron usando ensayos por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). El análisis se realizó por triplicado. Los resultados indican una diferencia significativa en los niveles de insulina en sangre tras el desafío de glucosa ($p < 0.005$, prueba t). Como se muestra en la FIG. 12D, los niveles de insulina en ratas que recibieron los dispositivos trasplantados se correlacionaron bien con los niveles de insulina en ratas que habían recibido células de islotes intra-porta.

2. Detección Histológica de Insulina y Vascularización Dentro de las Cámaras Porosas de los Dispositivos de Trasplante de Células

Tras la retirada de los dispositivos implantados al de 100 días, se detectó insulina en los dispositivos usando anticuerpos primarios específicos contra insulina. La FIG. 13A muestra el resultado de la tinción de insulina dentro de la cámara porosa de un dispositivo implantado subcutáneamente. La detección de insulina dentro de la cámara indicó que las células de islotes contenidas en los dispositivos eran viables y funcionales al de 100 días tras el trasplante.

También se realizó la evaluación histológica de los dispositivos implantados para verificar la formación de tejido vascular en la matriz de colágeno depositada en y alrededor de los dispositivos. La tinción inmunohistoquímica para el Factor VIII asociado con células endoteliales indicó estructuras vasculares bien formadas integradas profundamente en el tejido conectivo, como se muestra en la FIG. 13B (la estructura oscura indica endotelio; los núcleos celulares están indicados por las flechas). La evaluación histológica también demostró la penetración de tejido neovascularizado hacia el núcleo de los dispositivos de trasplante de células.

3. Evaluación de la Angiogénesis y Depósito de Colágeno en Dispositivos de Trasplante de Células

Para determinar la longitud apropiada de la fase de implantación (tiempo entre la implantación del dispositivo y el injerto de los islotes), se implantaron dispositivos de trasplante de células subcutáneamente en cerdos Yorkshire-Landrace de ocho semanas de edad durante 2, 4 y 8 semanas. Tras la implantación durante el periodo de tiempo respectivo, los dispositivos se explantaron y analizaron para determinar el nivel de angiogénesis y depósito de colágeno.

a) Evaluación bruta de angiogénesis y depósito de colágeno

Se tomaron fotografías de tanto las superficies ventral como dorsal de los dispositivos explantados para el análisis bruto de la formación de vasos sanguíneos y tejido. Se colocó una cuadrícula de 1cm x 1cm sobre las fotografías para cuantificar la formación de microvasos y tejido (colágeno con células). Cada caja de 1 cm² dentro la cuadrícula se puntuó para la formación de vasos, permitiendo que se calculase vasos totales/cm² para la superficie completa de los dispositivos explantados. Se midió el grosor medio en los perímetros medial y lateral de los dispositivos para evaluar la cantidad de depósito de colágeno. La FIG. 14 muestra una tabla del grosor de colágeno medio y vasos sanguíneos totales/cm² calculados para cuatro dispositivos formados usando diferentes materiales porosos (mallas). Se observó suficiente formación de microvasos y tejido para los cuatro tipos de malla al de 2 semanas tras la implantación. Los resultados también indican que la cantidad de tiempo requerido para la formación de microvasos y depósito de colágeno puede variar dependiendo del material del dispositivo (porosidad, rugosidad de la superficie, etc. de las mallas).

b) Análisis histológico de la angiogénesis y depósito de colágeno

La angiogénesis se determinó por tinción de células endoteliales con tinte de Hematoxilina y Eosina (H&E) (FIG. 15A) y factor de von Willebrand (FIG. 15B). La FIG. 15A demuestra la incorporación de tejido en los dispositivos al de 2, 4 y 8 semanas después de la implantación. La FIG. 15B muestra la formación de vasos sanguíneos en varios márgenes de un dispositivo antes del trasplante de células. La evaluación de la incorporación de tejido en los dispositivos mostro que los dispositivos incorporan colágeno y microvasos en todos los puntos temporales medidos antes del trasplante de islotes.

4. Evaluación de Dispositivo de Trasplante de Células que Reciben Islotes de Autoinjertos Porcinos

Se implantaron cerdos Yorkshire-Landrace de ocho semanas de edad con dispositivos de trasplante de células durante cuatro y ocho semanas. Para hacer a los animales diabéticos, se realizó una pancreatectomía al 90% seguido por una dosis intravenosa de 150 mg/kg de estreptozotocina un día después de la cirugía. Los islotes se aislaron del páncreas antes de realizar la pancreatectomía. Los injertos de islotes inmaduros se trasplantaron a los animales cinco días después del aislamiento de los injertos y la pancreatectomía para dar tiempo suficiente para la recuperación y confirmación de la diabetes.

Se probaron las capacidades de producción de insulina de las células de islotes inmaduras antes del trasplante. Como se muestra en la FIG. 16, los islotes inmaduros produjeron aproximadamente el 10% de la insulina esperada normalmente de islotes adultos. Este hecho combinado con el bajo número de trasplantes de islotes de aproximadamente 3-5K IEQ/Kg (5-10% de islotes de producción de insulina usados normalmente en trasplantes intra-porta) proporciona una prueba rigurosa de los dispositivos de trasplante de células. Actualmente en terapia de trasplante de islotes clínica, la infusión de una cantidad adecuado de masa de células β ha planteado un obstáculo para el tratamiento de diabetes dependiente de insulina. La independencia de la insulina se logra rutinariamente cuando se ha administrado una cantidad suficiente de células de islotes, aproximadamente 10.000 IEQ/Kg del peso corporal del recipiente. Para proporcionar esta cantidad de células de islotes, los protocolos de trasplante de islotes a día de hoy requieren más de un páncreas donante por recipiente, creando una tensión en un suministro de donantes ya limitado. Por lo tanto, si se puede lograr el control glucémico usando sólo el 5-10% de los islotes usados actualmente en trasplantes intra-porta, el número de pacientes que podrían recibir terapia de trasplante de islotes aumentaría significativamente.

Se realizaron análisis histológicos de dispositivos explantados para probar la supervivencia a largo plazo y función de los islotes trasplantados. La función de injerto de islotes también se monitorizó a través de pruebas de glucosa en sangre dos veces a la semana y tolerancia a la glucosa intravenosa dos veces al mes (IVGTTs).

a) Análisis histológico de función de injerto de islotes

Tras la explantación de los dispositivos al de 9 semanas, se detectó insulina en los dispositivos usando anticuerpos primarios específicos contra la insulina. La FIG. 17A muestra el resultado de la tinción de insulina dentro de la cámara porosa de un dispositivo explantado. La detección de insulina dentro de la cámara indicó que las células de islotes contenidas en el dispositivo eran viables y funcionales al de 9 semanas después del implante. La tinción inmunohistoquímica de las secciones explantadas demostraron islotes sanos, bien configurados rodeados por microvasos robustos (FIG. 17B; microvasos indicados por las flechas).

b) Mediciones de glucosa en sangre

Se midieron los niveles de glucosa en sangre en ayunas y no en ayunas semanalmente para monitorizar la función de injerto de islotes tras el trasplante. Estas mediciones ayudan en la determinación de la eficacia general de los dispositivos de implante de células en el control a largo plazo de niveles de glucosa en sangre. Las lecturas de glucosa en sangre en ayunas proporcionan una medida controlada de la función de injerto. Brevemente, se recoge una gota de sangre (varios microlitros) de una vena de un animal recipiente, y se determina el nivel de glucosa en

sangre usando un glucómetro Freestyle Lite u otro dispositivo de pruebas de glucosa.

Como se muestra en la FIG. 18, los islotes trasplantados demostraron control de glucosa a largo plazo hasta la explantación de los dispositivos al de 72 días. Los animales en el grupo de "control glucémico" (n=4) eran independientes de insulina, y los niveles de glucosa en sangre se controlaron por los islotes en los dispositivos de trasplante de células solamente. Los animales en este grupo mostraron independencia de insulina a largo plazo tras el trasplante de islotes. Algunos animales, sin embargo, permanecieron hiperglucémicos (niveles de glucosa en sangre diarios elevados) tras el trasplante de islotes en los dispositivos (n=6). Esto estaba relacionado con la pobre calidad metabólica de los islotes pre-trasplante y la baja dosis de trasplante de islotes (IEQ/Kg). La calidad de los islotes antes del trasplante se correlacionó bien con la función de los islotes a largo plazo.

c) Prueba de tolerancia a la glucosa

Las pruebas de tolerancia a la glucosa son importantes al evaluar la función de injerto de los islotes a través de la comparación de los resultados de IVGTT antes y después del trasplante. Para probar la eficacia de los dispositivos de trasplante de células, se realizaron IVGTTs antes de la pancreatectomía (valores iniciales), en varios puntos temporales tras el trasplante de islotes en los dispositivos, y tras la explantación de los dispositivos. La IVGTT se realizó inyectando una dosis de dextrosa y midiendo el tiempo que tomaba a la insulina endógena llevar los niveles de glucosa a los valores iniciales. Adicionalmente a medir el nivel de glucosa en sangre, la sangre se muestreó en varios puntos temporales para medir el nivel de péptido C, que es un subproducto creado cuando se produce insulina por células β . Los resultados de una IVGTT se interpretaron usando valores absolutos del nivel de glucosa en sangre (FIG. 19A, área bajo una curva (AUC) del nivel de glucosa en sangre (FIG. 19B), y veces de cambio en nivel de péptido C (FIG. 19C).

Como se muestra en las FIGS. 19A y 19B, los niveles de glucosa aumentaron significativamente ($p < 0.001$, Anova) después de explantar el dispositivo, indicando que la retirada del dispositivo dio lugar a la eliminación de función de insulina similar a un animal diabético sin islotes. Mientras que los niveles de glucosa más bajos se detectaron en animales no sometidos a pancreatectomía, los recipientes de autoinjertos de islotes mostraron reducción significativa en los niveles de glucosa tras la inyección de dextrosa, indicando que los islotes inmaduros pueden sobrevivir y funcionar tras el trasplante.

Se analizaron muestras de suero de las IVGTTs usando el kit de Radioinmunoensayo de Péptido C Porcino de Linco, que utiliza un anticuerpo hecho específicamente contra el péptido C porcino sintético. Se analizaron muestras de suero al de 0, 5, 15, 30, 60 y 120 minutos tras la inyección de dextrosa para la presencia de péptido C porcino. Se probaron cuatro grupos de estudio: cerdos no sometidos a pancreatectomía (valores iniciales), recipientes de autoinjertos de islotes (trasplante post-islotes), recipientes de autoinjertos a los que se les habían retirado sus dispositivos (retirada post-dispositivo) y cerdos de control diabéticos. Cuando se examinan las veces de cambio en los niveles de péptido C entre los diferentes grupos de estudio, los de valores iniciales y los recipientes de trasplante post-islotes mostraron un resultado muy comparable, aunque el nivel de péptido C en los recipientes de trasplantes post-islotes aumentaron al de 60 minutos en oposición a los 30 minutos para el grupo de valores iniciales (FIG. 19C). Además, las veces de cambio en el péptido C para el grupo de retirada post-dispositivo y el grupo de control diabético fueron similares, indicando que los islotes trasplantados eran responsables de la liberación de péptido C antes de la retirada del dispositivo.

Otras realizaciones de la invención serán aparentes para los expertos en la técnica a partir de la consideración de la especificación y puesta en práctica de la invención divulgada en la presente. Se pretende que la especificación y ejemplos se consideren solamente como ejemplares, con un alcance cierto y espíritu de la invención estando indicando por las reivindicaciones siguientes.

Reivindicaciones

1. Un dispositivo para implantar células en un cuerpo del huésped, que comprende:

- 5 un andamiaje poroso que comprende al menos una cámara que tiene un extremo proximal y un extremo distal, el andamiaje poroso teniendo poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejido vascular y conectivo en la por lo menos una cámara; y
por lo menos un tapón extraíble configurado para ser posicionado dentro de la por lo menos una cámara;
10 en el que el andamiaje poroso comprende una malla de polipropileno.
2. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que la por lo menos una cámara comprende una abertura en cualquiera o ambos del extremo proximal y el extremo distal de la cámara, y en el que el dispositivo comprende:
15 por lo menos un sistema de dos tapones que comprende un tapón exterior configurado para ser posicionado dentro de la por lo menos una cámara, y un tapón interior configurado para ser posicionado dentro del tapón exterior; y
por lo menos un sello configurado para encerrar la abertura en cualquiera o ambos del extremo proximal y el extremo distal de la cámara.
- 20 3. El dispositivo de la reivindicación 1, que comprende además una aleta no porosa conectada a la malla de polipropileno en una abertura en sólo un extremo de la por lo menos una cámara y/o un sello para cerrar la abertura, el sello comprendiendo opcionalmente un clip quirúrgico o suturas quirúrgicas.
- 25 4. El dispositivo de cualquier reivindicación anterior, en el que al menos una parte del andamiaje poroso está recubierto con uno o más materiales biodegradables que llenan los poros del andamiaje poroso.
5. El dispositivo de la reivindicación 4, en el que los materiales biodegradables comprenden al menos uno de factores de crecimiento, agentes antifibróticos, un polímero, y/o sustancias para estimular la angiogénesis y la incorporación de tejido en la por lo menos una cámara porosa, y/o en el que al menos una parte del andamiaje
30 poroso es rugoso para estimular la incorporación de tejido en la por lo menos una cámara porosa.
6. El dispositivo de cualquier reivindicación anterior, en el que el andamiaje poroso comprende múltiples cámaras que están conectadas lateralmente y comprende opcionalmente un sello común para las múltiples cámaras o un sello para cada cámara.
35
7. El dispositivo de la reivindicación 6, en el que el por lo menos un sello es una película de polímero que está soldada ultrasónicamente al andamiaje poroso.
8. El dispositivo de la reivindicación 2, en el que el tapón exterior y el tapón interior comprende mecanismos de sellado complementarios.
40
9. El dispositivo de la reivindicación 8, en el que la pared interior del tapón exterior comprende por lo menos una protrusión a lo largo de la longitud del tapón exterior.
- 45 10. El dispositivo de cualquier reivindicación anterior, en el que el andamiaje poroso permite el crecimiento de tejidos vascular y conectivo en la cámara porosa encapsulando el por lo menos un sistema de tapón en una matriz de colágeno neovascularizada y en el que la retirada del sistema de tapón de la cámara crea un espacio dentro de la cámara que se encapsula en la matriz de colágeno neovascularizada.
- 50 11. El dispositivo de cualquier reivindicación anterior, en el que por lo menos una parte del andamiaje poroso está recubierta con uno o más de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), un polímero de elución de fármacos, colágeno, fibronectina, proteínas del citoesqueleto de la membrana, polietilenimina y sulfato de dextrano, poli(vinilsiloxano)ecopolimerpoli-etilenimina, fosforilcolina, poli(etilenglicol), poli(ácido láctico-glicólico), poli(ácido láctico), polihidroxisalato y copolímeros, polihidroxibutirato y copolímeros, polidioxanona, polianhídridos,
55 poli(aminoácidos), poli(ortoésteres), poliésteres, colágeno, gelatina, polímeros de celulosa, quitosanos, alginatos, fibronectina, proteínas de la matriz extracelular, vinculina, agar, agarosa, ácido hialurónico, matrigel y combinaciones de los mismos.
12. El dispositivo de la reivindicación 2, que comprende además un dispositivo de administración de células que comprende al menos un tubo de infusión de células configurado para ser posicionado dentro del tapón exterior.
60
13. El dispositivo de la reivindicación 12, en el que el dispositivo de administración de células comprende además un conector configurado para conectar el tapón exterior cuando el por lo menos un tubo de infusión de células se inserta en el tapón exterior y opcionalmente en el que el conector comprende una presilla para conectar con el tapón exterior y opcionalmente en el que la unión del conector con el tapón exterior permite que el conector y el tapón
65

exterior sean retraídos del dispositivo como una única unidad.

14. El dispositivo de cualquier reivindicación anterior, en el que el andamiaje poroso comprende una cámara, dos cámaras, tres cámaras, cuatro cámaras, cinco cámaras, seis cámaras, siete cámaras, ocho cámaras o diez o más cámaras.

15. El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el dispositivo comprende células encapsuladas dentro de la cámara.

16. El dispositivo de cualquier reivindicación anterior, para su uso en un método para trasplantar células en un cuerpo del huésped, que comprende los pasos de:

a. proporcionar un dispositivo implantable para mantener células en el cuerpo del huésped, el dispositivo implantable comprendiendo:

un andamiaje poroso que comprende por lo menos una cámara que tiene una abertura en cualquiera o ambos de un extremo proximal y un extremo distal de la cámara, el andamiaje poroso teniendo poros dimensionados para facilitar el crecimiento de los tejidos vascular y conectivo en el andamiaje poroso; por lo menos un sistema de dos tapones configurado para ser posicionado dentro de la por lo menos una cámara; y por lo menos un sello configurado para encerrar la abertura en cualquiera o ambos del extremo proximal y el extremo distal del andamiaje poroso.

en el que el por lo menos un sistema de dos tapones comprende un tapón exterior configurado para ser posicionado dentro de la por lo menos una cámara, y un tapón interior configurado para ser posicionado dentro del tapón exterior;

b. implantar el dispositivo en el cuerpo del huésped;

c. mantener el dispositivo en el cuerpo del huésped hasta que el dispositivo esté infiltrado con tejidos vascular y conectivo;

d. proporcionar un dispositivo de administración de células que comprende por lo menos un tubo de infusión de células cargado con una preparación de células, el tubo de infusión de células configurado para ser posicionado dentro del tapón exterior;

e. acceder al dispositivo implantado a través de una incisión quirúrgica y abrir el por lo menos un sello;

f. retirar el tapón interior del sistema de dos tapones;

g. insertar el tubo de infusión de células en el tapón exterior;

h. retirar el tapón exterior de la por lo menos una cámara e infundir la cámara con la preparación de células; y i. volver a cerrar el por lo menos un sello.

17. El dispositivo de la reivindicación 16, para su uso en un método para trasplantar células en un cuerpo del huésped, en el que el método comprende además el paso de formar imágenes del andamiaje poroso antes de administrar las células.

18. El dispositivo de la reivindicación 16 ó 17, para su uso en un método para trasplantar células en un cuerpo del huésped, en el que la preparación de células comprende uno o más islotes de células de Langerhans, células de Sertoli, células madre mesenquimales, células madre, células sanguíneas del cordón umbilical, células madre embrionarias, células o líneas celulares diseñadas genéticamente y una combinación de las mismas.

19. El dispositivo de la reivindicación 16, 17 ó 18, para su uso en un método para trasplantar células en un cuerpo del huésped, en el que la preparación de células comprende células donantes alogénicas, xenogénicas, derivadas de pacientes o singénicas.

20. El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 16-19, para su uso en un método para trasplantar células en un cuerpo del huésped, en el que la preparación de células comprende células o líneas celulares diseñadas genéticamente.

21. El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 16-20, para su uso en un método para trasplantar células en un cuerpo del huésped, en el que las células comprenden islotes de Langerhans y células de Sertoli.

22. El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 16-21, para su uso en un método para trasplantar células en un cuerpo del huésped, en el que la preparación de células comprende células encapsuladas.

23. El dispositivo de la reivindicación 15 o el dispositivo para el uso de acuerdo con la reivindicación 22, en el que las células se encapsulan en alginato, un hidrogel polisacárido, quitosano, alginato de calcio o bario, una matriz estratificada de alginato y polilisina, polímero fotopolimerizable de poli(etilenglicol), un poliacrilato, metacrilato de hidroxietilo, metacrilato de metilo, una cápsula de silicio, una nanocápsula de silicio, o una polimembrana (cloruro de acrilonitrilo-co-vinilo).

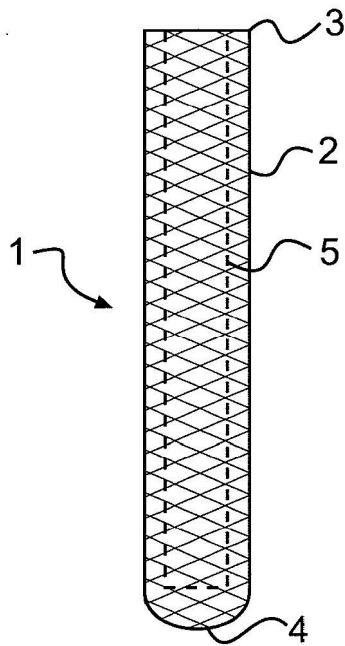


FIG. 1A

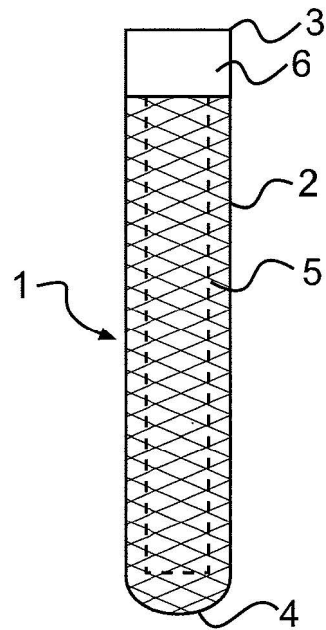


FIG. 1B

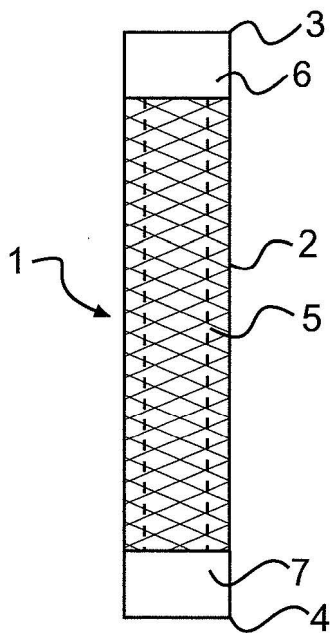


FIG. 1C

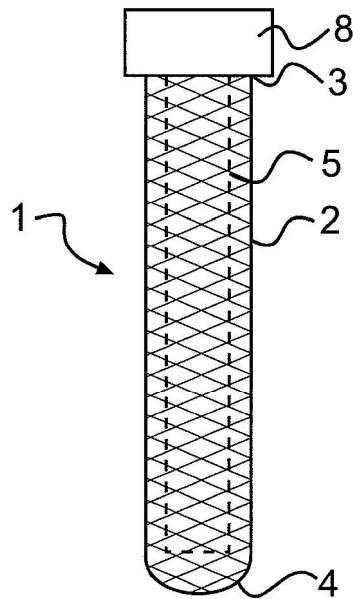


FIG. 1D

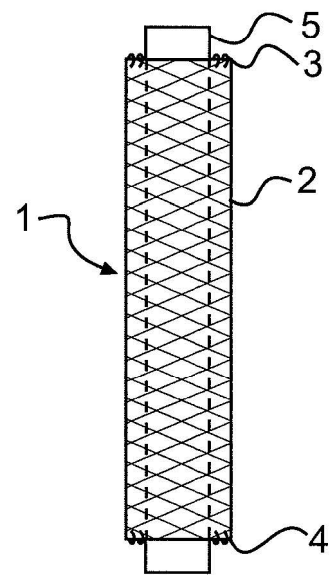


FIG. 1E

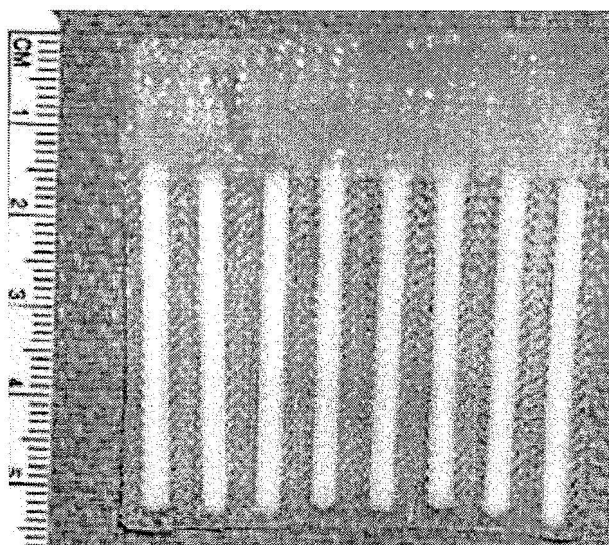


FIG. 1F

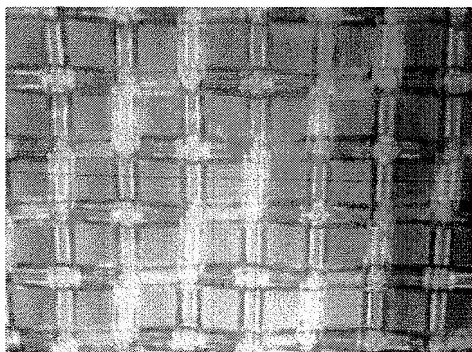


FIG. 2A

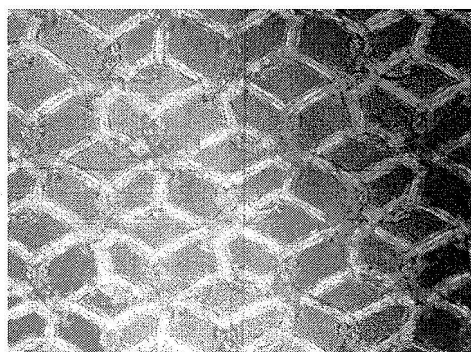


FIG. 2B

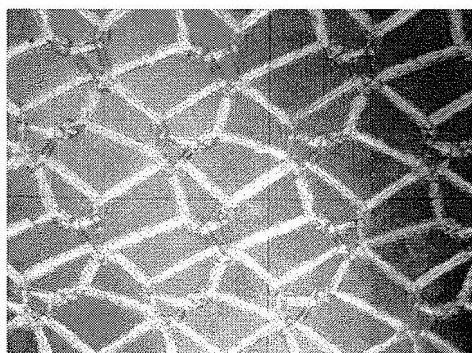


FIG. 2C

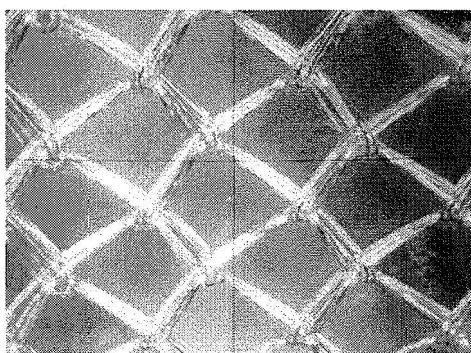


FIG. 2D

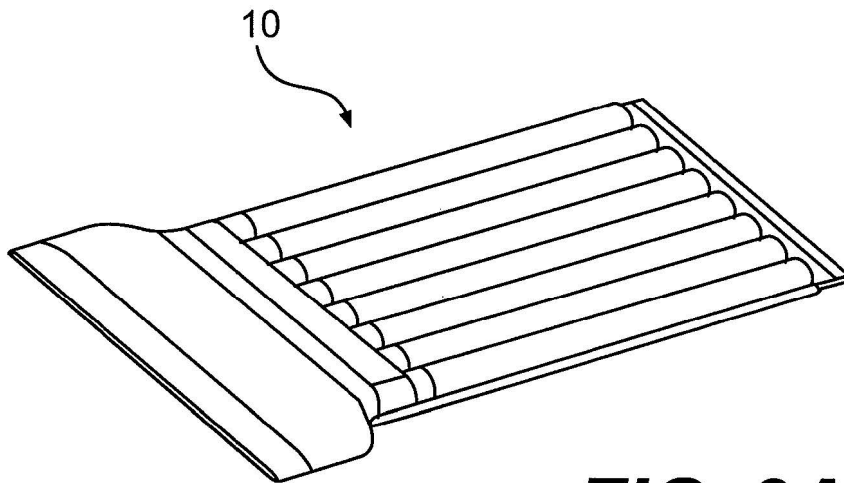


FIG. 3A

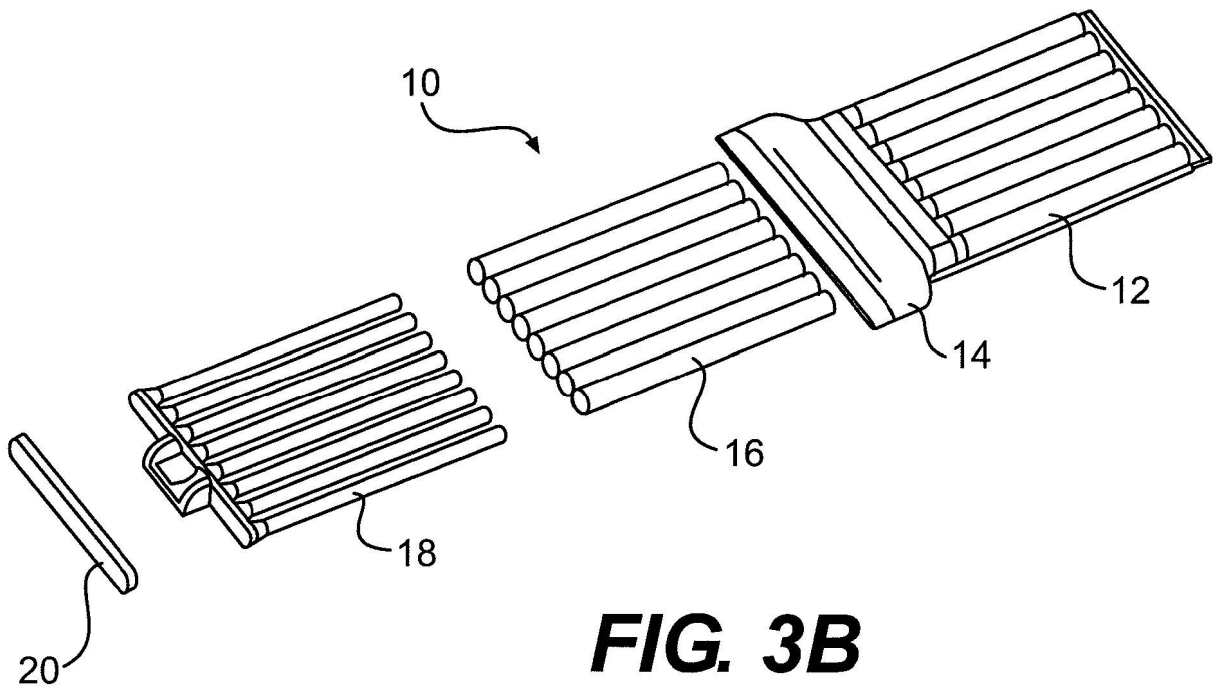


FIG. 3B

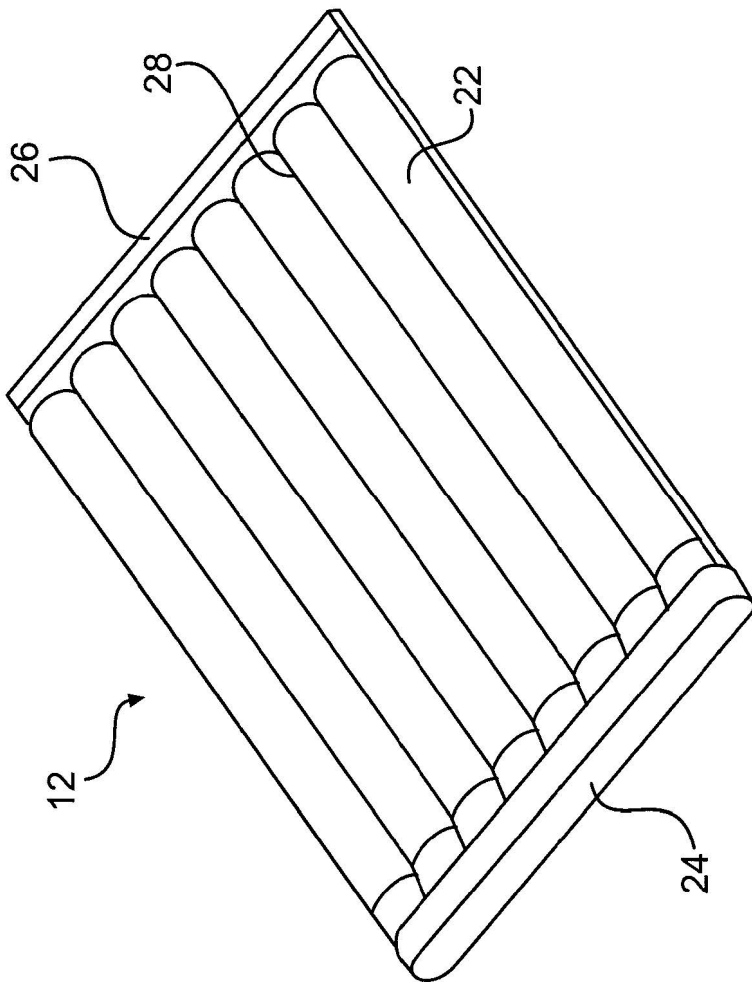


FIG. 4

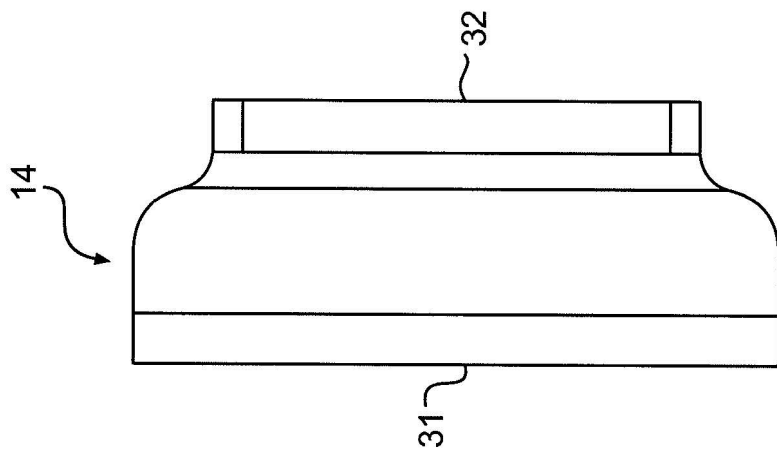


FIG. 5A

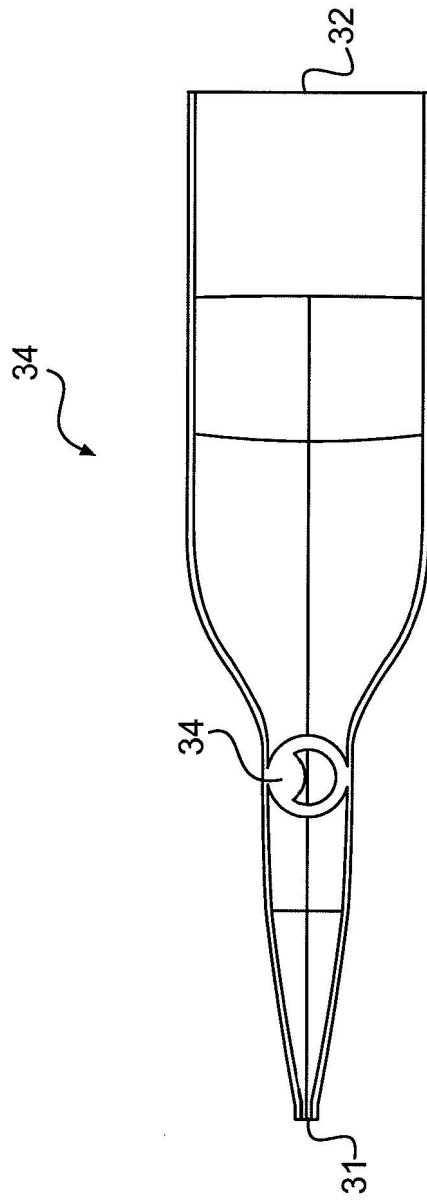


FIG. 5B

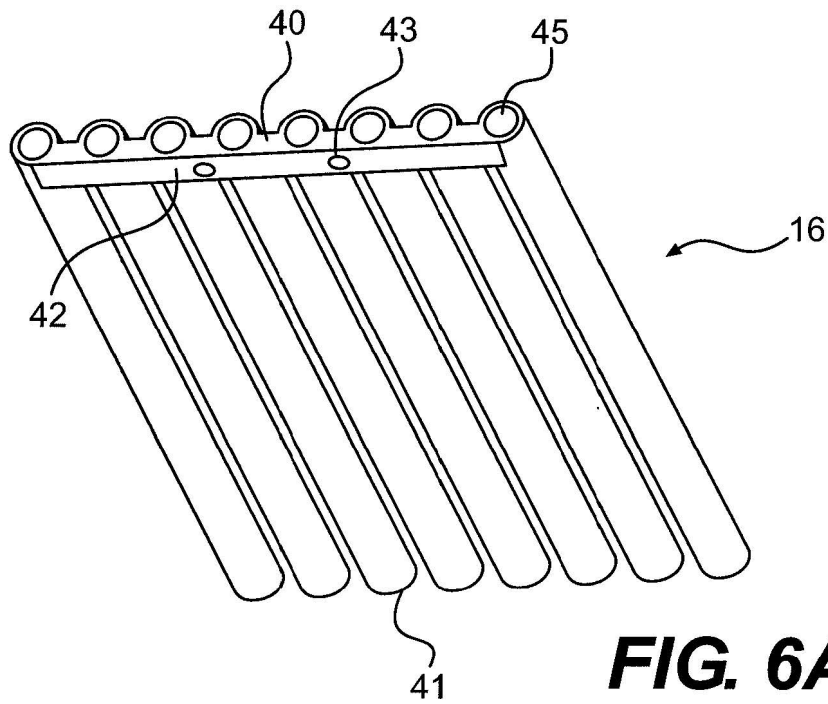


FIG. 6A

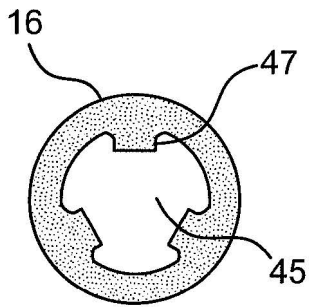


FIG. 6B

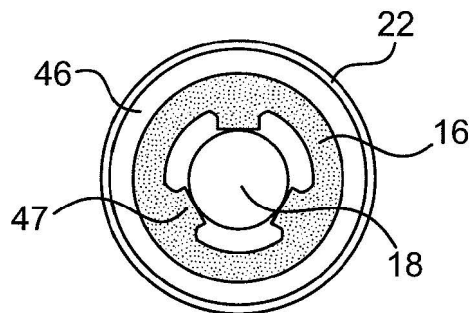


FIG. 6C

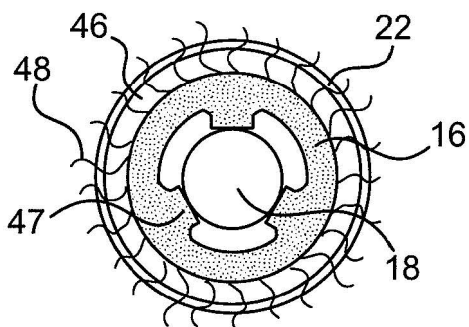


FIG. 6D

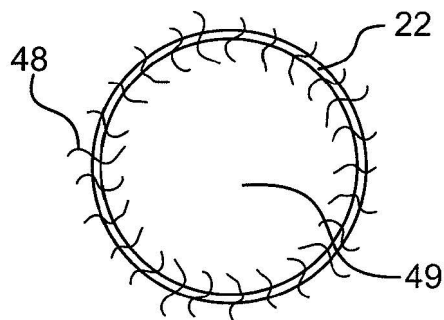


FIG. 6E

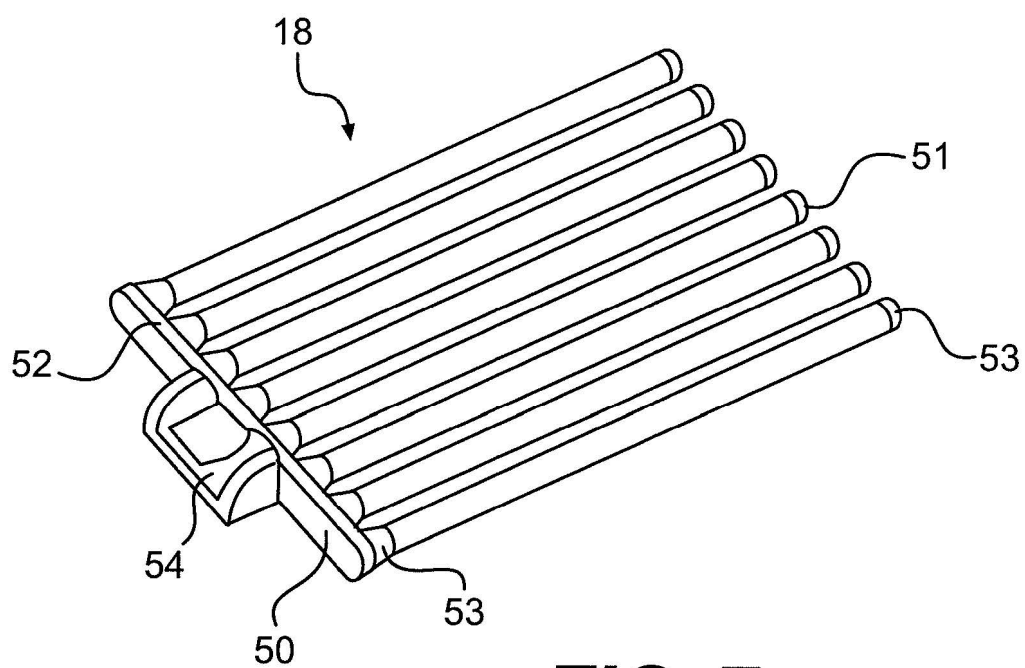


FIG. 7

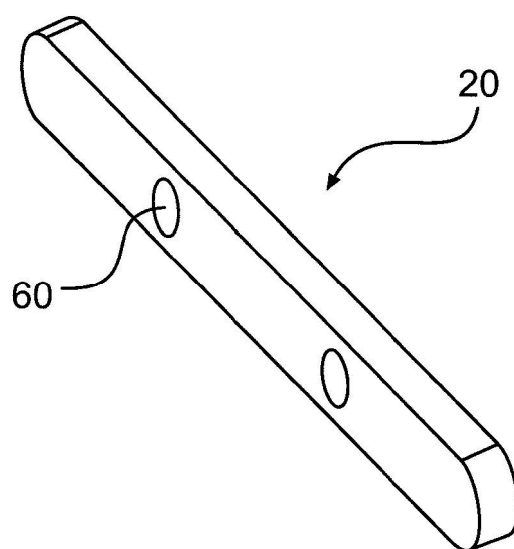


FIG. 8

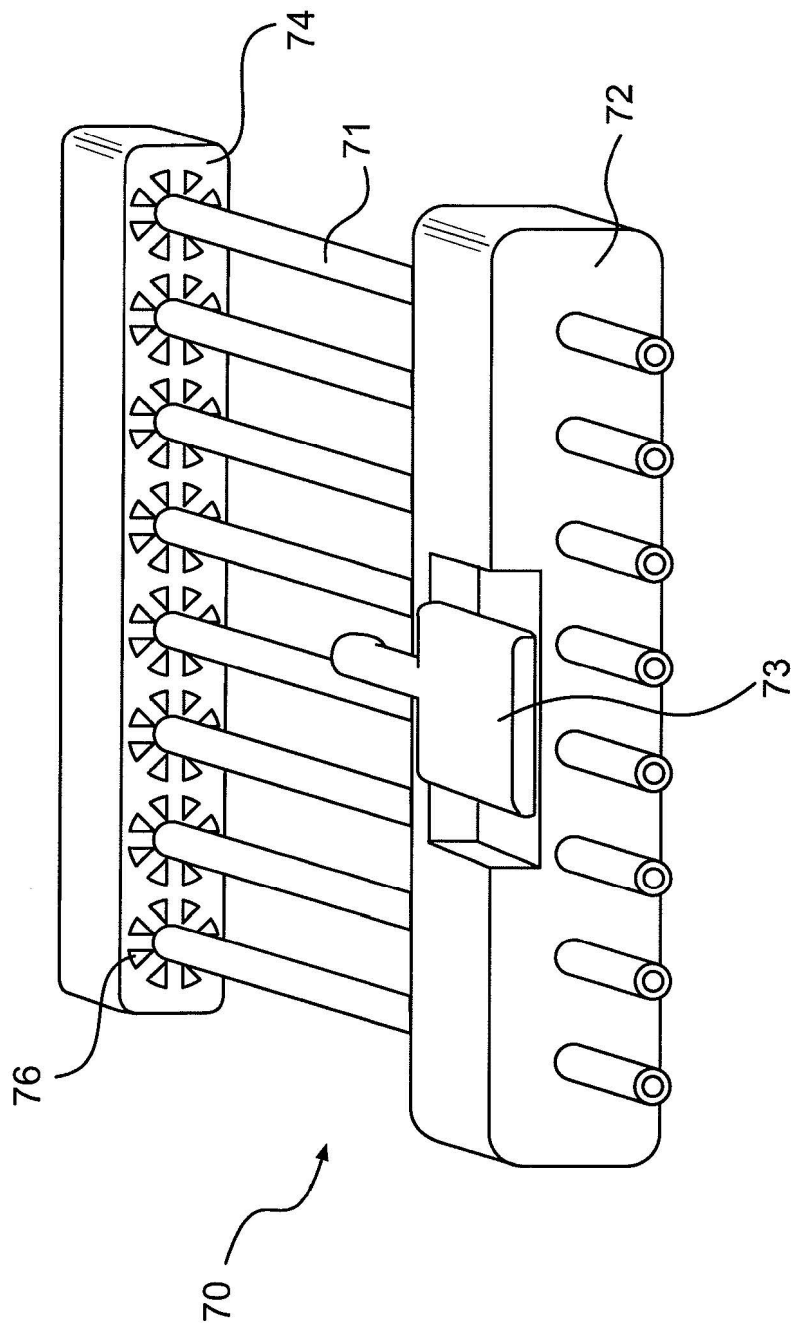


FIG. 9A

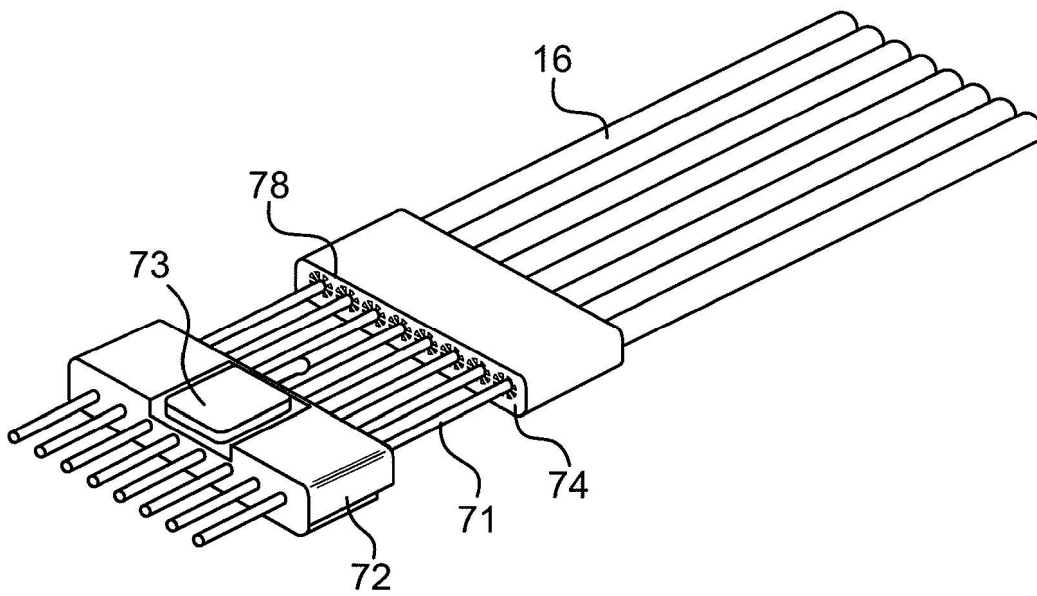


FIG. 9B

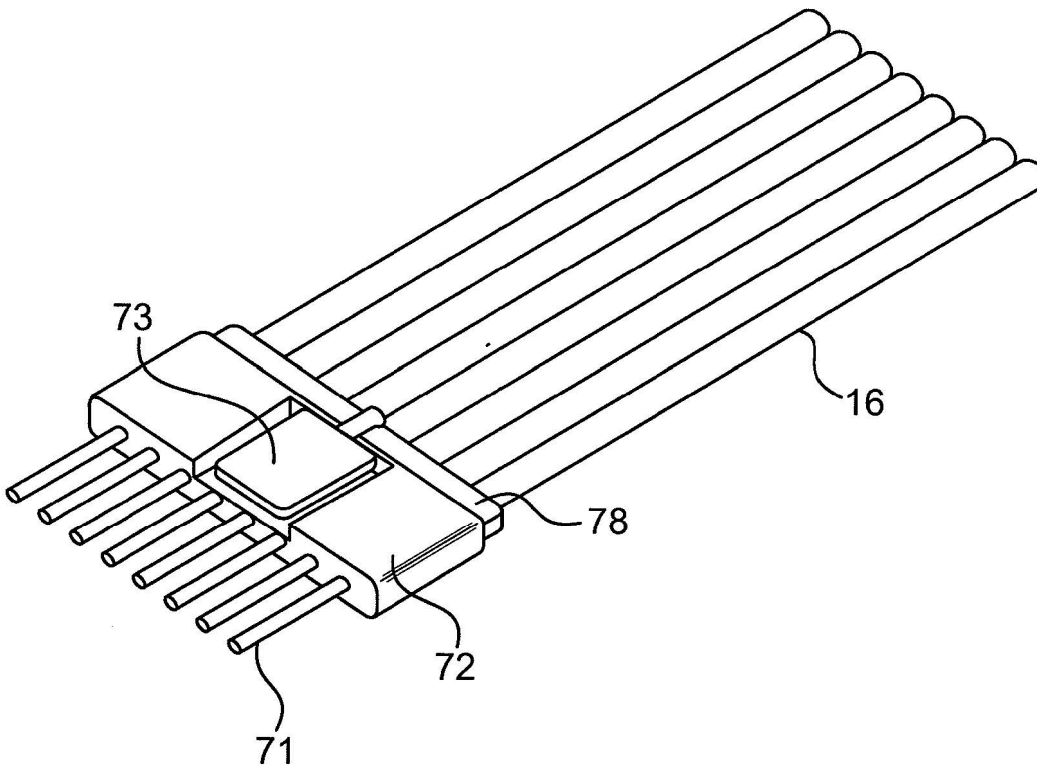


FIG. 9C

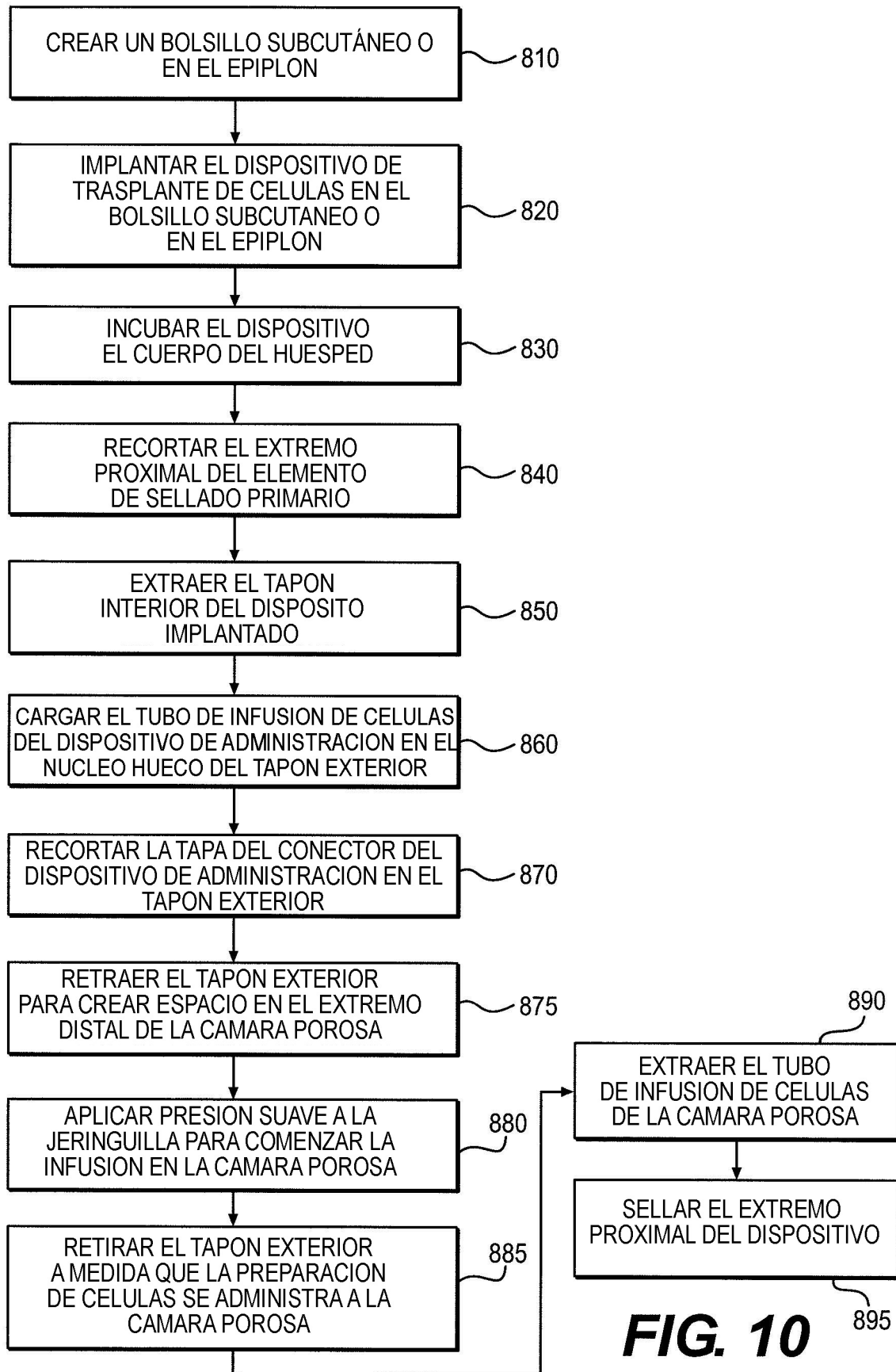


FIG. 10

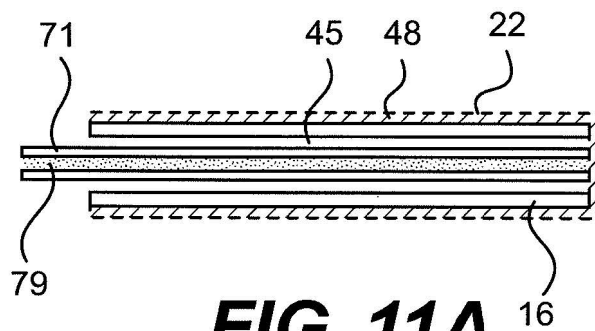


FIG. 11A

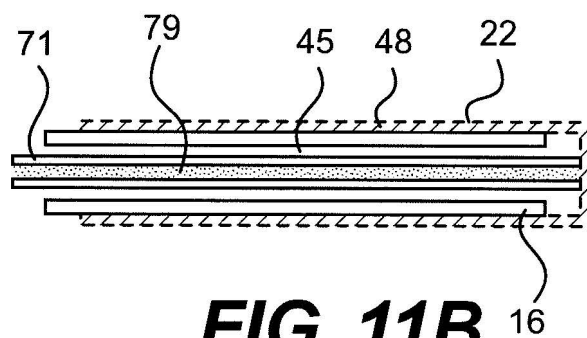


FIG. 11B

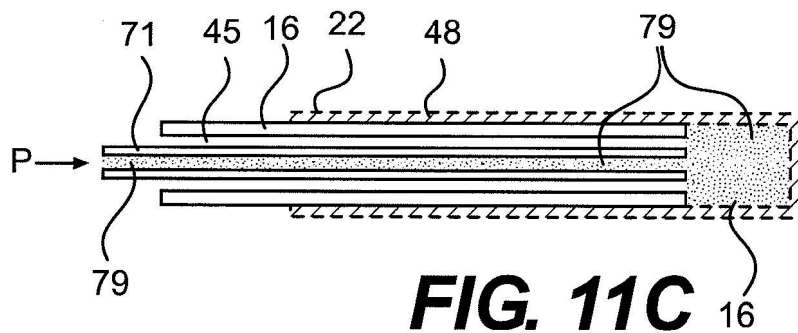


FIG. 11C

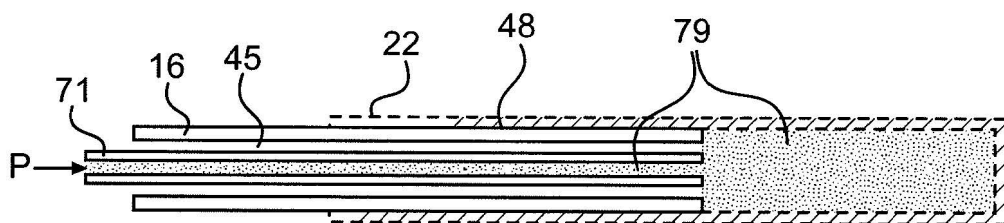


FIG. 11D

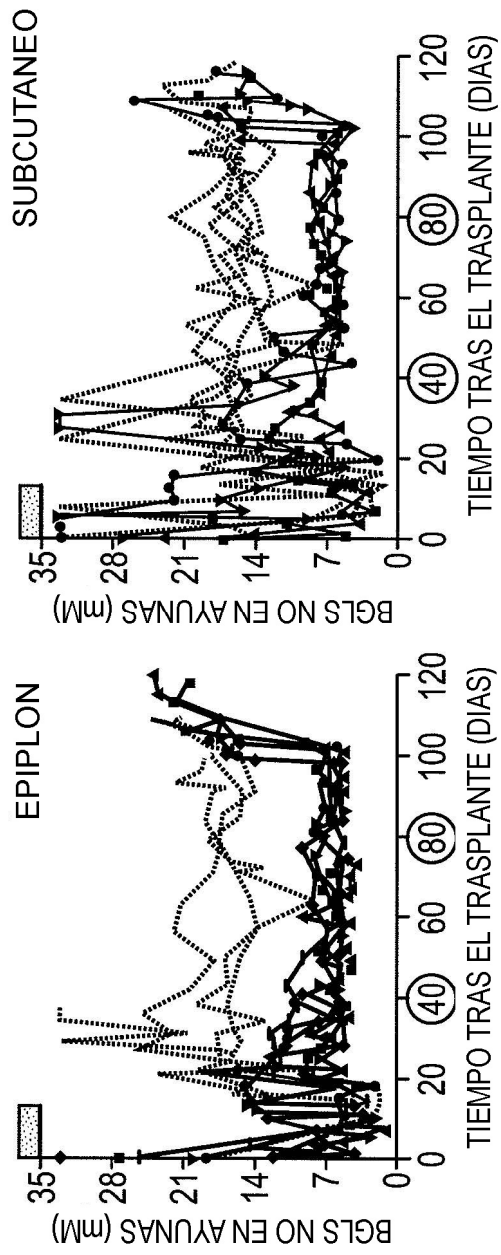


FIG. 12A

FIG. 12B

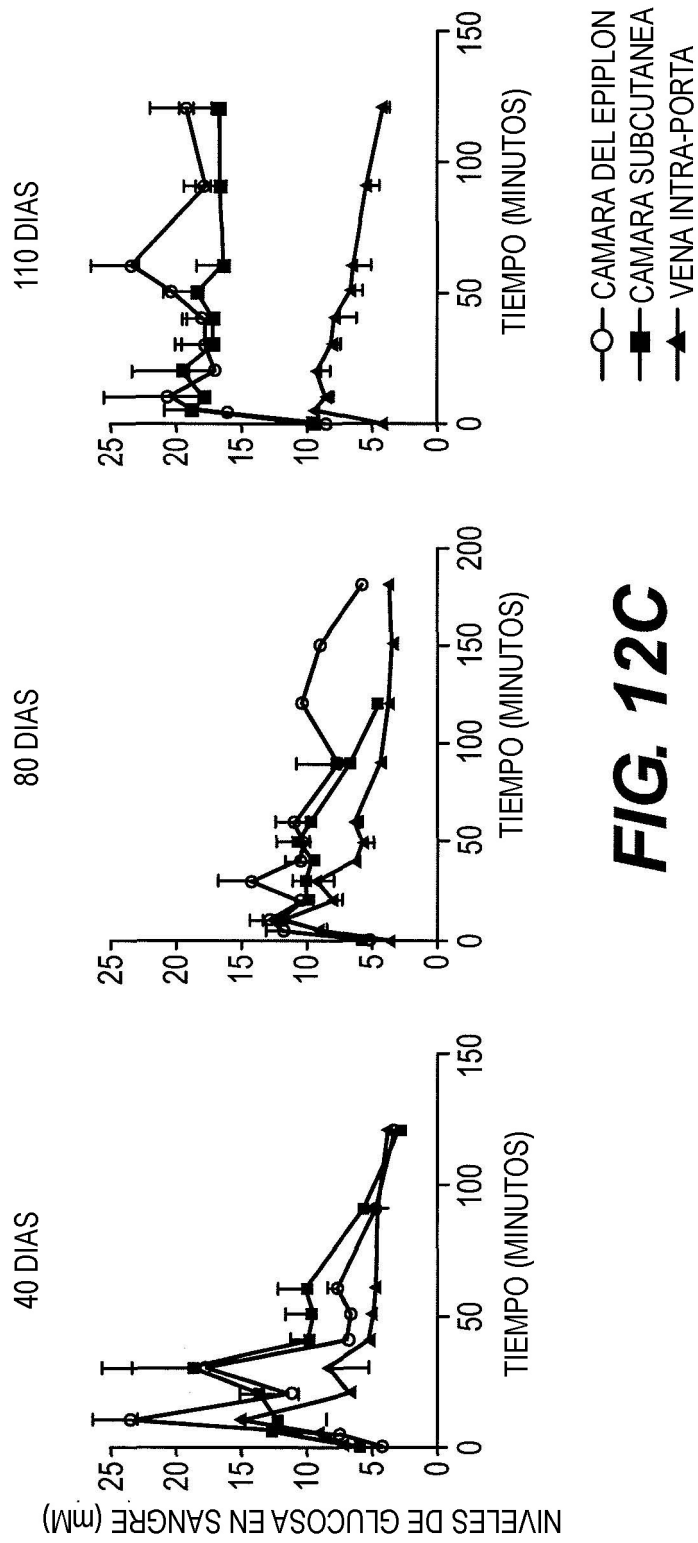


FIG. 12C

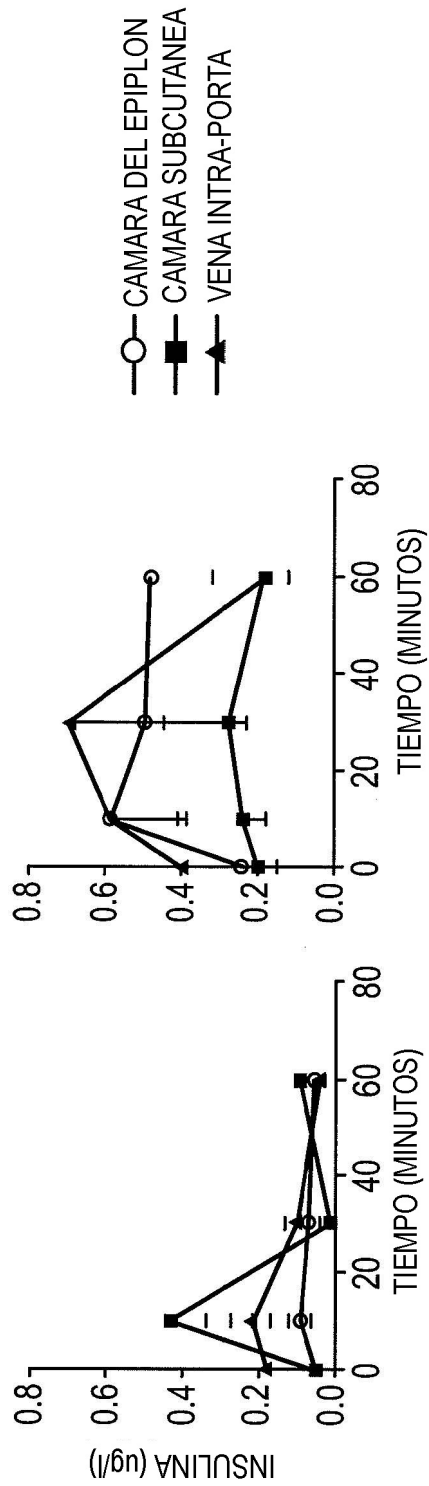


FIG. 12D

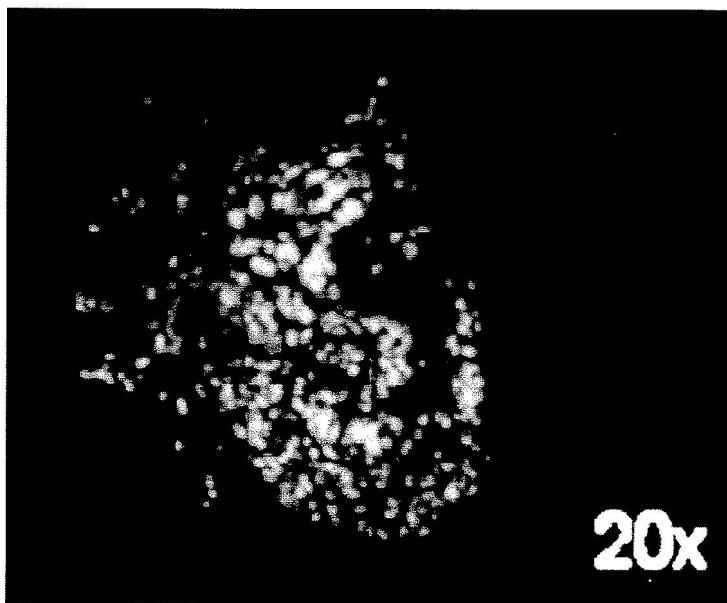


FIG. 13A



FIG. 13B

2 SEMANAS (n=2)				
	MALLA 1	MALLA 2	MALLA 3	MALLA 4
GROSOR DE COLAGENO MEDIO (mm)	3.63	2.96	3.63	3.55
VASOS SANGUINEOS POR cm ²	5.2	5.92	3.11	2.76

4 SEMANAS (n=1)				
	MALLA 1	MALLA 2	MALLA 3	MALLA 4
GROSOR DE COLAGENO MEDIO (mm)	3.17	2.67	5.33	3.67
VASOS SANGUINEOS POR cm ²	4.12	3.15	2.64	4.74

8 SEMANAS (n=1)				
	MALLA 1	MALLA 2	MALLA 3	MALLA 4
GROSOR DE COLAGENO MEDIO (mm)	3.0	3.33	4.17	5.0
VASOS SANGUINEOS POR cm ²	3.75	1.87	2.39	2.21

FIG. 14

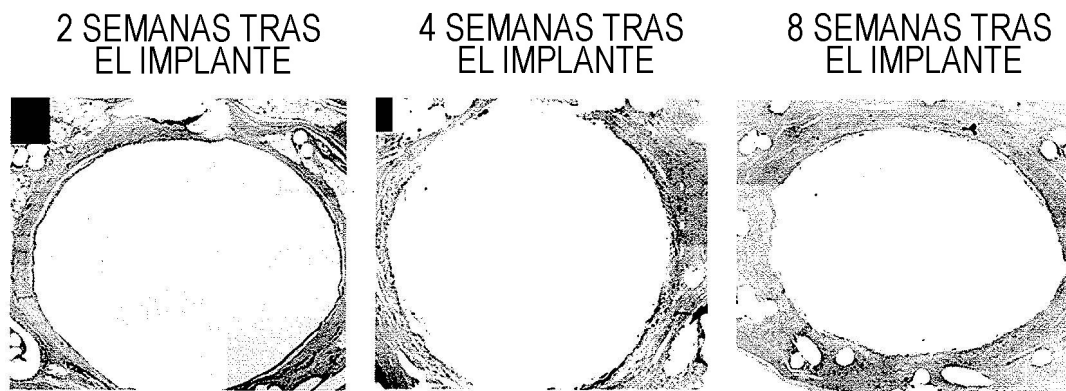


FIG. 15A

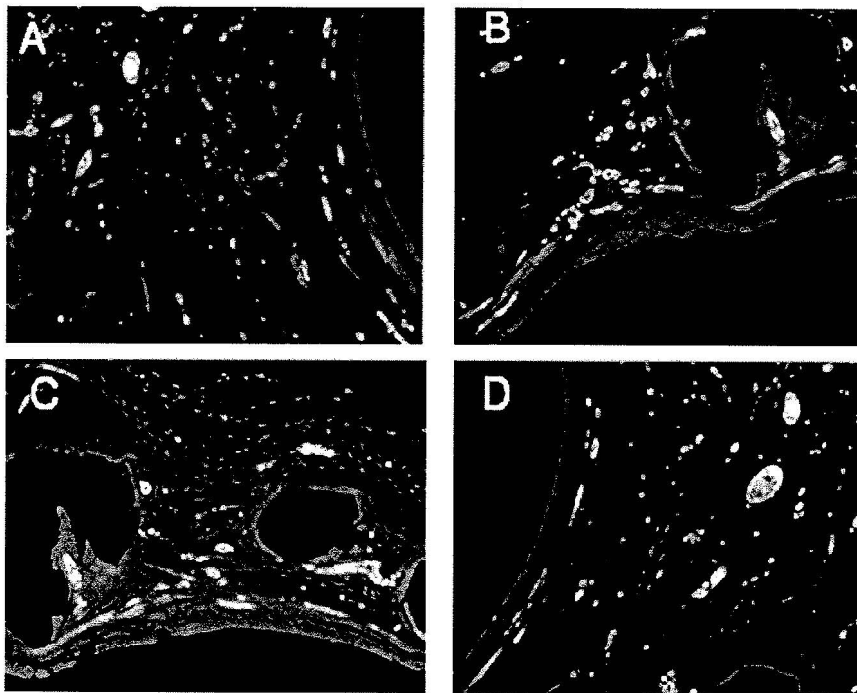


FIG. 15B

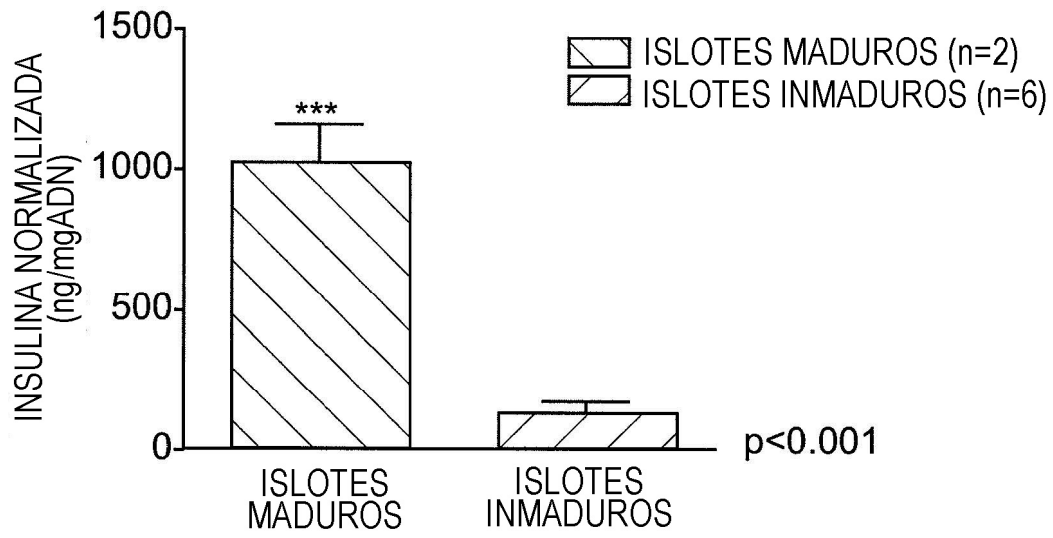


FIG. 16

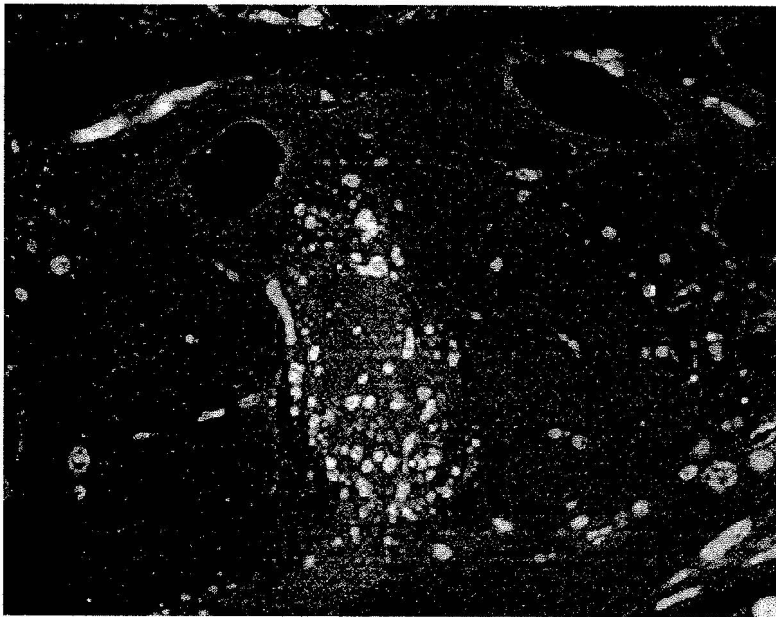


FIG. 17A

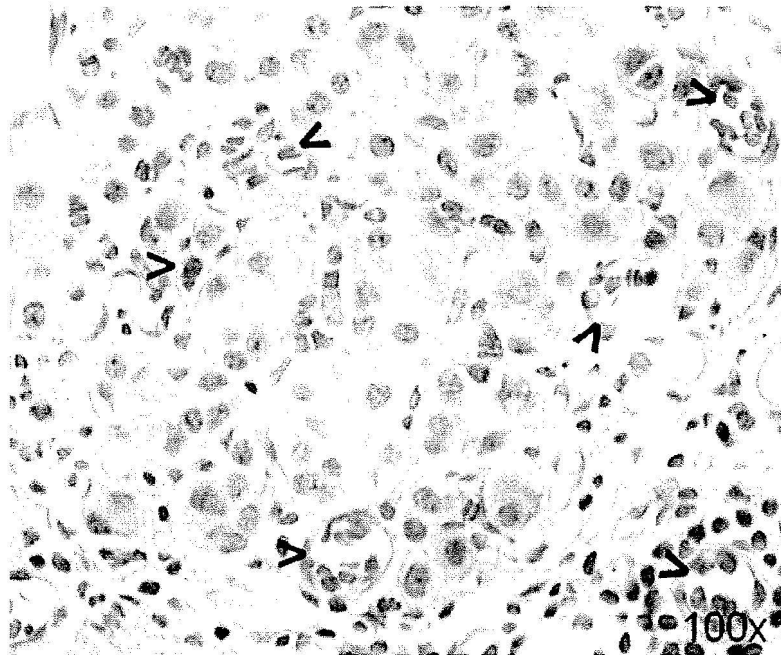


FIG. 17B

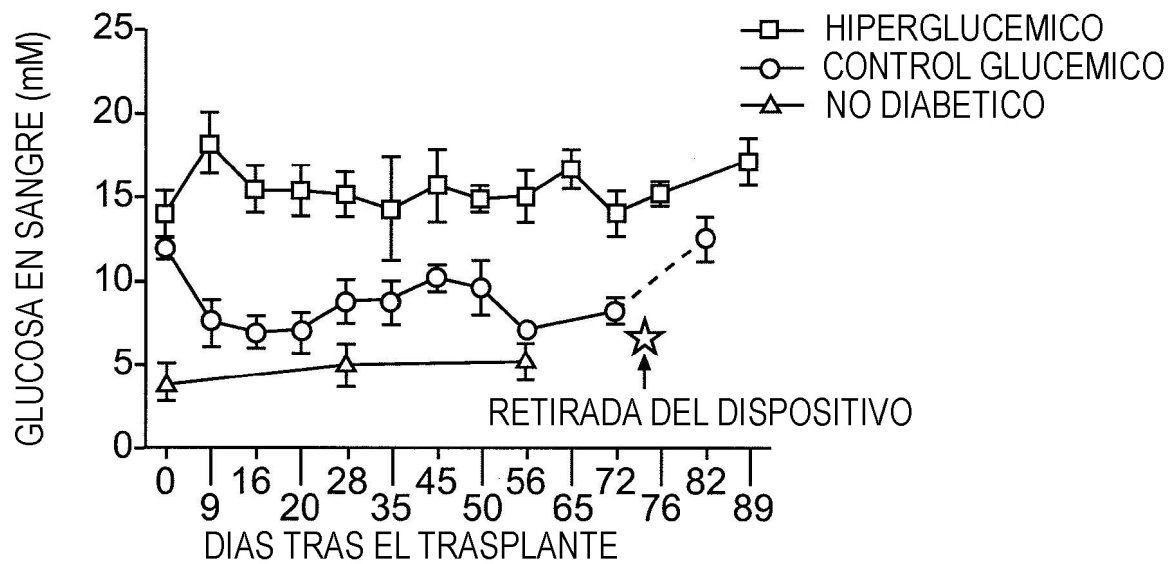


FIG. 18

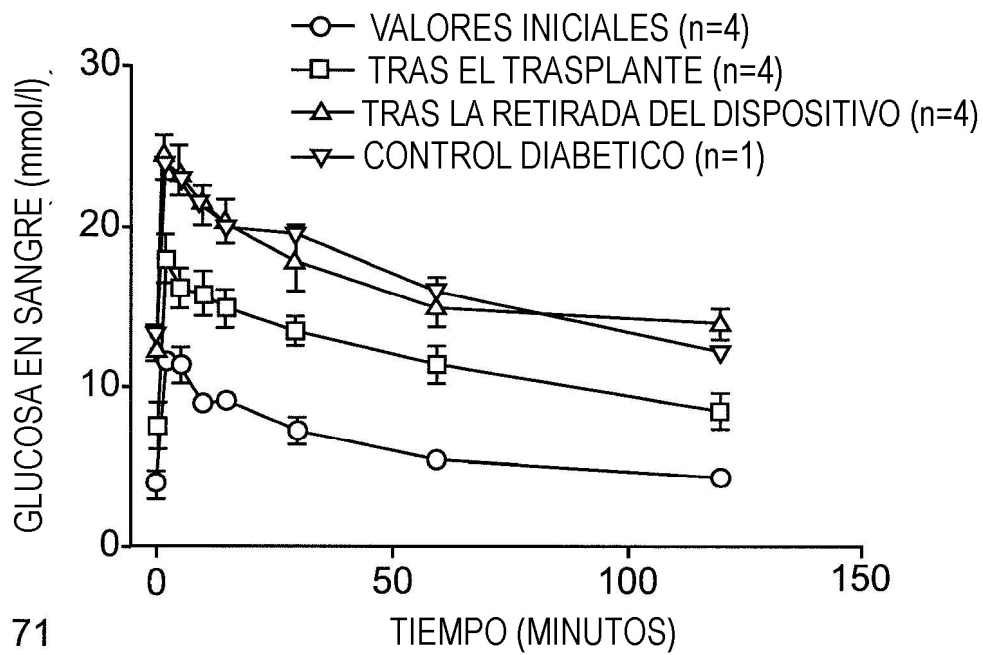


FIG. 19A

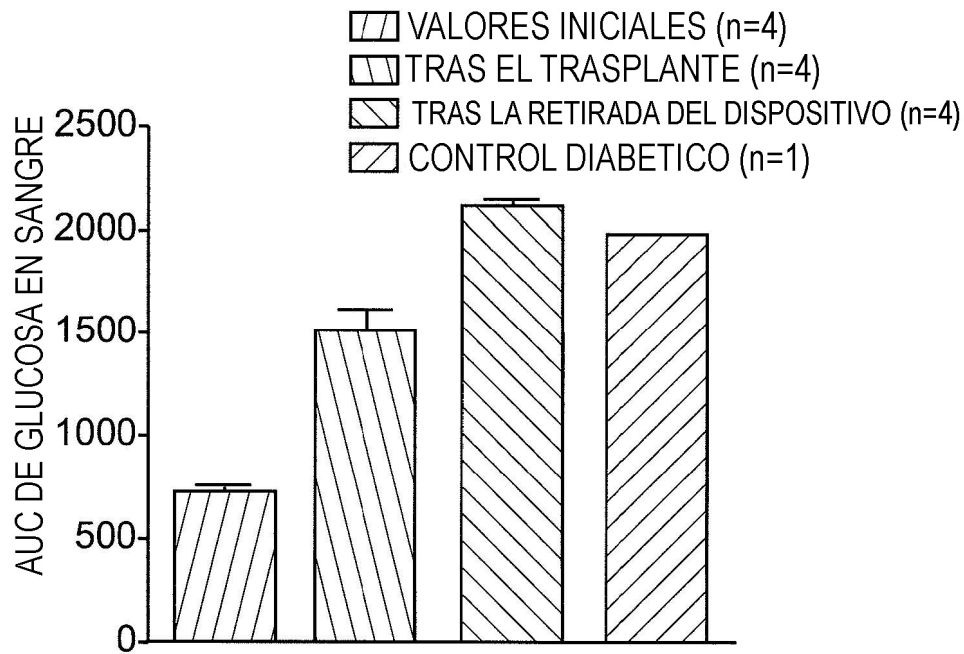


FIG. 19B

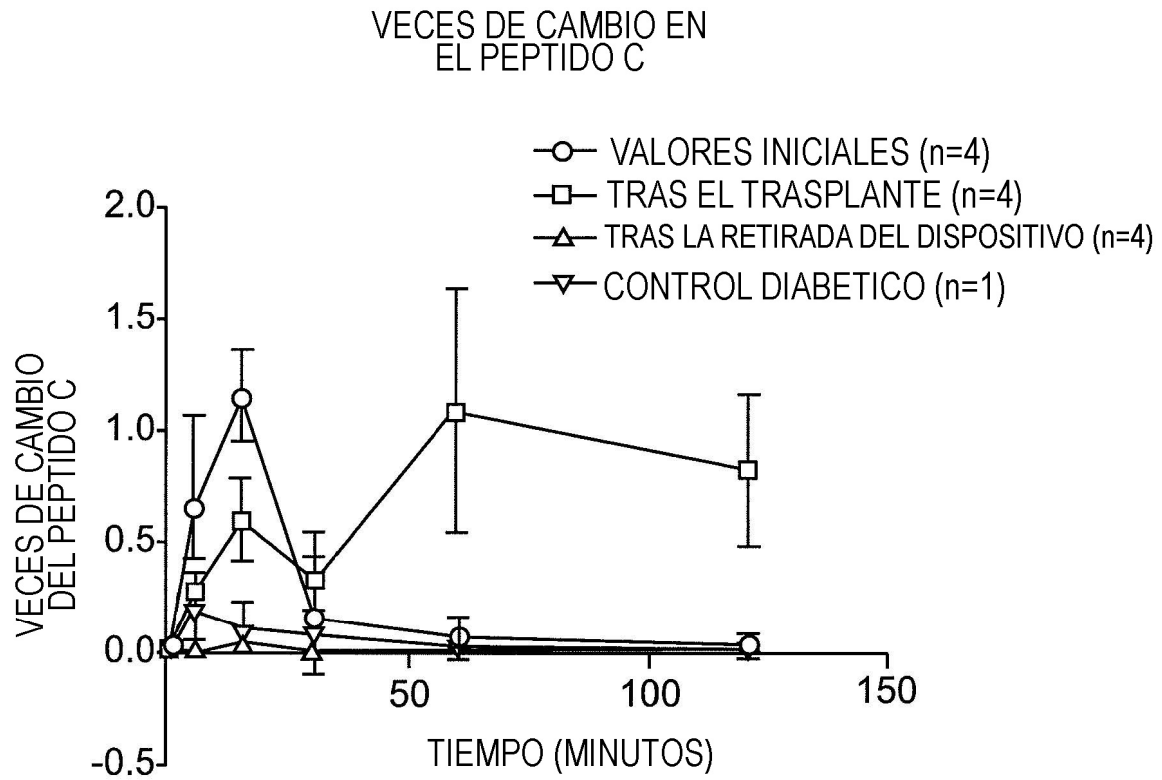


FIG. 19C