

La microencapsulación de células. ¿Una nueva alternativa terapéutica?*

JOSÉ LUIS PEDRAZ y GORKA ORIVE
*Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica
Universidad del País Vasco (UPV/EHU)*

RESUMEN

La microencapsulación de células es una estrategia terapéutica que permite el tratamiento de un gran número de enfermedades crónicas sin la necesidad de agentes inmunosupresores. Para lograr este objetivo es necesario inmovilizar células secretoras de productos terapéuticos en microcápsulas convenientemente diseñadas, de forma que se asegure la funcionalidad del injerto a largo plazo. Los avances realizados en este campo, a lo largo de los últimos años, auguran que la microencapsulación de células pueda convertirse, en un futuro no muy lejano, en una estrategia terapéutica de uso clínico habitual.

Palabras clave: Microcápsula.— Célula— Encapsulación.— Biotecnología.

ABSTRACT

The cell microencapsulation technology. A new therapeutic alternative?

The aim of cell microencapsulation technology is to treat multiple diseases in the absence of immunosuppression. On this purpose, cells are immobilized within carefully designed capsules that allow the long-term function of the graft. Although

* Conferencia impartida en la Real Academia Nacional de Farmacia el día 6 de mayo de 2004.

the potential impact of this field is still far broader, the past few years have seen several firsts which has brought the whole technology much closer to a realistic proposal for clinical application.

Key words: Microcapsule.— Cell.— Encapsulation.— Biotechnology.

EXTENSIVE ABSTRACT

In the past decades, much effort has been focused on the development of immunoisolation technologies for the long-term transplantation of biologically active molecules to restore or improve native tissue function. The potential impact of these technologies from a therapeutic and economic standpoint of view is enormous since chronic administration of immunosuppressants and implementation of strict immunosuppressive protocols might be eliminated, thereby facilitating patients' life quality.

Microcapsules are probably the current preferable system for cell transplantation and represent an exciting biotechnological approach for both organ replacement and continuous and controlled drug delivery. The concept of cell microencapsulation is in theory fairly simple. It consists of enclosing the biologically active material within a polymeric matrix surrounded by a semipermeable membrane that is designed to circumvent immune rejection. This membrane allows the bidirectional diffusion of nutrients, oxygen and waste, yet prevents immune cells and antibodies, which might destroy the enclosed cells, from entering. In this way, it is possible to maintain the long-term function of the transplant in a sequestered environment.

In light of increasing incidence of age-related diseases and the current desperate shortage of donor organs, the hope that encapsulated cells may be used as therapeutics seems increasingly to be realized. Furthermore, the potential of this approach includes encapsulated cells which supply the host with regulated and/or continuous «de novo» delivery of therapeutic product. These artificial cells can be transplanted into a variety of tissues and organs, making the technology suitable for a local (solid tumors), regional (brain), oral or systemic delivery (intraperitoneal) of therapeutics. When long-term continuous delivery of therapeutics is required, the cost of encapsulated cells may be off-set by the cost of the therapeutic product. Further, the same capsule chemistries could be used for a large number of patients regardless of the Human Leukocyte Antigen (HLA), making this approach cost-effective.

Recent progress in the field has brought the whole technology much closer to a realistic proposal for clinical application. In fact, the results achieved from small and large animal models have provided the scientific basis for several clinical trials including the encapsulation of allogeneic islets for the treatment of diabetes, or the most recent immobilization of cytochrome P450 enzyme expressing cells for the eradication of pancreatic cancer.

INTRODUCCIÓN

La microencapsulación de células es una prometedora estrategia biotecnológica basada en la inmovilización de células, tejidos o enzimas en estructuras poliméricas, con el fin de sustituir, parcial o totalmente, tejidos u órganos dañados o disfuncionales, así como desarrollar un sistema farmacéutico que permita la liberación continua y controlada de productos terapéuticos (1). De esta forma, el espectro de aplicación de esta tecnología abarca un gran número de patologías (Figura 1).

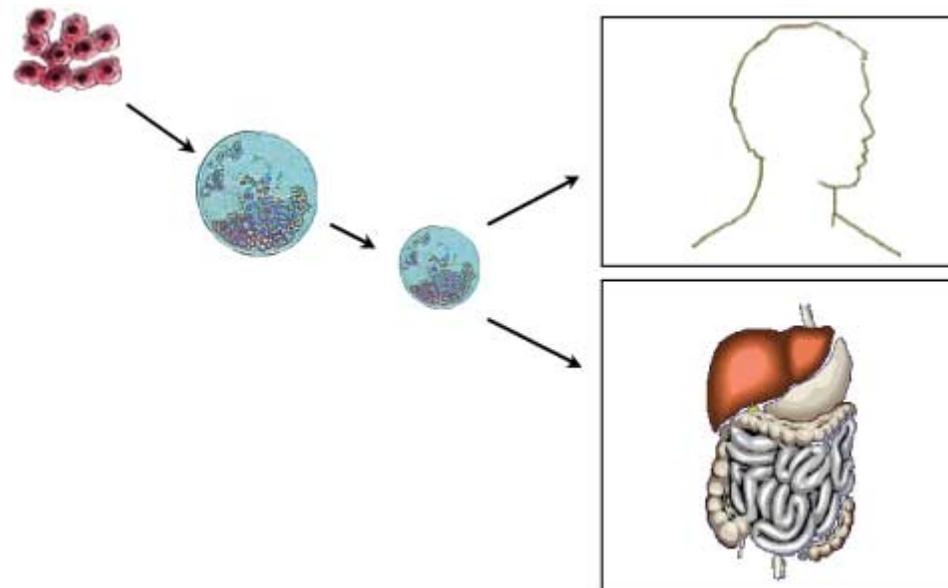


FIGURA 1. Inmovilización de células en microcápsulas poliméricas para el tratamiento de un gran número de patologías.

Aplicaciones terapéuticas

- **Enfermedades del sistema nervioso central:** Alzheimer, Parkinson, Enfermedad de Huntington.
- **Alteraciones endocrinas:** Enanismo, Hipoparatiroidismo...
- **Cáncer.**

- **Desarrollo órganos bioratificiales:** Diabetes, cirrosis...
- **Otros:** Hemofilia, Anemia...

La inclusión de células terapéuticamente activas en sistemas de microencapsulación, asegura tanto la protección mecánica como el inmuno aislamiento del injerto, esto es, el enmascaramiento frente a la respuesta inmune del huésped y consecuentemente su actividad a largo plazo. Además, una vez implantadas las células secretarán el producto *de novo*, lográndose un tratamiento más fisiológico y efectivo. Por otra parte, a diferencia de otras alternativas biomédicas actuales en estudio, como la terapia génica *in vivo*, la tecnología de encapsulación celular no altera el genoma del huésped, lo que ofrece mayores garantías para su uso clínico (2). Finalmente, la gran versatilidad de esta estrategia permite que las células encapsuladas puedan emplearse tanto para tratamientos localizados (tumores sólidos), regionales (cerebro) como sistémicos (diabetes).

El desarrollo de esta emergente tecnología deriva del interés por parte de la comunidad científica de dar solución a un creciente número de patologías funcionales como la diabetes, cirrosis, enfermedades del Sistema Nervioso Central (SNC). Este interés se inició en la década de los treinta cuando un científico llamado Bisceglie comprobó cómo al introducir células tumorales de ratón en membranas poliméricas y trasplantarlas en la cavidad abdominal de cerdos, éstas eran capaces de sobrevivir sin ser destruidas por la respuesta inmune del huésped (3). Una década más tarde, Algire observó que la encapsulación de aloinjertos y xenoinjertos (injertos procedentes de sujetos de la misma especie o de especies diferentes respectivamente), previa a su trasplante, retrasaba notablemente la aparición de una respuesta de rechazo (4). Años después se introdujo el concepto de encapsulación como medida de inmuno-protección para trasplantar células y tejidos sin el requerimiento de inmunosupresión farmacológica.

REQUERIMIENTOS TECNOLÓGICOS Y BIOLÓGICOS

La tecnología de microencapsulación de células requiere de una perfecta combinación entre el desarrollo tecnológico de las micro-

cápsulas y el estudio biológico y genético de las líneas celulares. Una de las primeras necesidades es la correcta selección de los materiales que van a constituir tanto el núcleo como la cubierta de la microcápsula. Un gran número de polímeros naturales y sintéticos han sido empleados en el desarrollo de la matriz, destacando fundamentalmente el alginato, un polímero natural procedente de las algas y con excelentes propiedades de biocompatibilidad y atoxicidad (5). Es precisamente la biocompatibilidad, es decir, la capacidad de un material de no inducir respuesta inmune en el huésped una vez implantado, uno de los criterios que dictará la selección de uno u otro biomaterial.

Por su parte, la poli-L-lisina es el polímero más frecuentemente empleado en el diseño de la membrana semipermeable característica de los sistemas de inmovilización. Esta membrana permitirá la entrada de nutrientes y oxígeno y la salida de desechos y productos terapéuticos de interés. En cambio, los receptores de las células T no podrán interactuar con los antígenos de superficie de las células protegidas y las inmunoglobulinas y el complemento quedarán parcialmente impedidos gracias a los poros de la membrana, disminuyendo o incluso reduciendo totalmente su poder citotóxico.

Otro aspecto importante es el diseño uniforme y reproducible de las microcápsulas, ya que la elaboración y trasplante de sistemas heterogéneos e irregulares está relacionada con una mayor probabilidad de rechazo. En los últimos años, sistemas como el goteador electrostático y el «Jet Cutter» han sido empleados satisfactoriamente en la fabricación de microcápsulas uniformes. La estabilidad mecánica es otro criterio a tener en cuenta en la elaboración de estos sistemas farmacéuticos, ya que una correcta estabilidad permitirá reducir posibles rupturas derivadas de la manipulación, administración, estrés osmótico, golpes mecánicos, movimientos del huésped, etc. Por último, pero no por ello menos importante, es la bioseguridad de las microcápsulas. Es prioritario que la microcápsula impida la salida de las células terapéuticas, ya que existe el riesgo de un crecimiento incontrolado de las mismas (6, 7).

El segundo componente a considerar es la línea celular terapéuticamente activa. Determinados criterios como la prolongada viabilidad y la elevada secreción intrínseca del producto terapéutico por

parte del clon celular se antojan decisivos en la selección del componente biológico. En los últimos años se ha priorizado el uso de células con baja o nula capacidad de proliferación, una vez encapsuladas, de forma que la bioseguridad del sistema sea óptima (8). En la Tabla 1 se recogen algunos ejemplos de líneas celulares inmovilizadas en microcápsulas poliméricas.

TABLA 1. *Ejemplos de líneas celulares microencapsuladas y sus correspondientes aplicaciones terapéuticas*

<i>Línea celular</i>	<i>Aplicación terapéutica</i>
Fibroblastos	Cáncer, Enf. Metabólicas, SNC, Enf. Genéticas
Mioblastos	Cáncer, Enf. Metabólicas, SNC, Enf. Genéticas
Células renales	Cáncer, hemofilia, SNC
Islotes de Langerhans	Diabetes
Células ováricas	Enfermedad de Fabry
Células paratifoideas	Hipoparatiroidismo
Hepatocitos	Transplante de hígado
Condriocitos	Regeneración de hueso y cartílago
Células de Leydig	Reemplazamiento hormonal
Células adrenales cromafines	Enfermedad de Parkinson, dolor crónico
Células madre	Regeneración de hueso, SNC, Enf. Endocrinas
PC12 feocromocitoma	Enfermedad de Parkinson
Mieloma	Factor de crecimiento hepático
Hibridoma	Cáncer, producción de anticuerpos
Células tumorales	Vacuna antitumoral, interleuquinas
Células de retina	Enfermedad de Parkinson
Células productoras de vectores virales	Cáncer
Bacterias	Eliminación de urea

Abreviaturas: Enf.: enfermedad.

APLICACIONES TERAPÉUTICAS

La microencapsulación de células ha sido aplicada en numerosas ocasiones al tratamiento de enfermedades endocrinas debido en parte a la existencia de modelos animales que simulan perfectamente la patología, pero también como consecuencia de que dosis muy reducidas del producto terapéutico son suficientes para una total corrección sintomática. Ésta es una consideración fundamental, ya que el número de células por cápsula es limitado, así como el número de micropartículas transplantables.

Entre las enfermedades endocrinas, una gran parte de grupos de investigación han dirigido sus esfuerzos al tratamiento de la diabetes, mediante la inmovilización de islotes de Langerhans en microcápsulas de alginato. Los buenos resultados obtenidos tanto en roedores como en animales superiores impulsaron, a mediados de la década de los noventa, la realización del primer ensayo clínico en humanos. El único paciente incluido en este estudio no necesitó la administración de insulina exógena durante un mes, redujo considerablemente sus niveles de albúmina sérica glicosilada y hemoglobina A1C, mejorando también la sintomatología ligada a su neuropatía periférica (9). En la actualidad, un nuevo ensayo clínico estudia la actividad de islotes encapsulados en matrices de alginato recubiertas con poli-L-ornitina. El uso de vitaminas, antioxidantes o células inmunomoduladoras, conjuntamente con los islotes, también está siendo motivo de estudio, al igual que el empleo de factores angiogénicos que aumenten la vascularización en el lugar del implante y favorezcan de este modo un mayor aporte de oxígeno y nutrientes al injerto (10).

Otra aplicación terapéutica de las células microencapsuladas es el tratamiento de patologías del SNC. Estas alteraciones se caracterizan por el deterioro continuo de las funciones cognitivas y motoras, dando lugar a una pérdida progresiva de las células nerviosas, tanto de forma crónica como aguda. En el caso de la enfermedad de Parkinson, se han inmovilizado células secretoras de dopamina como las PC12 al igual que células genéticamente manipuladas para liberar factores neurotróficos como el GDNF (factor neurotrófico derivado de células gliales). De hecho, en un trabajo en el que se implantaron por estereotaxia fibroblastos encapsulados en ratas,

se comprobó que los animales tratados presentaban una marcada reducción en la rotación inducida por apomorfina y un aumento de más del 40% en el número de células tiroxin-hidrosilasa positivas que el grupo control (11). En el caso de la enfermedad de Huntington, el CNTF (factor neurotrófico ciliar) es el factor trófico de mayor eficacia. Emerich y col., demostraron que el implante de cápsulas con fibroblastos secretores de CNTF en monos, ejercía un efecto neuroprotector sobre diversas poblaciones estriatales como neuronas colinérgicas y GABAérgicas (12).

Una de las aplicaciones que mayor interés está despertando en la comunidad científica es el tratamiento del cáncer. La vía de actuación sobre esta compleja patología ha sido muy variada, incluyendo el empleo de células encapsuladas y genéticamente modificadas que expresan la enzima citocromo P450 (13), la vectorización del agente terapéutico hacia el foco tumoral mediante la secreción continua de un complejo formado por interleuquina-2 y la región Fv de un anticuerpo humanizado con gran afinidad por tumores HER-2/*neu* (14) o la inhibición de la angiogénesis tumoral, es decir, la formación de vasos sanguíneos que nutran e irrigan a la masa tumoral. Esta última estrategia ha sido ensayada tanto mediante la secreción de anticuerpos monoclonales que bloqueen proteínas indispensables en la construcción endotelial (15), como mediante la liberación de factores antiangiogénicos endógenos que inhiban e impidan la formación de estructuras vasculares (16, 17).

CONCLUSIONES

La microencapsulación de células representa una alternativa en el desarrollo de sistemas citomédicos que liberen de forma controlada el producto terapéutico y un hito en el trasplante de tejidos sin el requerimiento de las dosis habituales de inmunosupresores. Los avances llevados a cabo en animales de experimentación han dado lugar a un amplio número de ensayos clínicos, tal y como resume la Tabla 2. El interés en esta herramienta biotecnológica ha llegado también al sector industrial en el que un destacable número de compañías farmacéuticas y biotecnológicas han apostado en el empleo de sistemas de inmovilización de células para tratar patologías tan dispares como la diabetes, la retinitis pigmentosa, enfermedades

del SNC o diabetes (18). En la actualidad son muchos los retos por alcanzar, incluyendo una normativa oficial para el desarrollo e investigación en humanos, un mayor grado de biocompatibilidad, reproducibilidad y duración de los sistemas tras su trasplante en huéspedes y un mayor grado de confianza y financiación pública. No obstante, el avance continuo de disciplinas científicas como la genética, biología y tecnología farmacéutica pronostican que la tecnología de encapsulación de células podrá en un futuro ser empleada eficazmente en el tratamiento de muchas de las patologías que hoy en día nos asolan.

TABLA 2. *Ejemplos de ensayos clínicos realizados con la tecnología de la microencapsulación de células*

<i>Autores</i>	<i>Año</i>	<i>Aplicación</i>	<i>Producto terapéutico</i>
Soon Shiong y col.	1994	Diabetes	Insulina
Circe Biomedical Hepatassist®	1995	Cirrosis hepática	—
Aebischer y col.	1996	EAL	CNTF
Vitagen, Hepatix®	1996	Cirrosis hepática	—
Buschner y col.	1996	Dolor crónico	Catecolaminas
Hasse y col.	1997	Hipoparatiroidismo	Hormona paratiroidea
Lörh y col.	1999	Cáncer pancreático	Proteína CYP2B1
Bachoud-Levi y col.	2000	Enf. de Huntington	CNTF
Titan Pharmaceuticals	2001	Parkinson	Dopamina
Neurotech	2003	Retinitis Pigmentosa	CNTF
Calafiore y col.	2003	Diabetes	Insulina
Aebischer y col.	2004	Parkinson	GNTF
Aebischer y col.	2004	Anemia	EPO

Abreviaturas: EAL: esclerosis amiotrófica lateral; CNTF: factor neurotrófico ciliar; Enf.: enfermedad; GNTF: factor neurotrófico derivado de células gliales; EPO: eritropoyetina.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) ORIVE, G.; HERNÁNDEZ, R.M.; GASCÓN, A.R.; IGARTUA, M.; PEDRAZ, J.L. (2003) Cell encapsulation technology for biomedical purposes: novel insights and challenges. *Trends Pharm. Sci.* 24, 207-210.
- (2) ORIVE, G.; HERNÁNDEZ, R.M.; GASCÓN, A.R.; CALAFIORE, R.; CHANG, T.M.S.; DE VOS, P.; HORTELANO, G.; HUNKELER, D.; LACÍK, I.; SHAPIRO, A.M.J.; PEDRAZ, J.L. (2003) Cell encapsulation: promise and progress. *Nat. Med.* 9, 104-107.
- (3) BISCEGLIE, V. (1933) Uber die antineoplastische immunitat; heterologe Einpflanzung von tumoren in Huhner-embryonen. *Ztschr. Krebsforsch.* 40: 45-58.
- (4) ALGIRE, G.H. (1943) An adaptation of the transparent chamber technique to the mouse. *J. Natl. Cancer Inst.*, 4: 1-11.
- (5) ANGELOVA, N.; HUNKELER, D. (1999) Rationalizing the design of polymeric biomaterials. *Trends Biotechnol.* 17, 409-421.
- (6) HUNKELER, D.; SUN, A.M.; KORBUTT, G.S.; RAJOTTE, R.V.; GILL, R.G.; CALAFIORE, R.; MOREL, P. (1999) Bioartificial organs and acceptable risk. *Nat. Biotechnol.* 17, 1045.
- (7) HUNKELER, D. (2000) Objectively assessing bioartificial organs. *Nat. Biotechnol.* 18, 1021.
- (8) ORIVE, G.; HERNÁNDEZ, R.M.; GASCÓN, A.R.; CALAFIORE, R.; CHANG, T.M.S.; DE VOS, P.; HORTELANO, G.; HUNKELER, D.; LACÍK, I.; PEDRAZ, J.L. (2004) History, challenges and promises of cell microencapsulation. *Trends Biotechnol.* 22, 87-92.
- (9) SOON-SHIONG, P.; HEINTZ, R.; MERIDETH, N.; YAO QUIANG, X.; YAO, Z.; ZHENG, T. (1994) Insulin independence in a type I diabetic patient after encapsulated islet transplantation. *Lancet* 343, 950-951.
- (10) DE VOS, P.; HAMEL, A.F.; TATARKIEWICZ, K. (2002) Considerations for successful transplantation of encapsulated pancreatic islets. *Diabetologia* 45, 159-173.
- (11) TSENG, J.L.; BAETGE, E.E.; ZURN, A.D.; AEBISCHER, P. (1997) GDNF reduces drug-induced rotational behaviour after medial forebrain bundle transection by a mechanism not involving striatal dopamine. *J. Neurosci.* 17, 325-333.
- (12) EMERICH, D.F.; WINN, S.R.; HANTRAYE, P.M.; PESCHANSKI, M.; CHEN, E.Y.; CHU, Y.; McDERMOTT, P.; BAETGE, E.E.; KORDOWER, J.H. (1997) Protective effect of encapsulated cells producing neurotrophic factor CNTF in a monkey model of Huntington's disease. *Nature*, Vol. 386, 395-399.
- (13) LÖRH, M.; HOFFMEYER, A.; KRÖGER, J.C.; FREUND, M.; HAIN, J.; HOLLE, A. (2001) Microencapsulated cell-mediated treatment of inoperable pancreatic carcinoma. *Lancet* 357, 1591-1592.
- (14) CIRONE, P.; BOURGEOIS, M.; AUSTIN, R.C.; CHANG, P.L. (2002) A novel approach to tumor suppression with microencapsulated recombinant cells. *Hum. Gene Ther.* 13, 1157-1166.
- (15) ORIVE, G.; HERNÁNDEZ, R.M.; GASCÓN, A.R.; IGARTUA, M.; ROJAS, A.; PEDRAZ, J.L. (2001) Microencapsulation of an anti VE-cadherin antibody secreting 1B5 hybridoma cells. *Biotechnol. Bioeng.* 76, 285-294.

- (16) READ, T.A.; SORENSEN, D.R.; MAHESPARAN, R.; ENGER, P.Ø.; TIMPL, R.; OLSEN, B.R. (2001) Local endostatin treatment of gliomas administered by microencapsulated producer cells. *Nat. Biotechnol.* 19, 29-34.
- (17) JOKI, T.; MACHLUF, M.; ATALA, A.; ZHU, J.; SEYFRIED, N.T.; DUNN, I.F. (2001) Continuous release of endostatin from microencapsulated engineered cells for tumor therapy. *Nat. Biotechnol.* 19, 35-39.
- (18) ORIVE, G.; HERNÁNDEZ, R.M.; GASCÓN, A.R.; IGARTUA, M.; PEDRAZ, J.L. (2002) Encapsulated cell technology: from research to market. *Trends Biotechnol.* 20, 382-387.