

EPOa emateko aukera kapsularatutako zelulen bidez

Gorka Orive¹, María de Castro², Sara Ponce², Rosa M^a Hernández³, Alicia R. Gascón³, José Luis Pedraz⁴

¹Farmazian doktorea. Farmaziako irakasle lankidea / ²Irakasle predoktorala / ³Farmazian doktorea. Farmaziako irakasle titularra.

⁴Farmazian doktorea. Farmazian katedraduna.

Azken urteetan ahalegin asko egin dira anemia kronikoaren tratamendua hobetzeko eta gaixoak erosoago bizitzeko. Izan ere, anemia kronikoak bihotzeko ehunak tamainaz handitzea eragin dezake, eta horrek bular-anginak izateko arriskua handitzen du gaixotasun kardiakoak izan dituzten pazienteetan.

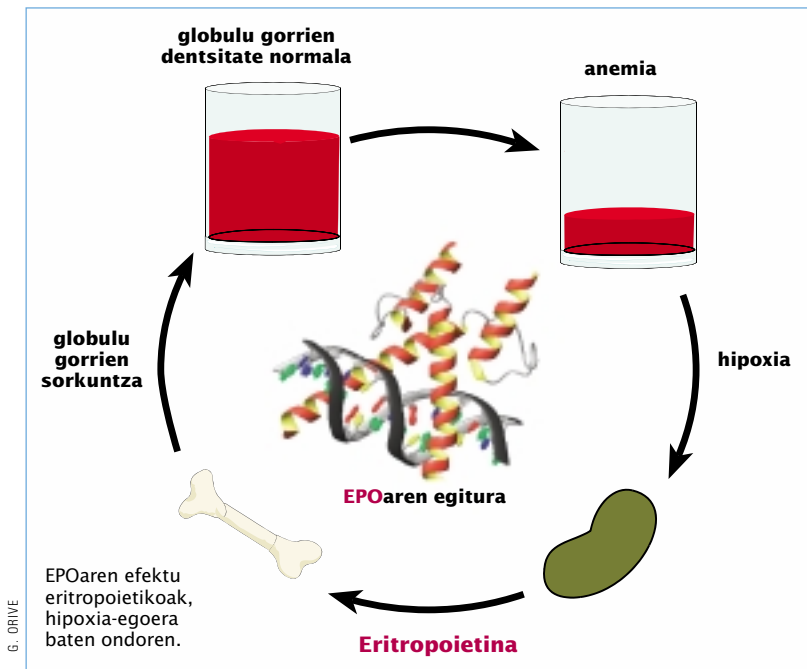
ANEMIA, NAGUSIKI, ERITROPOIETINA (EPO) deitutako hormona baten eskasiaren edota gabezia osoaren ondorioz sortzen da. Hormona horrek globulu gorrien sorkuntza sustatzen du. Gilzurrunetan, gibelean, umetokian, gihar-zeluletan, zelula endotelialetan eta intsulina ekoizten duten zeluletan jariatzen da, ehunen oxigeno-mailaren arabera. Hain justu, ehunen oxigeno-maila murrizten denean, HIF-1 faktore erregulatzailea jariatzen da, eta, horri esker, EPOaren ekoizpena nabarmen handitzen da.



EPOa xiringa bidez hartzen da gaur egun. Gasteizko Farmazia Fakultatean xiringak saihesteko metodologia bat probatzen hasi dira.

EPO hormona kantitate-egokietan jariatzea funtsezkoa da. Izan ere, dago-kion baino gutxiago jariatzen bada, odoleko globulu gorrien kopurua behar baino txikiagoa da, eta, ondorioz, gaixoek hainbat asaldura jasateko arriskua dago, besteak beste, nekea, ehunen hipoxia, kirola egiteko tolerantzia txikiagoa eta hipertrofia kardiakoa —bihotzeko ehunak tamainaz handitzea—.

Asaldura horiek guztiak tratatzeko aukerarik eraginkorrena EPOa hartzea da. Gaur egun, merkatuan dago giza-kien EPO errekonbinantea duen botika. Anemia kronikoa duten gaixoek astean 2 edo 3 aldiz hartzen dute hormona hori, gutxi gorabehera 1.000–9.000 unitate astero. Bestalde, duela gutxi kaleratu da, darbepoetina—izenarekin, EPOaren deribatu bat:



EPOa jariatzen duten gihar-zelulak

EPO hormonaren propietateak eta ezaugarriak ikusita, EPOa emateko estrategia berri bat garatzeko lanetan hasi gara Gasteizko Farmaziako eta Farmazia Teknologiako laborategian. Helburu hori betetzeko, mikrokapsularatutako zelulen teknologia erabili dugu. Lehenik eta behin, EPOa jariatzen duten gihar-zelulak ekoizti ditugu; ondoren, zelula horiek diseinu eta tamaina egokia duten kapsuletan jarri ditugu, eta, azkenik, kapsularatutako zelulak animaliei eman dizkiegu.

Kapsulek erantzun immunologikotik babesten dituzte gihar-zelulak. Kontuan izan behar da zelula horiek arrotzak direla organismoarentzat, eta, ondorioz, sistema immunologikoak suntsitu egiten dituela. Baina, kapsulak egoki prestatuz gero, sistema immunologikoaren erantzuna saihestea lortzen da, eta, kapsulen barruan babestuta, zelulak gai dira denbora luzez hormona jariatzeko. Ondorioz, gutxiagotan 'hartu' behar dira eta tratamendua erosoagoa da gaixoarentzat.

Horrez guztiaz aparte, EPOaren propietate angiogenikoak eta erantzun immunologikoaren intentsitatea modulatzeko gaitasuna kontuan izanik, kapsulak emateko hainbat bide erabiliz egin genituen saiakerak. Ohikoa den peritoneo barneko bidea aukeratu arren, teknologia honetan oro har

eritropoietina—. Deribatu berri horren abantaila nagusia iraupena da. Denbora luzez irauten du organismoan, eta, beraz, askoz ere maiztasun txikiagoarekin har daiteke.

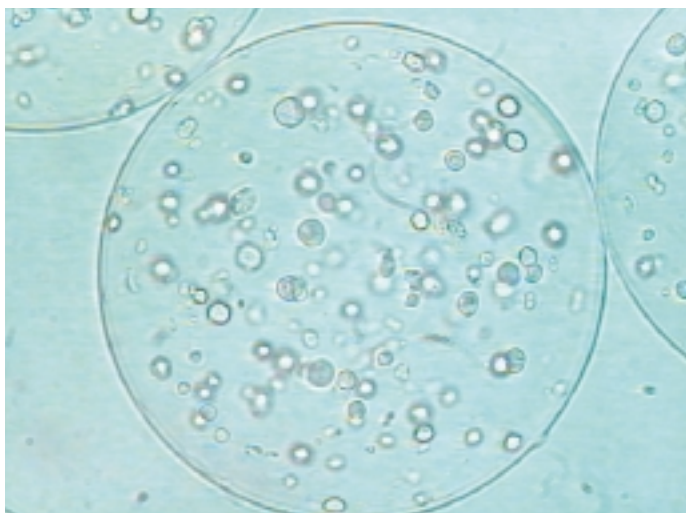
Hala ere, eritropoietinaren garrantzia eta harekiko interes handia ez dagozko bakarrik anemiari. Berriki egin diren zenbait ikerketak diotenez, EPOa eraginkorra izan daiteke beste zenbait gaixotasun kroniko ere tratatzeko, esate baterako, talasemia, artritisa eta mieloma bezalako minbiziekin erlazionaturikoak. Gainera, nerbio-sistema zentralaren asalduretan, adibidez, Parkinsonen edo Alzheimerren gaixotasunetan, eta garuneko iskemietan (garuneko odol-hornikuntza eteten denean) baliagarria izan daiteke, hanturaren kontrako propietateak eta ahalmen neurobabesleak direla medio.

Bestalde, hainbat ikerketak frogatu dute EPO hormona gai dela erantzun immunologikoaren intentsitatea modulatzeko, eta angiogenikoa ere badela, alegia, odol-hodien sorkuntza sustatzen duela.

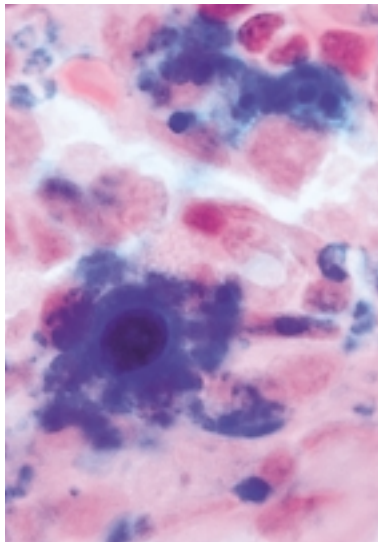
Hori guztia kontuan izanik, erraz uler daiteke ikerkuntza-lantalde eta enpresa bioteknologiko askok EPO molekula sakon ikertu eta harekin botika

“EPOa eraginkorra izan daiteke anemiaz gain beste zenbait gaixotasun kroniko ere tratatzeko”

berriak garatzeko duten interesa. Ahalgin horien helburua hormonaren propietateak hobetzea da, aipatutako gaixotasunak eraginkortasunez tratatzeko asmoz.



EPOa jariatzen duten mikrokapsularatutako zelulak.



Hezur-muinaren irudi bat. Urdin ilunez tindatutako guneak burdin biltegiak dira. Burdinaren gabeziak anemia eragiten du, eta hori tratatzeko bideetako bat EPOa hartzea da.

emaitza txarrak izaten dituen larruazalpeko bidea ere probatu genuen. Azken bide hori askoz erosoagoa da, eta, ondorioz, oso interesgarria izango litzateke —eta teknologiantzako aurrerakuntza izugarria— bide horretatik emandako kapsulekin EPOaren efektu terapeutikoak epe luzean mantentzea lortuko balitz.

Emaitzak eta eztabaida

Eman beharreko zelulak C3H motako saguetatik erauzi ziren, eta, ondoren, laborategian eraldatu ziren EPOa jariatzeko. Hain justu, eraldatutako zelula horiek kapsularatu eta txertatu genizkien berriz ere saguei.

Idealki, zelulek zenbat eta produktu terapeutiko gehiago jariatu, orduan eta zelula-kopuru txikiagoa eta, azken finean, kapsula gutxiago txertatu beharko zaie animaliei efektu farmakologiko bera izateko. Ingurune egokia lortzeko asmoz, asko jota 300-400 zelula jarri ziren kapsula bakoitzean. Ondoren, 480 mikrometroko kapsulak prestatu ziren eta barruko zelulek zenbat EPO ekoizten zuten neurtu zen.

Ezari ondoren animalietan inolako erantzun immunologikorik ez pizteko, kapsulak kontu handiz prestatu genituen. Araztutako alginatoz egin genituen, gainazal leunekoak eta tamaina

“*Gasteizko Farmazia Fakultatean, kapsularatutako zelulen teknologia erabili dugu EPOa emateko bide gisa*”

berekoak. Ezaugarri horiek oso garrantzitsuak dira biobateragarritasunaren ikuspuntutik, sistema immunologikoaren erantzuna saihesteko.

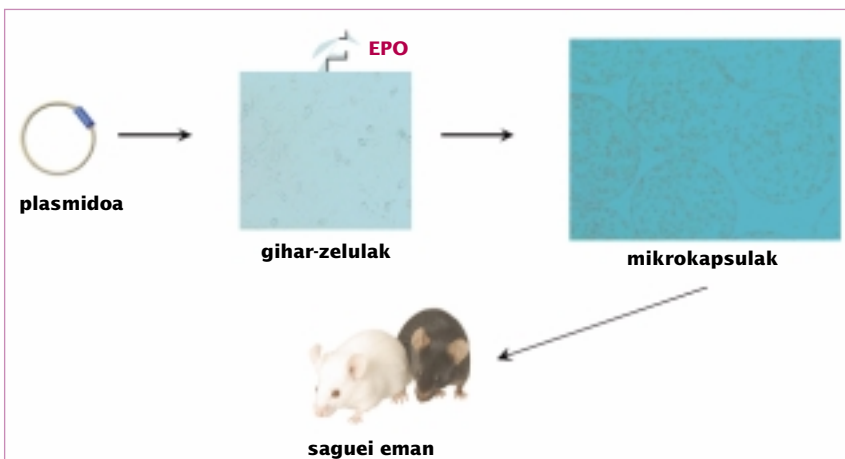
Bi motatako saguei txertatu genizkien kapsulak, CH3 motakoei eta Balb/c motakoei. Zelulak lehenengoetatik ate-

ra zirenez, ezaugarri genetiko berak dituzte, baina bigarrenek ez, eta, ondorioz, horietan erantzun immunologikoa sortzeko probabilitatea handiagoa da. Animaliei zenbateko dosia eman erabakitzea pauso kritikoa izan zen. Izan ere, dosia gehiegizkoa bazen efektu toxikoak agertzeko arriskua zegoen —baita animalien heriotza eragitekoa ere—; bestalde, txikiegia izanda efektu terapeutikoak ez izateko arriskua zegoen.

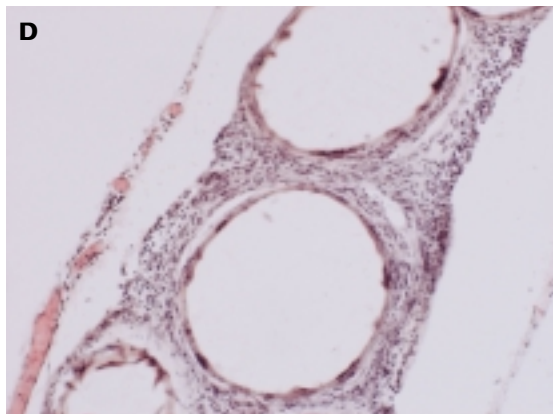
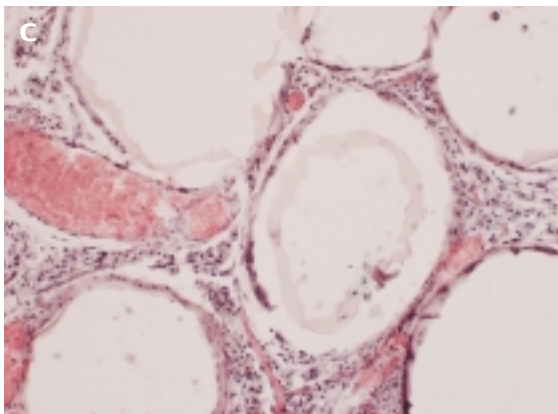
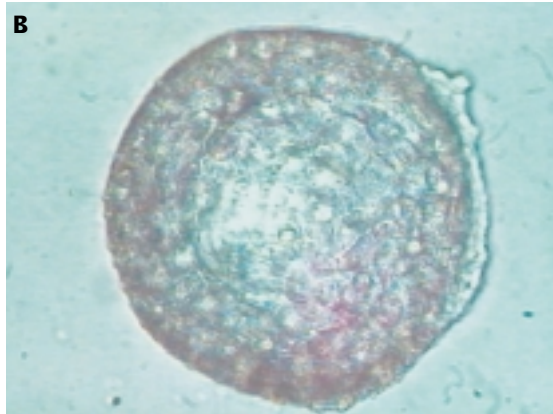
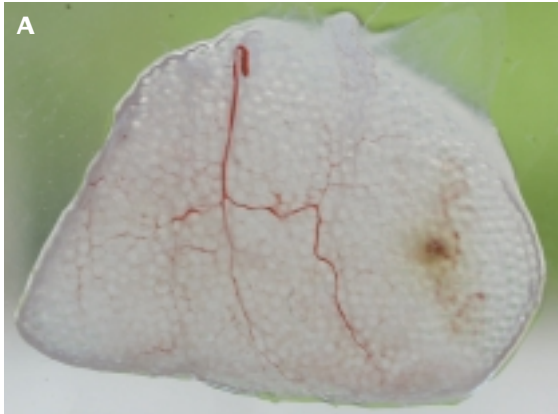
Lehenengo esperimenduak C3H saguetan egin ziren, eta, horretarako, 20 sagu 4 taldetan banatu ziren (kontrol-talde bat bide bakoitzeko eta kapsulak jaso zituen beste bat bide bakoitzeko). Zenbat EPO isurtzen zuten jakiteko, animalien hematokritoa —odoleko globulu gorrien portzenta-jea— neurtu zen astero 100 egunez.

Emaitzek argi eta garbi adierazten dutenez, animalien hematokritoa nabarmen handitu zen bi taldeetan, bai kapsulak peritoneo barruko bidetik jaso zituzten saguetan, bai kapsulak larruazalpean txertatu zitzaizkienetan ere. Hematokritoaren balioak, gainera, % 80 baino handiagoak izan ziren denbora guztian, eta, beraz, kontrol-taldeekin konparatuz gero, estatistikoki adierazgarriak.

Hala ere, mikrokapsularatutako zelulen benetako balioa ezagutzeko, beharrezkoa zen zelula horien ezaugarri genetikoak ez dituzten bizidunei zelulak eman eta horietan duten eraginkortasuna



EPOa jariatzen duten zelulen mikrokapsularazioa eta animaliei ematea.



A eta C larruazalpetik lortutako kapsulen argazkia eta histologia dira. B eta D peritoneo barneko inguruetik berreskuratutako kapsulen egitura eta histologia.

G. ORIVE

frogatzea. Horretarako, aurreko esperimentu bera egin genuen Balb/c motako 20 sagurekin, eta emaitzak estatistikoki adierazgarriak izan ziren berriro ere, kasu guztietan: animalien hematokritoa % 75etik gora mantendu zen ikerketak iraun zuen 100 egunetan.

Datu horietan guztietan oinarrituta, bi ondorio nagusi atera genituen. Alde batetik, kapsulak gai izan ziren saguen erantzun immunologikoa geldiarazteko edo, behintzat, murrizteko. Bestetik, zelulak larruazalpean txertatzea aukera bat izan daiteke kapsula bidezko tratamendu kroniko bat garatzeko.


Kapsulen egoera aztertzeko, 150. egunean talde bakoitzeko animalia batzuk hil eta kapsulak berreskuratu ziren. Kapsulen egoera eta egitura desberdina zen zelulak emateko erabilitako bidearen arabera. Horrela, peritoneo barneko bidetik berreskuratutako kapsula gehienak isolatuak zeuden, eta gutxi batzuek erantzun immunologikoak eragindako fibrosia zuten gainazalean. Bestalde, larruazalpeko bidetik ezarritako kapsulek erantsitako egitura

“EPOa modu kronikoan emateko, alternatiba teknologiko egokia da hormona hori jariatzen duten zelulak kapsularatzea”

bat osatzen zuten, eta ez zuten erantzun immunologikoak sortutako fibrosiaren inolako aztarnarik. Egitura horiek, gainera, kapilarrez beterik zeuden, EPO hormonak odol-hodien hazkuntza sortzeko duen gaitasunaren ondorioz.

Hasierako emaitza positibo horiek ikusita, beste galdera bat egin genion geure buruari: kapsulak behin bakarrik emanda eta erantzun immunologikoa inhibitzen duen botikarik erabili gabe, zenbat denboraz jariatuko lukete

zelulek EPOa? Galdera horri erantzuteko, berriro ere Balb/c saguak erabili genituen eta emaitzak oso adierazgarriak izan ziren. Izan ere, larruazalpetik emandako zelulek 210 egunez jariatuz EPOa. Eta iraupen hori da modu horretan eta bide horretatik inoiz lortu den luzeena. Sagumota batekin baino gehiagorekin eta botika emateko bide batekin baino gehiagorekin emaitza positiboak lortzearen azalpenetako bat EPO hormonak berak ematen digu. Izan ere, EPO hormonak odol-hodiak sustatzeko gaitasuna du eta erantzun immunologikoan ere hainbat funtzio betetzen ditu.

Laburbiltzeko, beraz, esan dezakegu EPOa modu kronikoan eman ahal izateko, hormona hori jariatzen duten zelulak kapsularatzea alternatiba teknologiko egokia dela. Gure hurrengo helburuak tratamendua luzatzea eta EPOaren kontzentrazioa eta, beraz, hematokritoa, maila fisiologikoetara doitzea izango da. 

Gehiago jakin nahi baduzu

ORIVE, G. ETA BESTE ZENBAIT 'Long-term expression of erythropoietin from myoblasts immobilized in biocompatible and neovascularized microcapsules' *Molecular therapy* (publikatzeko onartuta).

SCHNEIDER, B.L. ETA BESTE ZENBAIT 'Prevention of the initial host immunoinflammatory response determines the long-term survival of encapsulated myoblasts genetically engineered for erythropoietin delivery' *Molecular therapy* 7: 506-514. (2003).