

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 534 528**

21 Número de solicitud: 201500176

51 Int. Cl.:

G02B 6/10 (2006.01)

G02B 1/04 (2006.01)

D01B 7/00 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

27.02.2015

43 Fecha de publicación de la solicitud:

23.04.2015

Fecha de la concesión:

26.01.2016

45 Fecha de publicación de la concesión:

02.02.2016

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE MURCIA (100.0%)
Oficina de Transferencia de Resultados de
Investigación (OTRI) Vicerrectorado de
Transferencia, Emprendimiento y Empleo.
Campus Universitario de Espinardo. Edificio
Rector soler, 1ª Planta
30100 Murcia (Murcia) ES**

72 Inventor/es:

**ARENAS DALLA VECCHIA , Aurelio ;
ROJO MARTÍNEZ , Marta ;
MUÑOZ MADRID, Juan ;
CENIS ANADÓN , José Luis ;
LOZANO PÉREZ , Antonio Abel ;
AZNAR CERVANTES , Salvador David y
MESEGUER OLMO , Luis**

54 Título: **Fibra de seda de emisión lateral de luz**

57 Resumen:

Fibra de seda de emisión lateral de luz.

La presente invención desarrolla un dispositivo biocompatible y biodegradable para emitir luz que actúe sobre células y tejidos animales con efectos biológicos y terapéuticos. El elemento fundamental del dispositivo consiste en una fibra de fibroína de seda, con diámetro entre 0.1 y 1.0 mm y longitud variable, obtenida a partir de la glándula sericígena del gusano de seda. Esta fibra es conocida tradicionalmente como hijuela y fue utilizada históricamente como hilo de sutura y sedal de pesca. Cuando la hijuela es iluminada por un extremo con luz convencional o láser, emite luz lateralmente a lo largo de varios centímetros. Esta fibra puede implantarse en tejidos humanos sin necesidad de ser retirada, debido a su carácter biocompatible y biodegradable.

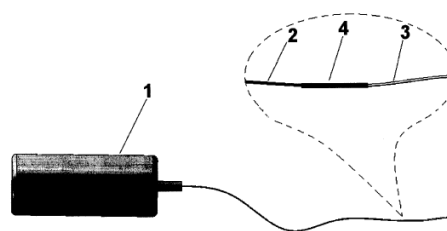


Figura 1

ES 2 534 528 B1

DESCRIPCIÓN

Fibra de seda de emisión lateral de luz.

5 Objeto de la invención

La radiación electromagnética en el rango visible tiene unos efectos biológicos ampliamente demostrados. A través de la aplicación de luz a las células es posible estimular su desarrollo, inhibirlo, modificarlo o inducir su apoptosis. La
10 aplicación de la luz se realiza preferentemente a través de fibras ópticas convencionales de silicio. Sin embargo, en un contexto biológico, sería preferible la utilización de fibras basadas en polímeros orgánicos que presenten mejores cualidades de biocompatibilidad y degradabilidad. También es deseable la posibilidad de que la fibra emita la luz de forma lateral en aquellos casos en que la
15 diana celular tenga una configuración longitudinal.

En la presente invención se propone la utilización de una fibra de origen orgánico, como es la hijuela de gusano de seda como vector para la aplicación de luz en células y tejidos orgánicos. Esta fibra tiene una composición exclusivamente
20 proteica, y está compuesta por una proteína, la fibroína que constituye la seda del gusano de la seda *Bombyx mori*. Esta fibra es altamente biocompatible y degradable. Por tanto, puede ser implantada en el tejido diana y en la posición elegida, de manera que siendo iluminada por un extremo, emite luz que actúa sobre los tejidos circundantes. La hijuela es una fibra obtenida mediante la
25 acidificación y estiramiento mecánico de la glándula sericígena del gusano *Bombyx mori*. Durante el período comprendido entre 1880 y 1950, fue utilizada ampliamente como hilo de sutura en cirugía y sedal de pesca, siendo fabricada exclusivamente en la Región de Murcia [MARDEN, L. Spain's Silkworm Gut. National Geographic Magazine. Julio 1951, páginas 100-108] y
30 [HUMPHRIES, A. M. C. The Story of Silk and Silkworm Gut. Postgraduate Medical Journal. 1949, Vol. 25(288), páginas 483-488].

Sector de la técnica

La presente invención se enmarca dentro del campo de nuevos instrumentos, dispositivos, útiles o métodos de la biología y la medicina.

Estado de la técnica

5

La aplicación de radiaciones luminosas tiene una amplia gama de efectos sobre células y tejidos vivos. Algunos de estos efectos son positivos para su proliferación y funcionamiento biológico, lo que ha llevado al desarrollo de terapias basadas en la aplicación de luz en el campo de la biomedicina. El conjunto de
10 terapias y aplicaciones derivadas de la exposición de la luz a las células y tejidos se divide en tres grandes apartados: estimulación de proliferación celular mediante luz láser de baja intensidad (*Low Level Láser Therapy*, LLLT), activación o inhibición de neuronas que expresan opsinas en su membrana (Optogenética) y activación de moléculas fotoactivables que emiten especies reactivas de oxígeno
15 induciendo apoptosis en células tumorales (Terapia Fotodinámica).

La irradiación LLLT engloba el uso de iluminación láser en el rango de luz roja e infrarroja, con una longitud de onda comprendida entre 600 y 1.100 nm y una potencia de salida comprendida entre 1 y 500 mW. Este tipo de radiación puede
20 ser continua o pulsante, con una densidad de energía relativamente baja (0.04 a 50 J/cm²). La luz es dirigida al tejido diana, o a monocapas de células, con potencias en el orden de milivatios. A dosis bajas de densidad de energía (2 J/cm²), la LLLT estimula la proliferación celular, mientras que a altas dosis (16 J/cm²) actúa como supresora. La LLLT transmite energía a niveles bajos y no
25 emite calor, sonido o vibraciones. Los tejidos irradiados no experimentan aumento significativo de temperatura, a diferencia de lo que ocurre mediante el uso de láseres de potencia que pueden cortarlos y vaporizarlos.

La LLLT puede estimular una variedad de procesos biológicos, que incluyen el
30 crecimiento celular, la proliferación y la diferenciación. Estos efectos se verifican sobre una gran variedad de tipos celulares, que incluyen fibroblastos, células endoteliales, células mesenquimales, queratinocitos, mioblastos, etc. Sin embargo, el mecanismo celular a través del cual actúa la LLLT no está

completamente clarificado. El mecanismo generalmente admitido indica que la energía de la radiación láser es absorbida por cromóforos intracelulares y convertida a energía metabólica, dado que se observa siempre un incremento significativo de los niveles de ATP (*Adenosina Triphosphate*) en las células irradiadas. A su vez, el incremento de ATP, aumenta la síntesis de proteínas, ADN y la concentración de calcio intracelular. El efecto conjunto es la activación de una serie de cascadas celulares, actuando en la dirección de una mayor proliferación celular. Esta estimulación celular se traduce, a nivel tisular, en diversos efectos tales como la estimulación de la cicatrización, la síntesis de colágeno, regeneración de nervio periférico, remodelación y reparación de tejido óseo, normalización de la función hormonal, atenuación del dolor, estimulación de la liberación de endorfinas y modulación del sistema inmune.

La Optogenética es una tecnología que se basa en la utilización de unas proteínas de membrana de origen microbiano, denominadas genéricamente como opsinas. Estas proteínas convierten directamente la luz en cambios en el potencial eléctrico a los lados de las membranas celulares en las que están insertadas. Las opsinas microbianas responden a la luz traslocando iones a través de las membranas de las células en las que están genéticamente expresadas. En el caso de las neuronas, ello hace posible actuar de forma externa sobre la activación o inactivación de potenciales de acción en las mismas, lo que permite el análisis y control de su función. Las opsinas deben ser previamente integradas en la membrana de las células sobre las que se quiere actuar, y ello se realiza mediante transformación genética de las células con los genes que expresan opsinas. Hay muchos tipos de opsinas y otras proteínas fotoactivables, pero las de uso más frecuente son la canalrodopsina-2 (ChR2) del alga verde *C. reinhardtii* que trasloca cationes dentro de las neuronas cuando es activada con luz azul, activando la actividad eléctrica de la célula. Por el contrario, la halorodopsina y la arqueorodopsina bombean iones cloruro al interior y cationes al exterior de las células, respectivamente, bajo la luz verde o amarilla. Ello produce una inactivación de la actividad eléctrica de la célula. La posibilidad de actuar sobre la activación o inactivación de neuronas mediante un pulso de luz láser abre la

posibilidad de reparar disfunciones causadas por procesos degenerativos en tejido cerebral.

La Terapia Fotodinámica es una terapia antitumoral que se basa en la
5 administración localizada o sistémica de un compuesto fotosensibilizador no
citotóxico. Bajo la exposición a una fuente de luz, el compuesto emite especies
reactivas de oxígeno que inducen apoptosis en las células tumorales en contacto
con el mismo. La mayoría de compuestos fotosensibilizadores tienen una
10 estructura de anillo heterocíclico similar a la de la clorofila II o al grupo hemo de la
hemoglobina. Tras la captura de fotones por el compuesto, la energía lumínica
produce una reacción química en presencia de oxígeno molecular que produce un
singlete de oxígeno o superóxido que inducen el daño celular. Los compuestos
fotosensibilizadores se pueden dividir en general en tres categorías: los basados
15 en porfirina, los basados en clorofila II y los tintes. Existe una gran variedad de
estos compuestos, que han demostrado su eficacia y están autorizados para su
uso clínico. En cuanto a la fuente de luz necesaria para activar los compuestos
fotosensibilizadores, se ha utilizado gran variedad de tipos. Es posible utilizar
fuentes de luz convencional no coherente, o bien LEDs. Sin embargo, la fuente de
20 luz más común en Terapia Fotodinámica es la luz láser. Esta luz es
monocromática y coherente, con una longitud de onda específica, optimizada para
cada compuesto fotosensibilizador.

Las aplicaciones clínicas de la Terapia Fotodinámica son muy numerosas.
Pueden encontrarse en el campo de la terapia de las enfermedades
25 dermatológicas, enfermedades oftálmicas, cáncer de cabeza y cuello, tumores
cerebrales y pulmonares, enfermedad cardiovascular y enfermedades urológicas.

Para la realización de las técnicas descritas es esencial disponer de una fuente de
luz y transmitir ésta a la diana de acción con gran precisión. Como fuente de luz
30 se ha empleado focos de luz convencional y LED. Sin embargo, normalmente se
prefiere la luz láser de longitud de onda específica y mayor potencia. Existen
numerosos tipos de fuentes de luz láser para las aplicaciones indicadas. En
cuanto a la conducción de la luz, se emplea en algunos casos una iluminación

desde el exterior de la zona a tratar. Esto es factible para tratamientos cutáneos o de órganos relativamente superficiales. Para dianas más profundas se prefieren guías de onda ópticas, y fibras ópticas dotadas de lentes en su extremo que producen una adecuada focalización, y por tanto, mayor precisión, del rayo de la luz aplicada.

Las guías de onda ópticas son estructuras físicas que guían ondas electromagnéticas en el espectro óptico. Los tipos más comunes incluyen fibras ópticas y guías rectangulares. Las guías de onda ópticas pueden estar impresas en dispositivos microfluídicos implantables, pero más comúnmente, la luz láser se hace llegar a la diana mediante una fibra óptica de silicio. Este tipo de fibra es eficiente y sencillo de manejar. Sin embargo, para aplicaciones en tejidos y órganos vivos, resulta preferible disponer de guías de onda y fibras ópticas que sean biocompatibles, para evitar reacciones de cuerpo extraño en órganos altamente sensibles. También es conveniente que estos dispositivos ópticos sean biodegradables, para evitar la retirada de los mismos una vez realizado el tratamiento. Debido a estos requerimientos, se ha buscado activamente materiales alternativos a la fibra de silicio estándar, y se ha desarrollado guías de onda óptica basadas en biopolímeros. Este desarrollo de guías fabricadas con materiales poliméricos se ha recogido en diversas patentes, en EE.UU. y Europa, entre las que se destacan las siguientes:

- Patente 1- US 8195021 B2 Biopolymer optical waveguide and method of manufacturing the same.
- Patente 2- US 2010/0065784 A1 Electroactive biopolymer optical and electro-optical devices and method of manufacturing the same.
- Patente 3- EP 2612751 A2 Method of manufacturing a biopolymer optical waveguide.

Los materiales poliméricos que se proponen son polímeros de origen orgánico, tales como fibroína de seda, quitosano, colágeno, gelatina, agarosa, almidón, quitina, celulosa y combinaciones de los mismos.

De todos los biopolímeros indicados en las patentes mencionadas, la fibroína de la seda es el más eficiente en términos de propiedades ópticas y resistencia mecánica. La seda es una secreción proteica de muchas especies de artrópodos, con funciones muy diversas. La más conocida, debido a su uso como fibra textil desde hace siglos, es la seda producida por el Lepidóptero *Bombyx mori*, el conocido como gusano de la seda. Esta seda está compuesta por dos proteínas: la fibroína, de carácter fibroso que forma una fibra continua, y la sericina, una proteína globular y adhesiva que envuelve la fibroína y permite formar una estructura tridimensional como es el capullo para realizar la pupación. A su vez la fibroína, es una proteína que combina dominios peptídicos en hoja beta, compuestos por repeticiones de Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala, que le confieren gran resistencia mecánica, con dominios en hélice alfa que le confieren flexibilidad. La fibroína se ha revelado en la última década como un biomaterial de altas prestaciones para la fabricación de armazones de crecimiento de células madre en aplicaciones de Ingeniería Tisular. Esto es así debido a la gran biocompatibilidad de la fibroína, que no genera inflamación ni reacción de cuerpo extraño, una vez insertada en tejidos animales. Es biodegradable, con una tasa de degradación que puede modularse, y presenta una notable resistencia mecánica. La utilización de la fibroína como biomaterial requiere su previa solubilización para formar una solución acuosa a partir de la cual se fabrican configuraciones diversas tales como films, geles, esponjas tridimensionales porosas, mallas electrohiladas, etc. En estas estructuras se siembran las células madre que posteriormente se diferencian para formar tejidos diversos.

La fibroína de la seda tiene propiedades ópticas, tales como una elevada transparencia (98%), además de ser muy apropiada para la fabricación de dispositivos ópticos destinados a ser utilizados en un entorno biológico. Como ejemplo pueden citarse los films de fibroína que se utilizan para fabricar soportes para crecimiento de epitelio y estroma corneal. En la utilización de la fibroína de la seda como guía de onda óptica, descrita y protegida por las patentes citadas anteriormente, se parte de una solución líquida de fibroína previamente solubilizada que se extruye a través de una boquilla en un baño polimerizante, típicamente metanol. El filamento de fibroína acuosa polimerizada carece de

resistencia mecánica. Debido a ello, se aplica típicamente sobre una superficie que le sirve de soporte. Posteriormente se recubre con otro polímero de un índice de refracción adecuado, que permite el confinamiento de la luz en el interior de la fibra hasta el extremo distal de la misma. Esta forma de fabricar la fibra permite
5 incorporar a dispositivos microfluidicos impresos, pero no hace posible su uso como fibra independiente, resistente e implantable. Por tanto, se hace necesario buscar otras configuraciones de una fibra de seda que sea resistente, implantable, y capaz de transmitir luz.

10 La hijuela es una fibra de fibroína formada a partir de las dos glándulas sericígenas del gusano de seda. Para fabricarla, se procede a la extracción en vivo de las glándulas a partir de la larva de 5º estado, su acidificación mediante inmersión en un baño de ácido acético y su estiramiento manual. Este estiramiento produce un cambio de fase desde la fibroína líquida en estado
15 micelar en el interior de las glándulas a una fibra sólida y resistente donde la fibroína está en una configuración molecular de hoja beta. La fibra resultante tiene un grosor comprendido entre 100 y 1000 micras y una longitud entre 30 y 40 centímetros. Esta fibra se utilizó ampliamente a partir de mediados del siglo XIX como hilo de sutura en cirugía y como sedal para pescar. Esta industria
20 desapareció completamente hacia los años 1950, debido a la aparición del nylon y otras fibras artificiales que realizan la misma función con menor coste. La hijuela se produjo exclusivamente en la Región de Murcia, exportándose casi toda la producción a Inglaterra.

25 **Descripción de la invención**

La presente invención se refiere a un dispositivo diseñado para aplicar luz proveniente de una fuente de luz láser a tejidos superficiales o profundos de órganos de seres vivos. A diferencia de los sistemas empleados hasta ahora con
30 guías de luz artificiales (fibras ópticas de vidrio o de plástico), en esta invención el elemento de aplicación de la luz consiste en un tramo de fibra obtenida a partir de la hijuela, extraída del procesamiento de la glándula sericígena de un gusano de seda y que se utiliza como guía de luz. La hijuela, que está constituida

esencialmente por fibroína, presenta una elevada transparencia y posee la cualidad de emitir luz a través de su superficie lateral a lo largo de la misma, la luz que se aplica en uno de sus extremos. Con ello se consigue una zona más extensa de aplicación de la radiación luminosa que la que se obtiene con una fibra

5 óptica artificial emitiendo luz sólo por su extremo. Además, esta guía de luz presenta la ventaja de que está constituida por una proteína biocompatible, lo que permite su reabsorción por parte de los tejidos en los que se encuentre implantada. Por añadidura, la hijuela presenta una elevada resistencia a la tracción mecánica (hasta 5 kilogramos de tensión a rotura), con valores muy

10 superiores a los que presentan las fibras obtenidas por los procedimientos de extrusión descritos en las patentes citadas anteriormente. Esto constituye una considerable ventaja con respecto a los dispositivos de guía óptica de fibroína existentes, dado que la resistencia de la fibra permite que no se requiera la utilización de un soporte. Ello permite una flexibilidad absoluta en lo relativo a la

15 implantación de la fibra para la realización de su función, así como en lo que se refiere a la conexión a la fuente de luz. Esta propiedad de la hijuela la faculta como elemento idóneo para realizar inserciones superficiales o profundas en tejidos vivos y aplicar luz a los mismos, a través de ella. Además, la superficie de la hijuela presenta la reactividad química de la fibroína, caracterizada por la

20 presencia en su superficie de aminoácidos con grupos reactivos amino y carboxilo. Mediante la activación química de los mismos, es posible unir a la hijuela moléculas de diverso tipo que pueden aumentar su funcionalidad, por ejemplo, actividades enzimáticas o fármacos que se activen mediante la acción de la luz. También es posible recubrir la hijuela con polímeros conductores (polipirrol,

25 PANI, etc.), o compuestos de carbono conductores (grafeno, nanotubos de carbono, etc.), o metales como plata o cobre, que le confieren conductividad, permitiendo que la fibra constituya una guía óptica y eléctrica (optoelectrodo).

Descripción del contenido de las figuras

30

FIG 1. Dibujo que muestra el sistema formado por la fuente de luz, la guía artificial y la hijuela conectadas por el tubito de ensamblaje.

FIG 2. Fotografía mostrando la proliferación celular de fibroblastos de ratón L929 entorno a la hijuela al aplicar luz roja a través de ella en un cultivo.

Lista de referencias

5

- 1.- Fuente de luz.
- 2.- Guía de luz artificial.
- 3.- Hijuela.
- 4.- Tubito de ensamblaje hueco

10

Descripción de un modo de realización preferente de la invención

La construcción del sistema completo de fibra de emisión lateral de luz comienza con la fabricación de la hijuela. Para ello se anestesia a las larvas manteniéndolas a 4°C. Se secciona la cabeza del gusano con una cuchilla, se extraen las dos glándulas sericígenas, se lavan en agua y se depositan en baño de disolución de ácido acético al 2% durante dos minutos. Seguidamente las glándulas se estiran manualmente sujetándolas por sus extremos, hasta alcanzar una longitud entre 15 a 40-50 cm. Se consigue de esta manera una fibra traslúcida de 0.5 mm de diámetro aproximado, cubierta por residuos de células y sericina que se elimina mediante un lavado con agua. Finalmente, la fibra limpia se seca y se corta a la longitud requerida.

20

Posteriormente uno de los extremos de la hijuela se secciona con una cuchilla a 25 90° y se pule mecánicamente la superficie seccionada, por ejemplo, con lija al agua muy fina.

También se realiza la misma operación de cortado y pulido de un tramo de una guía de luz artificial (fibra óptica de vidrio o de plástico) que tenga el mismo diámetro que la hijuela obtenida y cuya longitud sea adecuada para el manejo del sistema.

30

Se corta un tramo de unos 2 cm de tubito de ensamblaje hueco 4 (extraído de una aguja hipodérmica, por ejemplo) de diámetro interior igual al de la hijuela 3 y

a la guía artificial 2 y se introducen en el mismo los extremos pulidos, uno de la hijuela y otro de la guía de luz artificial hasta que las superficies de las mismas hagan contacto en su interior (véase FIG 1). A continuación, se conecta el otro extremo de la guía artificial a una fuente de luz 1. Esta fuente es preferentemente luz láser cuyo color o longitud de onda sea la apropiada en la aplicación concreta que vaya a abordarse. El otro extremo de la es el que se utilizará para aplicar la luz en la zona del tejido que se haya seleccionado.

La dosificación de tiempos e intensidades en la aplicación de la luz mediante este sistema dependerá de los resultados que se desee obtener, además de ser necesario tener en cuenta resultados de ensayos previos realizados para cada caso de tejido y de situación.

Ejemplos:

15

Ejemplo 1. Efecto estimuladorio de la luz láser en la proliferación celular.

Se inserta la hijuela en un tejido para estimular el crecimiento de células nativas [ALGHAMDI, K. M., KUMAR, A., & MOUSSA, N. A. Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells. Lasers in Medical Science. 2012, Vol. 27(1), páginas 237-249], [BASSO, F. G., PANSANI, T. N., TURRIONI, A. P. S., BAGNATO, V. S., HEBLING, J., & DE SOUZA COSTA, C. A. In vitro wound healing improvement by low-level laser therapy application in cultured gingival fibroblasts. International Journal of Dentistry. 2012], o células añadidas en ese tejido, una vez que iluminamos la hijuela por su extremo. Esto es aplicable a la fabricación de una sutura que iluminada por su extremo promueva una proliferación más activa de fibroblastos mejorando la cicatrización. También puede colocarse linealmente a lo largo de un nervio para estimular el crecimiento neuronal y acelerar la reparación del mismo.

30 También se puede fabricar un trenzado plano de hijuelas que formen una superficie o estructura (scaffold) sobre la cual sembrar células. Tras la iluminación

de un extremo de las fibras que constituyen el trenzado, la estructura emitirá luz que estimulará el crecimiento de las células sembradas en la misma.

Ejemplo 2. Aprovechamiento de la luz láser en Terapia Fotodinámica.

5

Hay moléculas fotoactivables (cumarinas, feoforbido, etc.) que cuando son iluminadas con luz láser emiten singletes de oxígeno que son altamente oxidantes. Esta oxidación induce apoptosis celular y cuando estas células forman parte de un tumor, las células se eliminan, dando lugar a una terapia antitumoral [HENDERSON, B. W., WALDOW, S. M., MANG, T. S., POTTER, W. R., MALONE, P. B., & DOUGHERTY, T. J. Tumor destruction and kinetics of tumor cell death in two experimental mouse tumors following photodynamic therapy. Cancer Research. 1985, Vol. 45(2), páginas 572-576], [HOPPER, C. Photodynamic therapy: a clinical reality in the treatment of cancer. The Lancet Oncology. 2000. Vol. 1(4), páginas 212-219]. Las moléculas fotoactivables no son tóxicas en ausencia de luz, por tanto, pueden administrarse de forma localizada o sistémica para que tengan acceso a las proximidades de las células tumorales. Por ello, si se inserta la hijuela en un tumor, a continuación de la administración de una molécula fotoactivable, la luz proporcionada por la misma produce la activación de la molécula que a su vez desencadenará la apoptosis de las células tumorales. Esta aplicación es especialmente adecuada para actuar sobre tumores localizados en estructuras orgánicas de tipo tubular, dada la distribución lineal de la luz de la hijuela.

Por otra parte, también puede funcionalizarse una hijuela con moléculas fotoactivables e implantarla en un tumor. Hecho esto, al aplicar luz a la hijuela, las células en contacto con ésta entran en apoptosis y desaparecen.

Ejemplo 3. Aprovechamiento de la luz láser en sutura fotoquímica.

El mismo fenómeno descrito anteriormente funciona al activar con luz una molécula fotoactivable en contacto con colágeno. Las especies oxidativas producidas inducen un entrecruzamiento (crosslinking) en las fibras de colágeno,

uniendo fuertemente dos piezas separadas del mismo. Este proceso se conoce como sutura fotoquímica (Photochemical Tissue Bonding), [CHAN, B. P., KOCHEVAR, I. E., & REDMOND, R. W. Enhancement of porcine skin graft adherence using a light-activated process. *Journal of Surgical Research*. 2002, Vol. 108(1), páginas 77-84], [JOHNSON, T. S., O'NEILL, A. C., MOTARJEM, P. M., AMANN, C., NGUYEN, T., RANDOLPH, M. A., & REDMOND, R. W. Photochemical tissue bonding: a promising technique for peripheral nerve repair. *Journal of Surgical Research*. 2007, Vol. 143(2), páginas 224-229].

Por tanto, utilizando como sutura una hijuela funcionalizada con una molécula fotoactivable (rosa bengala con luz verde, por ejemplo), una vez iluminada produce un entrecruzamiento entre el colágeno de los bordes de la herida, acelerando la cicatrización.

Ejemplo 4: Aprovechamiento de luz láser en Optogenética

15

La optogenética es una tecnología que se basa en insertar en el cerebro neuronas que se han transformado con proteínas de membrana (opsinas) para responder a la luz láser azul abriendo los canales iónicos. Por tanto, un pulso de luz láser permite activar o desactivar estas neuronas, induciendo o frenando un potencial de acción, [CARDIN, J. A., CARLÉN, M., MELETIS, K., KNOBLICH, U., ZHANG, F., DEISSEROTH, K., & MOORE, C. I. Targeted optogenetic stimulation and recording of neurons in vivo using cell-type-specific expression of Channelrhodopsin-2. *Nature Protocols*. 2010, Vol. 5(2), páginas 247-254], [ZHANG, F., GRADINARU, V., ADAMANTIDIS, A. R., DURAND, R., AIRAN, R. D., DE LECEA, L., & DEISSEROTH, K. Optogenetic interrogation of neural circuits: technology for probing mammalian brain structures. *Nature Protocols*. 2010, Vol. 5(3), páginas 439-456]. Por ello, si se implanta en tejido cerebral la hijuela biocompatible y se ilumina con esa luz láser, se activan las neuronas específicas. Si interesa focalizar la luz en un punto, se utiliza la hijuela recubierta con un polímero biocompatible con un índice de refracción adecuado para que la luz se emita sólo por el extremo. Si se quiere estimular una zona amplia de tejido neural, con una distribución lineal, se emplea la hijuela en su configuración nativa.

30

También se ha conseguido recubrir la hijuela con una fina capa de polímero conductor, grafeno o un metal eléctricamente conductor que permite la transmisión de una señal eléctrica útil, bien para excitar eléctricamente zonas de tejidos, o bien para capturar y registrar señales bioeléctricas producidas por células durante una intervención neurofisiológica en la zona de tejido neural a estudiar.

Ejemplo 5. Liberación de fármacos

10 Dentro del amplio campo de la liberación controlada y dirigida de fármacos existe una estrategia consistente en encapsular fármacos en liposomas en cuya pared se integra un compuesto fotoactivable. Bajo un impulso de luz, este componente se activa, rompe las paredes del liposoma y libera su carga terapéutica [ÁLVAREZ-LORENZO, C., BROMBERG, L., & CONCHEIRO, A. Light-sensitive
15 Intelligent Drug Delivery Systems. Photochemistry and Photobiology. 2009, Vol. 85(4), páginas 848-860], [YANG, X., LIU, X., LIU, Z., PU, F., REN, J., & QU, X. Near-Infrared Light-Triggered, Targeted Drug Delivery to Cancer Cells by Aptamer Gated Nanovehicles. Advanced Materials. 2012, Vol. 24(21), páginas 2890-2895].
Utilizando la hijuela en conjunción con este tipo de liposomas, fijados en su
20 superficie, al emitir luz por la hijuela se libera la carga terapéutica de los liposomas fijados a su superficie.

REIVINDICACIONES

1. Fibra de emisión lateral de luz que comprende:

- 5 - un tramo de fibra de seda (3) producida a partir del procesamiento químico y mecánico de la glándula sericígena del gusano de seda,
 - un tramo de fibra óptica artificial (2),
 - un acoplamiento de las fibras anteriores por uno de los extremos de cada una de ellas,
10 - una fuente de luz conectada al extremo libre de la fibra artificial (1).

2. Fibra de emisión lateral de luz, según reivindicación anterior, caracterizada porque la fibra de seda se obtiene por tracción longitudinal de la glándula sericígena del gusano previamente acidificada.

15

3. Fibra de emisión lateral de luz, según reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la sección transversal de la fibra del gusano de seda tiene un diámetro comprendido entre 0.1 mm y 1.0 mm.

20 4. Fibra de emisión lateral de luz, según reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la fibra de seda es extraída de un gusano de seda de cualquiera de las razas del insecto Lepidóptero *Bombyx mori*.

25 5. Fibra de emisión lateral de luz, según reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la fibra artificial es de vidrio o de plástico.

6. Fibra de emisión lateral de luz caracterizada porque las dos fibras se conectan por uno de sus extremos introduciendo éstos en un tubito hueco de diámetro interior igual al diámetro de la sección de las fibras.

30

7. Fibra de emisión lateral de luz, según reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la fibra de seda está recubierta, parcialmente o en toda su longitud, con polímeros conductores (polipirrol, PANI, etc.), o compuestos

de carbono conductores (grafeno, nanotubos de carbono, etc.), o metales como plata o cobre.

- 5 8. Uso de la fibra de emisión lateral de luz descrita según las reivindicaciones 1-6, para estimular el crecimiento de células nativas o células añadidas en un tejido.
9. Uso de la fibra de emisión lateral de luz, según reivindicaciones 1-6, para la sutura de una herida en la que se promueva la proliferación de fibroblastos.
- 10 10. Uso de la fibra de emisión lateral de luz, según reivindicaciones 1-6, para trenzar una malla de fibra sobre la que sembrar células y favorecer su crecimiento.
- 15 11. Uso de la fibra de emisión lateral de luz, según reivindicaciones 1-6, para eliminar células tumorales por inducción de apoptosis celular.
12. Uso de la fibra de emisión lateral de luz, según reivindicaciones 1-6, para eliminar células tumorales combinando la iluminación de la hijuela con la administración de una molécula fotoactivable.
- 20 13. Uso de la fibra de emisión lateral de luz, según reivindicaciones 1-6, para producir suturas de hijuela funcionalizadas con moléculas fotoactivables.
- 25 14. Uso de la fibra de emisión lateral de luz, según reivindicaciones 1-6, para activar neuronas específicas por inducción o supresión del potencial de acción.
- 30 15. Uso de la fibra de emisión lateral de luz, según reivindicaciones 1-6, para activar la liberación de analgésicos y otros fármacos mediante la funcionalización de hijuelas con liposomas cargados y fotoactivables.

16. **Uso de la fibra de emisión lateral de luz, según reivindicaciones 1-7, para transmitir señales eléctricas, durante una intervención neurofisiológica, con la zona biológica intervenida.**

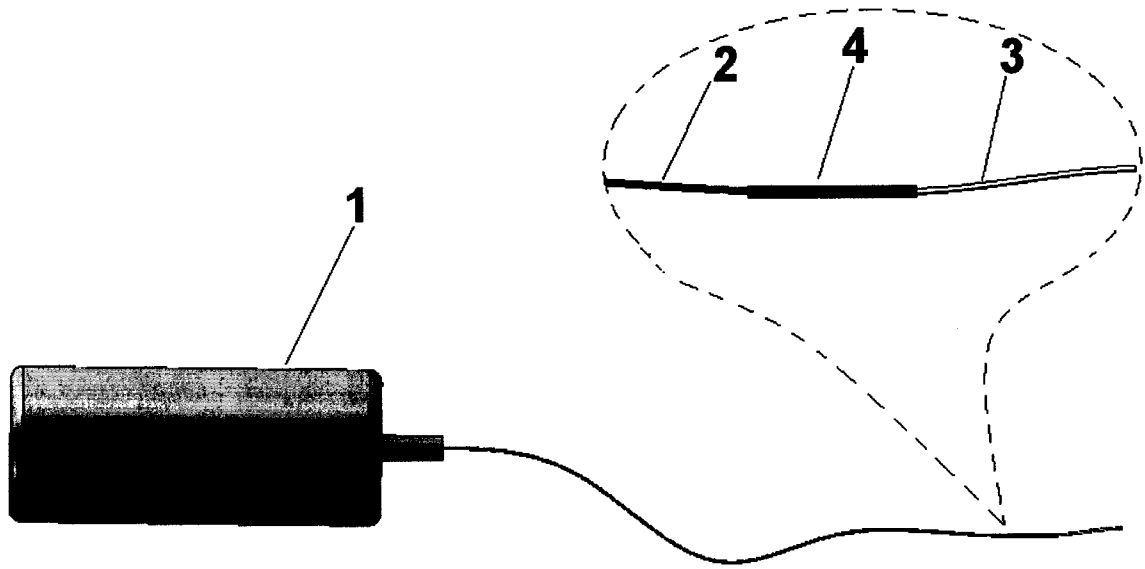


Figura 1

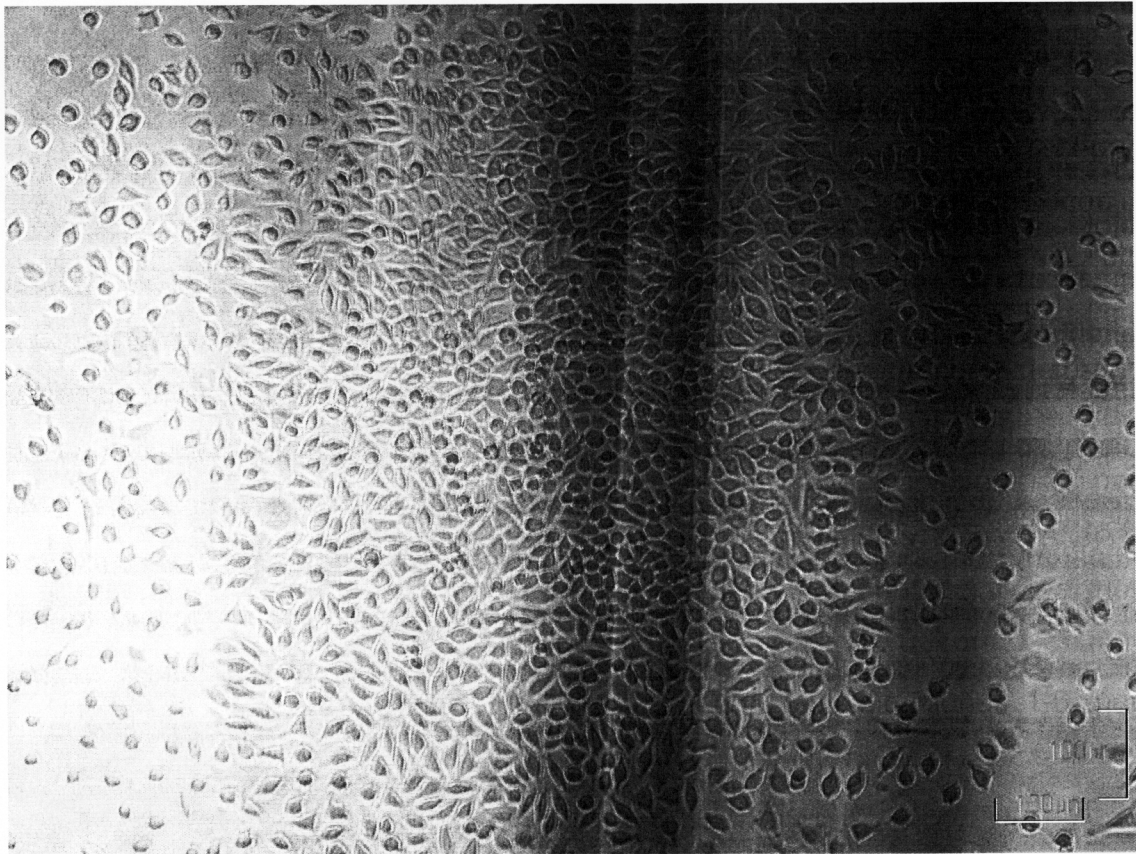


Figura 2



21 N.º solicitud: 201500176

22 Fecha de presentación de la solicitud: 27.02.2015

32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

51 Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	XIA et al. Fabrication and properties of conductive conjugated polymers/silk fibroin composite fibers. Composites Science and Technology, 20071219 Elsevier, UK 19.12.2007 VOL: 68 No: 6 Págs: 1471-1479 ISSN 0266-3538 Doi: doi:10.1016/j.compscitech.2007.10.044 Soutis Constantinos; Beaumont P W R; Hodzic A. Página 1471, columna derecha – página 1472, columna izquierda, segundo párrafo; página 1472, columna derecha, apartados 2.3 y apartado 2.4 y página 1473, columna derecha, primer párrafo.	1-16
A	HARDY J G et al. Polymeric materials based on silk proteins. POLYMER, 20080923 ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V, GB 23.09.2008 VOL: 49 No: 20 Págs: 4309-4327 ISSN 0032-3861 Doi: doi:10.1016/j.polymer.2008.08.006. Página 4318, apartado 3.2 y apartado 3.3; página 4319, apartado 3.4; página 4319, apartado 3.6 y página 4322, apartado 3.8.	1-16
A	US 2002155490 A1 (SKINNER NIGEL G et al.) 24.10.2002, reivindicaciones 1,17-19.	1-16
A	US 2013310908 A1 (OMENETTO FIORENZO et al.) 21.11.2013, párrafo [0074]; reivindicaciones 1,3,26.	1-16
A	US 2012244143 A1 (LO TIM JIA-CHING et al.) 27.09.2012, párrafos [0003],[0007],[0009],[0014],[0064],[0067],[0080].	1-16

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
13.04.2015

Examinador
S. González Peñalba

Página
1/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

G02B6/10 (2006.01)

G02B1/04 (2006.01)

D01B7/00 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G02B, D01B

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, MEDLINE, NPL, BIOSIS, EMBASE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 13.04.2015

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-16	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-16	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	XIA et al. Fabrication and properties of conductive conjugated polymers/silk fibroin composite fibers. Composites Science and Technology, 20071219 Elsevier, UK 19.12.2007 VOL: 68 No: 6 Págs: 1471-1479 ISSN 0266-3538 Doi: doi:10.1016/j.compscitech.2007.10.044 Soutis Constantinos; Beaumont P W R; Hodzic A. Página 1471, columna derecha – página 1472, columna izquierda, segundo párrafo; página 1472, columna derecha, apartados 2.3 y apartado 2.4 y página 1473, columna derecha, primer párrafo.	19.12.2007
D02	HARDY J G et al. Polymeric materials based on silk proteins. POLYMER, 20080923 ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V, GB 23.09.2008 VOL: 49 No: 20 Págs: 4309-4327 ISSN 0032-3861 Doi: doi:10.1016/j.polymer.2008.08.006. Página 4318, apartado 3.2 y apartado 3.3; página 4319, apartado 3.4; página 4319, apartado 3.6 y página 4322, apartado 3.8.	23.09.2008
D03	US 2002155490 A1 (SKINNER NIGEL G et al.)	24.10.2002
D04	US 2013310908 A1 (OMENETTO FIORENZO et al.)	21.11.2013
D05	US 2012244143 A1 (LO TIM JIA-CHING et al.)	27.09.2012

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente solicitud de patente hace referencia, tal y como ha sido presentada, a una fibra de emisión lateral de luz que comprende un tramo de fibra de seda producida a partir del procesamiento químico y mecánico de la glándula sericígena del gusano de seda, un tramo de fibra óptica artificial, un acoplamiento de las fibras anteriores por uno de los extremos de cada una de ellas y una fuente de luz conectada al extremo libre de la fibra artificial (reivindicación 1). La fibra de seda se obtiene por tracción longitudinal de la glándula sericígena del gusano previamente acidificada (reivindicación 2), tiene un diámetro comprendido entre 0,1 mm y 1,0 mm (reivindicación 3) y se extrae del gusano de seda Lepidóptero *Bombyx mori* (reivindicación 4). La fibra artificial es de vidrio o de plástico (reivindicación 5), las fibras se encuentran conectadas por un tubo hueco (reivindicación 6), y además, la fibra de seda está recubierta, parcialmente o en toda su longitud con polímeros conductores tales como polipirrol, PANI, etc (reivindicación 7). Se reivindica también, el uso de dicha fibra para estimular el crecimiento de células nativas o células añadidas en un tejido (reivindicación 8), para la sutura de una herida en la que se promueva la proliferación de fibroblastos (reivindicación 9), para trenzar una malla de fibra sobre la que sembrar células y favorecer su crecimiento (reivindicación 10), para eliminar células tumorales induciendo apoptosis (reivindicación 11) o mediante la administración de una molécula fotoactivable (reivindicación 12), para producir suturas de hijuela funcionalizadas con moléculas fotoactivables (reivindicación 13), para activar neuronas (reivindicación 14), para activar la liberación de fármacos (reivindicación 15) y para transmitir señales eléctricas durante una intervención neurofisiológica (reivindicación 16).

NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA ARTS. 6 Y 8 DE LA LP

El documento D01 hace referencia la fabricación de fibras compuestas de polímeros altamente conductores y fibroina de seda. Las superficies de las fibras de fibroina de seda se cubrieron completamente con polímeros conductores tales como polipirrol, polianilina (PANI) (véase página 1473, columna derecha, primer párrafo). Estudios llevados a cabo han demostrado que el crecimiento celular y ciertas funciones pueden mejorarse drásticamente mediante la utilización de dichos polímeros conductores, pero éstos presentan el inconveniente de ser insolubles e invariables, por lo que se han intentado mezclar con biomateriales apropiados, tales como la seda procedente del gusano de seda (*Bombyx mori*) (véase página 1471, columna derecha- página 1472, columna izquierda, segundo párrafo). Para preparar las fibras compuestas, se dispersaron fibras de seda, obtenidas de la crisálida de *Bombyx mori* en una solución acuosa que contenía el monómero de pirrol (véase página 1472, columna derecha, apartado 2.3), o el monómero de anilina (apartado 2.4).

El documento, D02 se refiere a materiales poliméricos que están basados en proteínas de seda. Se indica que las fibras de seda pueden usarse para suturas (véase página 4318, apartado 3.2) como andamios (scaffolds) para el crecimiento de células nerviosas *in vitro*, para la proliferación de fibroblastos, para el crecimiento de tejidos de huesos (véase página 4318, apartado 3.3), como revestimientos biocompatibles (véase página 4319, apartado 3.4) para sistemas de liberación de fármacos (véase página 4319, apartado 3.6). Además dichas fibras pueden utilizarse con materiales electroconductores tales como el polipirrol (véase página 4322, apartado 3.8).

El documento D03 divulga una partícula en la que una porción de su superficie es capaz de emitir radiación electromagnética y otra porción de su superficie es capaz de emitir radiación electromagnética diferencial, y en la que la disposición de dichas porciones de su superficie define un código distribuido espacialmente para la identificación de la partícula (véase reivindicación 1). Las partículas pueden estar formadas por productos naturales, tales como seda (véase reivindicación 19), polímeros tales como polipirrol (véase reivindicación 17) y compuestos tales como fibra de vidrio (véase reivindicación 18).

El documento D04 describe un elemento fototérmico que comprende una pluralidad de nanopartículas plasmónicas que generan calor y una matriz de fibroina de seda, en el que las nanopartículas plasmónicas se encuentran distribuidas dentro de la matriz de fibroina de seda (véase reivindicación 1). El elemento fototérmico se puede encontrar en forma de fibra óptica (véase reivindicación 3). Dicho elemento puede ser útil como dispositivo de implante para terapia fototérmica *in vivo* (véase reivindicación 26), y para tratar enfermedades o desórdenes, como por ejemplo, cáncer e inflamación (véase párrafo [0074]).

El documento D05 trata sobre fibras de seda que se obtienen aplicando un campo eléctrico a una solución de fibroina de seda (véase párrafo [0007]). Se obtienen fibras de seda que pueden transmitir la luz y usarse como fibra óptica y como sistemas para monitorizar y transmitir información relacionada con procesos de enfermedades, tratamientos y crecimiento de tejidos (véase párrafos [0003], [0009] y [0014]). Dichas fibras de seda pueden combinarse con otro tipo de fibras, naturales o sintéticas (véase párrafo [0064]) y compuestos poliméricos (véase párrafo [0067]) y además pueden usarse como sistemas de liberación de fármacos (véase párrafo [0080]).

Por lo tanto, la presente solicitud de patente, a partir de los documentos citados del estado de la técnica, y tal y como ha sido presentada, parece tener novedad y actividad inventiva, ya que no se ha encontrado ningún documento que contenga la fibra de emisión de luz lateral que comprende un tramo de fibra de seda, un tramo de fibra óptica artificial, un acoplamiento de las fibras anteriores y una fuente de luz. Se han encontrado documentos que utilizan fibra de seda del gusano *Bombyx mori* junto con otras fibras artificiales, pero no con las características técnicas recogidas en las reivindicaciones 1-16. Ni tampoco, en los documentos citados, existen sugerencias que dirijan al experto en la materia hacia la invención definida en dichas reivindicaciones. Por lo que, las reivindicaciones 1-16 cumplen los requisitos de novedad y actividad inventiva según los artículos 6 y 8 de la LP.