



NORGE

(12) PATENT

(19) NO

(11) 300488

(13) B1

(51) Int Cl⁶ A 61 M 31/00, A 61 K 9/20, 9/22

Patentstyret

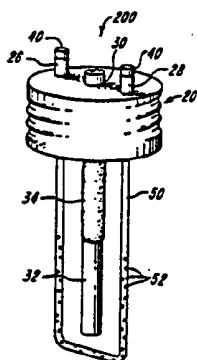
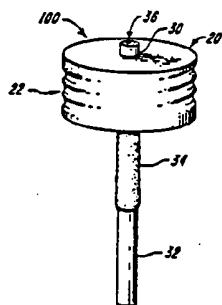
(21) Søknadsnr	915074	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	20.06.90, PCT/US90/03492
(22) Inng. dag	20.12.91	(85) Videreføringsdag	20.12.91
(24) Løpedag	20.06.90	(30) Prioritet	21.06.89, US, 369296
(41) Alm. tilgj.	31.01.92		
(45) Meddelt dato	09.06.97		
(73) Patenthaver	Brown University Research Foundation, 42 Charlesfield Street, Providence, RI 02912, US		
(72) Oppfinner	Patrick Aebischer, Providence, RI, US Shelley R. Winn, Providence, RI, US		
(74) Fullmektig	Oslo Patentkontor AS, 0306 OSLO		

(54) Benevnelse **Neurologisk behandlingsanordning**

(56) Anførte publikasjoner Ingen

(57) Sammendrag

Neurologiske behandlingsanordninger for lokal og regulert avgivelse av en nevrotransmitter til hjernen hos et individ som har nevrotransmitter-mangel eller -funksjonsforstyrrelse. Ved én utførelsesform innbefatter anordningen (100) et bioforenlig, implanterbart og gjenuttakbart polymert innsetningsmateriale (30) innefattende en kilde til nevrotransmitter innleiret i det. Ved en annen utførelsesform innbefatter anordningen (200) en gjenuttakbar kilde til nevrotransmitter innbefattende minst én nevrotransmitter-utsondrende celle (52) innkapslet i en halv-gjennomtrengelig membran som gir mulighet til at nevrotransmitteren kan diffundere gjennom den, og innbefatter videre en kilde til vekstfaktor i umiddelbar nærhet av de nevrotransmitter-utsondrende celler.



Foreliggende oppfinnelse angår en nevrologisk behandlings-
anordning for lokal og regulert avgivelse av en nevro-
transmitter til hjernen hos et individ, hvor anordningen
omfatter de trekk som er angitt i krav 1's ingress. Anord-
ningen er spesielt egnet til behandling av nevrologiske
sykdommer og spesielt behandling av nevrotransmitter-
mangel- og funksjonsforstyrrelsessykdommer.

Nevrotransmittere er små molekyler (molekylvekt under 1
kilodalton (kD)) som virker som kjemiske hjelpemidler for
kommunikasjon mellom nevroner. De syntetiseres av det
presynaptiske nevron og frigjøres til den synaptiske spal-
te hvor de så påvirker reseptorer på postsynaptiske nevro-
ner.

Nevrotransmitter-mangler har vært innblandet ved forskjel-
lige nevrologiske sykdommer. Mangel på nevrotransmitter-
formidlet synaptisk kontakt bevirker nevropatologiske
symptomer og kan også føre til endelig ødeleggelse av de
aktuelle nevroner. Det er nylig blitt oppdaget og beskre-
vet i internasjonal patentsøknad nr. PCT/US88/04092
(WO89/04655) at lokalisert avgivelse av den aktuelle ne-
vrotransmitter til målvevet kan reversere symptomene uten
behov for spesifikk synaptisk kontakt.

For eksempel er paralysis agitans, mer vanlig kjent som
Parkinsons sykdom, karakterisert ved mangel av nevrotrans-
mitteren dopamin i hjernens striatum, grunnet ødeleggelse
av de dopamin-utsondrende celler i substantia nigra. An-
grepne individer har foroverbøyd holdning, stivhet og
langsom bevegelse og rytmisk skjelving av lemmene, idet
sløvsinn ofte forekommer i meget fremskredne stadier av
sykdommen.

Disse kliniske symptomer kan forbedres ved systemisk admi-
nistrering av dopamin-forløpere så som levodopa (L-dopa)
(Calne et al. (1969) Lancet ii:973-976), eller dopamin-

agonister så som bromkriptin (Calne et al. (1974) Bri. Med. J. 5:442-444) og (+)-4-propyl-9-hydroksynaftoksasin (de Yebenes et al. (1987) Movement Disorders 2:291-299), som begge kan krysse blod-hjerne-barrieren, og som omdannes til dopamin i hjernen. Dopamin selv kan ikke administreres systemisk på grunn av at det ikke er i stand til å krysse blod-hjerne-barrieren.

Man støter imidlertid på en rekke ulemper ved anvendelse av denne type kjemisk terapi. For eksempel påvirkes også andre nevrologiske strukturer som oppfatter dopamin som nevrotransmitter. Dessuten blir det vanskelig å administrere den riktige legemiddeldose i forhold til tiden på grunn av at det "terapeutiske vindu" innsnevres (d.v.s. like etter administrering overdoseres pasienten og viser en urimelig stor spontan bevegelse; en tid deretter kan legemiddelnivået bli utilstrekkelig, hvilket gjør at pasienten igjen viser Parkinsonisme-symptomer). Videre utelukker den begrensede potens og/eller løselighet av de fleste tilgjengelige dopamin-agonister kontinuerlige in vivo-infusjoner som middel til redusering av motoriske mangler ved Parkinsons sykdom. Det som trenges, er derfor en metode for kontinuerlig eller jevn avgivelse av en ikke-nedbrutt, aktiv nevrotransmitter til et lokalisert målområde som mangler denne nevrotransmitter.

Ved et forsøk på å tilveiebringe kontinuerlig tilførsel av dopamin og beslektede legemidler til hjernen med regulert hastighet, er det blitt anvendt osmotiske miniatyrpumper. Imidlertid har begrenset løselighet og stabilitet av dopamin og beslektede legemidler så vel som reservoar-begrensninger begrenset denne teknologis egnethet. Regulert legemiddellavgivelse er blitt forsøkt ved implantering av anordninger innbefattende et legemiddel innarbeidet i en polymer anordning (EP-A-0 290 891). Regulert vedvarende frigjøring har også vært forsøkt ved implantering av dopamin innkapslet i bioresorberbare mikrokapsler (McRae-De-

gueurce et al. (1988) Neurosci. Lett. 92:303-309). Reguler-
lert vedvarende frigjøring av et legemiddel fra en bio-
resorberbar polymer betinges imidlertid av erosjon av
mestedelen av overflaten, for eksempel på grunn av for-
5 skjellige hydrolytiske årsaker, som øker sannsynligheten
for legemiddelnedbrytning og gjør forutsigbare frigjør-
ringshastigheter vanskelige.

Implantasjon av celler som uavbrutt kan danne den nødven-
10 dige nevrotransmitter, ifølge rapport som svar på miljøbe-
hov, er også blitt forsøkt. Helbredstransplantering av
nevrotransmitter-utsondrende vev er nylig blitt utført
under anvendelse av pasientens eget vev for at det ikke
skal fremkalles noen immunrespons. For eksempel er dopa-
15 min-utsondrende vev fra binyremargen hos pasienter med
Parkinsons sykdom blitt implantert i deres striatum med en
viss suksess. Denne fremgangsmåte anvendes imidlertid
bare for pasienter under 60 år, idet binyrekjertelen hos
eldre pasienter kanskje ikke inneholder tilstrekkelig dop-
20 amin-utsondrende celler. Denne begrensning begrenser
fremgangsmåtenes egnethet som helbredende middel siden
sykdommen oftest angriper eldre mennesker.

Videre fremsetter bukhulekirurgi utført for bortskjæring
25 av deler av binyrekjertelen vesentlige risikoer. Videre
er det ikke virkelig kjent om det er dopaminet eller andre
"faktorer" dannet av de implanterte celler, eller såret
fra selve operasjonen, som demper de kliniske symptomer.
Faktisk er stereotaksisk kirurgi eller frembringelse av
30 nøyaktig lokaliserte lesjoner i hjernen blitt praktisert
hos yngre, mindre angrepne pasienter uten transplantasjon,
og denne fremgangsmåte ser ut til å tilveiebringe liknende
demping av Parkinson-symptomer. Fremgangsmåten er imid-
lertid risikofylt, og oppfatningen blant nevrokirurger er
35 fremdeles forskjellig med hensyn til den beste måte å
frembringe lesjonen og hvor dens ideelle beliggenhet skul-
le være.

Alternativer til transplantering av en pasients hjernevev innbefatter også transplantasjon av enten dopamin-utsondrende allotransplantatvev (identisk vev fra en annen av samme art) eller xenotransplantatvev (likt vev fra en annen av en annen art). Nylige undersøkelser har imidlertid vist at skjønt hjernen anses som "immunpriviligert", skjer avstøtningen til slutt både når det gjelder allotransplantater og xenotransplantater. Dette problem nødvendiggjør ko-administrering av immun-undertrykkende midler, hvis anvendelse gir sitt eget sett av komplikasjoner og skadelige bivirkninger.

Det er derfor behov for forbedrede behandlinger for neurotransmitter-mangelsykdommer generelt, og spesielt for nevrologiske behandlingsmetoder som kan forsterke eller erstatte funksjonene hos funksjonsforstyrrede neurotransmitter-dannende områder i hjernen uten at det blir altfor stor skade. Mer spesifikt er det et behov for en fremgangsmåte for tilveiebringelse av aktiv, uforringet neurotransmitter til et lokalisert område i nervesystemet hos et individ som mangler denne neurotransmitter, idet den riktige dose av denne vil bli avgitt jevnt over tid.

Følgelig er det et formål med den foreliggende oppfinnelse å tilveiebringe en implanterbar nevrologisk behandlingsanordning egnet for vedvarende og regulert avgivelse av en neurotransmitter til et individ, og mer spesielt for tilveiebringelse av en anordning som kan avgi neurotransmitter til et lokalisert område i hjernen hos et individ.

Anordningen ifølge oppfinnelsen er særpreget ved de trekk som er angitt i krav 1's karakteriserende del.

Det er et annet formål å tilveiebringe en implanterbar anordning som inneholder og beskytter neurotransmitter deri mot nedbrytning slik at den avgis til individet i

aktiv form. Enda et annet formål med den foreliggende oppfinnelse er å tilveiebringe en implanterbar anordning som kan avgi et kvantum nevrotransmitter som reagerer på omgivelsene in vivo. Et ytterligere formål er å tilveiebringe en implanterbar, beskyttende cellekulturanordning som kan uttas og hvis innhold kan fornyes med ny og/eller ytterligere nevrotransmitterkilde.

Nevrologiske behandlingsanordninger er beskrevet for lokal og regulert avgivelse av en nevrotransmitter til hjernen hos et individ som har nevrotransmitter-mangel eller -funksjonsforstyrrelse. Det er blitt oppdaget at forskjellige polymere materialer har evnen til å beskytte forskjellige "effektor"-substans typer, såsom nevrotransmittere og vekstfaktorer, mot oksydasjon, hydrolyse og nedbrytning når slike substanser er innleiret i dem. Dessuten har disse polymere materialer kapasitet for vedvarende frigjøring av den innleirede substans med regulert hastighet. Det er nylig også blitt oppdaget at celler innkapslet i en beskyttende halvgjennomtrengelig membran, og ikke i direkte kontakt med et målvev, kan danne nevrotransmitter eller vekstfaktor som svar på behovene i de nærmeste omgivelser.

Disse oppdagelser er blitt utnyttet til utvikling av de nevrologiske behandlingsanordninger ifølge den foreliggende oppfinnelse. En slik anordning innbefatter et bioforenelig, implanterbart og gjenuttagbart polymert innsetningsmateriale innbefattende en kilde til nevrotransmitter. Ved foretrukkede utførelsesformer av denne anordning innbefatter kilden en nevrotransmitter som er blitt innleiret i innsetningsmaterialet. Det polymere innsetningsmateriale beskytter nevrotransmitteren innleiret i det mot oksydasjon, enzymatisk nedbrytning og hydrolyse. Det kan ha hvilken som helst form som bidrar til å tilføre nevrotransmitter og som kan tilpasses av mottakeren. Foretrukkede former innbefatter en fiber eller stav.

- Egnede nevrotransmittere for innleiring i innsetningsmaterialet innbefatter gamma-aminosmørsyre, serotonin, acetylcholin, norepinefrin, endorfiner, enkefaliner og dopamin. Alternativt kan det anvendes forløpere, agonister, aktive analoger og aktive fragmenter av disse nevrotransmittere (f.eks. dopaminforløper L-dopa og dopamin-agonist bromkriptin).
- 10 Polymerinnsetningsmaterialet innbefatter porer med en molekylvektutelukking på fra 1 kD til 1 000 kD, men fortrinnsvis fra 25 kD til 100 kD. Ved én foretrukket utførelsesform innbefatter polymer-innsetningsmaterialet en hydrofob matriks så som etylen-vinylacetat-kopolymer. Ved
- 15 en annen utførelsesform innbefatter innsetningsmaterialet en hydrofil matriks så som en hydrogel. Innsetningsmaterialet kan dessuten innbefatte en ugjennomtrengelig del som fortrinnsvis er forsynt med et ytre belegg av et rent polymert materiale, såsom polyuretan eller etylen-vinylacetat. Den ugjennomtrengelige del kan tjene til at inn-
- 20 setningsmaterialet virker som en ledning for nevrotransmitter eller hvilken som helst substans som er innleiret deri, og kan også hjelpe til ved tilføring av substansen til et spesifikt anatomisk område i individet.
- 25 En nevrologisk anordning ifølge oppfinnelsen innbefatter en kilde til nevrotransmitter og en kilde til vekstfaktor i umiddelbar nærhet. Kilden til nevrotransmitter innbefatter minst én nevrotransmitter-utsondrende celle inn-
- 30 kapslet i en halvgjennomtrengelig membran som gir mulighet for at nevrotransmitteren kan diffundere gjennom den. Kildene til nevrotransmitter og vekstfaktor kan være gjenuttagbare.
- 35 Betegnelsen "halvgjennomtrengelig" anvendt i det foreliggende beskriver bioforenlige membraner som gir mulighet for at molekyler med forholdsvis lav molekylvekt kan dif-

fundere gjennom dem, mens passasje av molekyler med forholdsvis høy molekylvekt utelukkes.

Ved én utførelsesform av oppfinnelsen inneholder den halvgjennomtrengelige membran i beholderen porer med en molekylvektutelukkelse på fra 50 til 100 kD. Denne membran utelukker passasje av store partikler, som slike som kan nedbryte nevrotransmitteren eller skade de nevrotransmitter-dannende celler (f.eks. virus, antistoffer, komplement og forskjellige proteaser). Den halvgjennomtrengelige membran kan være laget av forskjellige polymere materialer såsom polyvinylklorid, polyakrylnitril, polyvinylidenfluorid, polystyren, polymetylmetakrylat, polysulfon og akryl-kopolymerer.

Den nevrotransmitter-utsondrende celle kan innbefatte hvilken som helst celle som er kjent eller som er blitt dannet ved genmanipulering under dannelsen av nevrotransmitter, eller agonister, forløpere, aktive analoger eller aktive fragmenter derav. For eksempel virker kromaffin-celler i binyremargen, ventralt foster-midthjernevev og forskjellige nevroblastiske cellelinjer så som PC12 til tilførsel av dopamin og er derfor foretrukket for innarbeidelse i anordningen. Ved noen aspekter ved oppfinnelsen er cellen et allotransplantat (d.v.s. celler fra en annen av den samme art som individet den skal implanteres i) eller et xenotransplantat (d.v.s. celler fra en annen av en annen art).

Kilden til vekstfaktor er anbrakt slik at den lett kan komme i kontakt med de nevrotransmitter-utsondrende celler innkapslet i den halvgjennomtrengelige membran. Vekstfaktoren opprettholder celledifferensieringen og/eller stimulerer dannelsen og utsondringen av nevrotransmitter. Ved én foretrukket utførelsesform innbefatter kilden til vekstfaktor et polymert innsetningsmateriale med vekstfaktor innleiret i det. Ved en annen foretrukken utførelses-

form er kilden minst én vekstfaktor-utsondrende celle innkapslet i en halvgjennomtrengelig membran som gir mulighet for at vekstfaktoren kan diffundere gjennom den. Vekstfaktoren avgis til de nevrotransmitter-utsondrende celler etter hvert som den kommer ut av innsetningsmaterialet eller etter hvert som den diffunderer fra den halvgjennomtrengelige membran etter å være blitt utsondret av cellene deri.

10 Oppfinnelsen vil nedenfor bli beskrevet i forbindelse med visse illustrerte utførelsesformer. Det bør imidlertid være klart at forskjellige modifikasjoner, tilføyelser og subtraksjoner kan gjøres uten at man avviker fra oppfinnelsens prinsipp eller ramme. For eksempel skal den foreliggende oppfinnelse ikke oppfattes som å fordre, eller 15 være begrenset til, en spesiell anordningsform, materiale, nevrotransmitter, vekstfaktor eller cellelinje beskrevet ved eksempel eller illustrasjon.

20 Selve oppfinnelsen kan forstås mer fullstendig ut fra følgende beskrivelse, når den betraktes sammen med de medfølgende tegninger, hvor:

fig. 1A-1C er skjematiske illustrasjoner av en implanterbar nevrologisk behandlingsanordning ifølge flere aspekter ved den foreliggende oppfinnelse, 25

fig. 2 er en grafisk representasjon av kumulativ in vitro-frigjøringskinetikk for åtte dopamin/etylen-vinylacetat-innsetningsmaterialer,

fig. 3 er et diagram som viser rotasjonsoppførsel hos dyr etter implantering av dopaminholdige nevrologiske behandlingsanordninger, 30

fig. 4 er et diagram som viser ekstracellulære dopamin-nivåer i hjernen hos dyr med akutt implanterte dopaminholdige nevrologiske behandlingsanordninger,

fig. 5 er et diagram som viser nivået av ekstracellulært dopamin i hjernen hos 3 dyr som har en implantert dopaminholdig nevrologisk behandlingsanordning 7 dager 35

etter implantasjon og

fig. 6 er en fotografisk representasjon av et scanning-elektronmikroskopibilde av et dopamin/kopolymer-EVAc-innsetningsmateriale, som viser dopaminpartikler fordelt i hele polymermatriksen (A) før implantering, og (B) etter implantering.

Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

Nevrologiske behandlingsanordninger er beskrevet for regelmessig og regulert avgivelse av en nevrotransmitter, en forløper, en agonist, et aktivt fragment eller en aktiv analog derav, til et målområde i et individ som har nevrologisk funksjonsforstyrrelse.

Eksempler på utførelsesformer av den nevrologiske behandlingsanordning ifølge den foreliggende oppfinnelse er vist på fig. 1A-1C, hvor like referansetegn viser de samme eller i det vesentlige like elementer i de forskjellige illustrasjoner. Fig. 1A er en anordning som innbefatter et implanterbart, bioforenelig polymert innsetningsmateriale som inneholder nevrotransmitteren innleiret. Anordningen 100 innbefatter en sylindrisk øverste del som har riller 22 på siden, og et polymert innsetningsmateriale 30 som inneholder innleiret nevrotransmitter. Innsetningsmaterialet har en gjennomtrengelige del 32, en ugjennomtrengelig del 34 og en ende 36. Nevrotransmitter kan diffundere gjennom den gjennomtrengelige del 32, men ikke gjennom den ugjennomtrengelige del 34.

Innsetningsmaterialet i nevroterapiplanordningen virker som et ledningsrør for kilden til nevrotransmitter eller vekstfaktor så vel som en styrt passasje til det anatomiske område eller spesifikke vev som trenger behandling. På fig. 1A har innsetningsmaterialet form av en stav. Det må imidlertid være klart at innsetningsmaterialet kan ha hvilken som helst form som kan ha plass til kilden for nevrotransmitter uten at det forårsaker unødig skade hos

individet ved den kirurgiske implantering.

- De nevrologiske behandlingsanordninger vist på fig. 1B og 1C innbefatter en kilde til nevrotransmitter og en kilde til vekstfaktor i umiddelbar nærhet av hverandre. Anordningen 200 vist på fig. 1B innbefatter innsetningsmateriale 30, som inneholder vekstfaktor innleiret, og innbefatter videre en halvgjennomtrengelig membran 50 inneholdende nevrotransmitter-utsondrende celler 52 innkapslet. Membran 50 har form av et U-formet rør. Man må imidlertid være klar over at den halvgjennomtrengelige membran kan ha alternative former som vil romme cellene, så som f.eks. en hul stav, en pose eller multiple fibrer.
- Celler kan innføres i U-rør 50 gjennom ende 26 eller 28. Endene 26 og 28 kan være reversibelt tilstoppet med friksjons-tilpassede lokk 40, eller alternativt med en epoksy-lim eller suturer av et bioforenlig og ikke-resorberbart materiale. I anordningen 300 vist på fig. 1C følges halvgjennomtrengelig membran 50 inneholdende nevrotransmitter-utsondrende celler 52, av en stavformet halvgjennomtrengelige membran 54 som inneholder vekstfaktor-utsondrende celler 56 innkapslet.
- Området som målsøkes for implantering av den nevrologiske behandlingsanordning, er fortrinnsvis hjernen, siden den ofte er setet for mange nevrologiske mangler og funksjonsforstyrrelser. Anordninger 100, 200 og 300 kan implanteres kirurgisk i hjernen slik at gjennomtrengelig del 32 av innsetningsmateriale 30, eller halvgjennomtrengelig membran 50 og 54 er i umiddelbar kontakt med hjernevev og -fluider. Når den sylindriske overdel 20 er blitt implantert, kan den festes permanent for eksempel til kraniet ved at den skrus i, og videre ved påføring av et lim eller en sement så som dentalsement på overdelen ved forbindelsen mellom kraniet og overdelen.

I det tilfelle hvor nevrotransmittter- eller vekstfaktor-tilførselen i innsetningsmateriale 30 er oppbrukt, kan innsetningsmaterialet fjernes og erstattes. Gjenuttak av implantert innsetningsmateriale 30 kan utføres ved at den trekkes ut av overdel 20, for eksempel under anvendelse av pinsett etter at anordningen er blitt blottlagt. Overdel 20 kan være anbrakt direkte under pasientens epitellev. Innsetningsmateriale 30 kan erstattes med et nytt innsetningsmateriale i det tilfelle ytterligere nevrotransmitter-behandling er nødvendig. Celler innkapslet i halv-gjennomtrengelig membran 54 (fig. 1C) kan også tas ut igjen hvis cellene opphører med å danne nevrotransmitter eller vekstfaktor, hvis de dør eller hvis de ikke lenger behøves for å korrigere den nevrologiske funksjonsforstyrrelse. Celler i membran 50 kan uttømmes ved at de tvinges ut gjennom ende 26 eller 28 ved trykk eller sug, for eksempel under anvendelse av en hypodermisk sprøyte.

Gjennomtrengelig del 32 av innsetningsmateriale 30 implanteres ved eller nær målområdet, mens den ugjennomtrengelige del 34 begrenser nevrotransmitteren eller vekstfaktoren innenfor innsetningsmaterialets grenser. Den gjennomtrengelige del 32 innbefatter et polymert materiale med porer av en spesiell størrelse (d.v.s. med en spesiell molekyelvekt-utelukkelse) som utelukker noen molekyler fra å passere gjennom, mens andre får passere gjennom. På denne måte blir diffusjon av nevrotransmitter fra innsetningsmaterialet til målområdet, eller av vekstfaktor til de nevrotransmitter-dannende celler mulig, mens passering av større skadelige elementer så som virus, antistoffer, komplement og forskjellige proteaser effektivt sperres. For eksempel er innsetningsmaterialer med porer med molekyelvektutelukkelse på fra 1 kD til 1000 kD, egnede, og slike som har porer med en molekyelvektutelukkelse på fra 25 kD til 100 kD er spesielt foretrukket.

Innsetningsmaterialet kan bestå av hvilket som helst bio-

forenlig materiale med den ønskede porestørrelse og som består av materialer som ikke begrenser aktiviteten av substansen som er innleiret i den. Hydrofile matrikser såsom hydrogeler (f.eks. hydroksyetylmetakrylat, polyvinylalkohol og polyvinylpyrrolidon) og hydrofobe matrikser så som etylenvinylacetat er spesielt egnede.

Den nevrologiske behandlingsanordning kan tilveiebringe hvilken som helst nevrotransmitter som vil opprette mangelen eller rette funksjonsforstyrrelsen. Disse innbefatter gamma-aminosmørsyre, serotonin, acetylcholin, epinefrin, norepinefrin, dopamin, enkefaliner og endorfiner. Alternativt kan anordningen tilveiebringe en aktiv analog, et aktivt fragment eller et aktivt derivat av nevrotransmitteren, eller den kan innbefatte en forløper, som etter bearbeidelse tilveiebringer samme aktivitet som nevrotransmitteren på det passende in vivo-sted. Anordningen kan videre innbefatte en agonist til nevrotransmitteren.

En måte for tilveiebringelse av kilden til nevrotransmitter innbefatter at den innarbeides i det polymere innsetningsmateriale. Innkapslingsmaterialet tilveiebringer et beskyttende miljø for substanser så som nevrotransmittere eller cellevekstfaktorer innleiret i det, mens det gir vedvarende frigjøring av substansen med regulert hastighet fra det. For eksempel reduserer anvendelsen av polymert innsetningsmateriale som består av hydrofobe matrikser, nevrotransmitter-nedbrytning ved inhibering av oksydasjon og hydrolyse av nevrotransmitteren innkapslet i den.

En mønstermetode for innarbeidelse av effektorsubstansen (f.eks. nevrotransmitter eller vekstfaktor) i innsetningsmaterialet innbefatter fremstilling av polymermaterialet ut fra en blanding eller et kompleks av det polymere materiale og sustansen. For eksempel kan et hydrofobt materiale så som etylen-vinylacetat (EVAc)-kopolymer oppløses i et løsningsmiddel til hvilket et frysetørket materiale av

en nevrotransmitter så som dopamin kan tilsettes. Blandingen agiteres og fremstilles til den ønskede form ved at den ekstruderes fra en smelte. Ved avkjøling av blandingen dannes en fast polymermatriks inneholdende nevrotransmitter innleiret i hele matriksen (se fig. 6). Kontakt mellom den hydrofile nevrotransmitter og det vandige miljø bevirker den langsomme utluting av nevrotransmitter fra den, hvilket fører til utvikling av mikroporer i hele innsetningsmaterialets matriks.

Konsentrasjonen av nevrotransmitter tilsatt til det hydrofobe matriksmateriale er én faktor som regulerer hastigheten av nevrotransmitter-frigjøring; jo mer nevrotransmitter som er innarbeidet, jo hurtigere er frigjøringshastigheten. Partikkelstørrelsen av nevrotransmitteren innarbeidet i matriksmaterialet er en annen variabel; jo større partikkelstørrelsen er, dess hurtigere er frigjøringshastigheten.

Frigjøring av vekstfaktor fra et polymert innsetningsmateriale kan reguleres ved mengden av bærerprotein som er ko-innleiret i den; jo mer bærerprotein som er innarbeidet, dess høyere er hastigheten for vekstfaktor-frigjøring. Imidlertid er forholdet mellom vekstfaktor og bærerprotein avhengig av nivåene av vekstfaktor som er effektive i det fysiologiske miljø innenfor et terapeutisk område. Et egnet bærerprotein er ett som har evnen til lett å oppløses mens det er i matriksen, og som har evnen til å utlutes fra matriksen. Mikroporer gjennom hvilke vekstfaktor kan utlutes, dannes i matriksen når bærerproteinet oppløses ved det vandige miljø. Et slikt bærerprotein er bovint serumalbumin (relativ molekylvekt 69 kD).

Frigjøringshastigheten kan også reguleres ved mengden rent, ugjennomtrengelig polymert materiale som belegger det effektorsubstans-innleirede innsetningsmateriale; jo mer (eller jo tykkere) beleggene er, dess mer langsom er

frigjøringshastigheten. Materialer så som polyuretan eller rent etylenvinylacetat er spesielt egnede for dette formål.

- 5 Alternative fremgangsmåter for innarbeidelse av kilden til
nevrotransmitter innbefatter tilveiebringelse av nevro-
transmitter-dannende celler fulgt av en kilde til vekst-
faktor som befinner seg i umiddelbar nærhet til disse.
Ved denne utførelsesform funksjonerer en halvgjennomtren-
10 gelig membran som en beskyttende celledyrkningsanordning
for de nevrotransmitter-utsondrende celler. Porene i
membranen bør være store nok til å gjøre mulig utskifting
av metabolitter med kroppsfluider og til å gjøre mulig
diffusjon gjennom dem av nevrotransmitter dannet av celler
15 deri, men bør være små nok til å sperre passasjen gjennom
membranen av større elementer som er skadelige for celle-
ne. Porer med en molekylvektutelukking på fra 50 kD til
100 kD, er spesielt egnede for dette formål.
- 20 Den halvgjennomtrengelige membran kan ha hvilken som helst
egnet form så som et U-rør, hul fiber, cellepose eller
beholder, eller mikrokapsel. Hvis kilden til vekstfaktor
innbefatter vekstfaktor-dannende celler, innkapsles like-
ledes disse også i en membran som gir mulighet for utskif-
25 ting av metabolitter, vekstfaktordannelse og diffusjon,
celle-opprettelse og -vekst (begrenset ved membranens
grense). For ytterligere omtale av slike anordninger, se
samtidig verserende US-patentsøknad nr. 121 626, inngitt
17. november 1987, hvis beskrivelse er medtatt i det fore-
30 liggende som referanse.

Hvilke som helst celler som utsondrer den ønskede nevro-
transmitter eller vekstfaktor, kan innlemmes i anordnin-
gen. For eksempel kan cellene være hvilke som helst som
35 naturlig danner nevrotransmitteren, så som nevroner.
Slike celler er egnede fordi de kan reagere på det gene-
relle miljø ved dannelse av nevrotransmitter ettersom det

er nødvendig. Cellene kan fås fra en rekke kilder så som et kroppsorgan som normalt utsondrer en spesiell neurotransmitter in vivo. For eksempel kan det anvendes vev fra den ventrale embryo-mesencephalon og binyremargen (kromaffinceller) som normalt danner dopamin. Disse vev kan være et allotransplantat, eller de kan være et xenotransplantat. Alternativt kan cellen stamme fra forskjellige dyrkede neuroblastoid-cellelinjer så som PC12.

- 10 Dessuten kan hvilken som helst celle som utsondrer en forløper, agonist, aktiv analog eller aktivt fragment av en ønsket neurotransmitter eller vekstfaktor med liknende neurotransmitteraktivitet også anvendes, innbefattende for eksempel celler som frembringer L-dopa, en forløper til dopamin, eller bromkriptin, en dopamin-agonist.

- Videre er hvilke som helst celler som er blitt dannet ved genmanipulasjon for å uttrykke en neurotransmitter eller vekstfaktor, eller deres agonister, forløpere, derivater, analoger eller fragmenter derav med liknende effektoraktiviteter, også egnede ved utøvelsen av denne oppfinnelse. Ved en slik fremgangsmåte blir således genet som koder for neurotransmitteren, eller dens analog eller forløper, enten isolert fra en cellelinje eller konstruert ved DNA-manipulasjon. Genet kan så innlemmes i et plasmid, som i sin tur transfekteres i en celle så som en fibroblast for ekspresjon. (Se f.eks. Maniatis et al., Molecular Cloning (1982), medtatt i det foreliggende som referanse for videre omtale av klonings-bærermaterialer og genmanipulasjonsfremgangsmåter). Cellene som uttrykker neurotransmitteren, kan dyrkes in vitro inntil det oppnås en egnet densitet.

- Deretter kan cellene fra denne kultur innføres i den neurologiske behandlingsanordning ved at en del av den allerede implanterte halvgjennomtrengelige membran tilføres via en åpning som befinner seg på hudoverflaten. Alterna-

tivt kan små vevsfragmenter eller kulturaggregater for-
innføres i en innkapslende halvgjennomtrengelig membran,
som så implanteres i individet.

- 5 Forskjellige "vekstfaktorer" som har evne til å stimulere
cellevekst, differensiering og/eller nevrotransmitter-
utsondring, kan ko-implanteres med de nevrotransmitter-
utsondrende celler for å sikre vellykket avgivelse av
nevrotransmitter til individet. Disse vekstfaktorer kan
10 være spesifikke for en celletype eller ha en generalisert
virkning på en rekke forskjellige vev. Når det gjelder
nevrotransmitter-dannende celler så som nevroner, kan
vekstfaktorer virke under opprettholdelse av nevrotrans-
mitterdannelse såvel som fremskyndelse av celle-opprett-
15 holdelse og -vekst. Alternativt kan vekstfaktorer opp-
rettholde nerveceller i differensiert tilstand. Egnede
cellevekstfaktorer innbefatter nervevekstfaktor (NGF),
fibroblast-vekstfaktor (FGF), blodplate-avledet vekstfak-
tor (PDGF) og epidermal vekstfaktor (EGF), blant mange.
20 Dessuten kan effektorer for forskjellige membranreseptorer
så som glutamat og nikotin også være egnede.

- Vekstfaktoren kan innlemmes i anordningen med de nevro-
transmitter-dannende celler ved at den innleires i poly-
25 mermatriksen i innsetningsmaterialet og anbringes i behol-
deren med cellene. Den innleirede vekstfaktor utlutes
langsomt fra innsetningsmaterialet i beholderen, hvorved
den for eksempel virker til opprettholdelse av den diffe-
rensierte tilstand av cellene i denne slik at de fortset-
30 ter å danne nevrotransmitter. Innkapslingsmembranen hos
cellene, hvis tilstede, utgør ingen hindring siden den er
gjennomtrengelig for vekstfaktoren. Dette innsetningsma-
teriale kan uttas fra beholderen og erstattes som beskre-
vet ovenfor.

- 35 Alternativt kan vekstfaktor-dannende celler så som hippo-
campus-celler eller fibroblaster dannet ved gensløyd for

frembringelse av NGF (se f.eks. Rosenberg et al. (1988) Science 242:1575-1578) innkapsles og implanteres i nærheten av de nevrotransmitter-utsondrende celler, som beskrevet ovenfor.

5

Følgende ikke-begrensende eksempler illustrerer mer fullstendig foretrukkede trekk ved oppfinnelsen.

EKSEMPEL 1

10

Forsøksmodell

15

Unge voksne (200-225 g) hannrotter av typen Sprague-Dawley (Charles River Laboratory, Wilmington, MA) ble bedøvet ved intramuskulær injeksjon av en 87/13 mg/kg blanding av ketamin (Ketalar[®])/xylazin (Rompun[®]). Stereotaksiske injeksjoner av 6-OHDA (12 mg 6-OHDA i 6 μ l 0,9% saltløsning med 0,05 mg/ml askorbinsyre) ble utført i det anterio-
mediale område av substantia nigra (koordinater: -2,9 mm bregma, 2,3 mm lateral og 8,1 mm dyp i forhold til dura med skjærestaven innsatt 5,0 over den intra-aurale linje).
To uker etter at inngrepet var foretatt, ble rotasjonsoppførselen vurdert under apomorfin-innvirkning (APO) (0,05 mg/kg sc). Oppførselen ble karakterisert både i åpent felt og i modifisert Ungerstedt rotometer i det vesentlige som beskrevet av Ungerstedt et al. (Brain Res. (1970) 24:485-493). Dyr som hadde mer enn åtte vendinger pr. minutt i løpet av et forsøksstidsrom på 40 minutter, ble utvalgt for undersøkelsen. Grupper på 3 dyr ble holdt i plastbur på en 12 timers på/av-lyssyklus, med fri tilgjengelighet av mat og vann.

30

EKSEMPEL 2

Intrakranial kannelering

35

Seksten dyr fikk intrastratial-anordninger laget av en 9,5 mm lang (0,85 mm ID) halvgjennomtrengelig polyvinylklorid-akryl-kopolymer (AC) rørformede innsetningsmaterialer med en molekylvektutelukkelse på 50 kD. Den distale ende av innsetningsmaterialet ble tilstoppet med en løsning av den

samme akryl-kopolymer. De første 6 mm fra den åpne ende av innsetningsmaterialet ble belagt med en polyuretanløsning, idet denne del ble gjort ugjennomtrengelig, og der- ved ble fluid-utskiftning til striatum begrenset.

5

Steriliserte behandlingsanordninger ble innsatt stereotak- sisk i striatum (+0,3 mm bregma, 2,7 mm lateralt i forhold til midtlinjen og 8,0 mm dypt i forhold til dura). Når behandlingsanordningene var implantert, ble de festet med

10

to ben-skruer med samme avstand, i kraniet, hvilket ga forankring for dentalsement. Den proksimale åpning ble lukket med en AC-lim. Behandlingsanordningen forble in vivo under hele undersøkelsen.

15

Implantasjonen av tomme striatum-behandlingsanordninger ga ingen nye nevrologiske mangler hos noen av dyrene. På tidspunktet for implantasjon av de akryliske kopolymer- innsetningsmaterialer ble den proksimale overdel av be- handlingсанordningen smeltet hermetisk til røret. Etter

20

fjerning av overdelen, ble anordnings-hulrommet fylt med en klar væske uten celler.

EKSEMPEL 3

Fremstilling av dopamin-frigjørende innsetningsmateriale

25

Etylen-vinylacetat-kopolymer-(EVAc)-harpiks (40 vekt% vinylacetat, Elvax 40w, DuPont, Inc., Wilmington, DE) ble vasket 20 ganger i destillert vann og 95% etanol under fjerning av urenheter. Renset EVAc ble deretter oppløst i metylenklorid under fremstilling av en 10 vekt/volum%

30

løsning. Dopamin (Sigma, St. Louis, MO) ble knust i en morter til et fint pulver, siktet til 50 μ m og tilsatt til EVAc-løsningen til en sluttkonsentrasjon på 20% dopamin, basert på EVAc (på vektbasis). Dopamin-EVAc-løsningen ble behandlet med ultralyd i 5 minutter, omrørt i en hvirvel-

35

blander i 15 minutter og hurtig avkjølt i flytende nitro- gen under dannelsen av en fast matriks med festede dopamin- partikler. Metylenkloridet ble fjernet ved frysetørking.

Strenger med diameter 0,5 mm ble trykkestrudert ved en temperatur på 55°C og delt i 8 mm lange staver. For å hemme dopamin-frigjøringen, ble tre belegg av 10% EVAc påført på hver stav ved gjentatt nedsenking, hvilket resulterte i staver med en endelig diameter på 0,7 mm. Fordelingen av dopaminpartikler i EVAc ble analysert ved scanning-elektronmikroskopering (AMRay-1000A, Lico, Inc., Bedford, MA).

5

EKSEMPEL 4

In vitro-frigjøringskinetikk

In vitro-dopamin-frigjøringskinetikk ble undersøkt ved anbringelse av en 0,7 x 8 mm stav i 1 ml 0,9% fysiologisk saltløsning med 0,05 mg/ml askorbinsyre (+) eller (-) 20% dopamin inkubert i individuelle brønner ved 37°C. På daglige tidspunkter ble fluidet oppsamlet og dets konsentrasjon målt ved høytrykks-væskeskromatografi (HPLC) med en elektrokjemisk detektor. Det anvendte system innbefattet en løsningsmiddel-avgivelsesmodul av modell 5700 og en elektrokjemisk multielektrode-detektor modell 5100A Coulchem (ESA, Bedford, MA). En porsjon av hver prøve på 20 µl ble injisert på kolonnen (CA-HR 80; ESA) uten noen forbehandling av prøven. Den mobile fase inneholdt 0,05 M natriumfosfat, 0,2 M EDTA, 212 mg/l heptansulfonsyre og 3% metanol ved en pH på 2,6. Total kjøringstid var ca. 8 minutter. Konsentrasjonen av hver forbindelse ble bestemt ved sammenlikning med topphøyden av seriefortynnede standarder kjørt med hver analyse. Dopamin-påvisningsgrensen for det anvendte kromatografiske system var 50 pg.

15
20
25
30

Brønnene ble etterfylt med frisk salt/askorbat-løsning etter hver måling. Dopamin-frigjøring ble beregnet som kumulativ prosentvis frigjøring.

35

Fig. 2 viser den kumulative dopaminfrigjøring av åtte 0,7 x 8 mm 20% dopamin/EVAc-staver i 0,9% fysiologisk saltløsning med 0,05 mg askorbinsyre pr. ml ved 37°C over 17

dager (fig. 2). Totalt dopamininnhold før frigjøringsundersøkelsene utgjorde 340 ± 25 mg pr. stav.

EKSEMPEL 5

5 In vivo-undersøkelser

Dyr med vellykkede inngrep med striatum-behandlingsanordninger ble bedøvet og anbrakt i et stereotaksisk apparat. Etter midtlinje-innskjæring ble den proksimale overdel på behandlingsanordningen plassert og utskåret, og en innsetningsstav med 20% dopamin/EVAc ble anbrakt i anordningens overdel. Den proksimale ende av anordningen ble igjen forseglet med AC-limet. Lukking av huden ble oppnådd med 6-0-monofilament-nylon (Ethicon, Inc., Somerville, NJ). Rotasjonsoppførselen ble vurdert under apomorfin-tilførsel (0,05 mg/kg) 7 og 14 dager etter dopamin/EVAc-tilførsel. Dopamin/EVAc-staven ble deretter fjernet fra beholderen under metoksyfluoran-bedøvelse på dag 14. Oppførselen ble analysert 2 og 4 uker senere.

I løpet av de første få timer etter implantasjon roterte dyrene som fikk dopamin/EVAc-innsetningsmaterialer, spontant motsidig i forhold til implantasjonssiden, mens dyr som fikk kontroll-innsetningsmaterialer, ikke viste slik oppførsel. Fig. 3 oppsummerer effekten av APO-tilførselen før, under og etter implantasjon av 20% dopamin/EVAc-innsetningsmateriale sammenliknet med kontrollerdyr som hadde fått innsetningsmaterialer av EVAc alene. Kontrollene viste en liten forbedring i rotasjonsoppførsel 7 dager etter implantasjon og var tilbake til før-implantasjonsverdiene ved alle etterfølgende tidspunkter. Forsøksdyr viste en statistisk signifikant reduksjon i rotasjonsoppførsel både 7 og 14 dager etter implantasjon (30,1% etter 7 dager og 82,6% etter 14 dager). To uker etter fjerning av dopaminfrigjørings-innsetningsmaterialet øket rotasjonsoppførselen igjen, idet det ikke var noen statistisk forskjell mellom kontrollen og forsøksgruppen etter 42 dager.

EKSEMPEL 6

Dopaminbestemmelse

Mikrodialyse-probene anvendt ved disse forsøkene besto av halvgjennomtrengelige AC-rør (600 μ m ID, 8 mm lange, 50 kD molekylvektutelukking) fremstilt ved en tørrdyse-faseinversjons-våtspinningsteknikk (de Yebenes et al. (1987) Movement Disorders 2:291-299). Noen få timer før forsøket ble dialyseprobe-gjenvinningen bestemt ved at proben ble anbrakt i et beger med kunstig cerebrospinalvæske (CSF) (150 mmol Na⁺, 1,4 mmol Ca⁺⁺, 0,8 mmol Mg⁺⁺, 1,0 mmol PO₄, 155 mmol Cl⁻, pH 7,4) som inneholdt kjente konsentrasjoner av dopamin, DOPAC, og DHBA med 800 pg/20 ml med 1 mg askorbinsyre i en 100 ml løsning. Dopamin-konsentrasjonen ble bestemt ved HPLC med en elektrokjemisk detektor (EC). Det anvendte system innbefattet en løsningsmiddelavgivelsesmodul modell 5700 (ESA, Bedford, MA) og en elektrokjemisk multielektrode-detektor av modell 5100 A Coulochem (ESA, Bedford, MA). Den relative gjenvinning av dialysat-probene var 24-29% ved romtemperatur. Dialysat-verdier er angitt som pg pr. 20 minutters oppsamlingstidsrom.

Når det gjaldt in vivo-analyser, ble en dialyseprobe anbrakt stereotaksisk i nærheten av den tidligere implanterte beholder i rotte-striatum. Dyret ble bedøvet som tidligere beskrevet. Kunstig CSF ble pumpet gjennom proben med en strømningshastighet på 2,5 ml pr. minutt gjennom hele forsøket. Dialysatet ble oppsamlet med 20 minutters mellomrom i rør som inneholdt 5 ml 1,1 N perklorsyre. Prøven ble analysert straks med HPLC-EC.

Etter oppsamling av en rekke prøver for bestemmelse av basislinje-ekstracellulærvæske- (ECF)-dopamin-overstrømming, ble et 20% dopamin/EVAc-innsetningsmateriale anbrakt i behandlingsanordningen. Dialyseprøver ble oppsamlet med 20 minutters mellomrom etter implantasjon under bestemmelse av om hvorvidt ECF-dopamin-nivåene ble påvirket av det dopamin-frigjørende innsetningsmateriale. Dopamin-nivåene

ble bestemt akutt etter implantasjon av dopamin-EVAc-innsetningsmaterialene i 3 dyr og 7 dager etter implantasjon i de 3 gjenværende dyr.

- 5 En 20 ml porsjon av hver prøve ble injisert på kolonnen (CA-HR 80, ESA) uten noen for-behandling av prøve. Den mobile fase inneholdt 0,05 M NaPO₄, 0,2 M EDTA, 212 mg/l heptansulfonsyre og 3% metanol, ved pH 2,6. Total kjøringstid med oppløsning av dopamin og DOPAC var ca. 11 minutter. Konsentrasjonen av hver forbindelse ble bestemt ved sammenlikning med topphøyden av seriefortynnete standarder kjørt ved hver analyse.

- 15 Som vist på fig. 4, var dopamin-nivåer i det ekstracellulære fluid hos skadet striatum konsekvent ikke-påviselige ved mikrodialyse. Tyve minutter etter implantasjon av et 20% dopamin-frigjørende EVAc-polymerinnsetningsmateriale, ble det gjenvunnet høye nivåer av dopamin. Dopamin-nivåene forble forhøyet i løpet av de neste 80 minutter. I et skadet striatum undersøkt 7 dager etter implantasjon av dopamin/EVAc, var den ekstracellulære striatum-dopaminkonsentrasjon i dialysatet sammenliknbart med nivåene observert i det akutte forsøk vist på fig. 5. Histologisk ble mikrodialyse-probene funnet å befinne seg 300-500 µm fra anordningene.

EKSEMPEL 7

Histologi

- 30 Ved fullførelse av undersøkelsen ble dypt bedøvde dyr perfundert transkardialt. Hjernen ble fjernet, og 25 µm tykke snitt ble kuttet på en frysepreparat-mikrotom (AO Reichert modell 976 C, Østerrike) og enten tatt opp direkte på objektglass belagt med 3-aminopropyltrietoksysilan, eller nedsenket direkte i Trisbuffer. Utvalgte snitt ble farget med hensyn til Nissl-substans med kresylfiolett. Slik histologisk analyse viste ensartet anbringelse av beholderen i striatum.

Andre snitt ble bearbeidet for immuncytokjemisk lokalise-
ring av tyrosin-hydroksylase (TH) under anvendelse av
avidin-biotin-metoden. Hjernesnittene ble inkubert i 2
5 dager ved 4°C i primære antisera mot TH (Eugene Tech,
Allendale, NJ). Inkuberinger i de sekundære antisera og
Avidin-Biotin-komplekset (Vectors Labs, Burlingame, CA)
ble utført ved romtemperatur, og peroksydasereaksjonen ble
utført i det vesentlige som beskrevet av Winn et al. (J.
10 Biomed, Mater. Res. (1989) 23:31-44). Monterte preparater
ble analysert med et Zeiss IM 35 overfor et morfometrisk
system (CUE-2, Olympus Corp., Lake Success, NY).

Ved avslutning av undersøkelsen bekreftet immunhistokje-
15 misk lokalisering av TH på substantia nigra og striatum
mer enn 90% ødeleggelse av nigrostratum-veien. Det ble
ikke observert noe tegn til groing rundt anordningen.

Innsetningsmaterialet av 20% dopamin/EVAc ble undersøkt
20 ved scanning-elektronmikroskopering (SEM) under anvendelse
av en maskin av typen AMRay 1000A (Lico, Inc., Bedford,
MA) før, og 2 uker etter, implantasjon (fig. 6). Tverr-
snitts-scanningelektronmikroskopering viste jevn fordeling
av dopaminpartikler suspendert gjennom hele polymermatrik-
25 sen (fig. 6A). To uker etter inkubering i fysiologisk
saltløsning og in vivo, viste polymer-innsetningsmateria-
lene spredte groper og huller, hvilket tydet på dopamin-
partikkel-oppløsning (fig. 6B).

30 EKSEMPEL 8

Implantasjon av dopamin-dannende celler og nerve- vekstfaktor-frigjørende innsetningsmaterialer

EVAc-innsetningsmaterialer inneholdende 0,01-0,2% nerve-
vekstfaktor (NGF) ble laget som beskrevet i eksempel 3,
35 bortsett fra at dopamin ble erstattet med NGF. NGF/EVAc-
innsetningsmaterialer ble implantert i striatum-nevrobe-
handlingsanordningene hos vellykket opererte dyr som be-

skrevet i eksempel 5. En suspensjon av binyremarg-kromaf-
finceller ble tillaget ved enzymatisk atskillelse. Sus-
pensjonen ble spredt i den halvgjennomtrengelige membran
ved injeksjon av celler i suspensjon. Den proksimale ende
5 av anordningen ble forseglet med AC-lim, og lukking av
 huden ble oppnådd med monofilament-nylon av typen 6-0
(Ethicon, Inc., Somerville, NJ). Rotasjonsoppførselen ble
vurdert som beskrevet i eksempel 5, - 7, 14, 21 og 28
dager etter NGF/EVAc og celle-innføring.

10

Oppførsels-modifikasjonsforsøk og histologisk analyse
etter implantasjon ble utført som beskrevet i eksempler 5-
7, og disse ga hovedsakelig liknende resultater.

P a t e n t k r a v

1. Nevrologisk behandlingsanordning (100) for lokal og
5 kontrollert avgivelse av en nevrotransmitter til hjernen
hos et individ, hvor anordningen er biokompatibel, implan-
terbar, kan tas ut og omfatter en kilde (52) for en nevro-
transmitter for regulert frigjøring av nevrotransmitteren,
idet kilden (52) omfatter minst én nevrotransmitterdan-
10 nende celle (52) innkapslet i en halv-gjennomtrengelig
membran (50) som tillater videre diffusjon av nevrotrans-
mitter gjennom seg,
k a r a k t e r i s e r t v e d at den ytterligere
omfatter en kilde (30) for vektsfaktor som befinner seg i
15 umiddelbar nærhet av de nevrotransmitter-dannede celler
(52).
2. Anordning ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at nevrotransmitteren er
20 valgt fra gruppen som består av gamma-aminosmørsyre, sero-
tonin, acetylcholin, norepinefrin, endorfiner, enkefali-
ner, dopamin, og forløpere, agonister, aktive analoger og
aktive fragmenter av disse.
- 25 3. Anordning ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at nevrotransmitteren er
en dopamin-forløper så som L-dopa eller en dopamin-agonist
så som bromkriptin.
- 30 4. Anordning ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at den halvgjennomtren-
gelige membran (50) som den nevrotransmitter-utsondrende
celle (52) er innkapslet i, er ugjennomtrengelig for vi-
rus, antistoffer, komplement og proteaser, og at den halv-
35 gjennomtrengelige membran innbefatter porer med en mole-
kylvektutelukkelse fra 50 kD til 100 kD.

5. Anordning ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at den halvgjennomtren-
gelige membran (50) omfatter en akryl-kopolymer.
- 5 6. Anordning ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at den nevrotransmitter-
utsondrende celle (52) omfatter et allotransplantat eller
et xenotransplantat av en nevron, en binyremarg-kromaffin-
celle eller en PC12-celle; eller en celle er blitt dannet
10 ved genspleising for frembringelse av nevrotransmitteren.
7. Anordning ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at kilden (30) for
vekstfaktor omfatter et implanterbart, bioforenlig, poly-
15 mert innsetningsmateriale som inneholder vekstfaktoren.
8. Anordning ifølge krav 7,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det polymere innset-
ningsmateriale (30) innbefatter porer med en molekylvekt-
20 utelukkelse fra 1 kD til 1 000 kD, fortrinnsvis porer med
en molekylvektutelukkelse fra 25 kD til 100 kD.
9. Anordning ifølge krav 7,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det polymere innset-
ningsmateriale (30) omfatter en hydrofob matriks så som
25 for eksempel en etylen-vinylacetat-kopolymer.
10. Anordning ifølge krav 7,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det polymere innset-
ningsmateriale (30) omfatter en hydrofil matriks så som
30 for eksempel en hydrogel.
11. Anordning ifølge krav 7,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det polymere innset-
ningsmateriale (30) videre omfatter et ytre belegg av et
35 ugjennomtrengelig materiale så som polyuretan eller ety-
len-vinylacetat som dekker en del av innsetningsmateria-

let.

12. Anordning ifølge krav 1,

k a r a k t e r i s e r t v e d at kilden for vekstfaktor
5 tor omfatter minst én vekstfaktor-utsondrende celle (56)
innkapslet i en ytterligere halvgjennomtrengelig membran
(54), idet membranen gir mulighet for at vekstfaktoren kan
diffundere gjennom den.

10 13. Anordning ifølge krav 12,

k a r a k t e r i s e r t v e d at den ytterligere halv-
gjennomtrengelige membran (54) i hvilken den vekstfaktor-
utsondrende celle (56) er innkapslet, er ugjennomtrengelig
for virus, antistoffer, komplement og proteaser.

15 14. Anordning ifølge krav 12,

k a r a k t e r i s e r t v e d at den ytterligere halv-
gjennomtrengelige membran (54) innbefatter porer med en
molekylvektutelukkelse fra 50 kD til 100 kD.

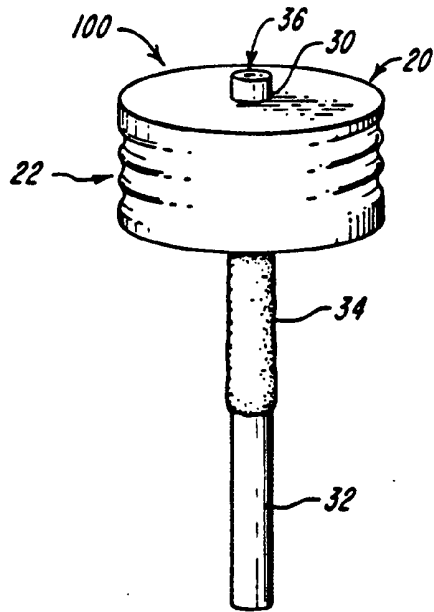
20 15. Anordning ifølge krav 12,

k a r a k t e r i s e r t v e d at den ytterligere halv-
gjennomtrengelige membran (54) omfatter en akryl-kopoly-
mer.

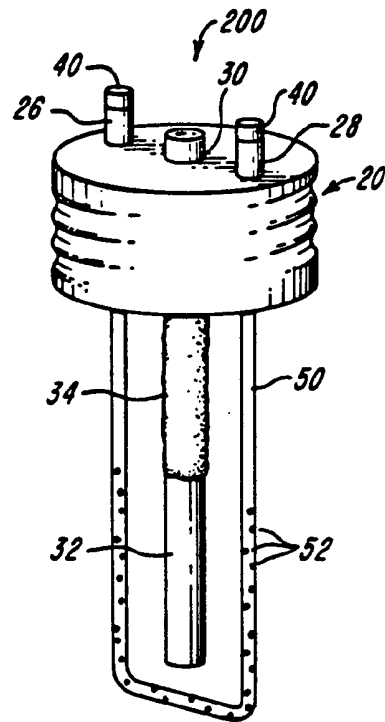
25 16. Anordning ifølge krav 12,

k a r a k t e r i s e r t v e d at den vekstfaktor-ut-
sondrende celle (56) omfatter et allotransplantat eller et
xenotransplantat eller er en celle som er blitt dannet ved
30 genspleising for frembringelse av vekstfaktoren.

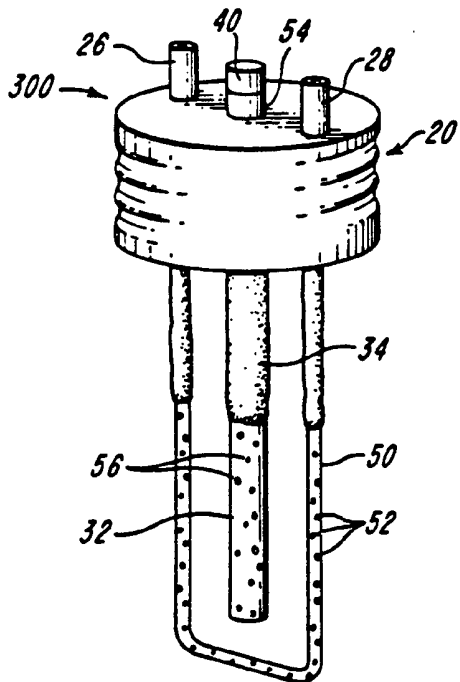
300488



1A

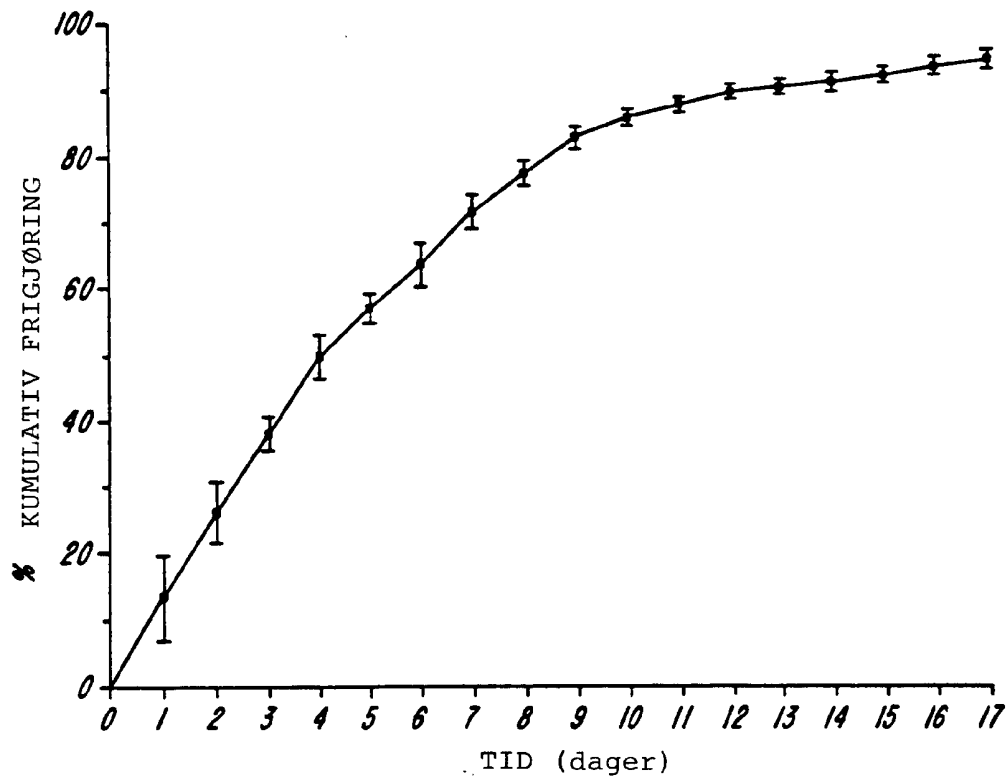


1B

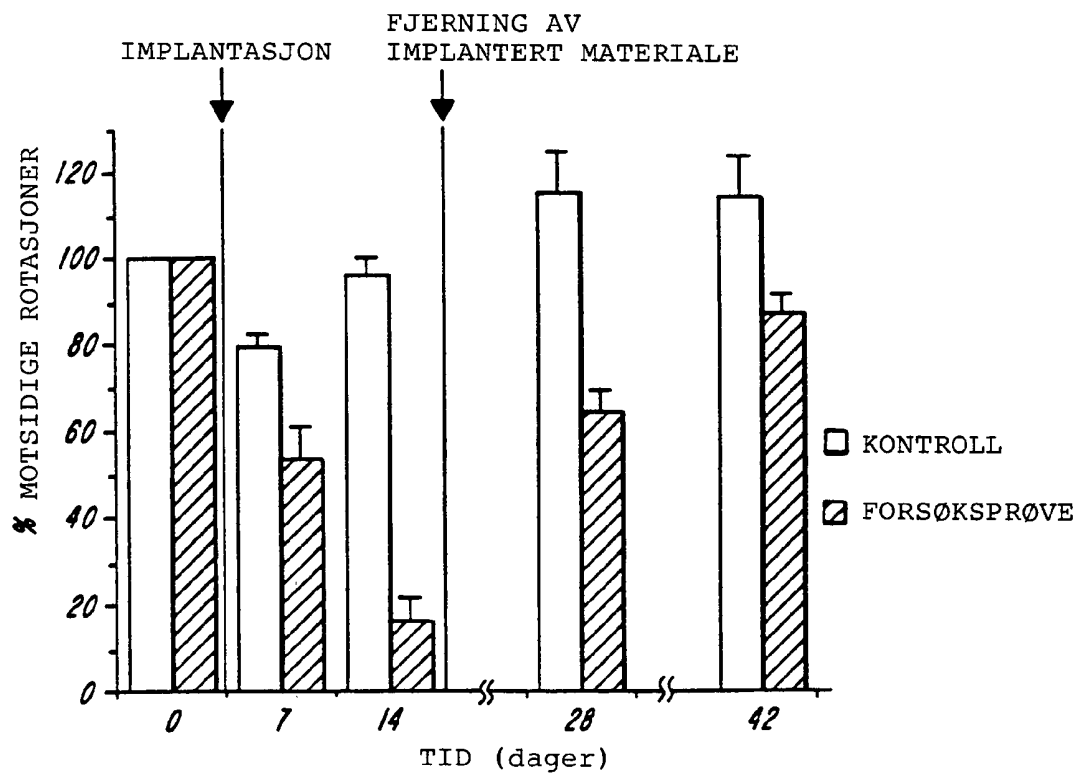


1C

300488

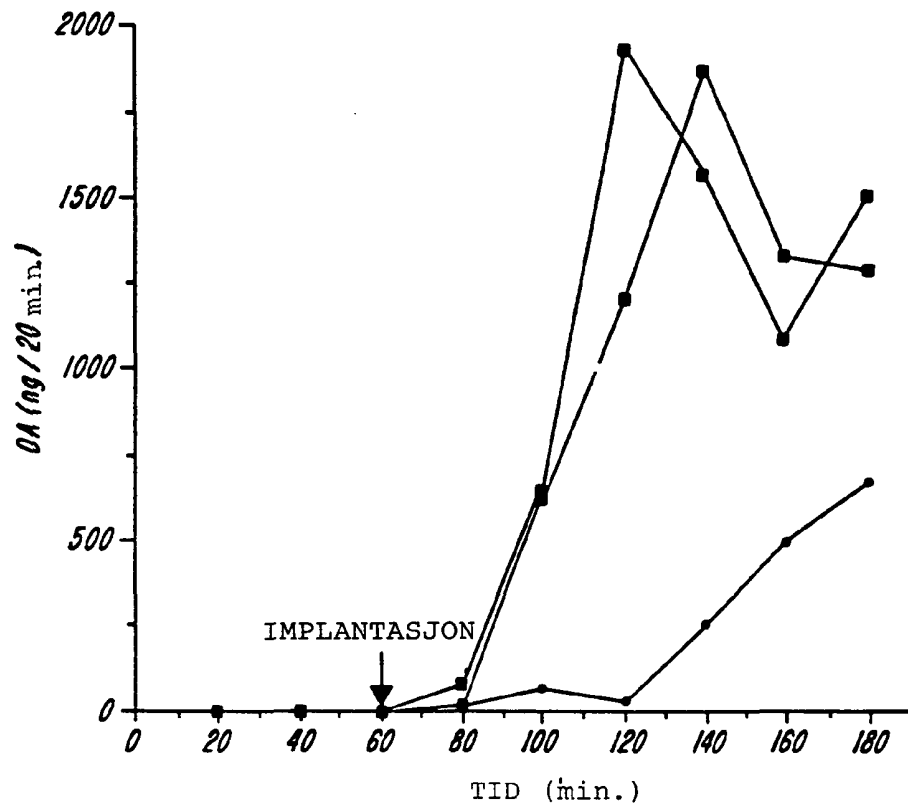


2

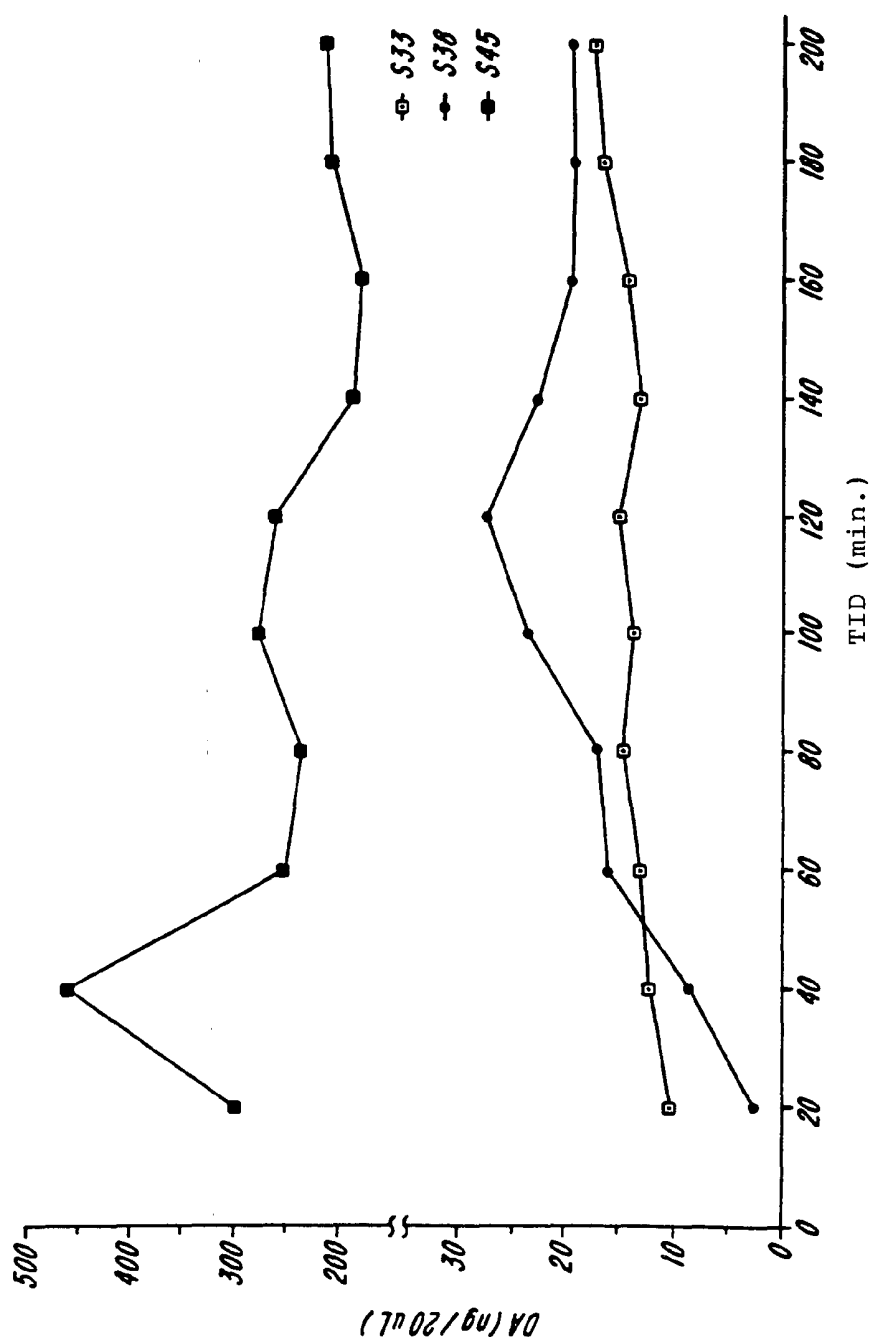


3

300488



300488

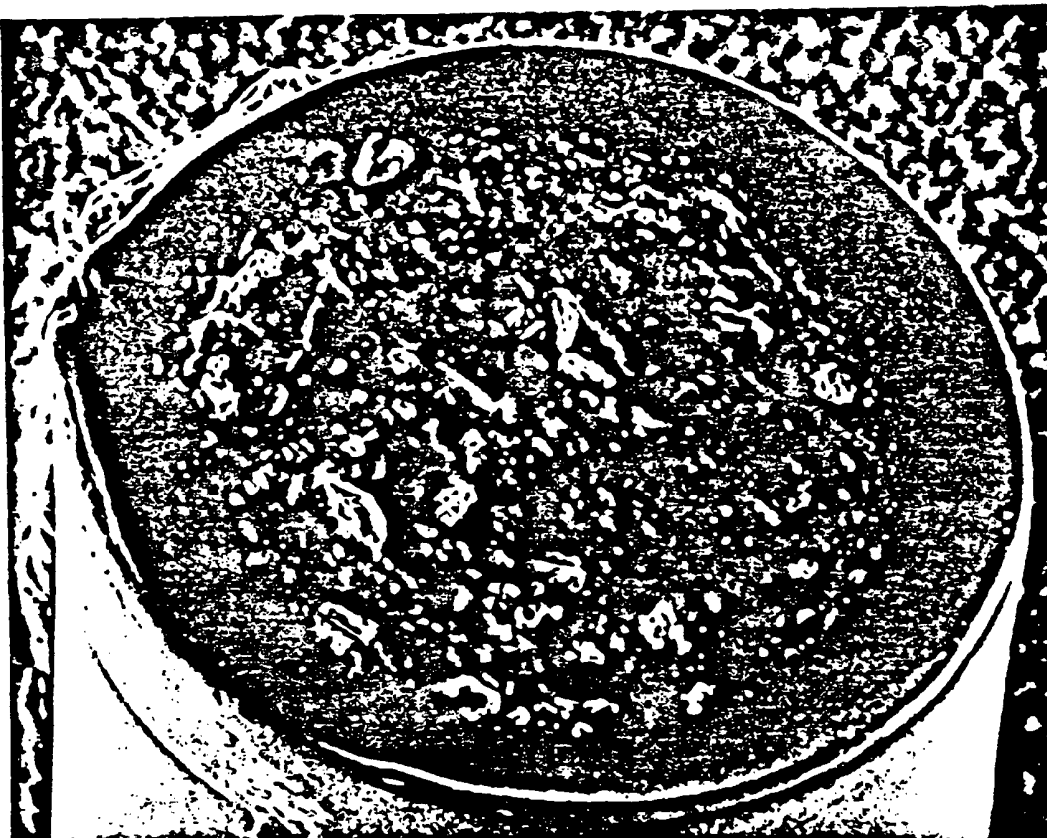


5

300488



6B



6A