

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 806 645**

51 Int. Cl.:

A61L 27/16	(2006.01)
A61L 27/56	(2006.01)
A61L 27/38	(2006.01)
A61F 2/02	(2006.01)
A61L 27/54	(2006.01)
A61K 35/12	(2015.01)
A61L 27/58	(2006.01)
A61M 39/02	(2006.01)
C12N 5/071	(2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.08.2010** **E 17194182 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.06.2020** **EP 3290061**

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:

18.02.2021

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 2 806 645 T3

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

DESCRIPCIÓN

Métodos y dispositivos para trasplante celular

5 **[0001]** Esta solicitud reivindica prioridad a la Solicitud Provisional de los Estados Unidos Núm. 61/238.011, presentada el 28 de agosto de 2009.

[0002] La presente descripción está relacionada con el campo de la terapia celular, y más específicamente, con métodos y dispositivos para el trasplante de células en un cuerpo huésped.

10 **[0003]** 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 existen terapias farmacológicas completamente efectivas para muchas enfermedades adquiridas y congénitas, como la diabetes o la enfermedad de Parkinson, que son causadas por la pérdida o daño de las células que producen las biomoléculas necesarias para el control de las funciones fisiológicas. La terapia celular promete 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 para restaurar el control de carbohidratos en pacientes con diabetes insulino dependiente. Del mismo modo, el trasplante de neuronas dopaminérgicas o células madre neurales se ha convertido en una terapia prometedoras basada en células para la enfermedad de Parkinson.

20 **[0004]** Los principales factores limitantes en la aplicación de la terapia celular son la dificultad para trasplantar células en el tejido del huésped y asegurar que las células trasplantadas continúen funcionando sin provocar una respuesta inmune o causar otros efectos secundarios dañinos en el huésped. Se han realizado intentos para administrar células terapéuticas directamente en el cuerpo del huésped, por ejemplo, en el sistema vascular o mediante implantación en un órgano o tejido. Sin embargo, con el trasplante celular directo, se requiere que el paciente permanezca en terapia inmunosupresora de por vida, y los medicamentos inmunosupresores pueden causar toxicidad en el huésped y las células implantadas. Además, la exposición directa de las células a la sangre puede conducir a una reacción inflamatoria mediada por la sangre (IBMIR) que inicia una cascada de coagulación y puede destruir una porción significativa de las células trasplantadas. Además, las células pueden alojarse en microvasos y causar bloqueo y trombosis de los vasos, lo que puede provocar una pérdida de la función de las células trasplantadas y daños en el tejido local.

35 **[0005]** Otro enfoque terapéutico es el suministro de células utilizando dispositivos que proporcionan un entorno biológicamente adecuado para que las células residan en el cuerpo del huésped. Los principales desafíos con este enfoque son la incorporación deficiente de vasos sanguíneos en el 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 entorno vascularizado inmediato, las células trasplantadas no pueden obtener suficiente oxígeno o eliminar fácilmente los desechos, y pueden morir rápidamente o dañarse por los efectos de la isquemia o la hipoxia. Además, incluso en situaciones donde algunos vasos crecen temprano, los vasos pueden no ser sostenidos. Además, la cascada inflamatoria natural del cuerpo también puede provocar la muerte o daño de las células. Algunas de las otras dificultades encontradas con este enfoque incluyen cicatrices excesivas y/o paredes del dispositivo, incompatibilidad del material del dispositivo con el medio biológico, dificultades para obtener imágenes del dispositivo y el entorno de implantación, dimensiones incorrectas del dispositivo que afectan la función biológica de las células, la incapacidad de cargar la cantidad adecuada de células para un efecto terapéutico sostenido y la dificultad para extraer el dispositivo cuando necesita reemplazo. Además, la configuración del dispositivo puede no ser susceptible a los contornos externos del cuerpo, lo que puede dar como resultado protuberancias anormales del dispositivo que hacen que el dispositivo sea inaceptable para el paciente desde una perspectiva estética.

50 **[0006]** WO 93/08850 describe un método para formar un matriz artificial para implante celular controlado. US 5.733.336 describe un método para implantar células en un tejido huésped. WO 2008/079997 describe un dispositivo implantable para proporcionar terapia a un cuerpo vivo. Por lo tanto, todavía existe la necesidad de encontrar una técnica efectiva para el trasplante exitoso de células terapéuticas. La presente descripción proporciona métodos y dispositivos para administrar y mantener células in vivo durante un período prolongado de tiempo, al tiempo que alivia muchos de los problemas asociados con los enfoques existentes de terapia celular basados en dispositivos.

60 **[0007]** La invención proporciona un dispositivo para el implante de células en un cuerpo huésped que comprende: un andamio poroso que comprende al menos una cámara que tiene un extremo proximal y un extremo distal, comprendiendo el andamio poroso una malla que tiene poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejidos vasculares y conectivos en al menos una cámara; y al menos un tapón extraíble configurado para ser posicionado en el menos una cámara; en donde la malla es una malla polimérica que es inmunológicamente compatible y permite la formación de imágenes del tejido neovascularizado.

65 **[0008]** En la presente descripción se describe un dispositivo para el implante de células en un cuerpo huésped, en donde el dispositivo comprende un andamio 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 andamio

poroso comprende poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejidos vasculares y conectivos en una o más cámaras. El dispositivo también comprende uno o más sistemas de dos tapones que comprenden un tapón exterior configurado para posicionarse en una o más cámaras, y un tapón interior configurado para posicionarse en el tapón exterior. Además, el dispositivo comprende al menos una cerradura configurada para encerrar el sistema de tapón en la cámara y encerrar la abertura en cualquiera o ambos del extremo proximal y del extremo distal de la cámara.

[0009] En otro aspecto de la presente descripción, se proporciona un método para trasplantar células en un cuerpo huésped. El método comprende los pasos de implantar un dispositivo para retener células en el cuerpo del huésped, en donde el dispositivo comprende un andamio poroso que comprende al menos una cámara que tiene un extremo proximal y un extremo distal. El andamio poroso comprende una malla que tiene poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejidos vasculares y conectivos en al menos una cámara. En algunas realizaciones, el andamio poroso comprende una malla de polipropileno. El dispositivo comprende además al menos un tapón configurado para colocarse dentro de la al menos una cámara, y la al menos una cámara comprende una abertura en uno o ambos extremos proximales y distales. El método comprende los pasos de cerrar la abertura en uno o ambos extremos proximales y distales de la cámara después de implantar el dispositivo. El método comprende además mantener el dispositivo en el cuerpo del huésped hasta que el andamio poroso se infiltre con tejidos vasculares y conectivos, acceder al dispositivo a través de una incisión quirúrgica, reabrir uno o ambos extremos proximales y distales de la cámara, extrayendo el tapón de la cámara para crear un espacio dentro del andamio poroso que está encapsulado en una matriz de colágeno vascularizado, entregando una preparación celular en el espacio vascularizado y volviendo a cerrar la abertura en uno o ambos extremos proximales y distales de la cámara.

[0010] En otra realización alternativa, el método de implantar células en un cuerpo huésped proporciona un dispositivo implantable para retener células en el cuerpo huésped, en el que el dispositivo implantable comprende un andamio poroso que tiene poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejidos vasculares y conectivos en el andamio poroso, al menos un sistema de dos tapones configurado para colocarse dentro del andamio poroso. El andamio poroso del dispositivo implantable comprende al menos una cámara que tiene una abertura en uno o ambos extremos proximales y distales de la cámara. El dispositivo comprende una cerradura para encerrar la abertura en uno o ambos extremos proximal y distal de la al menos una cámara. El al menos un sistema de tapón del dispositivo implantable comprende un tapón externo configurado para colocarse dentro de la al menos una cámara y un tapón interno configurado para colocarse dentro del tapón externo. El método comprende además los pasos de implantar el dispositivo en el cuerpo del huésped, mantener el dispositivo en el cuerpo del huésped hasta que el dispositivo se infiltre con tejidos vasculares y conectivos, y proporcionar un dispositivo de administración celular que comprende al menos un tubo de infusión celular cargado con una preparación celular, en donde el tubo de infusión celular está configurado para colocarse dentro del tapón externo del al menos un sistema de tapón. Además, el método comprende acceder al dispositivo implantado a través de una incisión quirúrgica y abrir la cerradura en uno o ambos extremos proximales y distales del dispositivo, retirar el tapón interno del sistema de tapones e insertar el tubo de infusión celular en el tapón externo, retirando el tapón externo de al menos una cámara e infundiendo simultáneamente la cámara con la preparación de la célula, y volviendo a cerrar la cerradura. Debe entenderse que tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada son solo ejemplares y explicativas y no son restrictivas de la invención, como se reivindica.

[0011] Otro aspecto de la divulgación proporciona un dispositivo de trasplante celular que comprende un armazón poroso que tiene poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejidos vasculares y conectivos en el armazón poroso que comprende al menos una cámara y preferiblemente entre 2 y 12 cámaras, en donde el armazón poroso está recubierto con un material biocompatible, biodegradable diseñado para llenar temporalmente los poros del andamio. En ciertas realizaciones, el andamio poroso comprende una malla de polipropileno. Los materiales biocompatibles y biodegradables adecuados incluyen, por ejemplo, colágeno, fibronectina, proteínas de matriz extracelular y proteínas de citoesqueleto de membrana. La divulgación también proporciona un método para trasplantar células en un cuerpo huésped que comprende implantar un dispositivo de trasplante que comprende un andamio poroso que tiene poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejidos vasculares y conectivos en el andamio poroso que comprende al menos una cámara y preferiblemente entre 2-12 cámaras, en el que el andamio poroso está recubierto con un material biocompatible y biodegradable que llena temporalmente los poros del andamio, y en el que al menos una cámara se llena con las células a trasplantar y la cámara se sella.

[0012] Los dibujos adjuntos, que se incorporan y constituyen una parte de esta especificación, junto con la descripción, ilustran métodos y realizaciones de la invención.

Breve descripción de los dibujos

[0013]

Las FIGS. 1A-1E ilustran diversas realizaciones de un dispositivo de trasplante de células de una cámara consistente con la presente descripción;
 La FIG. 1F ilustra una realización de un dispositivo de trasplante de células multicámara consistente con la presente descripción;
 Las FIGS. 2A-2D ilustran varias configuraciones de malla que pueden usarse para formar un dispositivo de

trasplante celular consistente con la presente descripción;

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

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

5 La FIG. 4 ilustra un armazón poroso de un dispositivo de trasplante celular consistente con una realización de la presente descripción;

La FIG. 5A ilustra una cerradura de un dispositivo de trasplante celular consistente con una realización de la presente divulgación;

La FIG. 5B es una vista en sección transversal de la cerradura mostrada en la FIG. 3A;

10 La FIG. 6A ilustra múltiples tapones externos de un sistema de tapones de dos partes de un dispositivo de trasplante celular consistente con una realización de la presente descripción;

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

La FIG. 6C es una vista en sección transversal de un sistema de tapón y un conjunto de andamio poroso único antes de la implantación en un cuerpo huésped;

15 La FIG. 6D es una vista en sección transversal del conjunto ilustrado en la FIG. 4C después de la incubación en un cuerpo huésped;

La FIG. 6E es una vista en sección transversal de un andamio poroso implantado en un cuerpo anfitrión después de la extracción del sistema de tapón;

La FIG. 7 ilustra múltiples tapones internos de un sistema de tapones de dos partes de un dispositivo de trasplante celular consistente con una realización de la presente descripción;

20 La FIG. 8 ilustra una cerradura para encerrar células dentro de una cámara vascularizada de un dispositivo de trasplante celular consistente con una realización de la presente descripción;

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

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

La FIG. 9C muestra pasos adicionales del mecanismo de infusión celular 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 celular de acuerdo con la presente divulgación;

30 Las FIGS. 11A-11D muestran una descripción esquemática de ciertos pasos de un procedimiento de infusión celular de acuerdo con la presente divulgación;

La FIG. 12A muestra gráficos de líneas de mediciones de glucosa en sangre después de la implantación intraperitoneal de dispositivos de trasplante celular, como se describe en el Ejemplo 1;

La FIG. 12B muestra gráficos de líneas de mediciones de glucosa en sangre después de la implantación subcutánea de dispositivos de trasplante celular, como se describe en el Ejemplo 1;

35 La FIG. 12C muestra gráficos de líneas de respuestas IVGTT en ratas Lewis trasplantadas con células de islote a los 40 días después del trasplante, 80 días después del trasplante y la extracción posterior al dispositivo (a los 110 días después del trasplante), como se describe en el Ejemplo 1;

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

40 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;

45 La FIG. 14 es la tabla del espesor medio de colágeno y vaso sanguíneo total/cm² calculado para cuatro dispositivos de trasplante de células coherentes con las realizaciones de la presente descripción, tal como se describe en el Ejemplo 3;

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

50 La FIG. 15B muestra la formación de vasos sanguíneos en diversos márgenes de un dispositivo implantado antes del trasplante celular, 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;

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;

55 La FIG. 17B demuestra la tinción histológica de la microvasculatura dentro de la cámara de un dispositivo implantado después del trasplante celular, como se describe en el Ejemplo 4;

La FIG. 18 muestra gráficos de líneas de los niveles de glucosa en sangre después del trasplante de autoinjerto de islotes, como se describe en el Ejemplo 4;

60 La FIG. 19A muestra gráficos de líneas de niveles absolutos 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. 19B muestra gráficos de barras del área bajo la curva (AUC) para los 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;

65 La FIG. 19C muestra gráficos de líneas de cambio de fold en los 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

- 5 **[0014]** Ahora se hará referencia en detalle a las realizaciones de esta divulgación, cuyos ejemplos se ilustran en los dibujos adjuntos. Siempre que sea posible, se utilizarán los mismos números de referencia en todos los dibujos para referirse a las mismas partes o partes similares. A lo largo de la divulgación, los términos infusión celular y trasplante celular se usan indistintamente.
- 10 **[0015]** Se proporciona un dispositivo de trasplante celular para contener células terapéuticas in vivo. En una realización ejemplar, el dispositivo de trasplante de células comprende al menos un armazón poroso que comprende una cámara en el mismo y que tiene una abertura en uno o ambos de un extremo proximal y un extremo distal del armazón, y al menos un tapón configurado para alojarse 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 al menos un andamio poroso tiene forma tubular, y el al menos un tapón es cilíndrico y se extiende a lo largo de un lumen del al menos un andamio poroso. En algunas realizaciones, el andamio poroso está abierto solo en el extremo proximal. En una de tales realizaciones, el extremo distal del andamio poroso tubular comprende una superficie redondeada o de fondo plano. En otra realización, los bordes en el extremo distal del andamio poroso se ahusan y se ponen en contacto entre sí para sellar el extremo distal.
- 20 **[0016]** En otra realización ejemplar, el dispositivo de trasplante celular comprende un armazón 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 tampón que comprenden un tampón externo configurado para colocarse dentro de una o más cámaras, y un tampón interno configurado para colocarse dentro del tampón externo. Además, el dispositivo comprende al menos una cerradura configurada para encerrar el sistema de tapón dentro de la cámara y sellar la abertura en el extremo proximal de la cámara.
- 30 **[0017]** El andamio poroso está formado por un material biocompatible que solo debe provocar una respuesta inflamatoria leve en el cuerpo. Los componentes inflamatorios leves estimulan la angiogénesis y promueven la incorporación de una matriz de colágeno vascularizado en el dispositivo, pero no provocan una inflamación significativa alrededor del dispositivo. Un ejemplo de dicho material biocompatible es el polipropileno. En realizaciones ejemplares, el andamio poroso comprende una malla de polipropileno tejida que tiene suficiente rigidez para facilitar la fabricación del dispositivo. La malla de polipropileno también se selecciona para permitir que los microvasos ingresen al dispositivo y se mantengan como vasos sanos y robustos, lo cual es crítico para la supervivencia y el funcionamiento normal de las células terapéuticas infundidas en el dispositivo.
- 35 **[0018]** Al fomentar el crecimiento regulado de tejido vascularizado en el dispositivo, el andamio poroso evita la encapsulación del dispositivo con tejido cicatricial. Los tejidos encarnados también estabilizan el implante y evitan el movimiento inadvertido del dispositivo in situ. Además, en algunas realizaciones, el armazón poroso está recubierto con agentes biológicos o no biológicos para estimular la incorporación de tejido y la angiogénesis, por ejemplo, factores de crecimiento. El dispositivo puede recubrirse por inmersión en una formulación de fármaco polimérico u otra técnica conocida para aplicar el recubrimiento al dispositivo. Los ejemplos de agentes biológicos o no biológicos para estimular la incorporación de tejido y la angiogénesis incluyen, entre otros: VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas), FGF-1 (factor de crecimiento de fibroblastos), NPR-1 (neuropilina-1), Ang-1, Ang2 (angiopoyetina 1,2), TGF- β , endoglina, MCP-1, α v β 3, α v β 5, CD-31, VE-cadherina, efrina, activadores de plasminógeno, angiogenina, Del-1, aFGF (factor de crecimiento ácido de fibroblastos), vFGF (factor básico de crecimiento de fibroblastos), folistatina, G-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos), HGF (factor de crecimiento de hepatocitos), Il-8 (interleucina-8), leptina, midkina, factor de crecimiento placentario, PD-ECGF (factor de crecimiento endotelial derivado de plaquetas), PTN (pleiotrofina), progranulina, proliferina, TGF- α y TNF- α .
- 40 **[0019]** En algunas realizaciones, la superficie externa del andamio poroso está rugosa para estimular la entrada de tejido. En ciertas realizaciones, el armazón poroso incluye diversos recubrimientos de polímeros liberadores de fármacos. En otras realizaciones, el armazón poroso puede recubrirse con un polímero biodegradable o no biodegradable sin un fármaco. El armazón puede estar parcial o completamente recubierto con el polímero. Los polímeros representativos que pueden usarse para el recubrimiento y/o elución de fármacos incluyen, pero no se limitan a: polímeros de metacrilato, polietilenimina y sulfato de dextrano, poli(vinilsiloxano)ecopolímero de polietilenimina, fosforilcolina, poli(metacrilato de etilo), poliuretano, poli(etilenglicol), ácido poli(láctico-glicólico), hidroxipetita, ácido poli(láctico), polihidroxiclivalerte y copolímeros, polihidroxitirato y copolímeros, policaprolactona, polidixanona, polianhídridos, policianocrilatos, poli(aminoácidos), poli(ortoésteres), poliésteres, colágeno, gelatina, polímeros de celulosa, quitosanos y alginatos o combinaciones de los mismos. Los ejemplos adicionales que se pueden usar para recubrir el andamio incluyen, pero no se limitan a: colágeno, fibronectina, proteínas de la matriz extracelular, vinculina, agar y agarosa. Debe entenderse que pueden usarse diversas mezclas de los polímeros.
- 50 **[0020]** Con respecto a la elución del fármaco, en algunas realizaciones ilustrativas, el armazón poroso incluye un recubrimiento antibiótico para minimizar las infecciones. Los antibióticos representativos incluyen, pero no están limitados a: ampicilina, tetraciclina, nafcilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, vancomicina, kanamicina, gentamicina, estreptomina, clindamicina, trimetoprim-, sulfametoxazol, linezolid, teicoplanino,
- 65

eritromicina, ciprofloxacina, rifampina, penicilina, amoxicilina, sulfonamidas, ácido nalidíxico, norfloxacina, ciprofloxacina, ofloxacina, esparfloxacina, lomefloxacina, fleroxacina, pefloxacina, amifloxacina, 5-fluorouracilo, cloranfenicol, polimixina, mitomicina, cloroquinina, novobiocina, nitroimidazol. En otra realización, el armazón poroso incluye un agente bactericida. Los agentes bactericidas representativos incluyen, pero no se limitan a: cloruro de benzalconio, gluconato de clorohexidina, ácido sórbico y sus sales, timerosal, clorobutanol, alcohol fenético y p-hidroxibenzoato.

[0021] En algunas otras realizaciones, partes del dispositivo de trasplante celular están recubiertas con fármacos antifibróticos para inhibir la encapsulación de tejido fibroso. Los agentes antifibróticos representativos incluyen, entre otros: paclitaxel, everolimus, tacrolimus, rapamicina, bromhidrato 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, camptotecina, topotecán, irinotecán, antramizina de etopósido o tenipósido, mitoxantrona, menogaril, nogalamicina, aclacinomicina A, olivomicina A, cromomicina A₃, y plicamicina, metotrexato, edatrexato, trimetrexato, raltitrexado, piritrexim, denopterina, tomudex, pteropterina y derivados y análogos de los mismos. En algunas realizaciones, el dispositivo de trasplante celular también puede incluir metacrilato de polimetilo o cemento óseo u otros tipos de cianoacrilatos.

[0022] En algunas realizaciones, el andamio poroso está formado por un material que permite obtener imágenes del dispositivo implantado usando, por ejemplo, IRM, IRMf, tomografías computarizadas, rayos X, ultrasonidos, escaneos PET, etc. En una de esas realizaciones, el andamio poroso comprende una malla de polímero (por ejemplo, polipropileno, politetrafluoroetileno (PTFE), poliuretano, poliésteres, mallas de seda, etc.) que es inmunológicamente compatible y permite obtener imágenes del tejido neovascularizado. En otra realización, el andamio poroso comprende una combinación de materiales. En una de tales realizaciones, el andamio poroso comprende hilos de seda y polipropileno entretejidos.

[0023] El tamaño de poro del material del andamio se selecciona para facilitar la incorporación de tejido y la vascularización dentro de la cámara del andamio poroso. En algunas realizaciones, los tamaños de poro pueden variar de aproximadamente 50 nm a 5 mm. En una realización ejemplar, el andamio poroso comprende una malla tejida de polipropileno con un diámetro de poro de 0,53 mm.

[0024] En algunas realizaciones, el tamaño de poro se selecciona para excluir que las células inmunes o agentes inmunes penetren en el dispositivo implantado. En algunas otras realizaciones, el tamaño de poro no necesariamente necesita excluir a las células inmunes o agentes inmunes de infiltrarse en el dispositivo. Este sería el caso, por ejemplo, cuando el dispositivo se usa para trasplantar una combinación de células, incluidas las células inmunoprotectoras (por ejemplo, células de Sertoli, células madre mesenquimatosas, etc.) que pueden proporcionar protección inmunológica a las células co-trasplantadas. Este también sería el caso, por ejemplo, cuando el dispositivo se usa para trasplantar células singénicas, o células derivadas del paciente que recibe el trasplante.

[0025] El tapón o sistema de tapones del dispositivo de trasplante celular está configurado para encajar en la cámara dentro del andamio poroso. El tapón o sistema de tapón puede comprender un material no poroso (por ejemplo, politetrafluoroetileno (PTFE), polipropileno, etc.) que inhibe el crecimiento de tejido biológico en el tapón o sistema de tapón. El tampón o sistema de tampón puede ser una estructura hueca o sólida. Sin embargo, si se usa un tapón hueco, se debe tener cuidado para evitar la infiltración de colágeno o cualquier otro material biológico en la luz del tapón cuando el dispositivo se implanta en el tejido del huésped. El sistema de tampón se discute con más detalle a continuación.

[0026] En algunas realizaciones, el extremo proximal del tapón o sistema de tapón está conectado a una cerradura. En dicha realización, la cerradura está configurada para cerrar la abertura proximal de la cámara cuando el tapón o el sistema de tapón está completamente insertado en la cámara del andamio poroso. La cerradura está estructurada para mantener el tapón o el sistema de tapón en su lugar dentro del andamio poroso. En otra realización, la cerradura está separada del tapón o sistema de tapón. En otra realización más, la cerradura está conectada al andamio poroso. Además, en algunas realizaciones ejemplares, el extremo proximal de la cámara se cierra usando suturas quirúrgicas y/o clips vasculares sin usar una cerradura separada.

[0027] Cuando se implanta en un cuerpo anfitrión, el andamio poroso del dispositivo fomenta el crecimiento interno de tejido vascular y conectivo, de modo que el tapón o sistema de tapón alojado dentro del andamio se encapsula en una matriz de tejido vascularizado. Cuando el tapón o el sistema de tapón se retira del andamio poroso, se crea una cámara neovascularizada dentro del dispositivo, que luego puede usarse para mantener una preparación celular en el cuerpo del huésped.

[0028] Los tamaños del andamio poroso y el tapón o sistema de tapón se seleccionan para proporcionar una relación óptima de área superficial a volumen para mantener las células in vivo y para garantizar 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 función del volumen y/o el número de células que se van a trasplantar. En algunas realizaciones, el volumen total del dispositivo de trasplante celular se ajusta aumentando o disminuyendo el número

de cámaras mientras se mantiene una relación óptima de área superficial a volumen de cada cámara individual. En otras realizaciones, la longitud de las cámaras se ajusta para alterar el volumen total. Alternativamente, en diversas realizaciones, el dispositivo de trasplante de células comprende un número fijo de cámaras, pero solo un número seleccionado de cámaras se infunde con células dependiendo del volumen total requerido del dispositivo. En otras realizaciones, la longitud de las cámaras se ajusta, así como el número de cámaras para alterar el volumen total requerido.

[0029] El dispositivo de trasplante de células descrito puede implantarse por vía subcutánea o intraperitoneal en un cuerpo huésped, incluido el epiplón u otro sitio apropiado. Alternativamente, el dispositivo de implantación celular descrito puede implantarse parcialmente intraperitonealmente en un cuerpo huésped, incluso en el epiplón u otro sitio apropiado y extenderse al entorno subcutáneo. En una realización, las células pueden cargarse en la porción del dispositivo que se extiende hacia el entorno subcutáneo mientras que el resto del dispositivo está en el entorno intraperitoneal. En otra realización, el dispositivo de trasplante celular puede implantarse en el cerebro, el área de la médula espinal o cualquier otro órgano según sea necesario para provocar un efecto terapéutico de las células trasplantadas. En la mayoría de los casos, el huésped es un ser humano, pero puede ser otro mamífero o animal no mamífero. El procedimiento de trasplante celular es un proceso de dos pasos que comprende un paso de implantación del dispositivo seguido de un paso de infusión celular (trasplante celular). La etapa de infusión celular se implementa después de un período de incubación in vivo durante el cual el dispositivo implantado se infiltra con una matriz de colágeno vascularizado. En una realización, el período de incubación es de aproximadamente treinta días, lo que permite un tiempo adecuado para la angiogénesis y la infiltración de colágeno del andamio poroso. El período de incubación puede alargarse o acortarse, según el grado de neovascularización y la formación de tejido (colágeno con células) necesaria o deseada. Por ejemplo, los dispositivos de trasplante pueden vascularizarse a diferentes velocidades dependiendo del material del dispositivo, las dimensiones o los recubrimientos, como, por ejemplo, recubrimientos antibióticos, factores de crecimiento, etc. Los dispositivos de trasplante también pueden vascularizarse a diferentes velocidades en diferentes huéspedes, o cuando están ubicados en diferentes tejidos corporales dentro del mismo huésped. Está dentro de la habilidad de una persona en la técnica determinar el período de incubación apropiado. Por ejemplo, se pueden realizar estudios de imagen antes de administrar las células para asegurar que se deposite tejido vascular y/o conectivo adecuado alrededor y a través de las paredes del andamio poroso durante el período de incubación. Para el paso de infusión celular, se accede al sitio de implantación a través de una incisión quirúrgica, y el tapón o sistema de tapón se retira del andamio poroso para crear un bolsillo revestido con colágeno y vasos sanguíneos dentro del andamio. La preparación celular se entrega luego en el bolsillo vascularizado, y el andamio poroso se vuelve a sellar. En otra realización, el procedimiento de trasplante de células es un proceso de un solo paso mediante el cual se coloca el dispositivo y las células se implantan al mismo tiempo. En esta circunstancia, las células pueden colocarse en una matriz para que no se filtren a través de los poros del dispositivo o, alternativamente, el dispositivo puede recubrirse con un polímero degradable para evitar que las células se escapen del dispositivo durante el proceso de desarrollo de colágeno y angiogénesis.

[0030] En algunas realizaciones, las células a trasplantar pueden combinarse con una solución viscosa biocompatible o formulación de polímero biodegradable antes de cargarse en la cámara de cualquiera de los dispositivos de trasplante descritos en este documento. Este polímero biodegradable protegerá las células hasta que el dispositivo sea completamente vascularizado por el cuerpo del huésped. Estas formulaciones pueden colocarse en las cámaras antes o después de la colocación del dispositivo en un huésped, pero antes de que se forme una matriz de colágeno y estructuras vasculares en el dispositivo. Las células combinadas con una solución viscosa biocompatible o una formulación de polímero biodegradable serán particularmente útiles en dispositivos diseñados para cargarse con células antes de la implantación del dispositivo en el cuerpo del huésped. Los polímeros representativos que pueden usarse como una formulación biodegradable junto con las células incluyen, pero no se limitan a: polietilénimina y sulfato de dextrano, poli(vinilsiloxano)ecopolímero de polietilénimina, fosforilcolina, poli(etilenglicol), ácido poli(láctico-glicólico), ácido poli(láctico), polihidroxiclorato y copolímeros, polihidroxibutirato y copolímeros, polidixanona, polianhídridos, poli(aminoácidos), poli(ortoésteres), poliésteres, colágeno, gelatina, polímeros de celulosa, quitosanos, alginatos, fibronectina, proteínas de matriz extracelular, vinculin, proteínas de matriz extracelular, vinculin, agar, agarosa, ácido hialurónico, matrigel y combinaciones de los mismos.

[0031] Cabe señalar que se pueden colocar células en el dispositivo; sin embargo, las células también pueden estar encapsuladas. Los siguientes son a modo de ejemplo y no a modo de limitación. Los ejemplos de sistemas de encapsulación de células poliméricas incluyen encapsulación de alginato, hidrogeles de polisacárido, quitosano, alginato de calcio o bario, una matriz en capas de alginato y polilisina, polímero de poli(etilenglicol) fotopolimerizable para encapsular células individuales o grupos de células, poliacrilatos que incluyen metacrilato de metilo metacrilato de hidroxietilo, cápsulas de silicio, nanocápsulas de silicio y polimembrana (cloruro de acrilonitrilo-co-vinilo).

[0032] Las FIGS. 1A-1E ilustran varias realizaciones ejemplares de un dispositivo de trasplante celular 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 huésped. 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 preparación celular requerido, lo cual está dentro del conocimiento y la habilidad de las personas expertas en la técnica para determinar.

[0033] 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 tiene 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 tales realizaciones, la abertura en el extremo proximal 3 se sella utilizando suturas quirúrgicas y/o pinzas vasculares durante la incubación del dispositivo y después de la infusión de células en el dispositivo. Como entendería una persona con experiencia ordinaria en la técnica, cualquier otro elemento de sellado quirúrgico, por ejemplo, clips microvasculares, abrazaderas, etc., puede usarse 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. El colgajo 6 se puede sellar utilizando suturas quirúrgicas, abrazaderas o cualquier otro mecanismo de sellado adecuado durante la incubación del dispositivo y después de la infusión de células en el dispositivo. En una realización ejemplar, el extremo distal 4 del dispositivo 1 comprende una superficie redondeada 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 quirúrgico, durante la incubación del dispositivo y después de la infusión de células. En otra realización ejemplar más, como se muestra en la FIG. 1C, el extremo distal 4 comprende una porción no porosa 7, que evita el crecimiento de tejido en el extremo distal del dispositivo y facilita la retracción del tapón 5 del dispositivo antes de la infusión celular.

[0034] En algunas realizaciones, como se ilustra en la FIG. 1D, el extremo proximal del tapón 5 está conectado a una cerradura 8. En tal realización, la cerradura 8 está configurada para cerrar la abertura en el extremo proximal 3 cuando el tapón 5 se inserta en la cámara 5. La cerradura 8 está estructurada para mantener el tapón 5 en su lugar dentro de la cámara porosa. En otra realización, el tapón 5 es más largo que la cámara porosa 2 y actúa como una cerradura tanto en el extremo proximal 3 como en 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 utilizando suturas quirúrgicas y/o pegamento quirúrgico. Después de retirar el tapón 5 antes de la infusión celular, las aberturas en el extremo proximal 3 y el extremo distal 4 se pueden sellar utilizando suturas quirúrgicas, pinzas vasculares o cualquier otro mecanismo de sellado adecuado, como entendería un experto en la materia.

[0035] 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, mediante soldadura ultrasónica de las superficies superior e inferior de un material poroso a lo largo de una línea sustancialmente paralela a un eje longitudinal del dispositivo. FIG. 1F ilustra un dispositivo de trasplante celular 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 total de 50 mm y una anchura de 45 mm. Cada cámara porosa 2 tiene un diámetro interno 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 tal realización, el tapón 5 está formado de un material biocompatible no poroso, por ejemplo, politetrafluoroetileno (PTFE).

[0036] Las formas de realización ejemplares del dispositivo de trasplante de células de la presente divulgación están formadas por mallas de polipropileno de grado médico, por ejemplo, malla tejida de polipropileno (PPKM) comprada en SURGICALMESH™, Brookfield, Connecticut, EE.UU. En realizaciones ilustrativas, las mallas están formadas por monofilamentos que varían en diámetro de 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 mallas ejemplares que pueden usarse para formar los dispositivos de trasplante celular. FIG. 2A ilustra una malla de polipropileno (PPKM601) que tiene un tamaño de poro de 0,5 mm y un grosor de monofilamento de 0,3 mm; 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; 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.

[0037] FIG. 3A ilustra otra realización ejemplar de un dispositivo 10 de trasplante celular. FIG. 3B ilustra los componentes del dispositivo de trasplante celular 10. El dispositivo 10 comprende un andamio poroso 12, una cerradura primaria 14, al menos un sistema de tapón que comprende un tapón externo 16 y un tapón interno 18, y una cerradura secundaria 20.

[0038] Como se ilustra en la FIG. 4, el armazón poroso 12 del dispositivo de trasplante de células 10 puede comprender una malla polimérica (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 huésped. En algunas realizaciones, el andamio 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 preparación celular requerido, lo cual está dentro del conocimiento y la habilidad de las personas expertas en la técnica para determinar.

5 **[0039]** Se pueden crear cámaras porosas 22, por ejemplo, uniendo las superficies superior e inferior del andamio poroso 12 a lo largo de una línea sustancialmente paralela a un eje longitudinal del dispositivo. Múltiples cámaras porosas 22 pueden tener dimensiones de sección transversal y áreas de superficie iguales o diferentes. En una realización, se forman múltiples cámaras porosas 22 soldando ultrasónicamente la malla de polímero desde un extremo proximal 24 a un extremo distal 26 del andamio. Las superficies superior e inferior del andamio poroso 12 son continuas a través de una o más cámaras porosas 22, interrumpidas solo por líneas de soldadura ultrasónica 28, que corren sustancialmente paralelas a un eje longitudinal del andamio poroso 12. Las superficies superior e inferior del andamio poroso 12 se pueden sangrar ligeramente en cada línea de soldadura, lo que ofrece un área de superficie adicional para la vascularización y proporciona estabilidad física al dispositivo 10 dentro de un huésped. En una realización, los bordes en el extremo distal 26 están ahusados y soldados ultrasónicamente entre sí para sellar el extremo distal 26.

15 **[0040]** Con referencia a la FIG. 3B, la primaria 14 está configurado para sellar una o más cámaras porosas 22 durante la incubación del dispositivo y después de la infusión celular. La cerradura primaria 14 comprende una película polimérica inerte y biocompatible o cualquier otro material adecuado. En una realización, la cerradura primaria 14 está soldada ultrasónicamente en los bordes laterales y en el extremo proximal cónico 31, como se ilustra en las FIGS. 5A y 5B. El extremo distal 32 de la cerradura primaria 14 está unido al extremo proximal 24 del andamio poroso 12. En una realización, el extremo distal 32 está soldado ultrasónicamente al extremo proximal 24 del andamio poroso 12.

20 **[0041]** En diversas realizaciones, la cerradura primaria 14 comprende un bloqueo resellable 34, que ayuda a mantener al menos un tapón externo 16 dentro de una cámara porosa 22 durante el período de incubación. El bloqueo 34 también evita la fuga de la preparación celular durante el proceso de infusión celular. Se puede usar cualquier mecanismo de bloqueo resellable adecuado como bloqueo 34. En una realización, el bloqueo 34 comprende características de ranura y cresta de enclavamiento, que forman un sello hermético cuando se presionan juntas y se desbloquea cuando las superficies superior e inferior del sello 14 se separan en el extremo proximal 31. Después del período de incubación del dispositivo, el acceso al tapón externo 16 se logra recortando el extremo proximal 31 de la cerradura primaria 14 y abriendo la cerradura resellable 34. Después de que la preparación celular se entrega en el andamio poroso 12, el cierre 34 se vuelve a cerrar y el extremo proximal 31 se vuelve a sellar usando, por ejemplo, suturas quirúrgicas, grapas o bioadhesivos, o sellos herméticos.

30 **[0042]** El número de sistemas de tapones puede corresponder al número de cámaras porosas 22 en el dispositivo de trasplante celular 10. El tapón externo 16 está alojado dentro de la cámara porosa 22 durante el período de incubación del dispositivo. En algunas realizaciones, la longitud del tapón externo 16 es aproximadamente igual a la longitud de la cámara porosa 22 respectiva. Como se ilustra en la FIG. 6A, en una realización, se conectan múltiples tapones externos 16 en un extremo proximal 40 usando una espina común 42. La espina común 42 puede incluir una o más ranuras 43 para facilitar la extracción de los tapones externos 16 de las cámaras porosas 22. Por ejemplo, las ranuras 43 pueden permitir que la espina común 42 se agarre usando pinzas.

40 **[0043]** En algunas realizaciones, el tapón externo 16 tiene un núcleo hueco 45 que aloja un tapón interno 18. Como se muestra en la FIG. 6B, en una realización, el núcleo hueco 45 está limitado con uno o más salientes internos 47 a lo largo de la longitud de la superficie interna del tapón. Las protuberancias internas 47 proporcionan un espacio de aire entre el tapón externo 16 y el tapón interno 18, que permite que las burbujas de aire atrapadas escapen durante el suministro de la preparación celular, que se describe con más detalle a continuación. El espacio de aire también evita la formación de vacío durante la extracción del tapón interno 18 y, por lo tanto, mantiene la integridad de la matriz de colágeno vascularizado recién formada en y alrededor de la cámara porosa. Por lo tanto, en algunos aspectos, el sistema de tapón que comprende el tapón externo 16 y el tapón interno 18 puede facilitar el suministro de células al dispositivo de trasplante celular 10, y también puede aumentar las posibilidades de supervivencia celular dentro de una matriz de colágeno intacta.

50 **[0044]** En algunas realizaciones, el extremo proximal 40 y el extremo distal 41 del tapón externo 16 comprenden mecanismos de sellado, por ejemplo, ranuras internas o superficies cónicas, para asegurar un sellado efectivo con el tapón interno 18. Como se muestra en la FIG. 7, el extremo proximal 50 y el extremo distal 51 del tapón interno 18 pueden incluir mecanismos de sellado complementarios 53 para evitar la infiltración de la matriz de colágeno en el núcleo hueco 45 durante el período 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 interno 18, y el tapón externo 16 comprende una cresta alrededor de la periferia de sus extremos distal y proximal. En tal realización, el reborde en el tapón externo 16 y la ranura en el tapón interno 18 se enclavan cuando el tapón interno 18 se inserta en el núcleo hueco 45 del tapón externo 16, para formar un sello completo entre los tapones interno y externo y evitar permeación de cualquier material biológico en el núcleo hueco 45. Además, en tales realizaciones, si el tapón externo 16 comprende uno o más salientes internos 47, la altura de las crestas en los extremos proximal y distal del tapón externo 16 puede ser mayor que la altura de los salientes internos 47.

65 **[0045]** Las FIGS. 6C y 6D ilustran vistas en sección transversal de la cámara porosa 22 y el conjunto de tapón 16, 18, de acuerdo con una realización de la presente descripción. FIG. 6C es una vista en sección transversal del conjunto antes de la implantación en un cuerpo huésped, y la FIG. 6D ilustra la vista en sección transversal del conjunto después de la incubación en un cuerpo huésped. El diámetro interno de la cámara porosa 22 y el diámetro externo del tapón

externo 16 se seleccionan para mantener un espacio 46 alrededor de la periferia del tapón externo 16 para la formación de tejido. Por ejemplo, en una realización ilustrativa, el diámetro interno de la cámara porosa 22 no es mayor que 4,5 mm y el diámetro externo del tapón 16 no es mayor que 3,5 mm. En otra realización, el diámetro interno de la cámara porosa 22 no es mayor de 3,5 mm y el diámetro externo del tapón 16 no es mayor de 2,5 mm. Estas realizaciones proporcionan, por ejemplo, aproximadamente 0,5 mm de espacio alrededor del tapón externo 16 para la formación de una matriz de colágeno vascularizado. El espacio alrededor del tapón externo 16 también ofrece suficiente espacio para la inserción y retracción del tapón externo dentro y fuera de la cámara porosa.

[0046] Cuando el dispositivo de trasplante celular 10 se implanta en un cuerpo huésped, los tejidos vasculares y conectivos penetran a través de la cámara porosa 22 en el espacio 46 y forman una matriz de tejido vascularizado 48 alrededor del tapón externo 16. El tapón 16 evita la penetración o la matriz de tejido 48 más en la luz de la cámara porosa 22. Cuando el tapón interno 18 y el tapón externo 16 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 vascularizado 48, como se muestra en la FIG. 6E.

[0047] El número de tapones internos 18 puede corresponder al número de tapones externos 16. El tapón interno 18 está alojado dentro del núcleo hueco 45 del tapón externo 16 durante la fase de incubación del dispositivo. En una realización, se conectan múltiples tapones internos 18 en un extremo proximal 50 usando una columna vertebral común 52. En algunas realizaciones, la columna vertebral común 52 comprende una característica de clip 54 para ayudar en el manejo del tapón interno 18 durante la extracción del tapón externo 16.

[0048] El sello secundario 20, como se ilustra en la FIG. 8, se usa para contener la preparación celular en las cámaras porosas cuando la cerradura primaria 14 se vuelve a cerrar después del suministro de una preparación celular en el dispositivo 10 de trasplante celular. El sello secundario 20 se coloca en el extremo proximal 24 del andamio poroso 12 después de que la preparación de la célula se entrega completamente en la cámara porosa 22 y el tapón externo 16 se retrae del dispositivo 10. En algunas realizaciones, el sello secundario 20 comprende ranuras 60 para facilitar la inserción en el dispositivo 10 usando pinzas.

[0049] En otro aspecto de la presente divulgación, se divulga un dispositivo y un método para administrar células en un dispositivo de trasplante celular, y se explicará con referencia al dispositivo 10 de trasplante celular. FIG. 9A ilustra los diversos componentes de un dispositivo 70 de entrega de células. El dispositivo de suministro de células 70 comprende al menos un tubo de infusión de células 71, la tapa del conector 72 que tiene una característica de clip 73 y un separador de conector 74.

[0050] El tubo de infusión celular 71 puede comprender un tubo polimérico (por ejemplo, tubo de polietileno) o cualquier otro material adecuado para administrar la preparación celular en la cámara porosa 22 del dispositivo 10 durante la etapa de infusión celular. El número de tubos de infusión de células en el sistema de suministro puede corresponder al número de cámaras porosas 22.

[0051] El espaciador del conector 74 se coloca en el extremo distal del tubo de infusión celular 71 y se acopla o interactúa con el extremo proximal 40 del tapón externo 16 durante el proceso de suministro celular. El espaciador de conector 74 incluye uno o más agujeros pasantes a través de los cuales se inserta el tubo de infusión celular 71, como se muestra en la FIG. 9A. Los agujeros pasantes están configurados para proporcionar un ajuste de interferencia ligera con el tubo de infusión celular 71. El accesorio está adaptado para mantener el tubo de infusión celular 71 en su lugar durante el proceso de infusión celular. Además, en ciertas realizaciones, el separador de conector 74 comprende respiraderos 76 para expulsar aire de los espacios de aire en el tapón externo 16 creado por la protuberancia interna 47 durante el proceso de suministro de células, como se describe más adelante. En una realización, el tapón externo 16 comprende un cubo 78 en el extremo proximal 40. En tal realización, el espaciador de conector 74 se inserta en el núcleo 78 durante el proceso de infusión celular para asegurar el dispositivo de suministro 70 al dispositivo 10 de trasplante celular.

[0052] El extremo proximal del tubo de infusión celular 71 comprende la tapa del conector 72. A medida que el tubo se inserta en el tapón externo 16, la tapa del conector 72 avanza distalmente hacia el separador del conector 74. Cuando el tubo 71 se inserta completamente en el tapón externo 16, la tapa del conector 72 se ajusta sobre el espaciador del conector 74 y/o el cubo 78, y la característica de clip 73 se conecta con el tapón externo 16/o el cubo 78 a lo largo de la espina común 42, como se muestra en la FIG. 9C. Esto permite que la tapa del conector 72, el separador del conector 74 y el tapón externo 16 se retraigan como una sola unidad a medida que la preparación de la célula se infunde en la cámara porosa 22.

[0053] En otro aspecto más de la presente descripción, se describe un método para trasplante celular y se explicará con referencia al dispositivo 10 de trasplante celular y al dispositivo 70 de suministro de células. El método de trasplante de células no se limita a las realizaciones del dispositivo descritas en el presente documento y puede usarse con cualquier trasplante de células y dispositivos de suministro de células.

[0054] FIG. 10 es un diagrama de flujo que ilustra los pasos de un procedimiento ejemplar de trasplante celular. El procedimiento de trasplante celular es generalmente un proceso de dos pasos que comprende un paso de

implantación del dispositivo seguido de un paso de infusión celular. El dispositivo 10 se implanta en el cuerpo del huésped antes del suministro de células para permitir un tiempo adecuado para que el colágeno y los vasos sanguíneos se infiltran en el andamio poroso 12. En algunas realizaciones, el dispositivo 10 se esteriliza usando óxido de etileno antes de la implantación. El dispositivo 10 puede estar empaquetado en un paquete de autosellado o cualquier otro paquete 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 utilizado depende del material del andamio, ya que se sabe que el autoclavado con calor seco deforma ciertos materiales poliméricos (por ejemplo, polipropileno) debido a la baja temperatura de deflexión térmica. La radiación gamma, a una dosis de esterilización de 6 M-Rad, puede esterilizar con éxito dispositivos de implantación celular; sin embargo, la radiación gamma puede disminuir la vida útil de los dispositivos hechos de polipropileno.

[0055] El dispositivo 10 puede implantarse por vía subcutánea o intraperitoneal. Por ejemplo, para la implantación subcutánea del dispositivo en el cuerpo del huésped, se realiza una incisión a través de la dermis y la epidermis, seguida de una cuidadosa disección roma del tejido conectivo y el tejido adiposo, creando una bolsa subcutánea caudal a la línea de incisión (paso 810). Una vez que se crea un 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) son seguidos por un período de incubación del dispositivo (paso 830) durante el cual se deposita una matriz de colágeno vascularizado en y alrededor del andamio poroso 12.

[0056] Después del período de incubación, se accede al dispositivo 10 a través de una segunda incisión quirúrgica. Por ejemplo, el extremo proximal 31 de la cerradura primaria 12 puede recortarse in situ para abrir el dispositivo 10 (paso 840). El tapón interno 18 luego se extrae del tapón externo 16 y se desecha (paso 850). Durante el proceso de extracción del tapón interno, el movimiento del aire se ve facilitado por las protuberancias internas 47, que evitan la formación de un vacío dentro del dispositivo, lo que puede causar la interrupción de los vasos sanguíneos recién formados dentro y alrededor del dispositivo. La extracción del tapón interno 18 desactiva el extremo proximal 50 y el extremo distal 51 del tapón interno 18 del extremo proximal 40 y del extremo distal 41 del tapón externo 16. Luego se entrega una preparación celular en el dispositivo 10 usando el dispositivo 70 de entrega celular.

[0057] Las FIGS. 11A-11D muestran una visión general esquemática de ciertos pasos de un procedimiento ejemplar de infusión celular y se explicarán con referencia al diagrama de flujo que se muestra en la FIG. 10. Para administrar las células en el dispositivo 10, el tubo de infusión celular 71 del dispositivo de suministro 70 se carga con la preparación celular 79, y el tubo se inserta en el núcleo hueco 45 del tapón externo 16, como se muestra en la FIG. 11A (paso 860). El espaciador del conector 74 se acopla con el extremo proximal 41 y/o el cubo 78 del tapón externo 16. A medida que el tubo 71 avanza hacia el tapón externo, el aire se ventila a través de los salientes internos 47 del tapón externo 16 y las rejillas 76 del espaciador del conector 74. Cuando el tubo 71 se avanza hasta el tapón externo 16, la tapa del conector 72 se interconecta con el espaciador del conector 74. El clip 73 de la tapa del conector 72 se conecta luego al cubo 78 del tapón externo 16 (paso 870). En este caso, el tapón externo 16, la tapa del conector 72 y el separador del conector 74 se retraen ligeramente de la cámara porosa 22 como una sola unidad para crear un espacio en el extremo distal de la cámara porosa 22 (paso 875). En algunas realizaciones, el tapón externo 16 puede retraerse ligeramente de la cámara porosa 22 antes de conectar el dispositivo de suministro 70 con el tapón externo 16. En otras palabras, el paso 875 puede realizarse antes del paso 870. Se aplica presión suave a una jeringa conectada al tubo de infusión celular 71 para suministrar 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.

[0058] En una realización, el tapón externo 16 se retrae aproximadamente 5 mm antes de que se inicie la infusión celular, como se ilustra en la FIG. 11B. A medida que se aplica presión (P) a la jeringa conectada al tubo de infusión celular 71, la preparación celular 79 se infunde en la cámara porosa 22. A medida que la preparación celular se entrega en la cámara porosa 22, el tapón externo 16 y el tubo de infusión celular 71 se retiran del dispositivo, como se muestra en las FIGS. 11C y 11D (paso 885). Cuando el dispositivo se llena por completo con la preparación celular 79, se detiene la infusión celular y el tubo de infusión celular 71 se retrae completamente del dispositivo 10 (paso 890). La cámara porosa 22 se evalúa luego para determinar la capacidad restante para la preparación celular, y cualquier preparación celular restante se puede agregar cuidadosamente al extremo de la cámara porosa. La preparación de la célula está contenida dentro de la cámara porosa 22 colocando el sello secundario 20 en el extremo proximal 40 de la cámara porosa 22, seguido de cerrar el cierre sellable 34 de la cerradura primaria 12 y asegurar el extremo proximal 31 de la cerradura primaria 12 con suturas quirúrgicas o grapas u otros mecanismos de sellado adecuados (paso 895). Finalmente, la incisión quirúrgica se cierra con suturas quirúrgicas, grapas o adhesivos tisulares, completando así el procedimiento de trasplante celular.

[0059] Los dispositivos y métodos para el trasplante celular descritos pueden usarse para el trasplante de cualquier célula terapéutica, o una combinación de células, en un cuerpo huésped para proporcionar material biológico terapéutico al huésped para el tratamiento de una enfermedad. Las células pueden ser células donadoras alogénicas, xenogénicas o singénicas, células derivadas del paciente, que incluyen células madre, células de sangre del cordón umbilical y células madre embrionarias. Las células madre pueden diferenciarse en las células terapéuticas

apropiadas. Las células pueden ser células inmaduras o parcialmente diferenciadas o completamente diferenciadas y maduras cuando se colocan en el dispositivo. Las células también pueden ser células modificadas genéticamente o líneas celulares. En un aspecto, una realización consistente con la presente descripción se usa para el trasplante de islotes de células de Langerhans para proporcionar medios para la regulación de la glucosa en sangre en el cuerpo del huésped. En otro aspecto, una realización de un dispositivo de trasplante de células se usa para el co-trasplante de islotes de células de Langerhans y Sertoli, donde las células de Sertoli proporcionan protección inmunológica a las células de los islotes en el cuerpo del huésped. La protección inmune proporcionada por las células de Sertoli en un cuerpo huésped se describió previamente, por ejemplo, en la patente de EE.UU. 5.725.854, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Por consiguiente, esta descripción también contempla métodos para tratar diversas enfermedades mediante el trasplante de cantidades terapéuticas de células a sujetos que lo necesitan usando una realización de un dispositivo de trasplante de células como se describe aquí.

[0060] La densidad de las células terapéuticas trasplantadas, o combinaciones de células, se determina en función del peso corporal del huésped y los efectos terapéuticos de las células. Como se señaló anteriormente, las dimensiones del dispositivo de trasplante de células y el número de cámaras porosas que se utilizarán (en un dispositivo multicámara) se determinan en función del número de células requeridas, el grado de vascularización alcanzable durante el período de incubación del dispositivo, y las características de difusión de nutrientes y productos celulares dentro y fuera de los dispositivos implantados.

Ejemplos

[0061] Los siguientes ejemplos se proporcionan para explicar mejor las diversas realizaciones y no deben interpretarse de ninguna manera para limitar el alcance de la presente divulgación. Los dispositivos de trasplante celular utilizados en estos ejemplos están formados por mallas de polipropileno y comprenden un único tapón de PTFE 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

[0062] Se usaron dispositivos de trasplante de células para implantar células de islotes singénicos en ratas Lewis para restaurar la normoglucemia. La respuesta de glucosa de las células implantadas se comparó con la respuesta de glucosa de las células de los islotes administradas directamente en las 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 segundo grupos de estudio, los dispositivos se implantaron en cavidades intraperitoneales y subcutáneas, respectivamente. En el tercer grupo, las células de los islotes se administraron directamente en las venas porta.

[0063] Los dispositivos implantados se incubaron en las ratas Lewis durante al menos un mes para permitir el crecimiento vascular. La diabetes fue inducida químicamente en las ratas inyectando estreptozotocina. Las ratas se consideraron diabéticas si tres lecturas sucesivas de glucosa en sangre eran de al menos 18,0 mM. Luego se infundieron células de islotes de ratas Lewis aisladas (10.000 IEQ/kg de peso) en los dispositivos implantados o directamente en las venas porta de ratas diabéticas. Los gránulos de insulina se retiraron a los 14 días después del trasplante de islotes (indicado por el rectángulo cerrado sobre los gráficos en las FIGS. 11A y 11B). Los niveles de glucosa en sangre en las ratas se monitorizaron durante un período de 100 días. A los 100 días después del trasplante, se retiraron los dispositivos para confirmar que los islotes trasplantados eran responsables de la reversión de la diabetes.

[0064] Las FIGS. 12A y 12B muestran resultados de normalización de glucosa para ratas que reciben dispositivos de trasplante de células intraperitoneales (cámara omental) y subcutáneas, respectivamente. El trasplante de células exitoso resultó en la normalización de los niveles de glucosa en sangre (lectura de glucosa menor a 8,0 mM), como lo indican los trazos sólidos. Los trasplantes que no alcanzan la normoglucemia se denotan por trazas punteadas. Los resultados indican que el nivel glucémico normal se mantuvo en un número estadísticamente significativo de ratas diabéticas que recibieron las células de los islotes. Después de la extracción de los dispositivos implantados a los 100 días después del trasplante, las ratas que previamente demostraron niveles glucémicos normales volvieron a los niveles hiperglucémicos, lo que indica que los dispositivos contenían injertos completamente funcionales que fueron responsables de lograr la normoglucemia antes de la extracción del dispositivo. La tasa a la que las concentraciones de glucosa en sangre alcanzaron niveles no diabéticos fue estadísticamente diferente entre los grupos de estudio ($p < 0,0001$, prueba t).

[0065] FIG. 12C muestra respuestas IVGTT (prueba de tolerancia a la glucosa intravenosa) en ratas Lewis trasplantadas con células de islote. Se realizaron IVGTT a los 40 días y 80 días después del trasplante. La respuesta de glucosa de las ratas con trasplantes intraperitoneales y subcutáneos se comparó con la respuesta de glucosa de las ratas que recibieron células de los islotes intraportales. Las IVGTT se realizaron en tres ratas en cada categoría de estudio. A los 40 días y 80 días después del trasplante, los niveles de glucosa en sangre en ratas trasplantadas con células de islotes cayeron por debajo de 8,0 mM dentro de los 50 minutos de recibir un desafío de glucosa, como se muestra en la FIG. 12C. Los dispositivos de trasplante celular se retiraron a los 100 días. Los niveles de glucosa en sangre no disminuyeron cuando se administró un bolo de glucosa a los 110 días, lo que indica que las células de

los islotes trasplantados fueron responsables de la normoglucemia lograda en las ratas diabéticas antes de retirar los dispositivos implantados.

[0066] FIG. 12D muestran respuestas de insulina en ratas Lewis trasplantadas con células de islote. Los niveles de insulina se probaron usando ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA). El análisis se realizó por triplicado. Los resultados indican una diferencia significativa en los niveles de insulina en sangre al momento de la prueba 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 recibieron células de islotes intraportales.

2. Detección histológica de insulina y vascularización dentro de las cámaras porosas de los dispositivos de trasplante celular

[0067] Después de la extracción de los dispositivos implantados a los 100 días, se detectó insulina en los dispositivos utilizando anticuerpos primarios específicos contra la insulina. FIG. 13A muestra el resultado de la tinción de insulina dentro de la cámara porosa de un dispositivo implantado por vía subcutánea. La detección de insulina dentro de la cámara indicó que las células de los islotes contenidas en los dispositivos eran viables y funcionales a los 100 días después del trasplante.

[0068] La evaluación histológica de los dispositivos implantados también se realizó 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 profundamente incrustadas en el tejido conectivo, como se muestra en la FIG. 13B (la estructura oscura indica endotelio; los núcleos celulares se indican con flechas). La evaluación histológica también demostró la penetración de tejido neovascularizado hacia el núcleo de los dispositivos de trasplante celular.

3. Evaluación de la angiogénesis y la deposición de colágeno en dispositivos de trasplante celular

[0069] Para determinar la duración apropiada de la fase de implantación (tiempo entre la implantación del dispositivo y el injerto de los islotes), los dispositivos de trasplante celular se implantaron por vía subcutánea en cerdos Yorkshire-Landrace de ocho semanas de edad durante 2, 4 y 8 semanas. Después de la implantación durante el período de tiempo respectivo, los dispositivos fueron explantados y analizados para determinar el nivel de angiogénesis y deposición de colágeno.

a) Evaluación general de la angiogénesis y la deposición de colágeno

[0070] Se tomaron fotografías de las superficies ventral y dorsal de los dispositivos explantados para un análisis general de la formación de vasos sanguíneos y tejidos. Se colocó una cuadrícula de 1 cm x 1 cm sobre las fotografías para cuantificar la formación de microvasos y tejidos (colágeno con células). Cada caja de 1 cm² dentro de la cuadrícula se puntuó para la formación de vasos, lo que permite calcular un vaso total/cm² para toda la superficie de los dispositivos explantados. Se midió el grosor promedio en los perímetros medial y lateral de los dispositivos para evaluar la cantidad de deposición de colágeno. FIG. 14 muestra una tabla del espesor promedio de colágeno y el vaso sanguíneo total/cm² calculado para cuatro dispositivos formados usando diferentes materiales porosos (mallas). Se observó suficiente formación de microvasos y de tejido para los cuatro tipos de malla a las 2 semanas después de la implantación. Los resultados también indican que la cantidad de tiempo requerida para la formación de microvasos y la deposición de colágeno puede variar según el material del dispositivo (porosidad, rugosidad de la superficie, etc. de las mallas).

b) Análisis histológico de angiogénesis y deposición de colágeno

[0071] La angiogénesis se determinó mediante tinción de células endoteliales con tinción con hematoxilina y eosina (H&E) (FIG. 15A) y factor von Willebrand (FIG. 15B). FIG. 15A demuestra la incorporación de tejido en los dispositivos a las 2, 4 y 8 semanas después de la implantación. FIG. 15B muestra la formación de vasos sanguíneos en varios márgenes de un dispositivo antes del trasplante celular. La evaluación de la incorporación de tejido en los dispositivos mostró que los dispositivos incorporan colágeno y microvasos en todos los puntos de tiempo medidos antes del trasplante de islotes.

4. Evaluación de los dispositivos de trasplante celular que reciben islotes de autoinjerto porcino

[0072] Los cerdos Yorkshire-Landrace de ocho semanas de edad fueron implantados con dispositivos de trasplante de células durante cuatro y ocho semanas. Para hacer que los animales sean diabéticos, se realizó una pancreatectomía al 90% seguida de una dosis intravenosa de estreptozotocina de 150 mg/kg 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 del injerto y la pancreatectomía para permitir el tiempo suficiente para la recuperación y la confirmación de la diabetes.

[0073] Las capacidades de producción de insulina de las células de los islotes inmaduros se probaron antes del trasplante. Como se muestra en la FIG. 16, los islotes inmaduros producen aproximadamente el 10% de la insulina que normalmente se espera de los islotes adultos. Este hecho, combinado con el bajo número de trasplantes de islotes de aproximadamente 3-5K IEQ/Kg (5-10% de los islotes productores de insulina utilizados normalmente en los trasplantes intraportales) proporciona una prueba rigurosa de los dispositivos de trasplante de células. Actualmente en la terapia clínica de trasplante de islotes, la infusión de una cantidad adecuada de masa de células β ha presentado un obstáculo para el tratamiento de la diabetes insulino dependiente. La independencia de la insulina se logra de manera rutinaria cuando se administra una cantidad suficiente de células de los islotes, aproximadamente 10.000 IEQ/Kg de peso corporal del receptor. Para proporcionar esta cantidad de células de los islotes, los protocolos actuales de trasplante de islotes requieren más de un donante de páncreas por receptor, creando una tensión en un suministro de donantes ya limitado. Por lo tanto, si se puede lograr el control glucémico utilizando solo el 5-10% de los islotes utilizados actualmente en los trasplantes intraportales, el número de pacientes diabéticos que podrían recibir terapia de trasplante de islotes aumentaría significativamente.

[0074] Se realizaron análisis histológicos de dispositivos explantados para evaluar la supervivencia a largo plazo y la función de los islotes trasplantados. La función del injerto de islotes también se controló mediante pruebas de tolerancia a la glucosa intravenosa quincenal y a la glucosa intravenosa (IVGTT) cada dos meses.

a) Análisis histológico de la función del injerto de islote

[0075] Después de la explantación de los dispositivos a las 9 semanas, se detectó insulina en los dispositivos utilizando anticuerpos primarios específicos contra la insulina. 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 los islotes contenidas en el dispositivo eran viables y funcionales a las 9 semanas después del trasplante. La tinción inmunohistoquímica de secciones de explantes demostró islotes sanos y bien configurados rodeados de microvasos robustos (Figura 17B; microvasos indicados por flechas).

b) Mediciones de glucosa en sangre

[0076] Se midieron los niveles semanales de glucosa en sangre en ayunas y no en ayunas para controlar la función del injerto de islote después del trasplante. Estas medidas ayudan a determinar la eficacia general de los dispositivos de trasplante celular en el control a largo plazo de los niveles de glucosa en sangre. Las lecturas de glucosa en sangre en ayunas proporcionan una medida controlada de la función del injerto. Brevemente, se recoge una gota (varios microlitros) de sangre de una vena de un animal receptor, y el nivel de glucosa en sangre se determina usando un glucómetro Freestyle Lite u otro dispositivo de prueba de glucosa.

[0077] Como se muestra en la FIG. 18, los islotes trasplantados demostraron un control a largo plazo de la glucosa hasta la explantación de los dispositivos a los 72 días. Los animales en el grupo de "control glucémico" (n = 4) eran independientes de la insulina, y los niveles de glucosa en sangre fueron controlados por los islotes en los dispositivos de trasplante de células solo. Los animales en este grupo mostraron independencia de insulina a largo plazo después del trasplante de islotes. Sin embargo, algunos animales permanecieron hiperglucémicos (niveles elevados de glucosa en sangre diarios) después del trasplante de islotes en los dispositivos (n = 6). Esto se relacionó con la mala calidad metabólica de los islotes previos al 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

[0078] Las pruebas de tolerancia a la glucosa son importantes para evaluar la función del injerto de islotes mediante la comparación de los resultados IVGTT previos y posteriores al trasplante. Para probar la eficacia de los dispositivos de trasplante de células, se realizaron IVGTT antes de la pancreatectomía (línea de base), en varios puntos de tiempo después del trasplante de islotes en los dispositivos y después de la explantación de los dispositivos. La IVGTT se realizó inyectando una dosis de dextrosa y midiendo el tiempo que tarda la insulina endógena en llevar los niveles de glucosa al valor inicial. Además de medir el nivel de glucosa en sangre, se tomaron muestras de sangre en varios puntos de tiempo para medir el nivel de péptido C, que es un subproducto creado cuando las células β producen insulina. Los resultados para un IVGTT se interpretaron usando valores absolutos del nivel de glucosa en sangre (FIG. 19A), área bajo la curva (AUC) del nivel de glucosa en sangre (FIG. 19B) y cambio de pliegue en el nivel de péptido C (FIG. 19C).

[0079] Como se muestra en las FIGS. 19A y 19B, los niveles de glucosa aumentan significativamente (p <0,001, Anova) después de explantar el dispositivo, lo que indica que la eliminación del dispositivo da como resultado la eliminación de la función de insulina similar a un animal diabético sin islotes. Si bien los niveles de glucosa más bajos se detectaron en animales no pancreatectomizados, los receptores de autoinjerto de islotes mostraron una reducción significativa de los niveles de glucosa después de la inyección de dextrosa, lo que indica que los islotes inmaduros pueden sobrevivir y funcionar después del trasplante.

[0080] Las muestras de suero de los IVGTT se analizaron usando el kit de radioinmunoensayo de péptido C porcino

de Linco, que utiliza un anticuerpo fabricado específicamente contra el péptido C porcino sintético. Las muestras de suero a los 0, 5, 15, 30, 60 y 120 minutos después de la inyección de dextrosa se analizaron para detectar la presencia de péptido C porcino. Se probaron cuatro grupos de estudio: cerdos no pancreatectomizados (línea de base), receptores de autoinjerto de islotes (trasplante post-islote), receptores de autoinjerto a los que se les extrajeron sus dispositivos (extracción posterior al dispositivo) y cerdos de control diabético. Al examinar los cambios de fold en los niveles de péptido C entre los diferentes grupos de estudio, los receptores de trasplante de línea de base y post-islote mostraron resultados muy comparables, aunque el nivel de péptido C en los receptores de trasplante de post-islote aumentó a los 60 minutos en lugar de 30 minutos para el grupo de referencia (FIG. 19C). Además, los cambios de fold en el péptido C para el grupo de eliminación posterior al dispositivo y el grupo de control diabético fueron similares, lo que indica que los islotes trasplantados fueron responsables de la liberación del péptido C antes de la eliminación del dispositivo.

REIVINDICACIONES

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

5 un andamio poroso que comprende al menos una cámara que tiene un extremo proximal y un extremo distal, comprendiendo el andamio poroso una malla que tiene poros dimensionados para facilitar el crecimiento de tejidos vasculares y conectivos en al menos una cámara; y
 al menos un tapón extraíble configurado para colocarse dentro de la al menos una cámara;
 10 en donde la malla es una malla de polímero que es inmunológicamente compatible y permite obtener imágenes del tejido neovascularizado.

2. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que el armazón poroso está recubierto con agentes para estimular la incorporación de tejido y la angiogénesis.

15 **3.** El dispositivo de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el andamio poroso está recubierto con un polímero no biodegradable sin un fármaco.

4. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el dispositivo comprende uno o más islotes de células de Langerhans, células madre, células de sangre de cordón umbilical, células madre embrionarias, células genéticamente modificadas o líneas celulares o una combinación de las mismas.

5. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el dispositivo comprende células madre dentro de la cámara, en el que las células madre son (i) inmaduras, (ii) parcialmente diferenciadas o (iii) completamente diferenciadas.

25 **6.** El dispositivo de cualquier reivindicación precedente, en el que la al menos una cámara comprende una abertura en uno o ambos extremos proximal y distal de la cámara, y en el que el dispositivo comprende:

30 al menos un sistema de dos tapones en el que el tampón extraíble es un tampón externo configurado para colocarse dentro de la al menos una cámara, y un tampón interno está configurado para colocarse dentro del tampón externo; y
 al menos un sello configurado para encerrar la abertura en uno o ambos extremos proximales y distales de la cámara.

35 **7.** El dispositivo de la reivindicación 6, en el que la pared interna del tapón externo comprende al menos una protuberancia a lo largo de la longitud del tapón externo.

8. El dispositivo de la reivindicación 6, que comprende además un dispositivo de suministro de células que comprende al menos un tubo de infusión de células configurado para colocarse dentro del tapón externo.

40 **9.** El dispositivo de la reivindicación 6, en el que el dispositivo de suministro de células comprende además un conector configurado para conectarse al tapón externo cuando el al menos un tubo de infusión de células se inserta en el tapón externo, y opcionalmente en el que el conector comprende un clip para conectarse al tapón externo, y opcionalmente en donde la unión del conector al tapón externo permite que el conector y el tampón externo se retraigan del dispositivo como una sola unidad.

10. El dispositivo de la reivindicación 6, en el que al menos una porción del andamio poroso está recubierto con uno o más materiales biodegradables que llenan los poros del andamio poroso.

50 **11.** El dispositivo de la reivindicación 6, en el que al menos una parte del andamio poroso está recubierto con un factor de crecimiento, un agente antifibrótico, un polímero que es opcionalmente un polímero de elección de fármaco, y/o una sustancia para estimular la angiogénesis y la incorporación de tejido dentro de la al menos una cámara porosa en la que la sustancia es opcionalmente factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), y/o en la que al menos una parte del armazón poroso está rugosa para estimular la incorporación de tejido en la al menos una cámara porosa.

55 **12.** El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las células se mezclan con un polímero biodegradable, en el que el polímero biodegradable es opcionalmente polietilenoimina y sulfato de dextrano, poli(vinilsiloxano)ecopolimeropolietilenoimina, fosforilcolina, poli(etilenglicol), ácido poli(láctico-glicólico), ácido poli(láctico), polihidroxiclato y copolímeros, polihidroxiclato y copolímeros, polidixanona, polianhídridos, poli(aminoácidos), poli(ortoésteres), poliésteres, colágeno, gelatina, polímeros de celulosa, quitosanos, alginatos, fibronectina, proteínas de matriz extracelular, vinculina, agar, agarosa, ácido hialurónico, matrigel o una combinación de los mismos.

65 **13.** El dispositivo de la reivindicación 12, en el que el dispositivo comprende células encapsuladas.

14. El dispositivo de la reivindicación 13, en el que las células se encapsulan en un sistema de encapsulación que

comprende alginato, un hidrogel de polisacárido, quitosano, alginato de calcio o bario, una matriz estratificada de alginato y polilisina, polímero de polietilenglicol fotopolimerizable, un poliacrilato, metacrilato de hidroxietilo, metacrilato de metilo, una cápsula de silicio, una nanocápsula de silicio o una polimembrana (cloruro de acrilonitrilo-co-vinilo).

- 5 **15.** El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 6-14, en el que el dispositivo comprende una o más células donantes alogénicas, xenogénicas o singénicas, células derivadas de pacientes, que incluyen células madre, células de sangre de cordón y células madre embrionarias, islotes de células de Langerhans, células genéticamente modificadas o líneas celulares o una combinación de las mismas.
- 10 **16.** El dispositivo de cualquier reivindicación precedente, para usar en un método de trasplante de células en un cuerpo huésped.

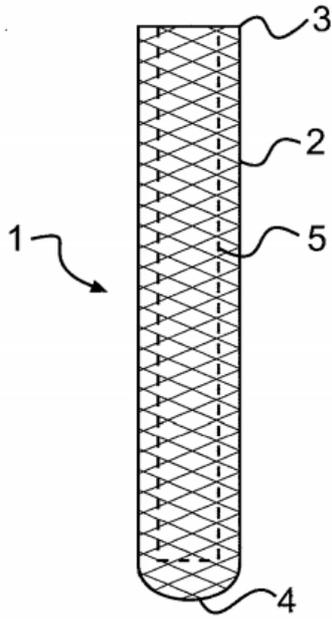


FIG. 1A

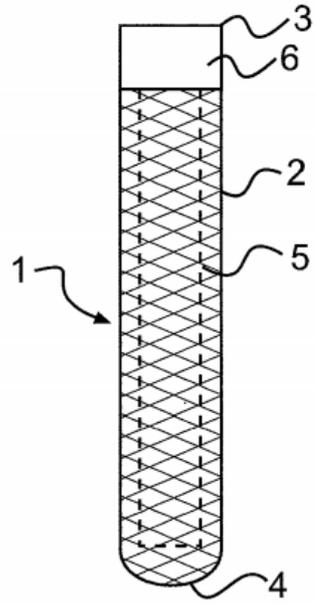


FIG. 1B

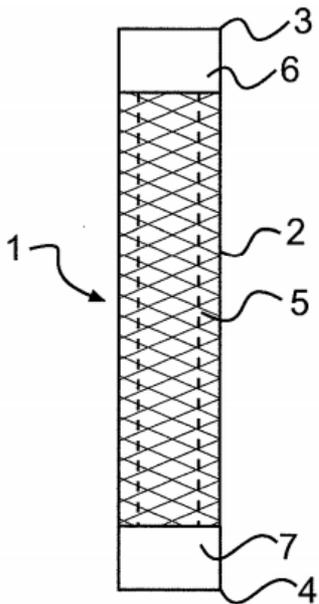


FIG. 1C

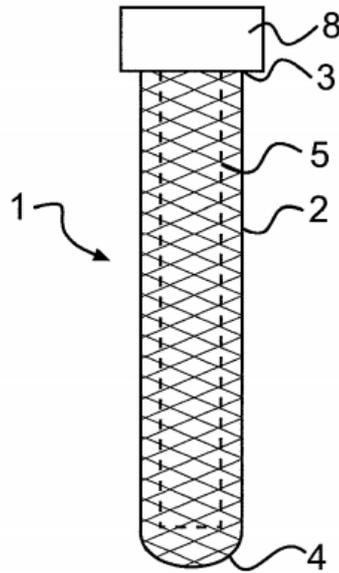


FIG. 1D

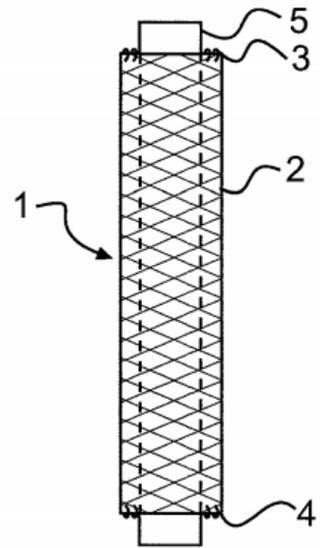


FIG. 1E

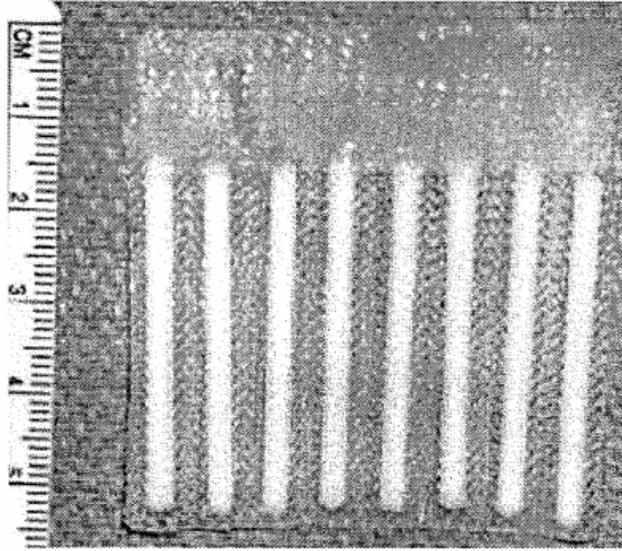


FIG. 1F

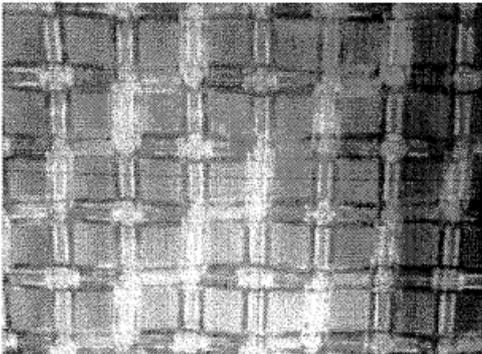


FIG. 2A

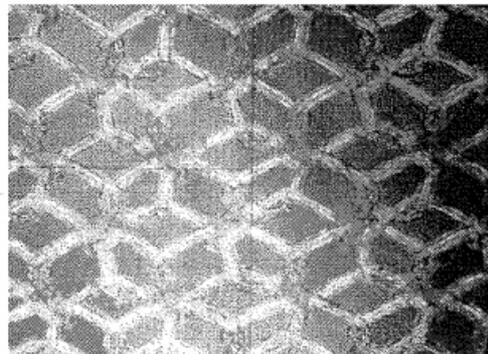


FIG. 2B

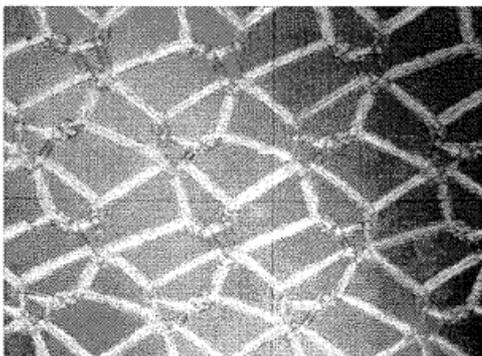


FIG. 2C

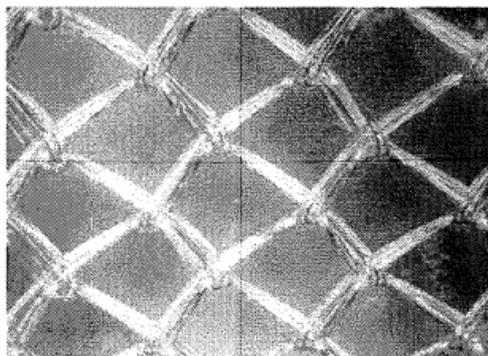


FIG. 2D

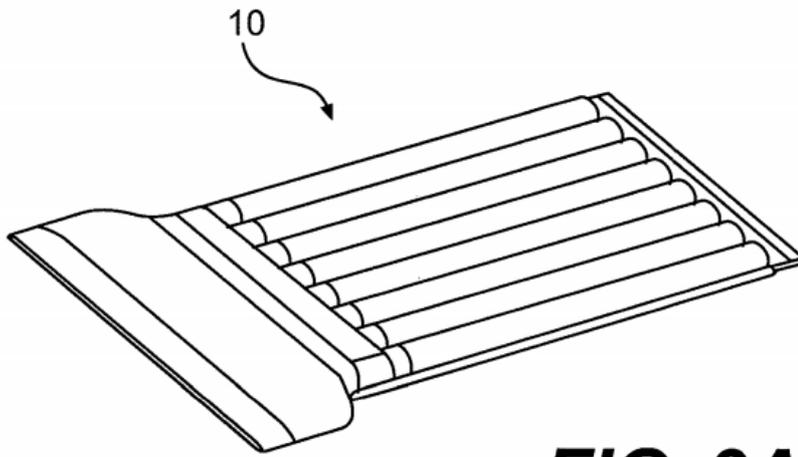


FIG. 3A

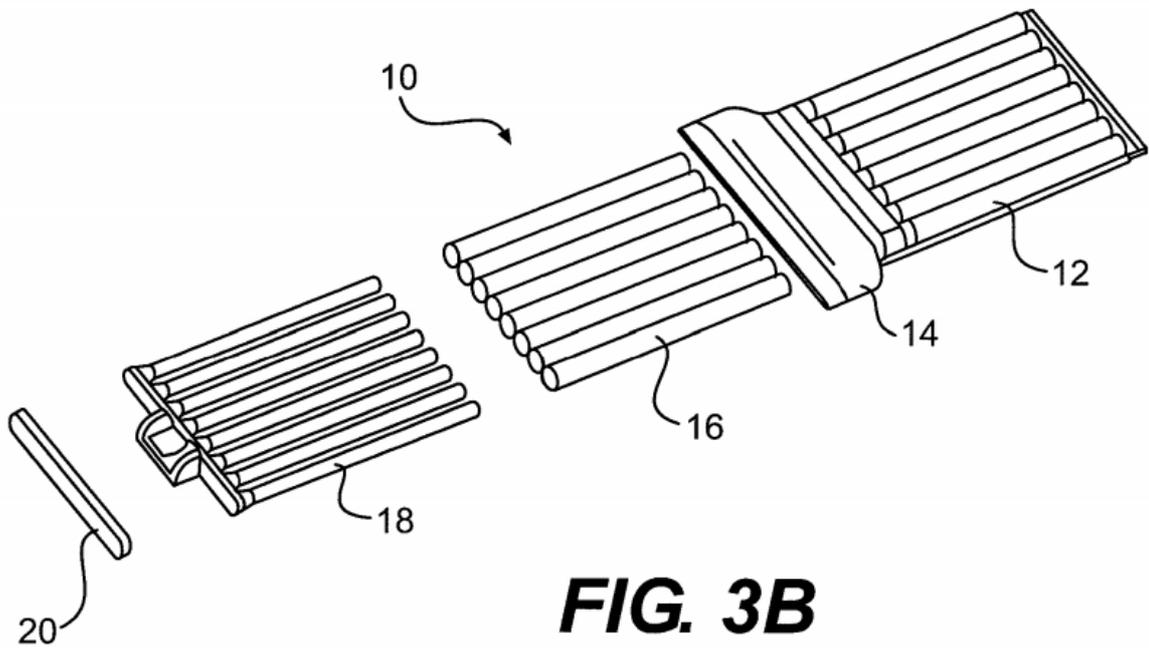


FIG. 3B

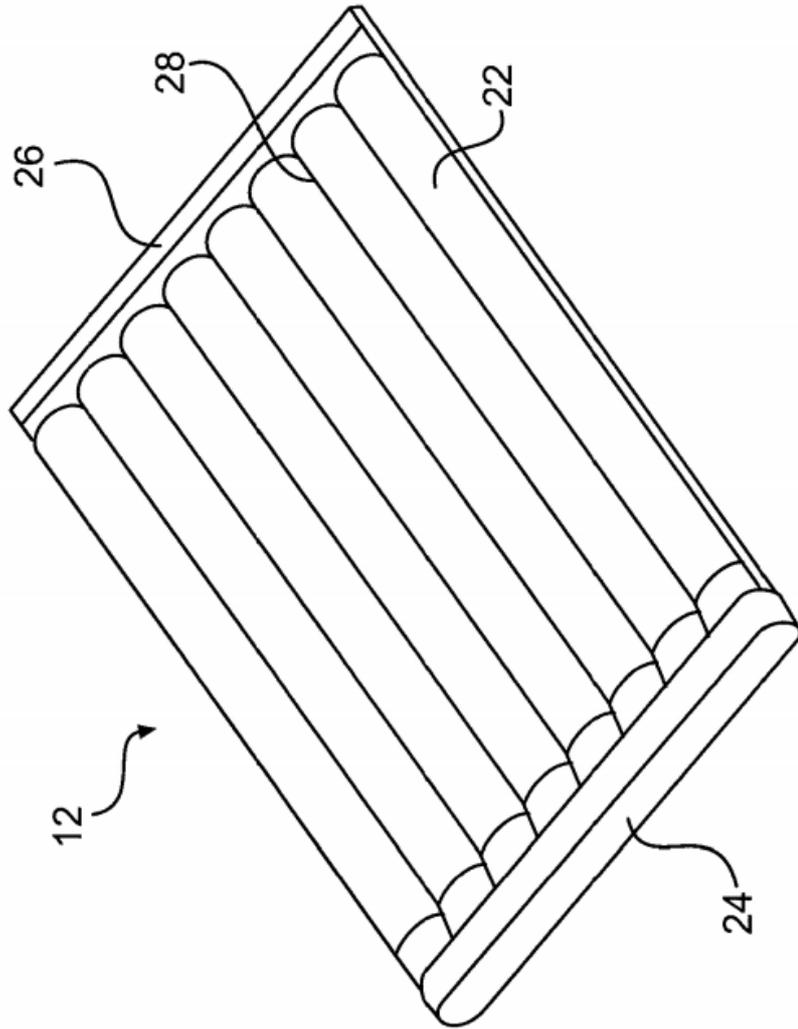


FIG. 4

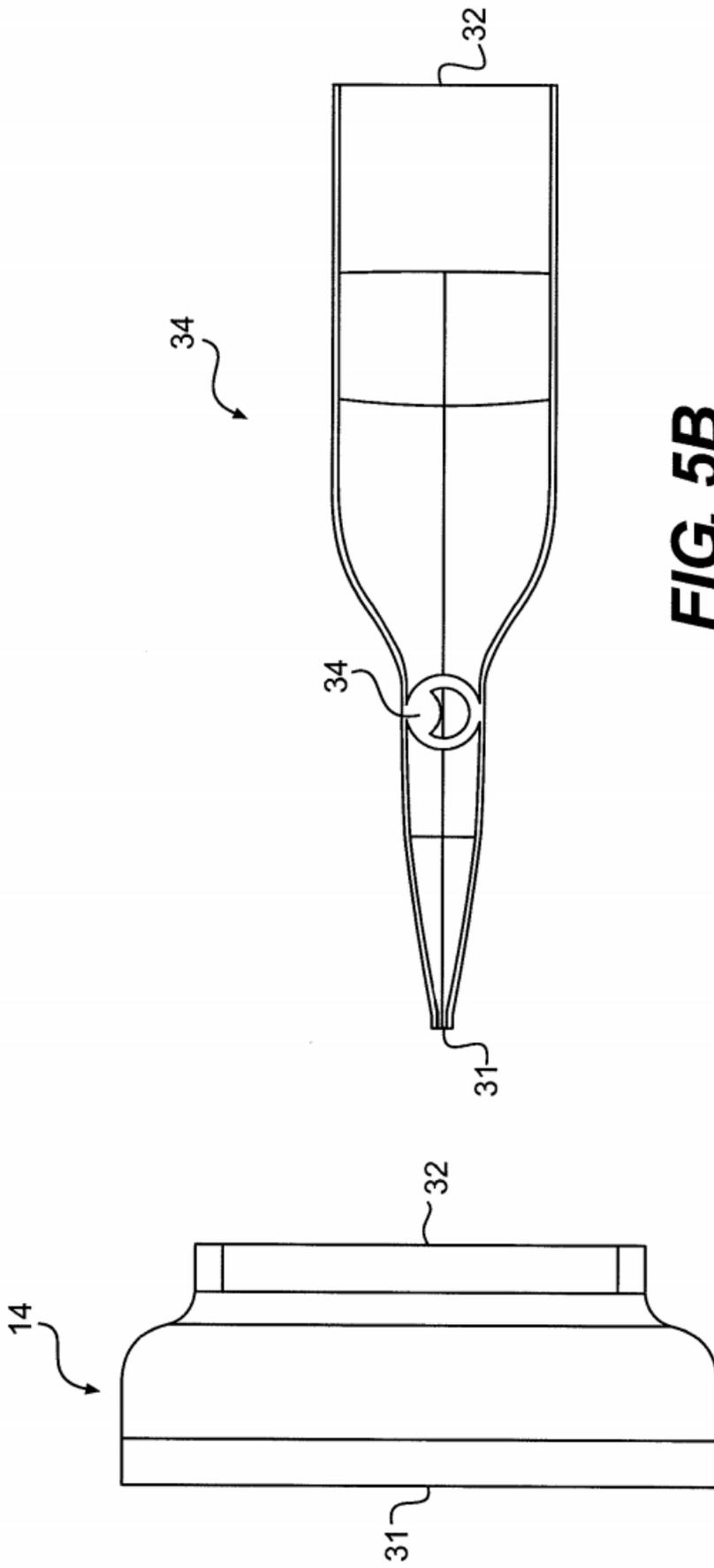
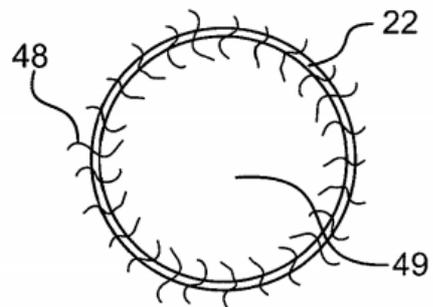
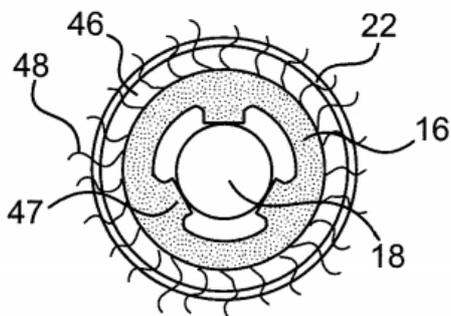
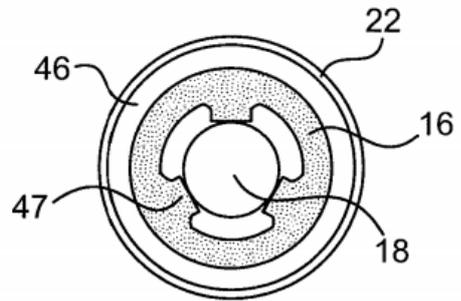
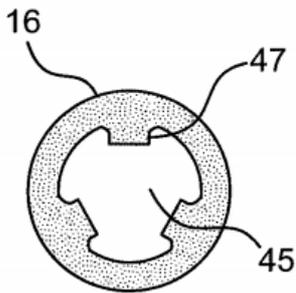
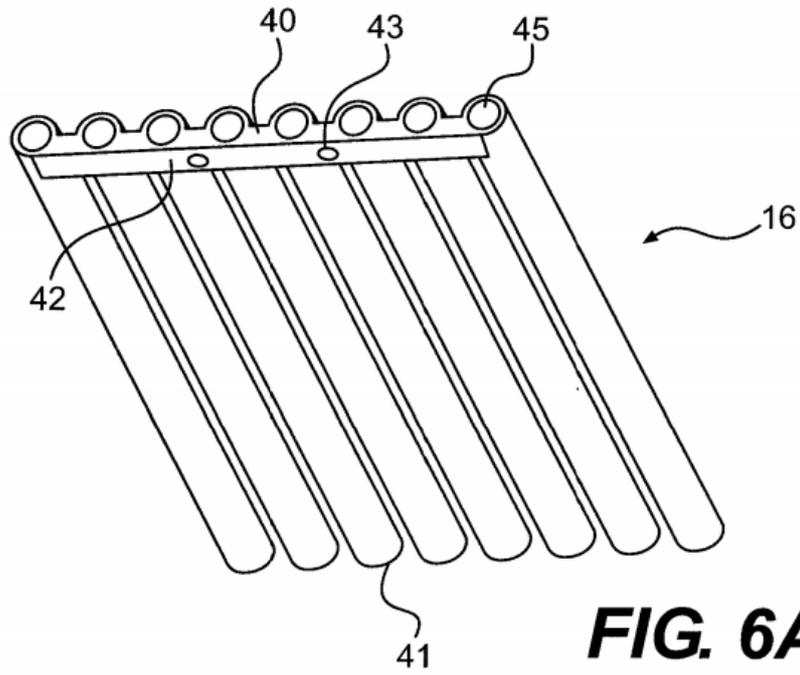


FIG. 5A

FIG. 5B



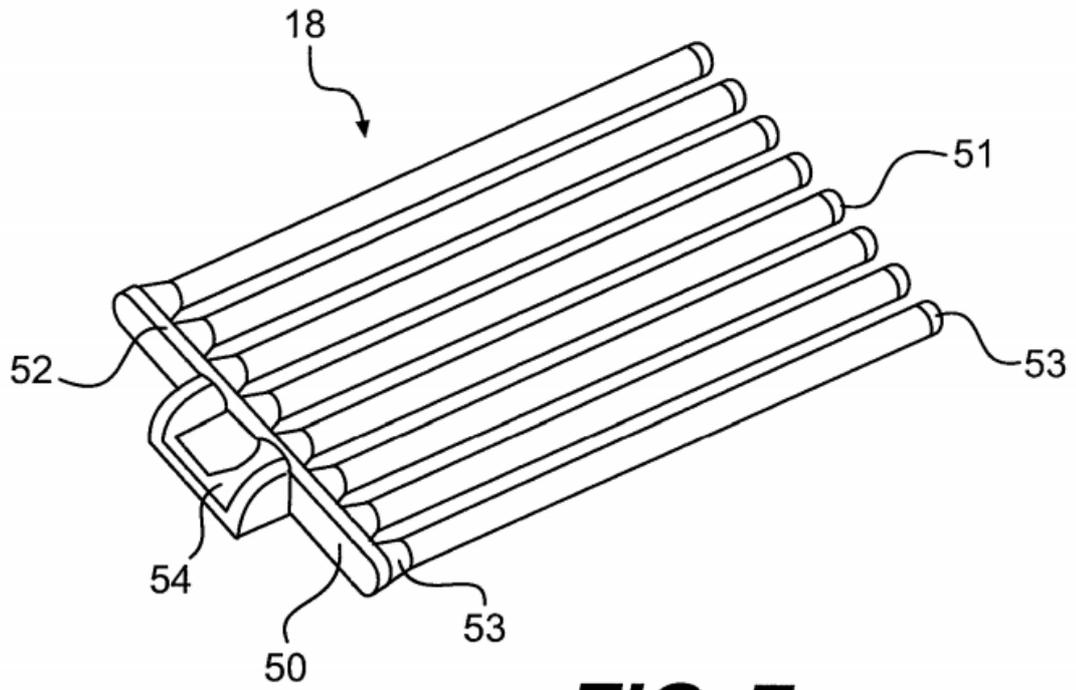


FIG. 7

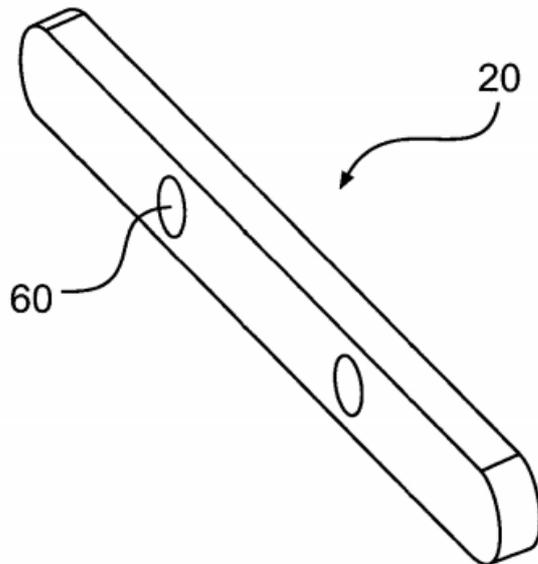


FIG. 8

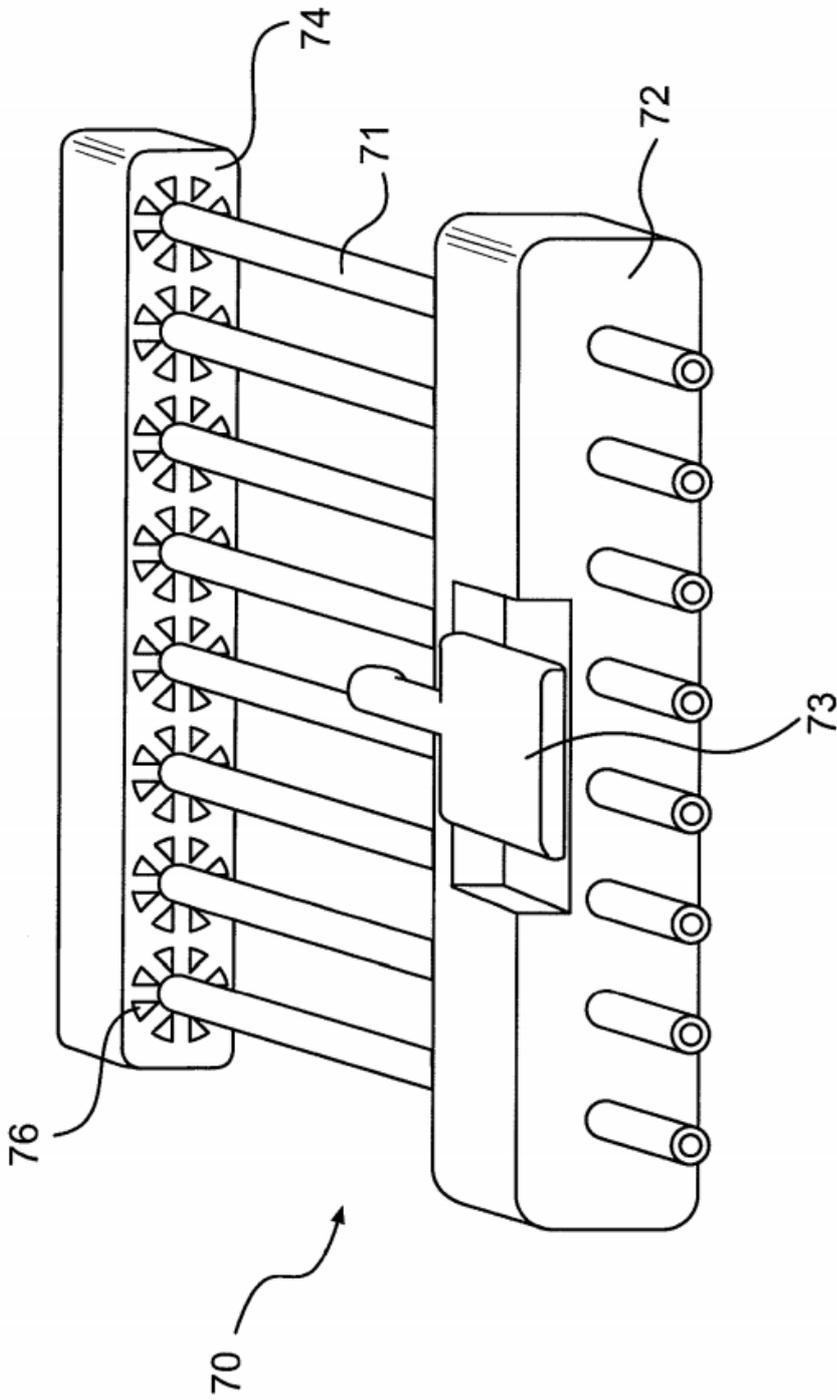


FIG. 9A

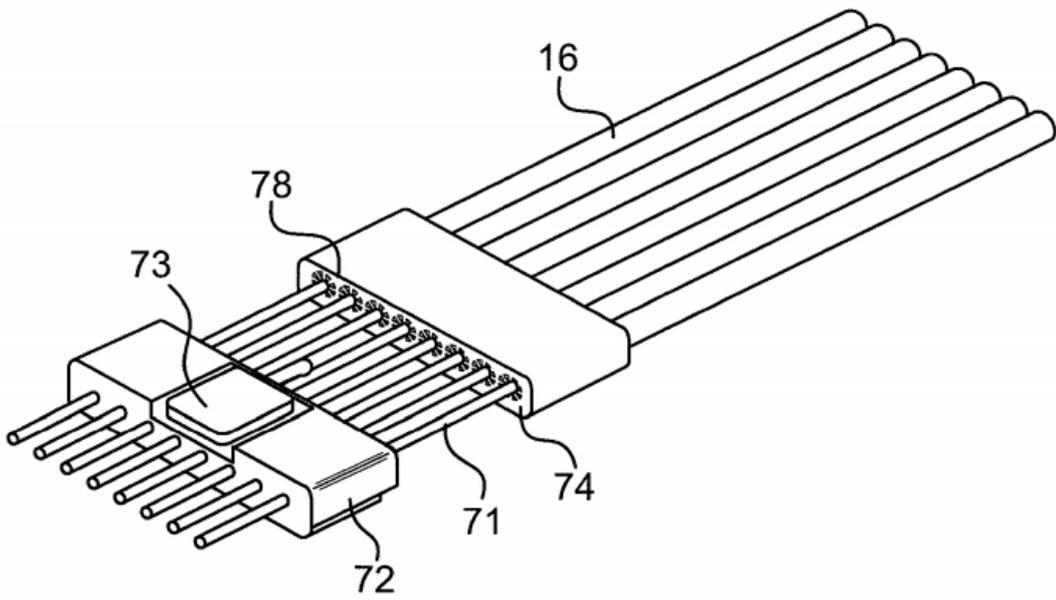


FIG. 9B

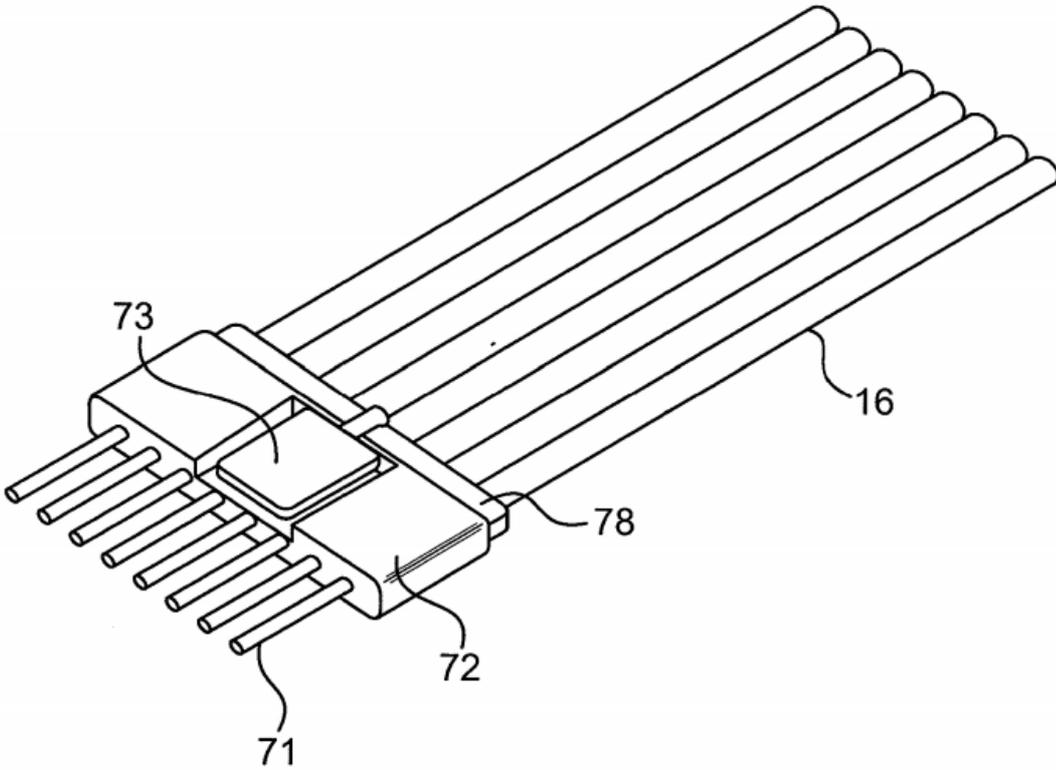


FIG. 9C

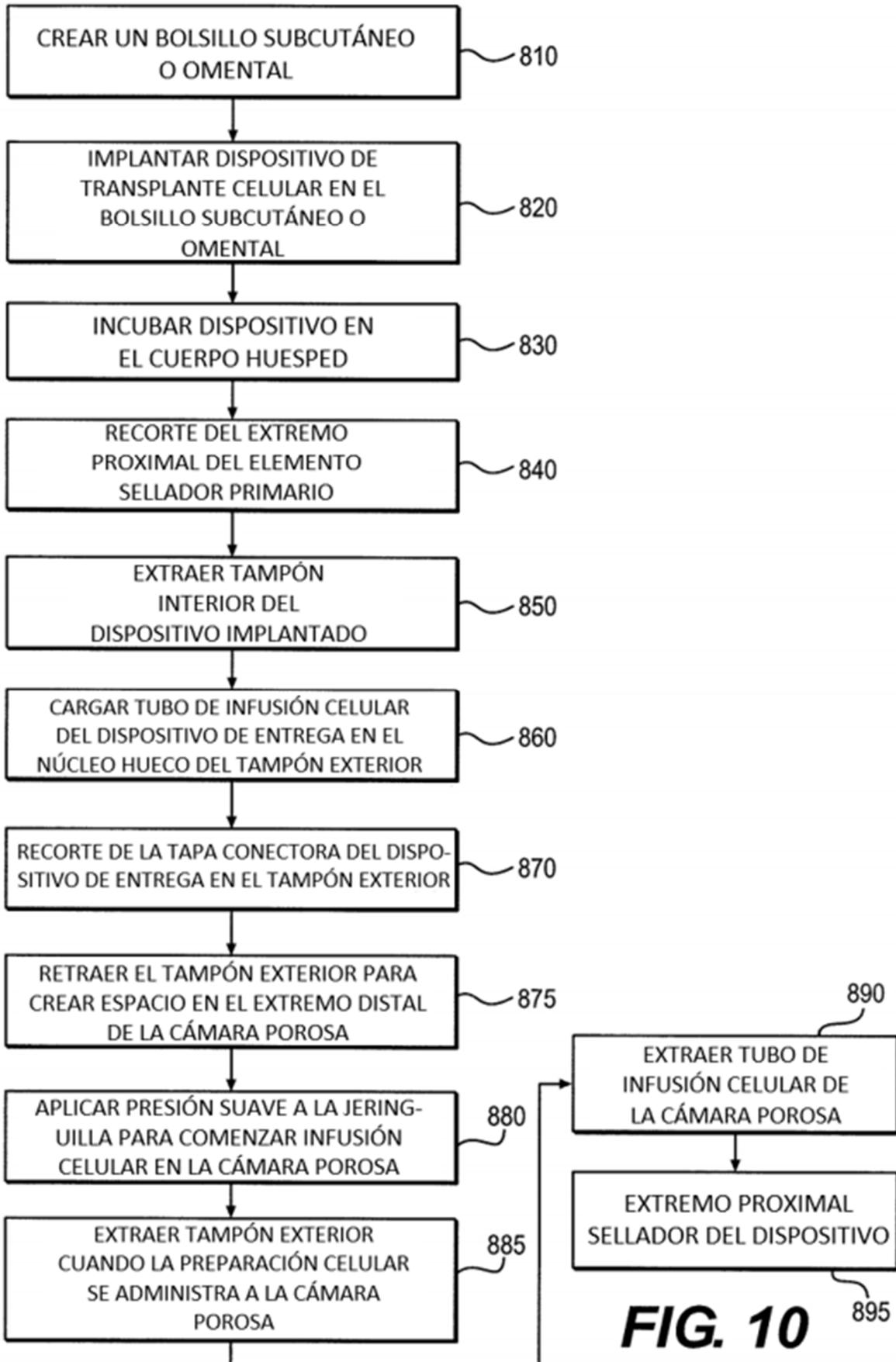


FIG. 10

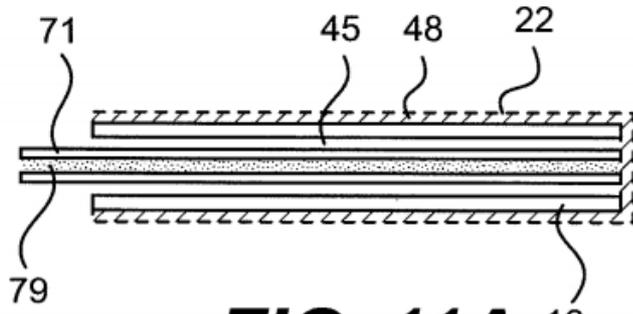


FIG. 11A

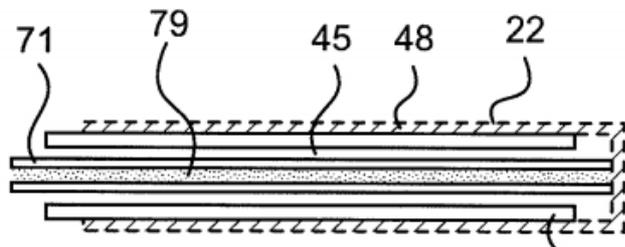


FIG. 11B

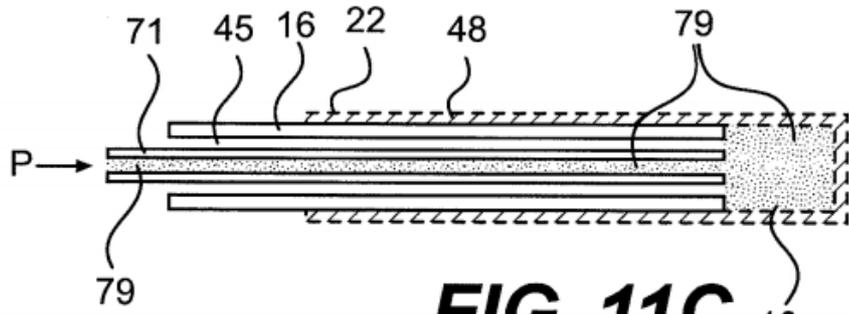


FIG. 11C

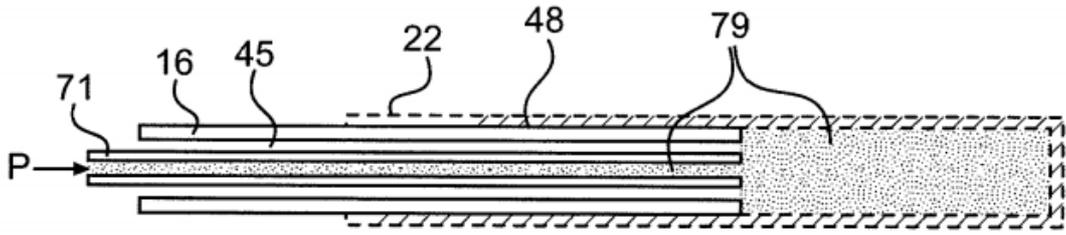


FIG. 11D

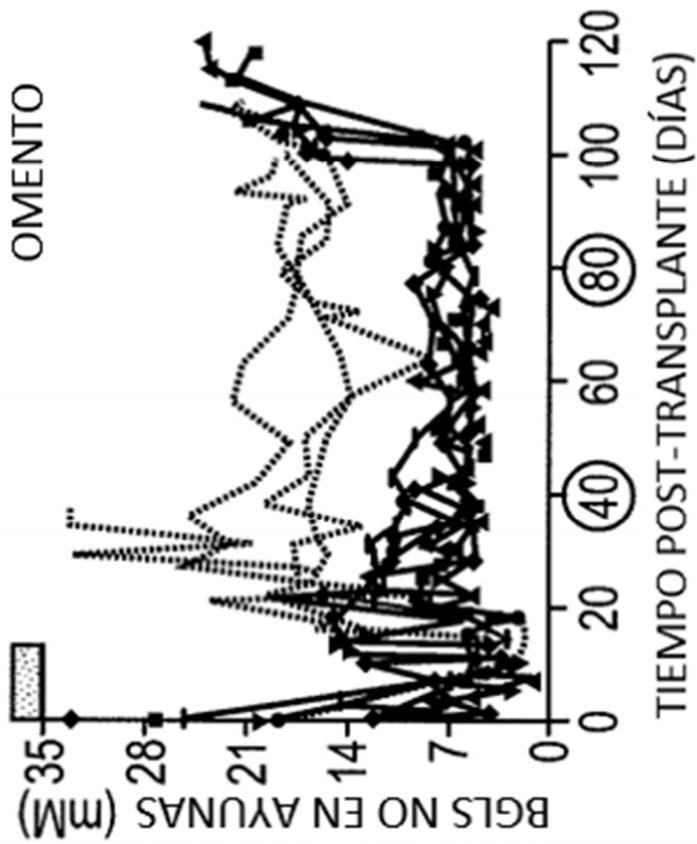
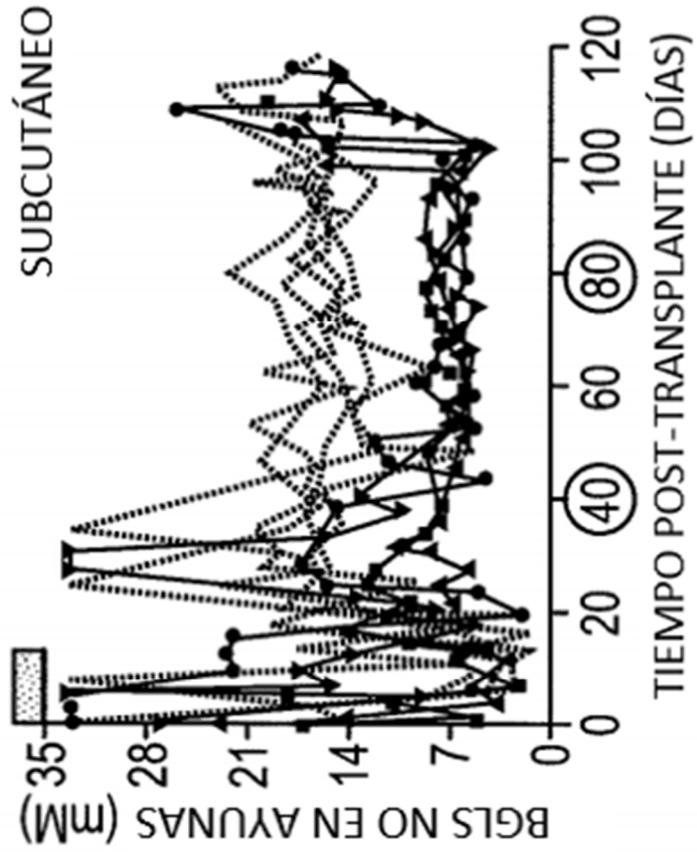


FIG. 12B

FIG. 12A

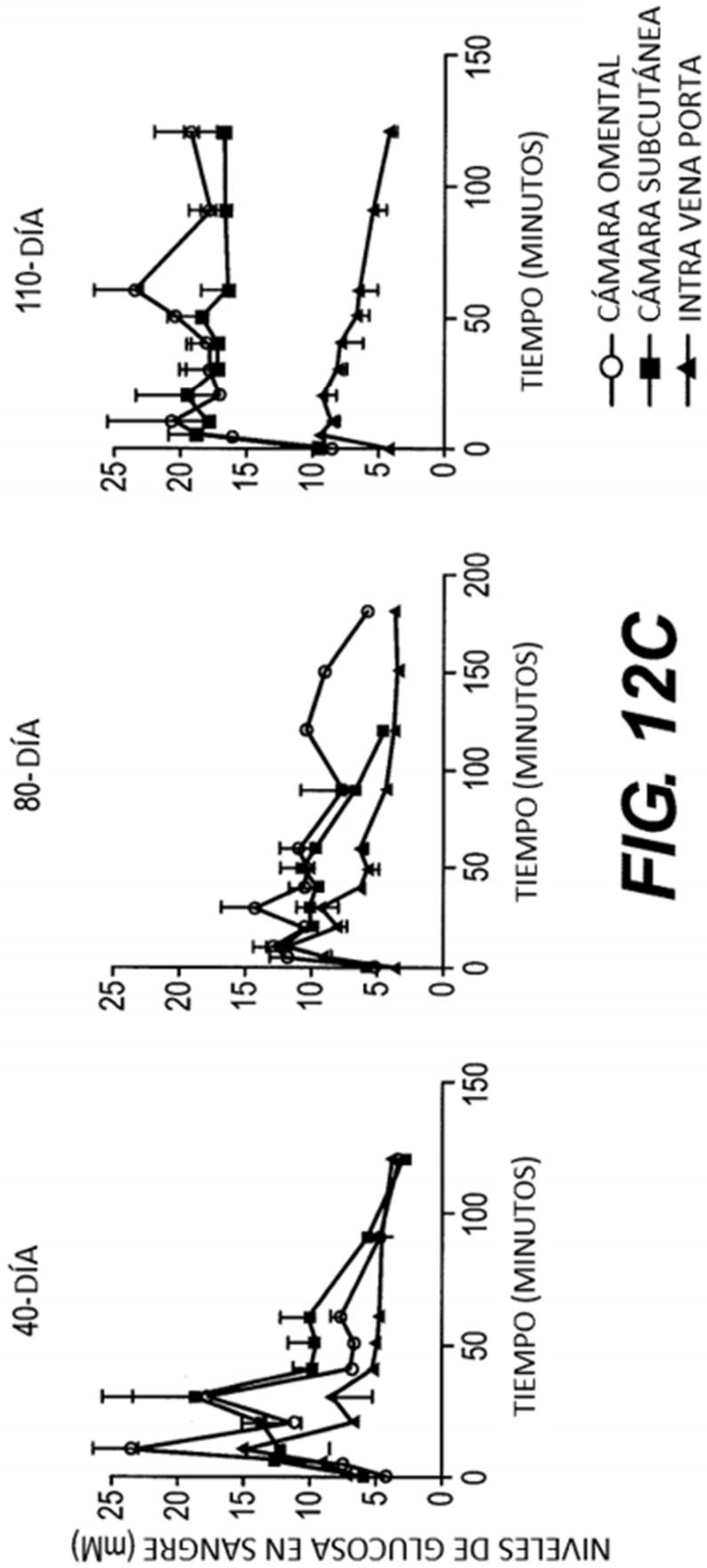


FIG. 12C

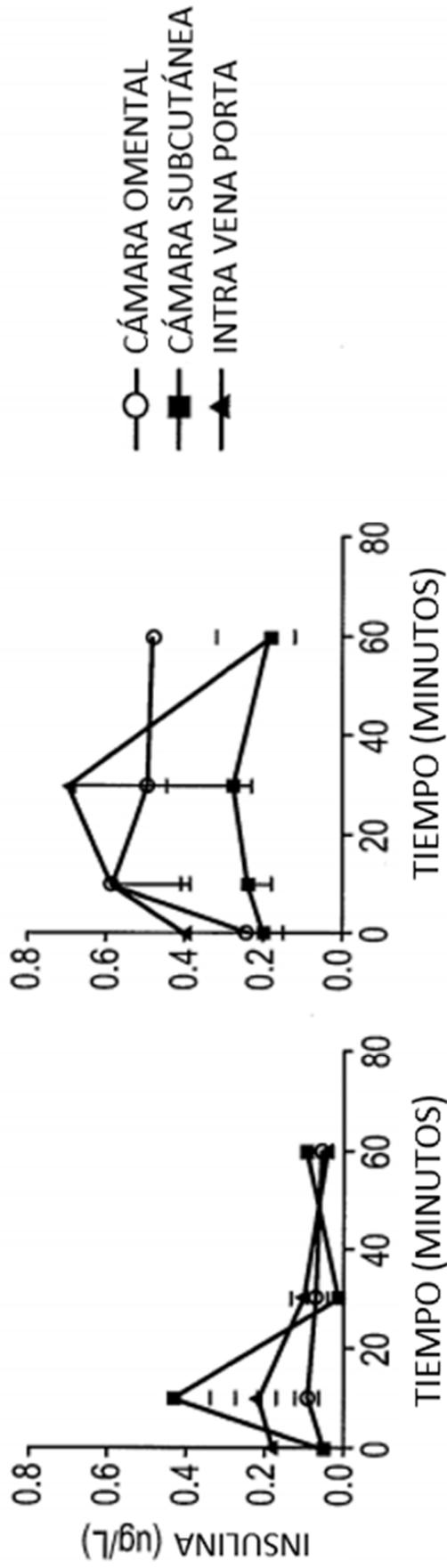


FIG. 12D

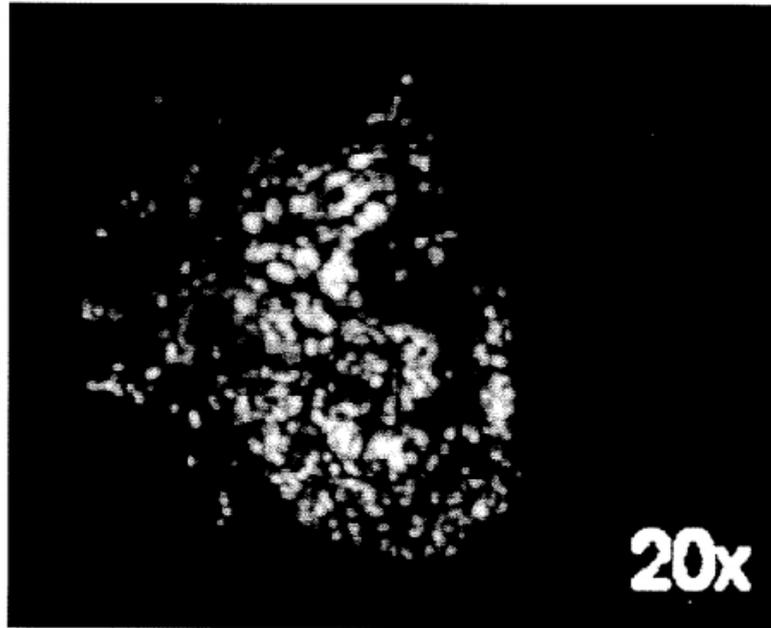


FIG. 13A



FIG. 13B

2 SEMANAS (n=2)

	MALLA 1	MALLA 2	MALLA 3	MALLA 4
ESPEJOR MEDIO DE COLÁGENO (mm)	3.63	2.96	3.63	3.55
VASOS SANGUÍNEOS POR cm ²	5.2	5.92	3.11	2.76

4 SEMANAS (n=1)

	MALLA 1	MALLA 2	MALLA 3	MALLA 4
ESPEJOR MEDIO DE COLÁGENO (mm)	3.17	2.67	5.33	3.67
VASOS SANGUÍNEOS POR cm ²	4.12	3.15	2.64	4.74

8 SEMANAS (n=1)

	MALLA 1	MALLA 2	MALLA 3	MALLA 4
ESPEJOR MEDIO DE COLÁGENO (mm)	3.0	3.33	4.17	5.0
VASOS SANGUÍNEOS POR cm ²	3.75	1.87	2.39	2.21

FIG. 14

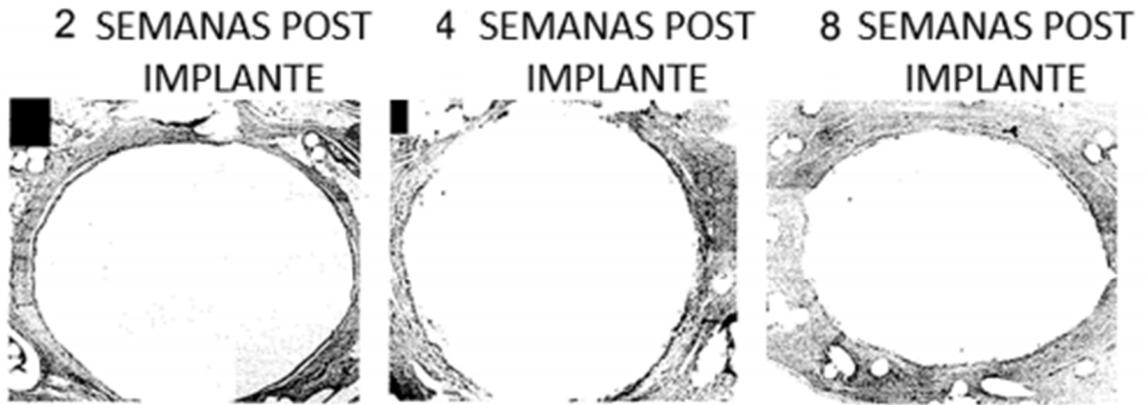


FIG. 15A

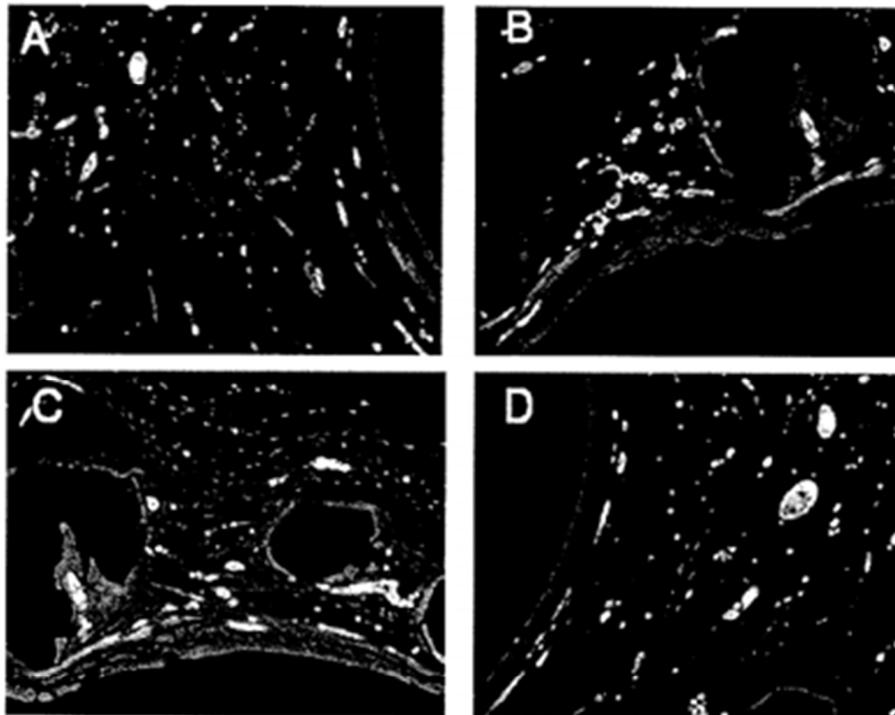


FIG. 15B

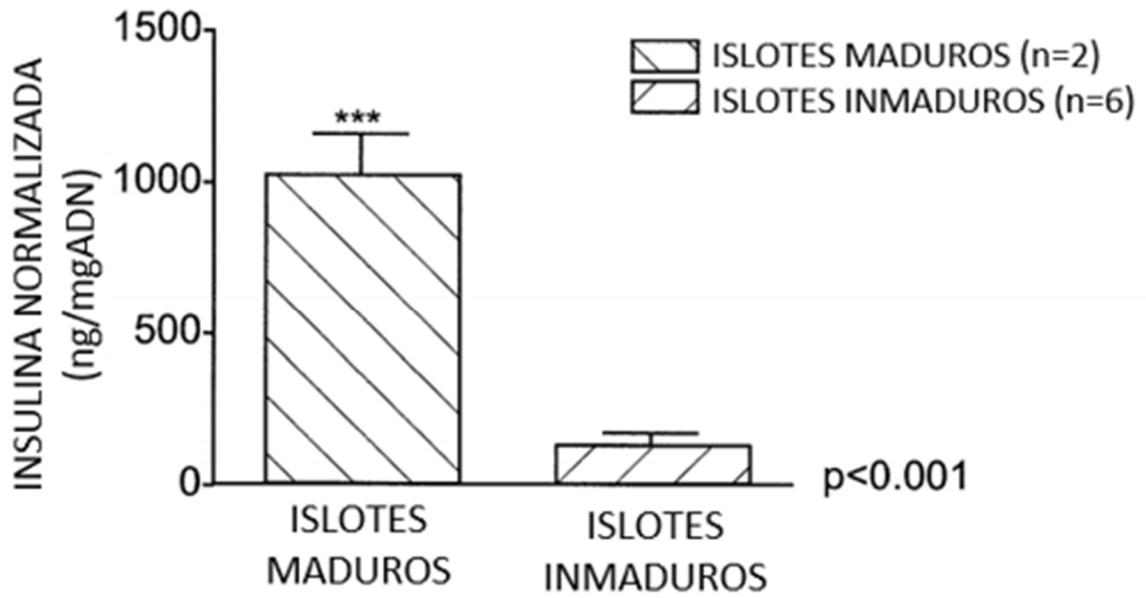


FIG. 16

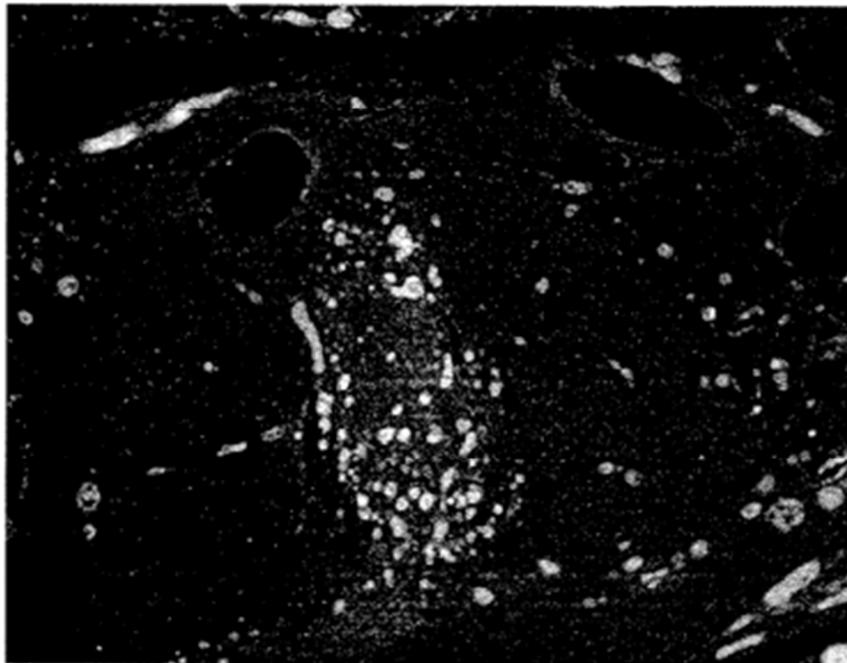


FIG. 17A

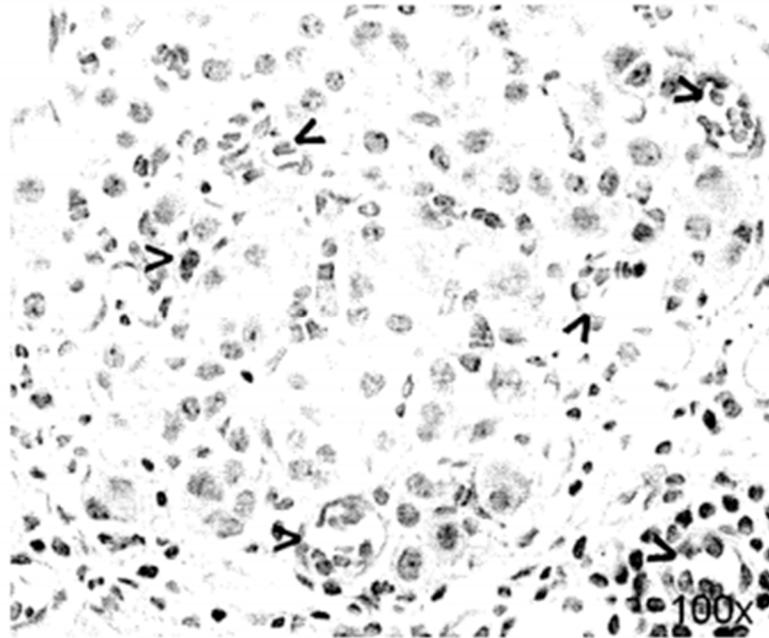


FIG. 17B

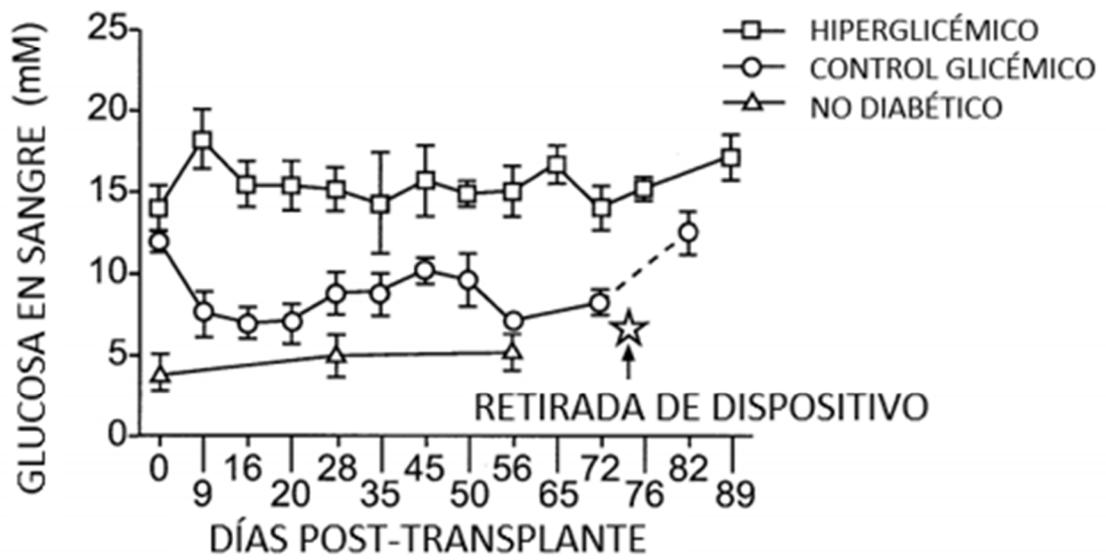


FIG. 18

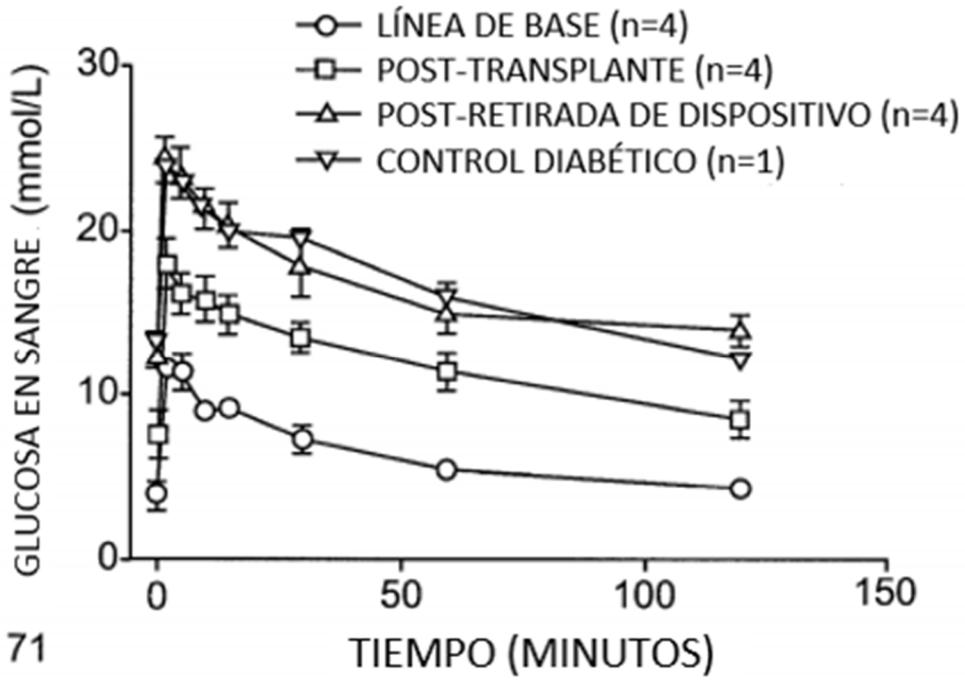


FIG. 19A

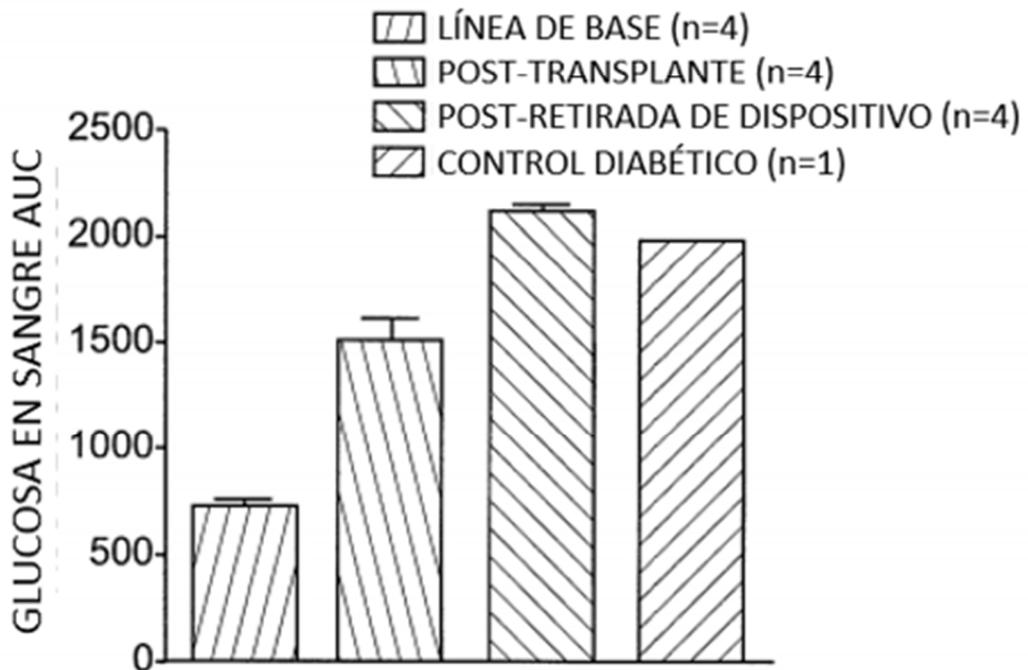


FIG. 19B

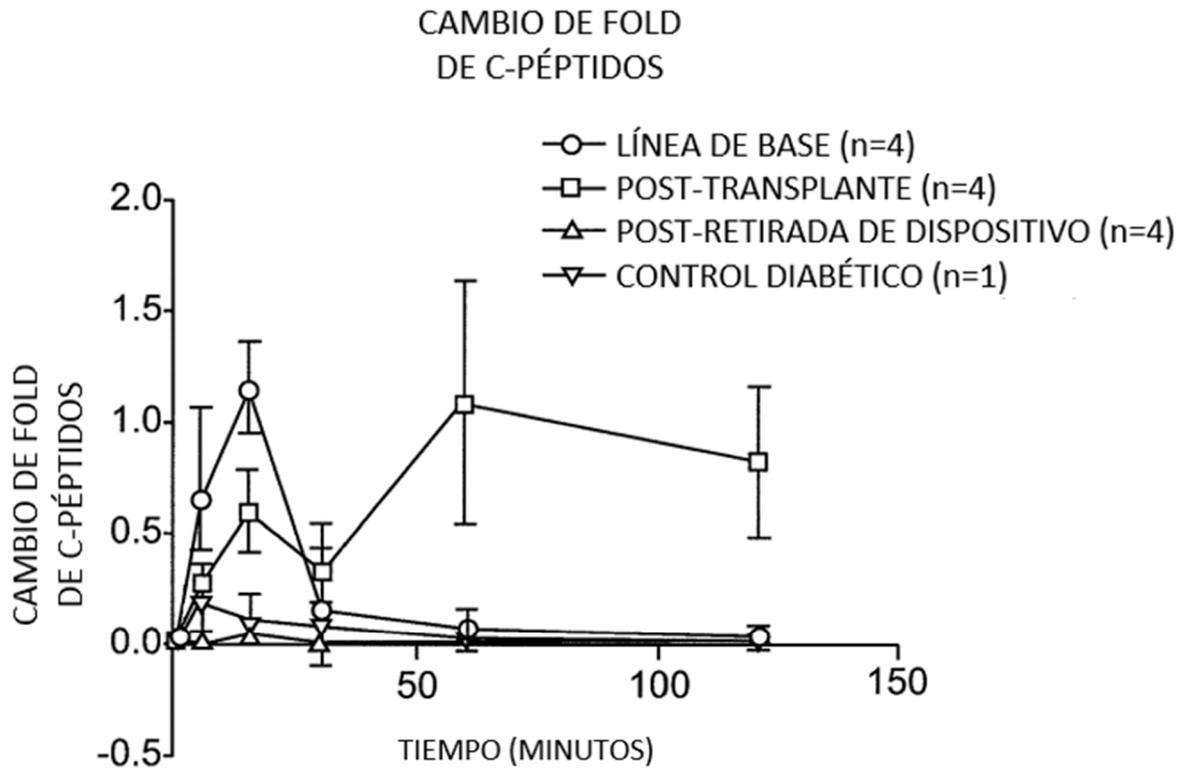


FIG. 19C