

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 393 575**

51 Int. Cl.:

A61M 1/00 (2006.01)

A61K 38/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05703144 .5**

96 Fecha de presentación: **27.01.2005**

97 Número de publicación de la solicitud: **1720586**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.11.2006**

54 Título: **Aparato para el desbridamiento de lesiones cutáneas.**

30 Prioridad:

27.01.2004 US 768749

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:

26.12.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:

26.12.2012

73 Titular/es:

RAMOT AT TEL-AVIV UNIVERSITY LTD. (50.0%)
P.O. Box 39296
61392 Tel Aviv, IL y
ENZYSURGE LTD. (50.0%)

72 Inventor/es:

FREEMAN, AMIHAY;
HIRSZOWICZ, ERAN y
BE'ERI-LIPPERMAN, MICHAL

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO FACES, José

ES 2 393 575 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

Aparato para el desbridamiento de lesiones cutáneas.

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un aparato para el desbridamiento de tejido desvitalizado en lesiones cutáneas, el aparato comprende una pluralidad de tubos de entrada ajustables en altura y ángulo, al menos un tubo de salida y medios para formar un sellado oclusivo alrededor de una lesión cutánea.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las enfermedades agudas y crónicas, como la diabetes y la psoriasis, o lesiones agudas resultan en un daño severo a la piel. Este daño puede implicar el grosor completo de la piel y puede a menudo incluir tejidos más profundos donde la profundidad del daño varía sobre la zona dañada completa. La piel dañada pierde la organización anatómica de una piel sana ya que el estrato córneo es al menos parcialmente destruido y consecuentemente las capas interiores de la piel ya no están protegidas del ambiente externo. Además, la piel dañada típicamente contiene escara muerta, células enfermas y/o anormales que deben ser retiradas para permitir la curación. El dejar la escara muerta en su sitio extiende y profundiza el daño a los tejidos colindantes, no dañados. Esta escara muerta también sirve como un medio de crecimiento bacteriano, y una superficie de infección, contaminación y sepsis que puede ser peligrosa para la vida.

15

20

25

La retirada de la escara muerta, células enfermas y/o anormales, también conocida como "desbridamiento", se ejecuta o por procedimientos quirúrgicos o usando medios enzimáticos. La cirugía es uno de los procedimientos más comunes de desbridamiento en donde pequeñas áreas necróticas son extirpadas de la piel dañada completa. Este método está limitado a superficies no tangenciales pequeñas. También implica la retirada de fracciones grandes de tejido sano que, si se conservasen, podría servir como una fuente para los procedimientos de curación naturales. Los procedimientos quirúrgicos son también largos, caros y requieren recursos médicos complicados.

30

35

40

La Patente U.S. Nº 3.910.266 describe un método y aparato que proporciona un chorro de fluidos presurizados que se usa para penetrar la piel e insertar agentes cosméticos o terapéuticos en la piel. La Patente U.S. Nº 5.697.920 describe medios para el desbridamiento mecánico usando un chorro de fluidos presurizados y un cepillo. Las Patentes U.S. Nº 5.941.859; 5.989.211 y 6.264.66 describen instrumentos médicos para suministrar y retirar fluidos de enjuagado de la piel. Un aparato quirúrgico de mano adaptado para ser usado sustancialmente como una herramienta quirúrgica afilada para la retirada de tejido enfermo utilizando chorros de líquido presurizado, se describe en la Patente U.S. Nº 5.037.431. La Patente U.S. Nº 5.358.494 describe un vendaje de irrigación que comprende un conducto para suministrar los fluidos de irrigación y una almohadilla unida a la punta del conducto en donde la almohadilla está adaptada para llenar la cavidad herida, soportando de esta forma las paredes de la herida. Sin embargo, los métodos y aparatos descritos en las patentes anteriores no están adaptados para proporcionar un sistema de sellado que ocluya una zona de tratamiento definida. Además, estos métodos y aparatos no pueden proporcionar un ambiente sellado que abarque la herida y que sea resistente a la presión acumulada en la misma.

45

La Patente U.S. Nº 4.969.881 describe un vendaje de oxígeno hiperbárico adaptado para tratar llagas corporales con un flujo de oxígeno suministrando oxígeno a través de un vendaje tubo de alimentación adecuado utilizando un sistema de liberación de gas. El vendaje descrito en esta patente no es adecuado para drenar secreciones o exceso de materiales terapéuticos del área herida y/o para proporcionar un flujo de solución terapéutica al área herida.

50

55

La Solicitud de Patente U.S., Nº de Publicación 2003/0050594, describe un sistema de terapia de heridas adaptado para tratar una herida con un gradiente de varias fuerzas mecánicas, particularmente vacío, el sistema comprendiendo un montaje de transferencia, un montaje de recolección y una fuente para establecer el mencionado gradiente, específicamente una bomba, conectada al montaje de transferencia. La Solicitud de Patente U.S., Nº de Publicación 2003/0225441, describe un dispositivo para aplicar líquidos termoterapéuticos a un área seleccionada de un paciente, el dispositivo comprendiendo un aplicador para mantener los líquidos a la temperatura deseada, el aplicador estando soportado sobre el área seleccionada a través de presión negativa generada por una bomba conectada al mismo.

60

La Patente U.S. Nº 6.135.116 describe un método para terapia de heridas, que comprende proporcionar terapia de compresión neumática y terapia de cierre asistida por vacío, concurrentemente. La Patente U.S. Nº 6.767.334 describe un dispositivo de tratamiento de heridas adaptado para proporcionar una presión positiva a un sitio de heridas, el dispositivo comprende una almohadilla para insertarla en la herida, una bomba y un conducto de fluido para transportar fluidos a través de la almohadilla a la herida, una comunicación venturi para crear succión en la almohadilla y dentro de la cavidad de la herida y un depósito para recoger el fluido de la herida.

65

Las Patentes U.S. Nº 1.385.346; 6.398.767; 6.458.109 y EP 1014905 describen vendajes que están asegurados a la superficie de la piel alrededor de una herida. Cada vendaje incluye un único tubo de infusión y un

único tubo de drenaje que tienen una posición fija con respecto a la superficie de la herida. La Solicitud de Patente Internacional, Nº de Publicación WO 03/01136, cedida a los cesionarios comunes de la presente invención, describe un dispositivo para la retirada de células de un tejido viable. El dispositivo incluye un tubo de entrada adaptado para aplicar una corriente de soluciones enzimáticas sobre y en el tejido y un tubo de salida para retirar el exceso de fluidos y los desechos. La distancia entre la abertura del tubo de salida y la piel puede ser ajustada por un mecanismo de tornillo. Cada uno de los vendajes y dispositivos descritos en las invenciones anteriormente mencionadas incluyen un único tubo de infusión (entrada) que tiene una posición fija con respecto a la herida. Así, estos vendajes y dispositivos no pueden ser ajustados para penetrar profundamente en la lesión y no son adecuados para infundir áreas que no son fácilmente accesibles.

Un documento por el inventor de la presente invención publicado después de la fecha de prioridad de la presente solicitud describe aplicar una corriente de enzimas proteolíticos activos durante unas pocas horas para proporcionar un desbridamiento efectivo (Freeman y otros, Wound 16:201-205, Junio 2004). Se descubrió que la transmisión de una solución reguladora vacía de enzimas era inefectiva. Además el tratamiento con solución de enzimas estáticos durante un periodo de tiempo similar no tuvo efecto y no se observó cambio visual.

El desbridamiento enzimático es ventajoso sobre el desbridamiento mecánico y quirúrgico principalmente ya que es menos doloroso y no implica la pérdida de una gran cantidad de sangre. La aplicación de enzimas proteolíticos para el desbridamiento es bien conocido en la técnica (G. Rodeheaver, 1975, Am. J. Surg. 129(5):537-544). Estos enzimas incluyen aquellos generalmente encontrados en fuentes vegetales, como la papaya (papaína), el higo (ficina), y la piña (bromelaina). Los enzimas hidrolíticos derivados de la planta de piña que son útiles para la digestión, disección y separación del tejido no viable, especialmente tejido escara, del viable en un huésped mamífero son los descritos en las Patentes U.S: Nº 4.197.291; 4.226.854; 4.307.081; 4.329.430 y 5.830.739 entre otras. La Patente U.S: Nº 6.017.531 describe una composición proteolítica que incluye una proteasa neutra extracelular producida por

la *Vibrio proteolyticus*. El Documento GB2378392 divulga un dispositivo de irrigación/succión de heridas que tiene características de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación 1.

La US 2003/021775 se corresponde con un aparato para el desbridamiento de tejido expuesto y sustancialmente accesible. El aplicador (24) comprende un alojamiento que tiene dos aperturas, un mecanismo de acoplamiento (26) un puerto de entrada (20) y uno de salida (22).

El grado de actividad terapéutica obtenida de la aplicación tópica de enzimas proteolíticos se rige, entre otras, por las características catalíticas intrínsecas de esos enzimas. Los principales problemas asociados con el uso tópico de las composiciones que comprenden enzimas proteolíticos son que la actividad proteolítica de los enzimas se atenúa rápidamente debido al pH bajo típico en el área de la lesión, la adsorción de moléculas de enzimas a la superficie del lecho de la herida y/o la superficie del vendaje evitando de este modo su accesibilidad a otras regiones en el lecho de la herida y la inhibición de la actividad enzimática por fracciones dentro de los exudados de la herida. Por lo tanto, obtener formulaciones enzimáticas estables es a menudo complicado.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un aparato para desbridar el tejido desvitalizado de lesiones cutáneas. El aparato de la presente invención supera los inconvenientes de los antecedentes de la técnica proporcionando un flujo continuo de soluciones terapéuticas en el lecho de la herida de la lesión cutánea, a través de una pluralidad de tubos de entrada ajustables en donde al menos uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada comprende un alambre desviable que se extiende a lo largo del primer eje longitudinal del mencionado al menos un tubo de entrada y unido operativamente al mismo. En una realización de la presente invención, las soluciones terapéuticas pueden incluir enzimas proteolíticos catalíticamente activos.

Se debe entender que los términos "lesión cutánea" y "lesión" como se usan en la presente han de interpretarse de acuerdo con su significado más amplio, para describir piel dañada que comprende tejido desvitalizado, incluyendo úlceras cutáneas crónicas (por ejemplo úlceras diabéticas y úlceras de decúbito) y quemaduras. La lesión cutánea puede extenderse a través de toda o a través de parte de las capas cutáneas y puede además extenderse a través de los músculos y tejidos subyacentes.

El aparato de la presente invención proporciona desbridamiento eficiente de tejido desvitalizado sin la necesidad de ninguna intervención quirúrgica. El aparato de la invención es ventajoso sobre otros medios de desbridamiento no quirúrgicos conocidos en la técnica ya que está configurado para suministrar continuamente soluciones terapéuticas, particularmente soluciones que comprenden enzimas de desbridamiento catalíticamente activos, a cualquier profundidad deseada y en cualquier ángulo. Por lo tanto, la presente invención es adecuada para el tratamiento de una variedad de lesiones, incluyendo lesiones cutáneas profundas como lesiones de Grado II y de Grado III. El aparato puede además ser adaptado para generar y mantener presión positiva o negativa en el lugar de la lesión, que como se ha detallado anteriormente, se conoce que mejora la curación. En consecuencia la invención

puede ser adaptada para una terapia combinada que abarca desbridamiento enzimático con presión negativa/positiva.

5 En una realización de la presente invención, se proporciona un aplicador para tratar una lesión cutánea, dicho aplicador comprendiendo:

a) una unidad de alojamiento que tiene al menos una apertura formada en la misma; y

10 b) medios para la fijación del aplicador a la piel alrededor de la circunferencia de la lesión cutánea; en donde dicha unidad de alojamiento comprende:

15 i) una pluralidad de tubos de entrada, cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada teniendo un primer eje longitudinal y configurado para ser ajustable a lo largo de su eje longitudinal a través de la mencionada al menos una apertura; y

20 ii) al menos un tubo de salida que tiene un segundo eje longitudinal en donde al menos uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada comprende un alambre desviable que se extiende a lo largo del primer eje longitudinal del mencionado al menos un tubo de entrada y unido operativamente al mismo.

De acuerdo con una realización, la unidad de alojamiento comprende una pluralidad de aperturas, en donde cada una de la mencionada pluralidad de tubos de entrada y el al menos un tubo de salida se extienden a través de una correspondiente de cada una de la mencionada pluralidad de aperturas.

25 De acuerdo todavía con otra realización, el mencionado al menos un tubo de salida está configurado para ser ajustable a través de su apertura correspondiente.

30 De acuerdo con otra realización, el aplicador además comprende una pluralidad de unidades de sellado, cada unidad de sellado estando configurada para evitar el paso de fluidos entre el diámetro externo de cada tubo de entrada y su apertura correspondiente. De acuerdo con otra realización, el aparato además comprende al menos una unidad de sellado estando configurada para evitar el paso de fluidos entre el diámetro externo del mencionado al menos un tubo de salida y su apertura correspondiente.

35 De acuerdo con otra realización, cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada tiene un extremo proximal y un extremo distal, dicho extremo distal configurado para encarar la mencionada lesión cutánea. De acuerdo todavía con otra realización, cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada es ajustable en la posición y el ángulo con respecto a la unidad de alojamiento. De acuerdo con todavía otra realización el extremo distal de cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada está suavemente curvado para formar una punta no traumática. De acuerdo con todavía otra realización, la abertura en el extremo distal del al menos un tubo de entrada está en un ángulo con respecto al eje central del tubo de entrada. De acuerdo con todavía otra realización, el extremo distal comprende una pluralidad de aberturas.

45 De acuerdo con una realización preferida, cada tubo de entrada es transparente. De acuerdo con todavía otra realización preferida, cada tubo de entrada está hecho de un elastómero flexible. De acuerdo con todavía otra realización, el elastómero flexible comprende un material seleccionado del grupo consistente de: silicona, poliuretano, goma natural, neopreno y etilo vinil acetato.

50 De acuerdo con todavía otra realización, cada tubo de entrada es extensible o retráctil a lo largo de su eje longitudinal. De acuerdo con todavía otra realización, el aplicador además comprende un mecanismo de tornillo ajustable en comunicación con cada uno de los mencionados tubos de entrada para extender o retraer de este modo cada tubo de entrada a lo largo de su eje longitudinal.

55 De acuerdo con todavía otra realización, el aplicador además comprende al menos un depósito en comunicación fluida con la pluralidad de tubos de entrada. De acuerdo con todavía otra realización, el al menos un depósito está adaptado para contener una solución terapéutica. De acuerdo con todavía otra realización, el al menos un depósito está hecho de un material seleccionado del grupo consistente de: plástico, cristal, acero y cerámica.

60 De acuerdo con todavía otra realización, el aplicador además comprende un conector que está en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada y con el al menos un depósito, el conector está adaptado para abrir y cerrar la comunicación fluida entre el al menos un tubo de entrada y el mencionado al menos un depósito. De acuerdo con todavía otra realización, el conector incluye al menos un elemento seleccionado del grupo consistente de: cerradura luer y medio de válvula.

65 De acuerdo con todavía otra realización, el aparato además comprende un separador estando en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada y con el al menos un depósito, el separador está adaptado

para desconectar y reconectar reversiblemente el al menos un tubo de entrada del mencionado al menos un depósito.

5 De acuerdo con todavía otra realización, el aplicador además comprende un medio de control estando en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada y con el al menos un depósito, el medio de control está adaptado para controlar el caudal de fluidos que fluyen desde el al menos un depósito a través del al menos un tubo de entrada. De acuerdo con todavía otra realización, el medio de control es seleccionado del grupo consistente de: bomba peristáltica y contador de goteo.

10 De acuerdo con todavía otra realización, el aplicador además comprende un medio termo-regulador que está en comunicación con el al menos un depósito, afectando de este modo a la temperatura de los fluidos contenidos en el mencionado al menos un depósito. De acuerdo con otra realización, el aplicador además comprende un medio termo-regulador que está en comunicación con al menos un tubo de entrada de la mencionada pluralidad de tubos de entrada, afectando de este modo a la temperatura de los fluidos que fluyen a través del mencionado al menos un tubo de entrada.

15 De acuerdo con todavía otra realización, el aparato además comprende al menos un filtro ajustado dentro del al menos un tubo de entrada de la mencionada pluralidad de tubos de entrada, para filtrar fluidos que fluyen dentro del mencionado al menos un tubo de entrada.

20 De acuerdo con todavía otra realización, el aplicador además comprende un depósito de recolección que está en comunicación fluida con el al menos un tubo de salida y configurado para recoger fluidos drenados del mencionado al menos un tubo de salida.

25 De acuerdo con otra realización alternativa, el aplicador además comprende una pluralidad de depósitos, en donde el primer depósito de dicha pluralidad de depósitos está adaptado para contener una primera solución que comprende al menos una proteasa catalíticamente no activa y en donde un segundo depósito de dicha pluralidad de depósitos está adaptado para contener una segunda solución que comprende un agente capaz de activar la al menos una proteasa catalíticamente no activa, el primer depósito y el segundo depósito estando en comunicación fluida entre sí y al menos uno de los mencionados primer y segundo depósitos además estando en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada de la mencionada pluralidad de tubos de entrada. De acuerdo con una realización alternativa, el aplicador además comprende una cámara de mezclado que está en comunicación fluida con los mencionados primero y segundo depósitos y con al menos un tubo de entrada, en donde la cámara de mezclado está adaptada para contener una mezcla proteolítica catalíticamente activa que comprende las mencionadas primera y segunda soluciones. De acuerdo con todavía otra realización la cámara de mezclado además comprende medios de mezclado.

30 De acuerdo con todavía otra realización el aplicador además comprende una fuente de vacío que está en comunicación fluida con el al menos un tubo de salida, generando de este modo una presión negativa en la lesión cutánea ocluida.

35 De acuerdo con una realización preferida la solución terapéutica comprende una cantidad efectiva de al menos una proteasa catalíticamente activa. De acuerdo con otra realización, la al menos una proteasa catalíticamente activa es seleccionada del grupo consistente de: papaína, bromelaína, activador plasminógeno, plasmina, proteasa de mastocitos, hidrolasa lisosomal, estreptoquinasa, pepsina, vibriolisina, proteasa krill, quimiotripsina, tripsina, colagenasa, elastasa, dipasa, proteinasa K, proteasa multifuncional Clostridium y proteasa Bacillus subtilis.

40 De acuerdo con todavía otra realización, el medio para la fijación del aplicador a la piel comprende un primer plano unido al alojamiento y un segundo plano configurado para rodear y adherirse a la lesión. De acuerdo con todavía otra realización, el medio adhesivo es transparente. De acuerdo con otra realización, el medio adhesivo es biocompatible. De acuerdo con todavía otra realización, el segundo plano se cubre con una película desprendible protectora.

45 De acuerdo con una realización preferida, el mencionado alambre desviable no se extiende más allá del mencionado extremo distal de la mencionada al menos una entrada. De acuerdo con todavía otra realización, el alambre desviable comprende un material rígido que es flexible y elástico. De acuerdo con todavía otra realización, el alambre desviable comprende un material seleccionado del grupo consistente de: plata, platino, acero inoxidable y polímero. De acuerdo con todavía otra realización, el mencionado al menos un tubo de entrada comprende un primer lumen longitudinal para contener fluidos y un segundo lumen longitudinal configurado para contener el alambre desviable.

50 En otra realización de la presente invención, se proporciona un aparato para tratar una lesión cutánea, dicho aparato comprende:

a) un separador para ocluir un área que comprende la lesión cutánea, el separador teniendo un plano inferior que encara la piel, un plano superior que encara el alojamiento, en donde el plano inferior comprende medios adhesivos para fijar el espaciador a la piel en la circunferencia de la mencionada lesión cutánea; y
 b) un aplicador que comprende una unidad de alojamiento, dicha unidad de alojamiento comprende:

5 (i) una pluralidad de tubos de entrada, cada uno de dicha pluralidad de tubos de entrada teniendo un primer eje longitudinal y configurado para ser ajustable a lo largo de su eje longitudinal a través de la mencionada al menos una apertura;

10 (ii) al menos un tubo de salida que tiene un segundo eje longitudinal; y

(iii) medios para fijar el aplicador al plano superior del separador en donde al menos uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada comprende un alambre desviable que se extiende a lo largo del primer eje longitudinal del mencionado al menos un tubo de entrada y unido operativamente al mismo.

15 De acuerdo con una realización, el separador comprende un elastómero. De acuerdo con otra realización, el elastómero es de un material similar a la espuma. De acuerdo con todavía otra realización, el separador comprende un material seleccionado del grupo consistente de: silicona, espuma de silicona, poliuretano, goma natural, neopreno y espuma de etilo vinil acetato. De acuerdo con todavía otra realización, el medio adhesivo para fijar el espaciador a la piel comprende un material seleccionado del grupo consistente de: resina termoplástica, adhesivo sensible a la presión, adhesivo hidrocoloide y goma. De acuerdo con otra realización, el plano inferior del separador está cubierto con una película desprendible protectora.

20 De acuerdo con todavía otra realización, el separador tiene una forma cerrada predeterminada. DE acuerdo con todavía otra realización, el separador tiene una forma alargada continua que forma una forma cerrada *in situ*.

25 Se puede proporcionar un método para tratar una lesión cutánea, el método comprende:

30 (a) proporcionar un aplicador, dicho aplicador comprendiendo una unidad de alojamiento que tiene al menos una apertura formada en la misma, y medios para fijar el aplicador a la piel alrededor de la circunferencia de la lesión cutánea, en donde la mencionada unidad de alojamiento comprende:

35 (i) una pluralidad de tubos de entrada, cada uno de dicha pluralidad de tubos de entrada teniendo un primer eje longitudinal y configurado para ser ajustable a lo largo de su eje longitudinal a través de la mencionada al menos una apertura; y

(ii) al menos un tubo de salida que tiene un segundo eje longitudinal;

40 (b) colocar contra la piel en la circunferencia de la mencionada lesión cutánea dichos medios, fijando de este modo el aparato a la piel en la circunferencia de la mencionada lesión cutánea para obtener una lesión ocluida;

(c) conectar la pluralidad de tubos de entrada a al menos un depósito por una comunicación fluida, en donde el al menos un depósito abarca una solución de desbridamiento que comprende al menos una proteasa catalíticamente activa;

45 (d) iniciar un flujo de la solución de desbridamiento desde el al menos un depósito a través del al menos un tubo de entrada de la pluralidad de tubos de entrada a la lesión ocluida; y

(e) drenar la mencionada solución desde la lesión ocluida a través del al menos un tubo de salida.

50 El método puede además comprender ajustar la posición y el ángulo de cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada con respecto al mencionado alojamiento.

El método puede comprender:

55 (a) proporcionar un aparato que comprende un aplicador, dicho aplicador comprendiendo una unidad de alojamiento que tiene al menos una apertura formada en la misma, y medios para fijar el aplicador, en donde la mencionada unidad de alojamiento comprende:

(i) una pluralidad de tubos de entrada, cada uno de dicha pluralidad de tubos de entrada teniendo un primer eje longitudinal y configurado para ser ajustable a lo largo de su eje longitudinal a través de la mencionada al menos una apertura; y

60 (ii) al menos un tubo de salida que tiene un segundo eje longitudinal;

(b) proporcionar un separador para ocluir la lesión cutánea, el espaciador teniendo un plano inferior que encara la piel, un plano superior que encara el alojamiento del mencionado aplicador, en donde el plano inferior comprende un medio adhesivo para fijar el separador a la piel en la circunferencia de la mencionada lesión cutánea;

65 (c) fijar el plano inferior del separador a la piel en la circunferencia de la mencionada lesión cutánea;

(f) fijar el aplicador al plano superior del separador, obteniendo de este modo una lesión ocluida;
 (g) conectar la pluralidad de tubos de entrada a al menos un depósito por una comunicación fluida, en donde el al menos un depósito abarca la solución de desbridamiento que comprende al menos una proteasa catalíticamente activa;
 5 (h) iniciar un flujo de solución de desbridamiento desde el al menos un depósito a través del al menos un tubo de entrada de la pluralidad de tubos de entrada a la lesión ocluida; y
 (i) drenar la mencionada solución desde la mencionada lesión ocluida a través del al menos un tubo de salida.

10 El paso (c) puede además comprender dispersar un medio de sellado en la periferia de la lesión ocluida que contacta con el borde del separador pero no está cubierta de este modo.

15 Conectar la pluralidad de tubos de entrada al al menos un depósito por una comunicación fluida, puede proporcionar un sellado impermeable a los líquidos alrededor de la lesión ocluida. El método puede además comprender conectar el al menos un tubo de salida a un depósito de recolección, dicho depósito de recolección estando configurado para contener el drenaje de fluidos desde el mencionado al menos un tubo de salida. Conectar el al menos un tubo de salida a un depósito de recolección puede proporcionar un sellado impermeable a los gases alrededor de la lesión ocluida. El sellado impermeable a los gases puede ser a prueba de vacío.

20 El método puede además comprender proporcionar un medio de control que está en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada de la mencionada pluralidad de tubos de entrada y con el al menos un depósito, iniciando de este modo un flujo controlado de fluidos desde el al menos un depósito a través del al menos un tubo de entrada. El medio de control puede ser seleccionado del grupo consistente de una bomba peristáltica y un contador de goteo.

25 El método puede además comprender el posicionar el al menos un depósito en un nivel más alto que la lesión, iniciando de este modo el flujo de la solución de desbridamiento desde el al menos un depósito a través de la pluralidad de tubos de entrada a la lesión por gravitación. El método puede además comprender proporcionar una pluralidad de medios de control, cada medio de control estando en comunicación fluida con un tubo de entrada correspondiente de la pluralidad de tubos de entrada y con el al menos un depósito, controlando de este modo el caudal dentro de cada tubo de entrada independientemente por un medio de control separado. El medio de control puede ser un clip o una cámara de goteo.

30 El método puede además comprender el posicionar el al menos un depósito y el depósito de recolección en niveles predeterminados con respecto a la lesión ocluida y con respecto uno del otro, generando de este modo presión en la lesión ocluida. El método puede además comprender generar una presión negativa en la lesión ocluida.

35 El flujo de la solución desde el al menos un depósito a través de la pluralidad de tubos de entrada puede tener una velocidad dentro del intervalo de 1ml/hora a 10ml/hora. El flujo de la solución desde el al menos un depósito a través de la pluralidad de tubos de entrada puede continuar durante de 30 minutos a 6 horas.

40 El método puede además comprender el proporcionar al menos un elemento que está en comunicación fluida con el al menos un depósito y el al menos un tubo de entrada de la pluralidad de tubos de entrada, el elemento es seleccionado del grupo consistente de: un medio de control adaptado para controlar la velocidad del flujo desde el al menos un depósito al al menos un tubo de entrada; un separador que está en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada de la mencionada pluralidad de tubos de entrada y con el al menos un depósito, para reconectar y desconectar reversiblemente de este modo el mencionado al menos un tubo de entrada del mencionado al menos un depósito; un conector adaptado para abrir y cerrar la comunicación fluida entre el al menos un depósito y el al menos un tubo de entrada; un filtro para filtrar una solución que fluye dentro del al menos un tubo de entrada, un medio de mezclado para mezclar la solución dentro del al menos un depósito; un medio termo-regulador para afectar a la temperatura de la solución dentro del al menos un depósito; una fuente de vacío que está en comunicación fluida con el al menos un tubo de salida, adaptada para generar una presión negativa en la lesión cutánea ocluida; y un depósito de recolección que está en comunicación fluida con el al menos un tubo de salida configurado para recoger los fluidos drenados desde el extremo proximal del mencionado al menos un tubo de salida.

55 Otros objetos, características y ventajas de la presente invención se harán evidentes de la siguiente descripción y dibujos.

60 **BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS**

Las Figuras 1A y 1B son vistas isométricas y laterales esquemáticas del aparato, construido y operativo de acuerdo con una realización de la invención;

65 **La Figura 2** es una ilustración esquemática de un sistema para dispensar (o transmitir) y recoger la solución terapéutica utilizando el aparato de las Figuras 1A y 1B;

- 5 **La Figura 3** es una vista en sección transversal de un dispositivo de acuerdo con otra realización de la presente invención;
- La Figura 4** es una vista en sección transversal de un dispositivo de acuerdo con otra realización de la presente invención;
- 10 **La Figura 5** es una vista en sección transversal de un dispositivo de acuerdo con todavía otra realización de la presente invención;
- La Figura 6** es una vista en sección transversal de un dispositivo de acuerdo con todavía otra realización de la presente invención;
- 15 **La Figura 7** es una vista en sección transversal de un dispositivo de acuerdo con una realización adicional de la presente invención;
- La Figura 8** es una vista en sección transversal de un dispositivo de acuerdo con aún una realización adicional de la presente invención;
- 20 **La Figura 9** es una vista en sección transversal de un dispositivo de acuerdo con todavía una realización adicional de la presente invención;
- La Figura 10** es una vista en sección transversal, ampliada del aplicador de la solución de proteasa y el mecanismo de acoplamiento de acuerdo con la presente invención;
- 25 **La Figura 11** es una vista inferior (superficie que encara a la piel), alargada del aplicador de la solución de proteasa, incluyendo los puertos de salida y entrada de la solución de proteasa, de acuerdo con la presente invención;
- 30 **La Figura 12** es una vista en sección transversal de una realización preferida específica ejemplar del aplicador incluido en el dispositivo de la presente invención, que es aplicable para poner en práctica la presente invención en la piel;
- 35 **La Figura 13** muestra configuraciones experimentales para la transmisión simultánea de soluciones enzimáticas en áreas de tratamiento de seis ratones (A) y en seis áreas separadas en el mismo animal (B);
- La Figura 14** muestra secciones histológicas de la piel de ratón tratada, durante 3 horas, con una solución de transmisión vacía de enzimas proteolíticas (A) y con la solución de transmisión comprendiendo papaína (B), tripsina y bromelaína (C), tripsina (D) y pepsina (E);
- 40 **La Figura 15** presenta secciones de piel herida antes (A) y después de la aplicación de una solución de transmisión que comprende tripsina y colagenasa (B);
- 45 **La Figura 16** muestra quemaduras en secciones cutáneas antes (A) y después de la aplicación de una solución de transmisión que comprende colagenasa y termolisina (B); y
- La Figura 17** muestra quemaduras en secciones cutáneas antes (A) y después de la aplicación de una solución de transmisión que comprende papaína (B).

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

55 Los términos "lesión cutánea" y "lesión" son intercambiables usados en la presente para describir piel dañada que comprende tejido desvitalizado, incluyendo úlceras cutáneas crónicas (por ejemplo úlceras diabéticas y úlceras de decúbito) y quemaduras. La lesión cutánea puede extenderse a través de todas a o a través de parte de las capas cutáneas y puede además extenderse a través del os tejidos y músculos subyacentes.

60 "Grado X" es usado comúnmente para clasificar las lesiones cutáneas. Los tipos de lesiones son clasificados en grados de acuerdo a la severidad de la lesión. El sistema de grados se aplica a heridas de quemado, úlceras de decúbito y varios otros tipos de úlceras y lesiones. El GRADO I es una lesión superficial caracterizada por un enrojecimiento superficial de la piel. La piel no está rota.

65 Esta lesión puede ser, entre otras, un comienzo de úlcera de decúbito y tiende a curar espontáneamente cuando la presión se alivia en el área. El GRADO II está caracterizado por una ampolla o rota o sin romper en donde al menos una capa parcial de la piel está lesionada. La úlcera de decúbito o herida de presión de Grado II puede desarrollarse en una úlcera de decúbito o herida de presión de Grado III. La lesión de GRADO III se extiende a

través de todas las capas de la piel y puede implicar una infección seria. La lesión de GRADO IV se extiende a través de la piel e implica el músculo, tendones y huesos subyacentes. Este tipo de lesión puede producir una infección peligrosa para la vida si no se trata agresivamente, El GRADO V es una clasificación más vieja de una lesión que es extremadamente profunda, habiendo ido a través de las capas del músculo e implica órganos y hueso subyacentes. La amputación puede ser necesaria en algunas situaciones.

El término "tejido desvitalizado" como se usa en la presente se refiere a tejido necrótico o escara, de úlceras o quemaduras cutáneas que consiste de una mezcla compleja de sangre seca, exudados purulentos, y proteínas desnaturalizadas normalmente encontradas en las capas de piel epidérmicas y dérmicas. Las proteínas desnaturalizadas son principalmente colágeno, elastina, fibrina, hemoglobina, y otras proteínas coaguladas. El colágeno comprende alrededor del 75% del peso en seco de la piel y es el constituyente principal de los desechos necróticos y de la escara. Hebras de colágeno, semi-viable, cuya vaina mucopolisacárida protectora ha sido dañada o destruida, ancla el tejido necrótico a la superficie de la herida. Estas hebras deben ser completamente eliminadas para que el material necrótico sea separado de su base. Este desbridamiento completo permite entonces el desarrollo de tejido de granulación durante el proceso de curación.

El término "desbridamiento" como se usa en la presente se refiere al proceso de retirar el tejido no viable de una lesión para evitar la invención y para facilitar la curación ya que la curación de la lesión es un proceso complejo que a menudo es además complicado por la presencia de tejido necrótico, no viable en el lecho de la herida.

El término "preparación del lecho de la herida" como se usa en la presente se debe interpretar en su sentido más general y se refiere a la gestión global de la herida para acelerar la curación endógena o para facilitar la eficacia de las modalidades terapéuticas. La preparación de heridas agudas incluye el desbridamiento y retirada de tejido necrótico y bacterias. En heridas crónicas, la preparación del lecho de la herida es más complicada ya que no se puede acceder fácilmente a la mayoría del material necrótico, y ya que la preparación además incluye la retirada de exudados.

Modos preferidos de llevar a cabo la invención

La presente invención se refiere a un aparato para tratar la piel. El aparato proporciona un flujo continuo de soluciones terapéuticas en el lecho de la herida de la lesión cutánea, a través de una pluralidad de tubos de entrada ajustables. La pluralidad de tubos de entrada es ajustable en posición y en ángulo con respecto a la lesión cutánea, suministrando de este modo continuamente soluciones terapéuticas a cualquier profundidad deseada y a cualquier ángulo.

La presente invención es generalmente aplicable para la retirada y recuperación controlada de células de las lesiones cutáneas, incluyendo, úlceras de presión y heridas abiertas crónicas como las úlceras de decúbito y las úlceras diabéticas. Preparar el lecho de la herida de heridas crónicas requiere tanto un desbridamiento enzimático eficiente del material necrótico como una retirada continua de exudados (Falanga, Wounds, 14:45-57,2002). El material necrótico en las heridas crónicas no es fácilmente accesible. Además, las heridas crónicas pueden producir cantidades sustanciales de exudado, lo que se ha demostrado que inhibe la proliferación y funcionamiento de células residentes clave y contiene proteasas que descomponen las proteínas de la matriz extracelular. En consecuencia, la presente invención es aplicable específicamente para tratar lesiones cutáneas crónicas ya que proporciona un desbridamiento enzimático particularmente eficiente del tejido desvitalizado dentro de y en la superficie de las lesiones junto con una retirada continua de exudados, desechos y soluciones terapéuticas del sitio de las lesiones. El dispositivo de la invención está adaptado para transmitir una solución de enzimas de desbridamiento a cualquier ángulo y profundidad, para transportar la solución enzimática en las áreas que no son fácilmente accesibles.

Se debe entender que la invención no está limitada en su aplicación a los detalles de construcción y la disposición de los componentes expuestos en la siguiente descripción o ilustrados en los dibujos. La invención es capaz de otras realizaciones o de ser puesta en práctica o llevada a cabo de varias maneras. También, se debe entender que la fraseología y terminología empleadas en la presente son para el propósito de descripción y no deben considerarse como limitantes.

Se hace referencia ahora a las FIGURAS 1A, 1B y 2, que son ilustraciones esquemáticas de un aplicador, generalmente designado 200, construido y operativo de acuerdo con una realización de la invención para proporcionar un flujo continuo de soluciones terapéuticas en el lecho de la herida de una lesión cutánea.

Las FIGURAS 1A y 1B son vistas laterales e isométricas esquemáticas del aplicador 200. La FIGURA 2 es una ilustración esquemática de un sistema para dispensar (o transmitir) y recoger la solución terapéutica utilizando el aplicador 200 de la FIGURA 1.

El aplicador 200 comprende una unidad de alojamiento 202 configurada para contener una pluralidad de tubos de entrada 204 y al menos un tubo de salida 206. La unidad de alojamiento 202 puede además comprender múltiples aberturas de drenaje 205 estando en comunicación fluida con el al menos un tubo de salida 206. En consecuencia, los fluidos que se acumulan en la lesión ocluida y dentro de la unidad de alojamiento, pueden ser

recogidos por las aberturas de drenaje 205 y al tubo de salida 206. El aplicador 200 además comprende medios para la fijación 208 el aplicador 200 a la piel alrededor de la circunferencia de una lesión cutánea, como una úlcera. El medio 208 puede estar conectado con el alojamiento 202 o puede estar unido extemporáneamente al alojamiento en el momento de la fijación del aplicador a la piel que rodea la lesión cutánea.

5 El aplicador 200 puede estar conectado a un depósito 210 en el que se puede almacenar la solución terapéutica. La solución terapéutica puede ser administrada por un puerto de entrada 212 y puede ser recogida por al menos un puerto de salida 214 en un colector de células y residuos 216, por ejemplo, como se describirá con más detalle a continuación. Además, la pluralidad de tubos de entrada y el al menos un tubo de salida pueden ser configurados en una amplia variedad de disposiciones para acomodar varias lesiones en varios sitios. Por ejemplo, los múltiples tubos de entrada 204 pueden estar conectados a un único depósito 210 y viceversa.

10 El alojamiento 202 puede comprender una forma y configuración adecuadas para asegurar una pluralidad de tubos incluyendo los tubos de entrada 204 y el tubo de salida 206. En la realización ejemplar ilustrada en las FIGURAS 1A y 1B, el alojamiento 212 comprende una forma cónica, que tiene un diámetro más amplio proximal al lecho de la herida. El alojamiento 212 comprende una pluralidad de aperturas 220, cada apertura configurada para coincidir con el diámetro de su tubo de entrada y/o salida correspondiente. Se apreciará por las personas expertas en la técnica que una única apertura se puede usar para contener la pluralidad de tubos de entrada y/o salida.

15 Cada uno de la pluralidad de tubos de entrada 204 puede ser configurado para ser ajustable en posición y ángulo con respecto a la unidad de alojamiento 202, permitiendo de este modo que la solución terapéutica sea administrada a una parte específica del lecho de la herida. En consecuencia los tubos de entrada son capaces de penetrar profundamente en la lesión y son adecuados para infundir áreas que nos son normalmente fácilmente accesibles.

20 El extremo distal 222 del tubo de entrada 204 puede ser configurado para encarar la lesión cutánea y el extremo distal 222 puede estar suavemente curvado para formar una punta no traumática. Además, la abertura 224 en el extremo distal 222 del tubo de entrada 204 puede estar formada dentro de cualquier parte del tubo de entrada 204, como en su extremo o a lo largo de la longitud del tubo, como se ilustra en el ejemplo de la Figura 1A.

25 Los tubos de entrada 204 pueden estar contruidos de cualquier material adecuado como un elastómero flexible incluyendo silicona, poliuretano, goma natural, neopreno y etilo vinil acetato, por ejemplo. Cada tubo de entrada puede ser incoloro y transparente lo que permite al operario ver la calidad y consistencia del fluido que está siendo transferido al lecho de la herida.

30 En una realización de la invención, los tubos de entrada 204 pueden estar configurados para ser extensibles o retráctiles a lo largo de sus ejes longitudinales, como se conoce en la técnica. Por ejemplo, un mecanismo de tornillo ajustable puede ser adaptado a cada uno de los tubos de entrada extendiendo o retrayendo de este modo el tubo de entrada a lo largo de su eje longitudinal.

35 De manera similar, el tubo de salida puede estar configurado para ser extensible o retráctil a lo largo de su eje longitudinal, como se conoce en la técnica.

40 Preferiblemente, cada tubo de entrada y salida debe ser ajustado con una unidad de sellado adecuada, como una junta tórica, por ejemplo, para evitar el paso de fluidos entre el diámetro externo de los tubos y su apertura correspondiente.

45 El medio de fijación 208 puede comprender cualquier medio adhesivo adecuado, conocido en la técnica, para adherir el aplicador 200 a la piel que está siendo tratada. El medio de fijación 208 puede comprender un primer plano 208a, que está unido adecuadamente al alojamiento 202 y un segundo plano 208b configurado para adherirlo a la piel. Preferiblemente, las dimensiones del medio de fijación 208 son más grandes que el lecho de la herida que está siendo tratada para asegurar que la solución que está siendo administrada al lecho de la herida permanece dentro del lecho de la herida. El medio 208 puede estar hecho de un material flexible, por ejemplo, una película adhesiva, capaz de conformarse a la anatomía en la localización de la lesión. En algunas realizaciones, el primer plano 208a también comprende adhesivos.

50 El medio adhesivo puede ser biocompatible y el plano inferior del medio de fijación 208 puede ser cubierto con una película desprendible protectora, que es retirada antes de la fijación del aplicador 200 a la piel en la circunferencia del lecho de la herida.

55 Cada uno de los tubos de entrada 204 tiene alambre desviable adecuado 226, que se extiende a lo largo del eje longitudinal del tubo de entrada 204 y está conectado adecuadamente al mismo. El alambre desviable permite mantener el ángulo y la forma del tubo de entrada 204 a lo largo del tratamiento. El alambre desviable 226 puede ser configurado para no extenderse más allá del extremo distal (adyacente al lecho de la herida) del tubo de entrada 204. El alambre desviable puede estar formado de un material rígido que es flexible y elástico, como plata, platino, acero inoxidable y polímero, por ejemplo.

Los tubos de entrada 204 pueden comprender un primer lumen longitudinal separado del lumen principal de los mencionados tubos, que está configurado para contener en el mismo el alambre desviable 226.

5 El aplicador puede comprender un medio de control que está en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada y con el al menos un depósito, el medio de control está adaptado para controlar el caudal de fluidos que fluyen desde el al menos un depósito a través del al menos un tubo de entrada. El medio de control puede ser seleccionado del grupo consistente de: bomba peristáltica y un contador de goteo. El caudal determinado por el medio de control es cualquier velocidad que se requiera para reemplazar la solución enzimática en el sitio de la lesión ocluida con una solución fresca de enzimas catalíticamente activos. El caudal puede estar dentro del intervalo de 1 ml/hora a 10 ml/hora. Intervalos de flujo más lentos o más rápidos se incluyen también dentro del ámbito de la presente invención, siempre que la velocidad sea adaptada para proporcionar un desbridamiento efectivo de tejido desvitalizado de la lesión cutánea.

15 De acuerdo con todavía otra realización, el aplicador además comprende una fuente de vacío que está en comunicación fluida con el al menos un tubo de salida, generando de este modo una presión negativa en la lesión cutánea ocluida. La aplicación de vacío en el sitio de la herida se demostró que tenía valor terapéutico en el proceso de curación de heridas como se divulga por ejemplo en las Patentes U.S. Nº 6.135.116; 6.695.823; 6.767.664 y las Solicitudes de Patente U.S., Nº de Publicación 20020143286; 20030040687 y 20030050594 entre otras, todas las cuales están cedidas a KCI Licensing, Inc. Sin embargo, el vacío sólo en ausencia de desbridamiento eficiente, no puede contribuir a la preparación del lecho de la herida de heridas crónicas o a la preparación del lecho de la herida de heridas agudas que contienen material necrótico dentro de la herida y no sólo en su superficie. El tejido necrótico no es un fenómeno constante que desaparece una vez es retirado, más bien el tejido necrótico continua acumulándose en lesiones cutáneas debido a la muerte celular programada en curso (apoptosis) que tiene lugar en las lesiones (Falanga, *ibid*). En las úlceras de presión, por ejemplo, hay ciclos constantes de flujo sanguíneo adecuado o ciclo de edema reducido con periodos de isquemia (de la presión) y edema creciente. En consecuencia, el material necrótico que se acumula periódicamente dentro de las heridas necesita ser retirado.

30 De acuerdo con todavía otra realización, el aplicador además comprende un medio termo-regulador que está en comunicación con el al menos un depósito, afectando de este modo a la temperatura de los fluidos contenidos en el mencionado al menos un depósito. De acuerdo con otra realización, el aplicador además comprende un medio termo-regulador que está en comunicación con al menos un tubo de entrada de la mencionada pluralidad de tubos de entrada, afectando de este modo a la temperatura de los fluidos que fluyen a través del mencionado al menos un tubo de entrada.

35 De acuerdo con todavía otra realización, el aplicador además comprende al menos un filtro instalado dentro del al menos un tubo de entrada de la mencionada pluralidad de tubos de entrada, para filtrar fluidos que fluyen dentro del mencionado al menos un tubo de entrada.

40 En una realización adicional de la invención, se proporciona un aparato 240 para tratar lesiones cutáneas, el aparato comprende el aplicador 200 y además comprende un separador 230 asegurado a la superficie de la piel alrededor de la circunferencia de la lesión para ocluir un área que comprende la lesión. El separador 230 puede comprender un material impermeable a los líquidos resistente, conocido en la técnica, o un elastómero, como un material de tipo espuma, por ejemplo. El separador 230 puede comprender cualquier material adecuado como silicón, espuma de silicón, poliuretano, goma natural, neopreno y espuma de etilo vinil acetato, por ejemplo.

50 Una cara del separador 230 puede estar fijada adecuadamente al alojamiento, mientras que la cara inferior comprende medios adecuados para la fijación del separador 230 en la piel, formados de un material adecuado como una resina termoplástica, adhesivo sensible a la presión, adhesivo hidrocoloide y goma, por ejemplo. El medio para la fijación del separador 230 en la piel y en el aplicador puede ser cubierto con películas desprendibles protectoras para ser retiradas en el momento de la unión del separador a la piel y al aplicador.

55 Se hace ahora referencia a las FIGURAS 3-12, que son ilustraciones esquemáticas de un aparato 80 y un aplicador 24 para transmitir y recoger una solución que contiene una cantidad efectiva de proteasa sobre, y a través de una lesión cutánea.

60 Una realización del aparato 80 se ilustra en la FIGURA 3. El aparato 80 de acuerdo con esta realización comprende un primer depósito 10 para contener una solución que contiene una cantidad efectiva de al menos una proteasa. El primer depósito 10 puede ser construido de un material no poroso, inerte, durable para usos repetitivos, como cristal, metal o plástico. El primer depósito 10 puede ser desinfectado entre usos por métodos bien conocidos para alguien experto en la técnica, incluyendo por calor húmedo o seco, el uso de antisépticos, gas o radiación. En otra realización preferida, el primer depósito 10 está construido de un material no durable, desechable como laminas de metal, plástico, papel de aluminio o cartón o papel impregnado, para un único uso, esterilizado y sellado para su almacenamiento. Las dimensiones del primer depósito 10 pueden ser adecuadas para contener un volumen de solución de proteasa suficiente para completar un único procedimiento de cirugía enzimática, o más pequeño,

necesitando de reposición durante el procedimiento. El primer depósito 10 es típicamente de alrededor de 1 litro de volumen, pero puede variar de 100 mililitros a varios litros.

5 En una realización preferida, un mezclador 12 para mezclar la solución de proteasa está en comunicación fluida con el primer depósito 10, para evitar la distribución inconsistente de los ingredientes de la solución de proteasa. El mezclador 12 puede ser externo al primer depósito 10, o permanente. El mezclado puede ser conseguido por movimiento rotatorio, como de un impulsor o paleta dentro de una cámara, o por un movimiento oscilatorio de balanceo o de giro, como de una plataforma de balanceo o rotatoria.

10 En otra realización preferida, el primer depósito 10 está en comunicación fluida con un termostato 14, para calentar y/o enfriar la solución de proteasa a la temperatura óptima para la activación de la actividad catalítica. El termostato 14 puede ser una cámara abierta calentada por convección o radiante, recibiendo la corriente de solución de proteasa, o, preferiblemente un baño de fluido calentado y/o enfriado o bloque sólido que recibe un elemento de comunicación de fluidos, como un tubo de cristal o plástico, eliminando el contacto con el fluido directo de la corriente de proteasa con el termostato 14 y reduciendo el riesgo de contaminación de la solución de proteasa con contaminantes deseados.

15 Como se usa en la presente la frase "en comunicación fluida" se refiere principalmente a la capacidad de transferencia selectiva o no selectiva de sustancias fluidas y/o semi-fluidas entre los elementos especificados. Dicha transferencia puede conseguirse por, por ejemplo, canales, tubos, membranas, conductos, poros y/o capilares.

20 En todavía otra realización de la presente invención, el primer depósito 10 está en comunicación fluida con un filtro 16 que sirve para la esterilización de la solución de proteasa antes de su aplicación. El filtro 16 es preferiblemente un alojamiento esterilizado, sellado (excepto por los puertos de entrada y salida) que contiene un miembro de filtrado que excluye partículas más grandes de, por ejemplo, 0,25 micrones, eliminando la contaminación bacteriana común. Uno de dichos filtros comercialmente disponible es distribuido bajo el nombre Complete Sterifil System (Sigma Chemical Company, Inc.). En una realización adicional de la presente invención, el primer depósito 10 está en comunicación fluida con una bomba 18 que sirve para transmitir la solución de proteasa desde el primer depósito 10 a un aplicador 24 (descrito ilustrativamente en detalle más adelante) bajo presión positiva. En consecuencia, la solución de proteasa es administrada al sitio de tratamiento con fuerza suficiente para efectuar una acción de "denudación", mecánica además de la digestión enzimática de las proteínas de la matriz. La nueva combinación de una fuerza mecánica, direccional y una disrupción enzimática del tejido de la lesión proporcionados por la presente invención permite la retirada de células y tejido de las superficies tratadas.

25 La bomba 18 puede ser una bomba de aire, una bomba fluida accionada por pistón, una bomba de jeringa o un impulsor. En una realización de la presente invención, la bomba 18 es preferiblemente una bomba peristáltica de velocidad variable, que funciona a través de presión en un elemento de comunicación de fluidos flexible eliminando el contacto del fluido directo con la solución de proteasa y el posterior riesgo de contaminación. La característica de velocidad variable proporciona además control de la intensidad de la corriente de la solución de proteasa aplicada a la lesión dermatológica. Una de dichas bombas peristálticas comercialmente disponible es distribuida bajo el nombre Masterflex Economy (Aldrich Chemical Company, Inc.). En una realización alternativa de la presente invención, la transmisión de la solución de proteasa se efectúa por gravitación asistida elevando el primer depósito 10 sustancialmente por encima de otros elementos en comunicación fluida con el mismo.

30 La bomba 18 puede ser una bomba de aire, una bomba fluida accionada por pistón, una bomba de jeringa o un impulsor. En una realización de la presente invención, la bomba 18 es preferiblemente una bomba peristáltica de velocidad variable, que funciona a través de presión en un elemento de comunicación de fluidos flexible eliminando el contacto del fluido directo con la solución de proteasa y el posterior riesgo de contaminación. La característica de velocidad variable proporciona además control de la intensidad de la corriente de la solución de proteasa aplicada a la lesión dermatológica. Una de dichas bombas peristálticas comercialmente disponible es distribuida bajo el nombre Masterflex Economy (Aldrich Chemical Company, Inc.). En una realización alternativa de la presente invención, la transmisión de la solución de proteasa se efectúa por gravitación asistida elevando el primer depósito 10 sustancialmente por encima de otros elementos en comunicación fluida con el mismo.

35 En general, el aplicador 24 es para transmitir una solución sobre, y en contacto con, una parte de la piel. El aplicador 24 incluye un alojamiento que tiene una abertura que encara a la piel, al menos una entrada y al menos una salida. La al menos una entrada y la al menos una salida proporcionando cada una un pasaje para la transmisión de la solución a través de las mismas y sobre la parte de la piel definida por la abertura que encara a la piel, en donde una abertura de al menos uno de la al menos una entrada y la al menos una salida a través de la que la solución fluye es ajustable en altura, de tal forma que el aplicador 24 se conforma físicamente a una superficie cutánea no lisa.

40 El término "altura" como se usa en la presente se refiere a la longitud del tubo de entrada que se extiende más allá de la abertura 108 hacia la lesión". Esta longitud puede también corresponder con la distancia entre la abertura 108 y el extremo del tubo de entrada que encara a la lesión.

45 El aplicador 24 está en comunicación fluida con el primer depósito 10, y está diseñado y construido para restringir la corriente de la solución de proteasa sobre, y en contacto con la parte de la piel que está bajo tratamiento. El aplicador 24 comprende dos puertos, el puerto de entrada 20 sirve para recibir la solución de proteasa desde el primer depósito 10, y el puerto de salida 22 que sirve para retirar la solución de proteasa y las células de la lesión dermatológica tratada. El aplicador 24 además comprende una superficie que encara a la piel rebajada 28, cerrada por el aro exterior que se proyecta hacia abajo del aplicador 24, creando un área local confinada de tratamiento, evitando la exposición del tejido colindante a la actividad proteolítica.

50 Una realización del aplicador 24 se ilustra en las FIGURAS 10-12. El puerto de entrada 20 y el puerto de salida 22 proporcionan movimiento de fluidos direccional para la corriente de solución de proteasa, permitiendo un

efecto de "denudación" mecánica mejorando la disrupción enzimática de la matriz intracelular y la retirada de células de la superficie de la lesión tratada. El aplicador 24 puede ser acoplado con la superficie cutánea por presión hacia la piel aplicada por operarios asistentes o el sujeto tratado, peso, conexión adhesiva con las superficies de la piel adyacente u otros medios, adecuados para la parte del cuerpo que soporta la lesión a ser tratada. En una realización preferida el aplicador 24 comprende un mecanismo de acoplamiento 26, que comprende dos o más elementos flexibles conectados ajustablemente para permitir la circunvalación de una parte del cuerpo cilíndrica (como una extremidad o el torso) y la aplicación de presión hacia la piel a través de tensión, como con una correa y hebilla o un cierre de correa dentada.

El aplicador 24 puede ser construido de material no poroso, durable incluyendo cristal, metal, plástico o goma, y puede ser reutilizable o preferiblemente desechable. El aplicador 24 es preferiblemente capaz de esterilización por gas, productos químicos, calor húmedo o seco, o radiación, y es suministrado sellado y esterilizado para el uso. En una realización alternativa, el aplicador 24 es una cánula "push-pull" empleada típicamente en técnicas de perfusión de tejidos, por ejemplo, como se describe por Arancibia, S., en "Push-pull Perfusion Technique in Neuroendocrinology", Ann. Endocrinol. (Paris) 48, 410-18 (1987), que comprende un tubo de afluencia encajado dentro de un tubo de salida más amplio creando un flujo localizado de solución de proteasa confinada al diámetro exterior del tubo de salida más amplio.

Se hace referencia ahora a la FIGURA 10, una vista en sección transversal de una realización ejemplar de un aplicador incluido en el aparato de la presente invención. El aplicador 24 incluye un alojamiento 100 que tiene una entrada 102 y una salida 104. La entrada de fluido a través del puerto 102 se dirige por una primera estructura de tubo 106 a una zona de tratamiento 107 definida por una estructura de silicona un tanto cónica 114 que tiene una abertura que encara a la piel 108, de 9 mm de diámetro. Una segunda estructura de tubo 110 posicionada dentro de la primera estructura de tubo 106 se usa para dirigir el fluido desde la zona de tratamiento 107 a la salida 104. Una junta tórica 112 se usa para restringir el flujo a la dirección pretendida dentro de la primera estructura de tubo 106. Un mecanismo de tornillo 116 permite el ajuste de la altura de la abertura 118 de la segunda estructura de tubo 110 con respecto a la abertura que encara a la piel 108 de la zona de tratamiento 107. Preferiblemente, una bomba, como se ha descrito ilustrativamente anteriormente en la presente, se usa para dirigir el fluido desde un depósito a la entrada 102. Un tubo de drenaje se usa para drenar el fluido desde la salida 104.

De acuerdo con la presente invención, el aparato 80 preferiblemente comprende además un recolector celular 30 que está en comunicación fluida con el primer depósito 10 y el aplicador 24, y que sirve para recibir la solución de proteasa y las células retiradas desde la superficie de la lesión tratada, y para proporcionar flujo de salida del fluido de desecho o fluido a ser reciclado a través del aparato 80. Las células recolectadas son puestas de este modo a disposición para el examen histológico y/o los procedimientos de cultivo celular. En una realización preferida el recolector celular 30 comprende un filtro 32 para la recolección y separación de células retiradas desde la lesión dermatológicas. El recolector 30 y el filtro 32 son suministrados preferiblemente como un elemento modular desechable, estéril, como el Complete Sterifil System (Sigma, Israel). En una realización adicional de la presente invención, que se ilustra específicamente en la FIGURA 4, la separación del fluido y las fracciones celulares en el recolector celular 30 se efectúa por el centrífugo de flujo continuo 40. La centrifugación de flujo continuo proporciona una capacidad de manejo de líquidos aumentada, retirando el flujo de salida de la solución de proteasa rápidamente en el momento de la llegada desde el aplicador 24 y concentrando las células de la lesión para el examen y/o el cultivo.

Se apreciará, en el contexto de la presente invención que las células lesionadas recolectadas por el recolector celular 30 están expuestas a la actividad de la proteasa durante la separación desde el componente del fluido de la corriente de proteasa que llega al recolector celular 30. La conservación de la integridad metabólica y morfológica de las células, y por lo tanto el valor diagnóstico, puede depender, en parte, de la limitación de su contacto prolongado con la proteasa. Así, en una realización preferida de la presente invención, el recolector celular 30 está construido para permitir la retirada y/o muestreo de las células recolectadas en la mitad del proceso. Este se puede efectuar por cese periódico de la transmisión de solución de proteasa a través del aplicador 24, la retirada del elemento de filtrado del filtro 32, y el reemplazo con un elemento de filtrado nuevo. Alternativamente el recolector celular completo 30 puede ser reemplazado durante la operación con una unidad recolectora celular nueva. Donde el centrífugo de flujo continuo 40 es el medio de recolección celular, la operación del centrífugo puede ser parada periódicamente para permitir la retirada de las células recolectadas desde el rotor del centrífugo. Más preferiblemente, el centrífugo proporcionará un flujo de salida continuo de células concentradas para el examen y/o cultivo celular.

Se observará que el flujo de salida de fluido desde el recolector celular 30 contiene solución de proteasa todavía activa en gran medida, vacía de fracciones de desechos de tejido y celulares retiradas por el filtro 32 y/o el centrífugo 40 que puede ser reciclada para su reutilización. Así, en una realización preferida el flujo de salida de fluido del colector celular 30 es reintroducido a la corriente de al menos una solución de proteasa "corriente arriba" del aplicador 24 y la bomba 18. La comunicación fluida entre el flujo de salida del recolector celular y la corriente de solución de proteasa puede ser efectuada por una conexión de válvula de un sentido, asegurando la transmisión unidireccional de fluidos hacia el aplicador 24. En consecuencia, se consigue una economía de funcionamiento

significativa por la reutilización del flujo de salida del colector celular 30, reduciendo efectivamente el volumen de solución de proteasa requerido por tratamiento.

5 Realizaciones adicionales del aparato de cirugía enzimática 80 se recogen en las FIGURAS 5-9; en cada caso el termostato 14, el filtro 16, la bomba 18, el aplicador 24 y el recolector celular 30 son sustancialmente como se ha descrito en las secciones precedentes.

10 En una realización, ilustrada en la FIGURA 5, el aparato 80 comprende, además del primer depósito 10, un segundo depósito 34 y un tercer depósito 36, que sirven para contener una primera solución de proteasa sustancialmente inactiva y una segunda solución activadora de la proteasa, respectivamente. En consecuencia, la solución de proteasa puede ser preparada en una forma inactiva, estabilizada antes de su uso, adquiriendo actividad sustancialmente catalítica sólo después del mezclado con la solución activadora en el primer depósito 10.

15 En todavía otra realización, ilustrada en la FIGURA 6, el aparato de cirugía enzimática 80 comprende un primer depósito 10 y un segundo depósito 38, para contener una primera proteasa sustancialmente inactiva y una segunda solución activadora, respectivamente. En consecuencia, la(s) preparación(es) de proteasa estabilizadas en polvo, liofilizadas y/o otras no acuosas colocadas en el primer depósito 10 pueden ser almacenadas hasta su uso, minimizando la autólisis y la pérdida de actividad catalítica. El primer 10 y el segundo 38 depósitos están en comunicación fluida, proporcionando una solución de proteasa catalíticamente activa en el momento de la mezcla de sus componentes por el mezclador 12.

25 Las FIGURAS 7-9 representan un aparato de cirugía enzimática 80 diseñado para recibir depósitos preparados o ampollas de proteasa, solución de proteasa y/o solución activadora de proteasa. En una realización, ilustrada en la FIGURA 7, un receptáculo 42 está diseñado para recibir un depósito modular o ampolla 44, que contiene una solución de proteasa catalíticamente activa, efectuando la comunicación fluida con el aplicador 24, el recolector celular 30 y elementos "corriente abajo" adicionales del aparato 80. Así, el aparato 80 puede ser operado con soluciones de proteasa almacenadas, pre-preparadas, estandarizadas, aumentando la simplicidad del uso y la precisión de la actividad de la proteasa administrada, y disminuyendo el riesgo de contaminación de las superficies cutáneas tratadas.

30 Como se usa en la presente en la especificación y en las secciones de reivindicaciones más abajo, los términos "depósito" y "ampolla" se refieren intercambiamente a un contenedor cerrado, separado capaz de establecer comunicación de fluido con otros contenedores, receptáculos o dispositivos. Dichos dispositivos o ampollas típicamente contienen fluidos o sustancias similares a fluidos, y pueden ser diseñadas para ser acopladas con precisión por un receptáculo o alojamiento complementario. Los depósitos o ampollas sellados proporcionan medios estandarizados, convenientes de preparación y almacenamiento de soluciones y reactivos activos para el funcionamiento, de, por ejemplo, el aparato de cirugía enzimática 80.

40 En todavía otra realización, ilustrada en la FIGURA 8, el primer receptáculo 46 recibe un primer depósito modular o ampolla 48, que contiene solución de proteasa estabilizada inactiva, mientras el segundo receptáculo 50 recibe un segundo depósito modular o ampolla 52, que contiene una solución activadora de la proteasa. El primer receptáculo 46 y el segundo receptáculo 50 están en comunicación fluida con una cámara de mezclado 54, que sirve para proporcionar una mezcla y contacto de fluidos de los contenidos del primer depósito 48 y el segundo depósito 52, activando la proteasa inactivada estabilizada. Un mezclador 12 como se ha descrito anteriormente puede ser colocado en la cámara de mezclado 54.

50 En otra realización, ilustrada en la FIGURA 9, el primer receptáculo 58 recibe un primer depósito modular o ampolla 60, que contiene preparación de proteasa inactiva estabilizada en polvo, liofilizada y/o otra forma no acuosa. El segundo receptáculo 62 recibe un segundo depósito modular o ampolla 64, que contiene la solución activadora. El primer receptáculo 58 y el segundo receptáculo 62 están en comunicación fluida con el mecanismo de mezclado 56, proporcionando contacto entre y efectuando la dispersión de la preparación de proteasa no acuosa en la solución activadora.

55 Los métodos mecánicos y no mecánicos convencionales de tratar y retirada de lesiones cutáneas como la escisión con escalpelo o chuchillas de afeitar, cirugía laser de CO₂, criocirugía, electrocauterización, y electroablación están asociadas con dolor, traumas de estrés, sangrado, cicatrices, contaminación, hiperpigmentación y disrupción de tejido adyacente y subyacente. La digestión proteolítica más suave de lesiones y heridas cutáneas ha demostrado que proporciona una curación superior de dichas lesiones, con incidencia disminuida de cicatrices, sangrado y contaminación. De hecho, las preparaciones de proteasa son usadas comúnmente para promover la curación y reducir las cicatrices de las heridas de cirugía laser de CO₂.

60 La capacidad de las proteasas de alterar la integridad del tejido dérmico ha llevado al uso terapéutico de las enzimas proteolíticas como un complemento, o alternativa al tratamiento quirúrgico laser o mecánico de lesiones cutáneas. Para que dicho tratamiento enzimático supere las desventajas anteriormente mencionadas de los métodos quirúrgicos, electroquirúrgicos, crioquirúrgicos y quirúrgicos por laser (dolor, cicatrices, estrés traumático, hiperpigmentación y destrucción de tejido colindante), es deseable para el método proteolítico que hidrolice a fondo y

fácilmente una amplia variedad de proteínas encontradas en las lesiones cutáneas; funcione a pH y temperatura fisiológica, sea compatible con terapias complementarias (por ejemplo, anestesia, agentes limpiadores, antibióticos tópicos); y no interfiera con la curación de las heridas normal o complique el injerto cutáneo. Además, es importante proporcionar medios de retención y conservación de la viabilidad de las células retiradas aisladas para el examen histológico o el cultivo celular; permitir la aplicación localizada y confinada de la proteasa y el proporcionar estabilidad de las formulaciones de enzimas de los efectos del pH, temperatura y autoproteólisis. Estas y otras consideraciones beneficiosas se abordan, por primera vez con un enfoque integrador, por la presente invención. Así, los beneficios proporcionados por la presente invención incluyen la retirada del tejido enzimático suave mejorado por la acción de "denudación" mecánica de la corriente de proteasa dirigida localmente, la reducción superior del dolor y la curación de las heridas proporcionada por la inclusión de anestésicos, coagulantes/anticoagulantes y antibióticos en la solución de proteasa y la disponibilidad de células cutáneas retiradas para el examen histológico y/o el cultivo celular de las lesiones tratadas. Además, el control de la temperatura, el pH y el caudal de la corriente de la solución de proteasa, y la provisión para una activación en el sitio de preparaciones de enzimas estabilizadas aseguran la administración de niveles efectivos, precisos de actividad catalítica, a la superficie de la lesión.

Las proteasas son aplicadas ampliamente en el desbridamiento de tejido no viable, por ejemplo, como se describe por Mekkes, J.R. y otros (igual que anteriormente); el acondicionamiento de piel fotografiada por cirugía laser de CO₂, por ejemplo, como se describe por Gaspar, L y otros (igual que anteriormente); y el envejecimiento, por ejemplo, como se divulga en la Patente U.S. Nº 5.976.556 de Norton y otros, la explotación de la capacidad del enzima de digerir componentes de proteínas de la matriz extracelular sin dañar el tejido sano. La elección de preparaciones de enzimas adecuadas, los métodos de aplicación, y la extensión del tratamiento han enfatizado la retirada de desechos y tejido no viable. Como el colágeno, la elastina, la fibrina y los proteoglicanos predominan en la matriz extracelular de la piel, y son de incluso una significancia más grande en condiciones anormales como los queloides, cicatrices, verrugas y fibrosis, enzimas del tipo colagenasa, elastasa e hialuronidasa, y combinaciones de los mismos, se han empleado más a menudo para el tratamiento de lesiones dermatológicas. Sin embargo, los métodos de tratamiento con estos enzimas han estado limitados a la aplicación tópica y la inyección intradérmica.

Así, Pinnell, en la Patente U.S. Nº 4.645.668, enseña el tratamiento y prevención del acné y cicatrices hipertróficas, queloides, arrugas y celulitis con inyecciones intradérmicas repetidas de proteasas, principalmente colagenasa, con hialuronidasa adicional. El autor consiguió una resolución significativa de la mayoría de las lesiones tratadas, indicando la eficacia de la digestión de la proteasa del tejido de la matriz, e informó de pocos, si había alguno, efectos negativos. Sin embargo, se requirieron inyecciones intradérmicas repetidas, durante un periodo de semanas, para conseguir los efectos deseados. Además de la incomodidad y carácter prolongado de tal régimen de tratamiento, no se hace posible la retención de células de las lesiones, necesitando métodos de biopsia quirúrgicos convencionales antes del tratamiento enzimático. De forma similar, de Faire y otros, en la Patente U.S. Nº 5.958.406, muestran el tratamiento de una variedad de condiciones asociadas con la adhesión celular relacionados con procesos con proteasa de krill de enzimas multifuncional, comprendiendo actividad de quimiotripsina, tripsina, elastasa, colagenasa y exopeptidasa. Se aborda el tratamiento de lesiones dérmicas e internas, por administración tópica, parenteral, en aerosol, sistémica, intramuscular e intradérmica de las composiciones de proteasa. La inyección intradérmica de proteasas se recomienda para el tratamiento de lesiones de cicatrices y queloides. En consecuencia, la recolección o retención celular del área tratada no es posible y, como en otros protocolos de tratamiento de enzimas dermatológicos, no se ofrece control de la actividad de la proteasa después de la administración.

La aplicación tópica, o inyección de proteasas ofrece poco control sobre el nivel de actividad catalítica que permanece in situ, con los procesos autoproteolíticos y líticos dérmicos normales y ácidos causando degradación impredecible. A pesar de que muchos protocolos para la administración tópica e intradérmica dependen de los resultados empíricos individuales para determinar la duración del tratamiento, se ha sugerido que la aplicación del tratamiento tópico de proteasas ácidas, compatible con el pH normal de la piel humana, puede asegurar un mayor control sobre la dosificación de los enzimas activos, como se describe en la Patente U.S. 5.976.556 de Norton y otros. Sin embargo, en la invención anteriormente mencionada, como con otras aplicaciones de proteasa tópicas, no queda un control continuo de la actividad de los enzimas después del tratamiento.

Puede ser proporcionado un método de tratar lesiones cutáneas, el método incluye retirar tejido y células desvitalizados del lecho de la herida de una lesión cutánea, el método efectuado aplicando una corriente de solución que contiene una cantidad efectiva de al menos una proteasa, sobre, y en contacto con, el lecho de la herida. Combinando la digestión enzimática de las proteínas de la matriz intracelular y la disrupción mecánica del lecho de la herida por la fuerza de un fluido, las células y tejido desvitalizados se desalojan del tejido y pueden ser además retiradas del sitio de la lesión. La aplicación de la solución de proteasa por transmisión en la superficie de la lesión proporciona la localización y control preciso de la magnitud y duración de la actividad enzimática, a través de la manipulación de las concentraciones de enzimas, el pH, la temperatura, la hidrofobicidad/hidrofiliidad de las soluciones de enzimas, intensidad de la transmisión, duración y sitio de contacto con la solución de proteasa a lo largo del tratamiento. Como se ha descrito anteriormente, el aparato de la presente invención proporciona dicho control diverso del tratamiento a través de, por ejemplo, el mezclador 12, el termorregulador 14, la bomba 18 y el aplicador 24.

Como se usa en la presente, el término "proteasa" se refiere a cualquier molécula biológicamente activa, típicamente un polipéptido, que posee actividad hidrolasa péptido enzimática incluyendo actividad exopeptidasa y/o endopeptidasa.

5 La proteasa puede ser vibrionolisina, proteasa de krill, quimiotripsina, tripsina, collagenasa, elastasa, dipasa, proteinasa K, proteasa multifuncional de Clostridium y proteasa de Bacillus subtilis. Estas representan las proteasas comúnmente empleadas en métodos terapéuticos, han demostrado poca incidencia de efectos secundarios no deseados, y están comercialmente disponibles en forma, pura, purificada o diseñada genéticamente, por ejemplo, Esperase, Subtilisin A, Savinase, y Durazyme, disponibles de Novo Nordisk Bioindustry Japan K.K.; Proteasa N "Amano", Proteasa S "Amano", disponible de Amano Pharmaceutical K.K.; Biopraxe, disponible de Nagase Seikagaku Kogyo K.K.; y Collagenasa Purificada, disponible de Advance Biofactures, Lynbrook, N.Y. La proteasa multifuncional de clostridium y la proteasa de krill son fácilmente preparadas por alguien experto en la técnica, por ejemplo, como se divulga en las Patentes U.S. N° 6.416.626 de Markert y otros y N° 5.958.406 de Faire y otros respectivamente.

10
15 Otras proteasas que se pueden seleccionar son la papaína, la bromelaína, el activador de plasminógeno, la plasmina, proteasa de mastocitos, hidrolasa lisosomal, estreptoquinasa, la pepsina y cualquiera de todas las proteasas fúngicas, bacterianas, vegetales o animales. La solución de proteasa de la presente invención puede contener una única proteasa o, preferiblemente, una pluralidad de proteasas. La solución de proteasas puede también contener uno o más enzimas degradantes de glicosaminoglicanos, como varias hidrolasas lisosomales que incluyen ciertas endoglicosidasas (la heparanasa y CTAP degradan el sulfato de heparán y en una menor extensión heparina, e hialuronidasa de testículos bovinos o de oveja degrada el ácido hialurónico y el sulfato de condroitina), varias exoglicosidasas (por ejemplo, β -glucuronidasa), y sulfatasas (sulfatasa de iduronato), generalmente actuando en secuencia para degradar los varios glucosaminoglicanos. Las liasas bacterianas como la heparinasa I, II y III de Flavobacterium heparinum hidrolizan moléculas similares a la heparina, la condroitinasa ABC de Proteus vulgaris, la AC de Arthobacter aurescens o la Flavobacterium heparina, B y C de la Flavobacterium heparina degradan el sulfato de condroitina.

20 De ventaja aún mayor, entonces, es la combinación de sustancias no proteasas tóxicas adicionales capaces de reducir los efectos secundarios no deseados. Schmitt y otros en la Patente U.S: N° 4.122.158, muestra la aplicación de un biopolímero que comprende sustancias de proteasa, anti bactericidas, antibióticas y antifúngicas para el tratamiento y prevención de las cicatrices y contaminación en heridas por quemaduras. Incluso los grados leves de sangrado, dolor y cicatrices potencialmente asociados con la retirada enzimática de células de lesiones cutáneas pueden ser aliviados por la aplicación de sustancias adecuadas simultáneamente con la solución de proteasa. El aparato de la presente invención está bien equipado para administrar soluciones que contienen sustancias activas adicionales compatibles con la actividad de la proteasa, a través de la inclusión de dichas sustancias en la solución dentro del(los) depósito(s) que comprenden la solución de desbridamiento.

25 En una realización preferida adicional de la presente invención, la solución de proteasa contiene al menos uno de un anestésico local, un coagulante y un anticoagulante. En todavía otra realización, la solución de proteasa además contiene una cantidad efectiva de un antibiótico. La solución de proteasa puede además comprender un portador farmacéuticamente aceptable adecuado.

30 Como se usa en la presente, la frase "anestesia local" se refiere a cualquier agente aplicado dentro de una región proscrita (por ejemplo, no sistemáticamente) que efectúa una reducción significativa o inhibición de la actividad de sustancias nociceptivas, receptores y/o redes neurales. Ejemplos no limitativos de agentes anestésicos locales usados comúnmente son los inhibidores de ciclo-oxigenasa (por ejemplo ibuprofeno, indometacina y ketorolaco), antagonistas del receptor de 5-hidroxitriptamina (por ejemplo, amitriptilina) antagonistas del receptor de bradicinina y antagonistas del receptor de histamina.

35 Como se usa en la presente el término "coagulante" se define como cualquier agente que promueve la coagulación, o coagulación de la sangre, que puede ser aplicado con seguridad a una lesión dermatológica. Un ejemplo no limitativo de dicho material coagulante que comprende gelatina, trombina y calcio se describe en la Patente U.S: N° 6.045.570 de Epstein y otros. De manera similar, el término "anticoagulante" se refiere a cualquier agente que retarda, inhibe o evita la coagulación o la coagulación de la sangre, que puede ser aplicado con seguridad a una lesión dermatológica, como las heparinas, cumarinas u otros agentes que poseen actividad trombolítica.

40 Como se usa en la presente en la especificación y en la sección de reivindicaciones más adelante, la frase "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, como un filtro líquido, diluyente, solvente o material encapsulador, implicado en llevar o transportar un compuesto de la presente invención dentro o al sujeto de tal forma que pueda realizar la función pretendida. Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: azúcares, como la lactosa, la glucosa y la sacarosa; los almidones, como el almidón de maíz y el almidón de patata, la celulosa, y sus derivados, como la carboximetil celulosa de sodio, celulosa de etilo y acetato

de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; aceites, como el aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, como el propilenglicol; polioles, como la glicerina, el sorbitol, el manitol y el polietilenglicol; ésteres, como el oleato de etilo y el laurato de etilo; agar; agentes reguladores, como el hidróxido de magnesio y el hidróxido de aluminio; ácido algínico; ácidos de frutas, agua libre de pirógenos; salinos isotónicos; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones reguladoras de fosfato; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

Como se usa en la presente, una "cantidad efectiva" de antibiótico se pretende que incluya la cantidad de antibiótico suficiente para evitar e inhibir significativamente al menos un 50%, preferiblemente un 75% y más preferiblemente un 100% del crecimiento microbiano dentro de una lesión dermatológica del sujeto que está siendo tratado, dicha cantidad efectiva determinada por alguien experto en la técnica.

El preacondicionamiento de la superficie de la lesión dermatológica puede proporcionar una eficiencia superior del tratamiento de proteasa posterior. La epidermis normal consiste de capas de células escamosas muertas que proporcionan una barrera mecánica efectiva que protege las capas dérmicas subyacentes. Yu y otros (Patentes U.S. N° 4.105.783 y N° 4.363.815) describen la retirada de células muertas del estrato corneo rico en queratina con agentes queratinolíticos desescamantes como hidroxido de bajo peso molecular o ácidos cetos, y sus ésteres. Dicha exfoliación de la piel también se consigue con preparaciones cosméticas que contienen dermoabrasivos, emolientes, detergentes, astringentes y suavizantes de la piel. Así, en todavía una realización adicional de la presente invención la superficie de la lesión es pretratada por transmisión de agentes limpiadores, suavizantes, astringentes, exfoliantes y/o dermoabrasivos. El aparato 80 está bien adaptado para esta aplicación, requiriendo solo la provisión de una solución de pretratamiento adecuada en el primer depósito 10, el segundo depósito 34 ó 38, el tercer depósito 36, el depósito o la ampolla 44, primer depósito o ampolla 48, segundo depósito 52, primer depósito o ampolla 60, y/o segundo depósito o ampolla 64.

Se apreciará, en el contexto de la presente invención, que la autólisis y pérdida de la concentración de enzimas funcionales de las preparaciones catalíticamente activas de proteasas constituye una desventaja significativa de la administración terapéutica de enzimas en composiciones tópicas, inyectadas y/u otras composiciones. La vida útil activa de la proteasa es limitada, y el control preciso de la actividad de los enzimas en el sitio de administración es virtualmente inalcanzable, una vez que la inyección o aplicación tópica se ha completado. Un número de invenciones han propuesto el almacenamiento de sustancias biológicamente activas, incluyendo enzimas, en contacto con sustancias o bajo condiciones que limitan su actividad nativa, inactivación y estabilización eficazmente, hasta que se ponen en contacto con la cantidad sustancialmente adecuada de sustancia activadora, o condiciones suficientes para restaurar la actividad biológica. Por ejemplo, Edens y otros (Patente U.S. N° 6.117.433) enseñan la estabilización de sustancias biológicamente activas, como vitaminas, enzimas y antibióticos en altas concentraciones pro la preparación en agua de agentes que disminuyen la actividad como sales, polioles, agentes secuestrantes como el EDTA, fiato o gluconato, o antioxidantes como los sulfitos, glutatión, cisteína o ácido ascórbico. Las composiciones cristalizadas de sustancias biológicamente activas, típicamente más estables que las preparaciones acuosas, se mezclan con agentes viscosificantes que retardan la precipitación y aseguran la homogeneidad de la composición biológicamente activa. La divulgación además describe un sistema dispensador para dichas formulaciones estabilizadas, activando la sustancia biológicamente activa por dilución con una composición acuosa. Nakagawa y otros, en la Patente U.S. N° 5.409.546 describe la estabilización de proteasa de serina derivada de bacterias que pertenecen al género *Bacillus* para composición limpiadora de lentes de contacto por la adición de polioles, y la especificación de un intervalo definido de temperaturas (de temperatura ambiente a alrededor de 58° C) dentro del cual el enzima mantiene la actividad catalítica. Rowan y otros en la Patente U.S. N° 5.106.621 enseña la restauración de la actividad catalítica de una proteasa de cisteína vegetal para el tratamiento de heridas por quemadura por la adición de cisteína para la regeneración de grupos tiol. Ninguno de los ejemplos anteriormente mencionados, sin embargo, se refieren a la administración de proteasas para el tratamiento de células vivas, ni proporcionan el control preciso que continua de la activación de la actividad catalítica en el sitio de la aplicación.

Se puede proporcionar un método para tratar la lesión cutánea, La proteasa se activa poco tiempo antes de la transmisión de la solución que contiene la cantidad efectiva de la al menos una proteasa, sobre, y en contacto con la parte de piel tratada. El método donde la proteasa es activada puede ser efectuado por: (a) mantener la proteasa a una primera temperatura en la que la proteasa es sustancialmente inactiva catalíticamente y calentar y/o enfriar la al menos una proteasa a una segunda temperatura en la que la al menos una proteasa es catalíticamente activa; y/o (b) proporcionar la proteasa en una forma de polvo y mezclar el polvo con una solución en la que la proteasa es catalíticamente activa; y/o (c) proporcionar la proteasa en una primera solución en la que la proteasa es sustancialmente catalíticamente inactiva y mezclar la primera solución con una segunda solución para conseguir una solución mezclada en la que la proteasa es activa catalíticamente. La segunda solución puede diferir de la primera solución con respecto al pH, concentración de iones, concentración de metales libres, hidrofiliidad e hidrofobicidad. Por ejemplo, la FIGURA 3 representa el aparato de cirugía enzimática 80 en comunicación fluida con el termostato 14, permitiendo el llenado del primer depósito 10 con solución de proteasa a temperaturas estabilizantes sub-óptimas, restaurando la actividad catalítica elevando la temperatura de la solución de proteasa sólo un poco antes de la aplicación en el sitio de la lesión. Típicamente, los enzimas están sustancialmente inactivados a temperaturas por debajo de 10° C, preferiblemente 4° C. La activación de la actividad catalítica

enzimática puede conseguirse calentando y/o enfriando la solución de proteasa para la temperatura óptima, típicamente en el intervalo de 30 a 40° C, preferiblemente 37° C.

5 Como se usa en la presente, el término "hidrofilidad" se refiere a la naturaleza polar de una solución o un compuesto, indicando su tendencia a ser atraído a otras soluciones o compuestos que muestran momentos dipolares significativos. De forma similar, el término "hidrofobicidad" se refiere a la naturaleza no polar de un compuesto o solución, indicando su tendencia a ser repelido e inmiscible en otros compuestos o soluciones que muestran momentos dipolares significativos.

10 Como se usa en la presente, el término "inactivación" se refiere a la supresión o pérdida reversible o irreversible de la actividad catalítica, por ejemplo, inactivación que vuelve los enzimas proteolíticos incapaces de catalizar la hidrólisis de los enlaces péptidos.

15 En el contexto de la presente invención, se apreciará que muchos enzimas están diseñados como ácidos, neutros o básicos, de acuerdo con el ambiente fisiológico al que están adaptados. Por ejemplo, los enzimas digestivos pepsina y quimiotripsina, catalíticamente activos en el ambiente ácido del estómago, muestran un bajo (pH 3-5) pH óptimo. Los enzimas activos en el ambiente de la dermis tendrán típicamente un pH óptimo más cercano al manto ácido más suave de la piel (pH 5,5-6,5). En consecuencia, la autólisis de la proteasa de la presente invención puede ser inhibida antes de la aplicación manteniendo la proteasa a un pH no óptimo, y mezclando la solución de enzimas con una solución activadora consiguiendo efectivamente un pH óptimo poco antes de su administración a la lesión tratada. Así, en una realización preferida de la presente invención, como se ilustra en las FIGURAS 5 y 8, las soluciones de proteasa estabilizadas inactivas en el segundo depósito 34 y/o el primer depósito o ampolla 48 se preparan en un pH no óptimo, y la solución activadora del tercer depósito 36 y/o el segundo depósito o ampolla 52 restablece el pH óptimo para la actividad catalítica en el momento del mezclado poco antes de su administración a la lesión tratada. Más preferiblemente, se elige un pH óptimo para la actividad catalítica que se aproxime levemente al PH normal ácido de la piel mamífera. De forma similar, las soluciones de proteasa pueden ser inactivadas y estabilizadas por quelación de los iones de metal catalíticamente críticos como el Ca⁺⁺ o el Mg⁺⁺, con EDTA, por ejemplo. La activación puede ser entonces conseguida proporcionando una concentración del ion de metal crítico en la solución activadora suficiente para conseguir las concentraciones de iones de metal efectivas y/u óptimas después del mezclado. Alternativamente, o adicionalmente, las proteasas pueden ser estabilizadas e inactivadas por la preparación en soluciones de reducida disponibilidad de agua, como en concentración de sal y poliol altas, por ejemplo. La restauración de la actividad catalítica, poco antes de la transmisión de la solución de proteasa al sitio de tratamiento, se consigue por la dilución acuosa suficiente por la solución activadora. En el contexto de la presente invención, se debe señalar que los enzimas extraídos de especies diferentes (Es decir, marinas, termofílicas, halofílicas, eutérmicas, mamíferas, criofílicas, etc.) a menudo demuestran pH, temperatura, grupo protésico de metal y concentración de iones e interacciones polares (hidrofobicidad/hidrofilidad) ampliamente variables y óptimo específico de la especie.

40 En una realización preferida de la presente invención, la proteasa se proporciona en una forma de polvo no fluida, mezclándola con una solución activadora poco antes de la aplicación para conseguir una actividad catalítica. La viabilidad de las preparaciones de enzimas secas es bien conocida en la técnica, y muchas proteasas de grados excelentes de pureza están disponibles comercialmente en forma liofilizada, por ejemplo, Proteinasa K (Sigma-Aldrich, Israel), Clostridopeptidasa A (Sigma Aldrich) y Elastasa (Fluka Chemical Company Inc.). Sin embargo, las preparaciones de enzimas liofilizadas o granuladas, en polvo son a menudo difíciles de dispersar homogéneamente en soluciones diluyentes. Así, en una realización preferida de la presente invención, ilustrada en la FIGURA 6, las preparaciones de proteasa en polvo o liofilizadas se mantienen en el primer depósito 10, puestas en contacto y mezcladas hasta la homogeneidad con solución activadora del segundo depósito 38 en el mezclador 12 poco antes de la administración al sitio del tratamiento. En otra realización descrita en detalle anteriormente e ilustrada en la FIGURA 9, la proteasa inactivada en polvo o liofilizada se proporciona en el depósito o ampolla 60 separado y se pone en contacto con, y dispersada en, la solución activadora, proporcionada en el depósito o ampolla 64, por la acción del mecanismo de mezclado 56 poco antes de la administración al sitio de tratamiento. Así, el método incorpora las ventajas de las preparaciones de proteasa en polvo o liofilizadas no acuosas estabilizadas mientras evita las desventajas de la dispersión pobre en diluyentes y el control impreciso de la actividad de los enzimas en la administración.

55 Se apreciará, en el contexto de la presente invención, que la actividad catalítica de los enzimas puede ser modificada por activadores e inhibidores. Uno de dichos modos de regulación de la actividad de los enzimas es la inhibición reversible, efectuada por la interacción de análogos de sustrato o moléculas reguladoras que causan cambios en el enlace de los sustratos y/o las cinéticas de los enzimas, reduciendo efectivamente la actividad catalítica, por ejemplo, como se describe en "Enzymes" capítulo 3, en Molecular Cell Biology (1986): Darnell, J, Lodish, H y Baltimore, D, eds., Scientific American Books, Inc. Como dicha inhibición reversible de la actividad de los enzimas es dependiente de la concentración, la restauración de la actividad catalítica se consigue poniendo en contacto la preparación de enzimas inhibida con volúmenes apropiados de diluyente vacío de inhibidores. Así, en una realización adicional de la presente invención, la estabilización de la solución de proteasa se efectúa por la inclusión de una cantidad efectiva de inhibidores de enzimas reversibles. La activación de la preparación de proteasa

estabilizada se efectúa por la dilución con volúmenes adecuados de solución activadora vacía de inhibidores y/o actividad inhibidora.

5 De manera similar, el dispositivo de la presente invención proporciona el control preciso y exacto de la terminación de la actividad enzimática en el sitio de tratamiento y en las células recolectadas. La inactivación de la actividad de la proteasa efectuada por la manipulación de cualquiera de los métodos anteriormente mencionados (pH, concentración de iones, concentración de metales libres, hidrofiliidad/hidrofobicidad, disponibilidad de agua e inhibición reversible) puede ser efectuada siguiendo a la transmisión de proteasa con la aplicación de cantidades efectivas de soluciones libres de proteasa que contienen, por ejemplo, quelantes de metales, reguladores de pH no óptimo e inhibidores de la proteasa reversibles.

10 En el contexto de la presente invención, se apreciará que muchas lesiones dermatológicas contienen células cutáneas y matriz intracelular anormales. Por ejemplo, las placas psoriáticas son causadas por el reemplazo celular epitelial anormal, el colágeno de los queloides y las cicatrices hipertroóficas se caracteriza por la reticulación anormal, las verrugas son el resultado de infección papovaviral de las células epidérmicas, y varios tipos de células hiperplásticas, a menudo hiperpigmentadas comprenden los muchos tipos de nevos (lunares), queratosas y léntigos. Mientras que la disrupción proteolítica de la matriz intracelular con la reabsorción posterior del tejido no viable ha sido el objetivo de varios métodos enzimáticos previos, en la presente invención las células anormales de las lesiones dermatológicas se retiran, efectuando un tratamiento superior de estas condiciones cutáneas.

15 Se apreciará que la combinación de "denudación" mecánica y acción mecánica de una corriente de solución de proteasa en la superficie de la piel es adecuada para la retirada de células cutáneas y desechos para propósitos estéticos. Así, en una realización adicional de la presente invención, la transmisión controlada de una solución de proteasa se puede usar para cosméticamente tratar estéticamente partes no deseadas de la superficie de la piel.

20 El dispositivo de la presente invención puede también ser aplicado para el tratamiento y/o retirada de células de la superficie del tejido dentro de un paciente, o de tejidos internos expuestos temporalmente durante procedimientos quirúrgicos. Markert y otros (Patente U.S. Nº 6.146.626) describen la recolección de células para cultivos de tejido de órganos internos incluyendo hígado, bazo, músculo del corazón y esquelético, tejido nervioso y conectivo, tejido glandular, endotelio y otros efectuados por la digestión con colagenasa de Clostridium y enzimas de elastasa. De Faire y otros (Patente U.S. Nº 5.958.406) describen el tratamiento y prevención de infección en órganos internos y cavidades corporales por la inyección o aplicación de preparaciones que contienen actividad de proteasa multifuncional de krill.

25 Se puede proporcionar un método de retirar y recolectar células de una superficie de un tejido viable, el método se efectúa transmitiendo una solución que contiene una cantidad efectiva de la menos una proteasa, sobre, y en contacto con, la superficie, retirando de este modo las células de la superficie del tejido viable, y recolectando las células. En una realización preferida de este aspecto de la presente invención la transmisión de la solución de proteasa se aplica a la superficie del tejido por una incisión quirúrgica abierta.

30 En otra realización más preferida el dispositivo de la presente invención se emplea para proporcionar irrigación de proteasa, retirada y/muestreo para biopsia de una superficie o superficies de tejido por la cánula "push-pull" anteriormente mencionada en un procedimiento quirúrgico dirigido por fibra óptica. Ejemplos no limitativos de dichos procedimientos son la artroscopia, cistoscopia, endoscopia, colecistoscopia, laparoscopia, colonoscopia, y mirinoscopia.

35 Como se usa en la presente, el término "tratamiento" incluye la disminución o el alivio de al menos un síntoma asociado o causado por el orden que está siendo tratado. Por ejemplo, el tratamiento puede ser la disminución de varios síntomas de un desorden o la erradicación completa de un desorden.

40 Como se ha detallado anteriormente, el aplicador y el aparato de la invención pueden comprender un tanque adaptado para recolectar el fluido y desecho celular drenado de la lesión ocluida. La importancia de recolectar células retiradas de las lesiones dermatológicas no se puede exagerar. El tratamiento sin determinar el diagnóstico preciso puede llevar a la retirada innecesaria de lesiones, a menudo incurrir en cicatrices innecesarias, recurrencias, y dificultades financieras. Es de particular importancia la determinación de los tipos de células que comprenden los nevos y las queratosas, debido a la prevalencia extendida de estas lesiones en adultos, y su potencial para sus transformación maligna (Sosis A., Bening Tumors of the Skin, in Skin Diseases: Diagnosis and Management in Clinical Practice (1982), Binnick, S.A. ed, Addison Wesley Publishing Co., USA, 166-230). Como se ha mencionado anteriormente, los métodos anteriores de tratamiento no quirúrgico de lesiones cutáneas, como la cirugía laser, electrocirugía y ablación química o enzimática no han proporcionado ningún medio para obtener células de las lesiones, necesitando el uso de técnicas de biopsia quirúrgicas tradicionales para el diagnóstico preciso.

45 En el contexto de la presente invención, se apreciará que confinar la actividad enzimática a una corriente de solución de proteasa dirigida a la superficie de la lesión, en lugar de la aplicación tópica de cremas o inyección

intradérmica, proporciona la oportunidad de conservar las células retiradas de la lesión tratada. Un método de retirar y recolectar las células de una parte de la piel de un sujeto afligido con una lesión dermatológica se puede proporcionar con el método efectuado transmitiendo una solución que contiene una cantidad efectiva de al menos una proteasa, sobre, y en contacto con, la parte de la piel, retirando de este modo las células de la parte de la piel del sujeto; y recolectando las células. Los productos de la digestión de proteasa en el sitio de tratamiento se retiran a través del al menos un tubo de salida y se transfieren al contenedor recolector de células, que está en comunicación fluida con el aplicador. La separación del fluido vinculado y los componentes celulares del flujo de salida de la solución de proteasa del aplicador 24 se puede conseguir por filtración o, en otra realización, por centrifugación de flujo continuo, como se ha descrito anteriormente. Los centrífugos de flujo continuo de volumen pequeño, usados comúnmente para la separación de los componentes sanguíneos (por ejemplo, el OrthoPAT® System, Haemonetics Corporation, Braintree, Mass.) están disponibles comercialmente y son fácilmente adaptados al dispositivo de la presente invención mediante comunicación fluida, como se ilustra en la FIGURA 4. Alternativamente, la recolección celular se puede efectuar por la retención de una columna capaz de adsorber células a través de la interacción con sacáridos poli- y/ oligo- protéinicos u otros componentes de la superficie celular.

Las separaciones de células conocidas implican varias técnicas, algunas de las cuales se basan en afinidades específicas. Otras técnicas de separación celular dependen de mecanismos más fortuitos como el atrapamiento de células objetivo en soportes de varios orígenes y estructuras. Ver, por ejemplo, Wigzell y Anderson, J. Exp. Med. 129:23-26, 1969; Rutishauser y otros Proc. Natl. Acad. Sci. 70, 1973; Wysocki y Sato, Proc. Natl. Acad. Sci. 75:2844-2848, 1978, Antoine y otros Immunochem. 15, 1987. Ver también la Patente U.S. N° 6.008.040 de Datar. El proceso básico de separación por afinidad implica crear contacto entre las mezclas celulares a ser separadas y una matriz de apoyo para permitir a las células objetivo que se unan, enlacen, adsorban o sean atrapadas preferencialmente a y dentro del soporte, y después quitar las células no deseadas, o viceversa. Las técnicas de afinidad específicas usan anticuerpos monoclonales para reconocer los marcadores específicos en las membranas de las células y para "atraer" las células objetivo para enlazar con los anticuerpos monoclonales. Las "atracciones" por afinidad específicas de células objetivo también pueden tener lugar por interacciones hidrofóbicas o hidrofílicas, afinidades de metal, intercambiadores de iones, y similares. Así, en una realización adicional de la presente invención, la recolección celular se efectúa por el paso de la corriente del flujo de salida desde el aplicador 24 a través del recolector celular 30 y contactando con un dispositivo, por ejemplo una columna de enlace celular, capaz de la retención de las células y su separación de la corriente del flujo de salida.

Objetos, ventajas y características nuevas adicionales de la presente invención se harán evidentes a alguien experto en la materia en el momento del examen del ejemplo siguiente, que no se pretende que sea limitativo. Adicionalmente, cada una de las varias realizaciones y aspectos de la presente invención como se ha descrito ilustrativamente en la presente anteriormente y como se reivindica en la sección de reivindicaciones a continuación encuentra apoyo experimental en el siguiente ejemplo.

EJEMPLOS

40 EJEMPLO 1: DESBRIDAMIENTO ENZIMATICO USANDO EL APARATO DE LA INVENCION

Materiales y métodos

El sistema de transmisión consiste de: un depósito de alimentación, tubos de entrada/salida de conexión, bomba peristáltica (MP4 Minipulse 3, Gilson, Francia), un aplicador desechable diseñado para dirigir el flujo en el sitio tratado y un recipiente de recolección.

Muestras de Tejido y Animales: El estudio se realizó en grupos de seis ratones blancos machos y hembras de 4-8 semanas de edad [30-40 g de peso corporal], en grupos de seis ratas macho Charles-River (2-3 meses de edad, 200-250 g de peso corporal), en conejo blanco de Nueva Zelanda (NZW) macho adulto (3 kg de peso corporal) y en muestras de piel de cerdo. Los ratones y las ratas fueron anestesiados con Avertin (0,1 ml de un 1,25% de tribromoetanol en salino por 10 g de peso corporal; Sigma, USA) y el conejo fue sedado con ketamina rompun y anestesiado con sodio de tiopental (Abbott Laboratories, Italia). La piel en el área de tratamiento fue afeitada, los animales fueron posicionados en un gato y levantados hasta que el aplicador estaba apretado a la superficie del aspecto posterior lateral de la espalda de cada animal. Las muestras cutáneas de cerdo frescas fueron retiradas de un macho blanco (híbrido de blanco grande con raza de la tierra; 34 kg de peso corporal), montadas en una junta tórica de plástico y sujetadas al aplicador.

Enzimas: Todos los enzimas probados fueron polvos liofilizados (Sigma-Aldrich Chemicals, USA). Los enzimas fueron utilizados como se recibieron sin purificación adicional. Se usaron los siguientes enzimas: Bromelaína (B4882, disuelto en 0,01 M de Tris pH 7,5); Colagenasa (C01300, disuelto en 0,1 M de Tris, pH 7,6); Papaína (P4762 disuelto en 0,01 M de regulador de Fosfato, pH 6,5 conteniendo 5 mM de L-Cisteína y 2 mM de ácido Etilenediaminetetra-acético (EDTA); Pepsina (P7012, disuelto en 10 mM de HCL pH 2,9); Proteasa del tipo X (Termolisina, P1512 disuelto en 10 mM de Acetato Sódico (TA948368, Merck) y 5 mM de Acetato Cálcico (C1000, Sigma) y Tripsina (T1005, disuelto en 0,01 M de Tris pH 8,6).

Tratamiento de la piel intacta: las soluciones recién preparadas fueron transmitidas continuamente en el área de la superficie de la piel afeitada confinada de los ratones, ratas, conejo anestesiados o en las muestras de piel de cerdo, a un caudal de 5-6 ml/hora durante 3 horas a temperatura ambiente, después de lo que los animales fueron sacrificados y las muestras para el examen histológico fueron retiradas de las áreas tratadas.

5 Histología: Después de horas de tratamiento, los ratones y ratas fueron sacrificados con una sobredosis de hidrato de cloral (Fluka chemicals, Suiza) y el conejo fue sacrificado con una sobredosis de sodio de tiopental. Las muestras cutáneas de grosor completo x(mm) fueron retiradas del análisis histológico desde los márgenes del área confinada para permitir la comparación de las áreas tratadas y no tratadas en un mismo corte. Las muestras de
10 tejido fueron fijadas inmediatamente en un 4% de una solución de formaldehído regulada de fosfato durante 48 horas, procesadas por procedimientos histológicos rutinarios y embebidas en parafina. Las secciones en serie perpendiculares a la superficie cutánea fueron cortadas a 8 μ de grosor. Las secciones así obtenidas fueron teñidas con hematoxilina y eosina para observación.

15 Modelos de heridas experimentales: Se indujeron heridas térmicas de 1-1,5 mm de profundidad, después de [10] por un contacto directo con una punta de un instrumento de soldadura estándar durante 30 segundos en el aspecto de la superficie cutánea afeitada dorsal posterolateral de ratones y ratas anestesiados. Las soluciones de proteasa recientemente preparadas, o sus combinaciones, fueron aplicadas por transmisión continua en la herida dentro de una hora desde la lesión durante 2-3 horas al mismo caudal que se ha mencionado anteriormente. Los
20 cortes recientes lineales de grosor completo se hicieron con escalpelo en el aspecto posterolateral de la espalda del animal y se trataron inmediatamente con transmisión continua de enzimas durante 3 horas. Se tomaron fotografías de las áreas tratadas inmediatamente después del tratamiento y después de 7 y 20 días para la valoración del proceso de curación.

25 Monitorización de la actividad enzimática transmitida: Como la solución de enzimas proteolíticos puede perder su actividad proteolítica debido a la autodigestión, actividad residual de enzimas empleados fue monitorizada rutinariamente por ensayos bioquímicos in vitro recomendados por el proveedor, de la manera siguiente:

30 1. La actividad de la colagenasa se ensayó por la adición de 0,2 ml de solución de enzimas (1 mg/ml) en 3 ml de 0,25 mM de N α -Benzoil-L-Arginina Etil Ester (B4500, Sigma) y 0,32 ml de 10 mM de Ditioneritrol (D8255, Sigma) en 10 mM de regulador Tris pH 7,5 que contenía 4 mM de CaCl₂ (102382, Merck) y midiendo el OD₂₅₃ durante 5 minutos a temperatura ambiente.

35 2. La actividad de la tripsina se ensayó por la adición de 50 μ l de solución de enzimas [1 mg/ml] en un ml de solución de sustrato (5 mg de de N α -Benzoil-DL-Arginina p-Nitroanilido (BAPNA, B4875, Sigma) disuelto en 0,5 ml de dimetilsulfóxido (DMSO, 102931, Merck) y añadida a 25 ml de Tris 10 mM pH 7,5 que contenía 4 mM de CaCl₂) y midiendo el OD₄₀₅ durante 5 minutos a temperatura ambiente.

40 3. La actividad de la papaína se ensayó por la adición de 100 μ l de solución de enzimas (1 mg/ml) en 1 ml de solución BAPNA (preparada disolviendo 5 mg de BAPNA en 0,5 ml de DMSO y añadiéndola en 25 ml de 50 mM de Regulador de fosfato, pH 6,2 que contenía 5 mM de Cisteína y 2 mM de EDTA) y midiendo el OD₄₀₅ durante 5 minutos a temperatura ambiente.

45 4. LA actividad de la bromelaína se ensayó por la adición de 50 μ l de solución de enzimas (1 mg/ml) en 5 ml de un 1% de Solución de caseína (44016, BDH) en 50 mM de Tris pH 8,5 en tubos de ensayo, equilibrada a 37 $^{\circ}$ C. Después de la incubación durante 10 minutos a 37 $^{\circ}$ C y pH 8-8,5, se añadieron cinco ml de un 10% de ácido tricloroacético (TCA, 33731, Riedel-de-Haen) y la mezcla se incubó durante 5 minutos adicionales a 37 $^{\circ}$ C. La mezcla obtenida de este modo fue centrifugada a 7.000 rpm durante 10 minutos y se midió el OD₂₈₀ del sobrenadante.

50 5. La actividad de la termolisina (Proteasa tipo X) se ensayó como se ha descrito anteriormente para la Bromelaína.

55 6. Ensayo de la actividad de la pepsina: se añadió un ml de solución de pepsina (0,01-0,05 mg/ml en 10 mM de HCl) a 5 ml de un 2% de solución de hemoglobina (H2625, Sigma) en 10 mM de HCl a 37 $^{\circ}$ C. Después de 10 minutos de incubación se añadieron 10 ml de un 5% de TCA y la mezcla se incubó durante 5 minutos adicionales a 37 $^{\circ}$ C. La mezcla obtenida de este modo fue centrifugada a 7.000 rpm durante 10 minutos y se midió el OD₂₈₀ del sobrenadante.

60 Resultados

Efecto de la transmisión de enzimas en piel intacta:

65 La transmisión controlada de enzimas podría ser fácilmente y convenientemente aplicada como series de tratamientos consecutivos usando una bomba multicanal, como se demuestra en la Figura 13A para tratamientos de seis ratas anestesiadas o el tratamiento de seis sitios diferentes en un animal más grande (Figura 13B). La digestión

5 efectiva de capas de piel diferentes se consiguió fácilmente transmitiendo soluciones de enzimas reguladas diluidas durante 3 horas. La transmisión controlada de 2 mg/ml de papaína en ratones afectó la digestión y retirada de la capa queratinizada exterior (Figura 3 A con 3B). La separación de la epidermis de la dermis se efectuó por mezcla de tripsina (4 mg/ml) y bromelaína (5 mg/ml) (Figura 14C). La transmisión controlada de 8 mg/ml de solución de tripsina efectuó la digestión completa de la capa epidermis (Figura 14D). La transmisión de 3 mg/ml de pepsina resultó en la penetración más profunda y la digestión de las fibras de colágeno (Figura 14E). La transmisión de una mezcla de 3 mg/ml de colagenasa y 1,5 mg/ml de termolisina resultó en una digestión similar a la mostrada en la Figura 14D. Se obtuvieron resultados similares con la transmisión de las mismas soluciones en ratas, conejos y piel de cerdo.

10 La transmisión de soluciones de enzimas activos fue esencial para obtener estos efectos: la transmisión de solución reguladora sin enzimas fue inefectiva. Además, la transmisión de la solución de enzimas durante unos pocos minutos para llenar el sistema seguido por detención del flujo no tuvo efecto y no se observaron cambios visuales.

15 La actividad específica de todas las soluciones de enzimas transmitidas permaneció estable (<85%) a lo largo de un periodo de aplicación de 3 horas. La menor pérdida de actividad de entrada fue seguramente causada por autodigestión.

Efecto de la transmisión de enzimas en heridas experimentales:

20 La retirada efectiva de coágulos de sangre fresca se consiguió fácilmente por la transmisión de mezcla de tripsina y colagenasa (3 mg/ml de cada) durante 3 horas en cortes hechos recientemente con limpieza de la superficie suave sin tener en cuenta su forma (Figura 15A-B).

25 La transmisión enzimática controlada para el desbridamiento de heridas por quemadura también se consiguió fácilmente por la transmisión de 2 horas de varias combinaciones de proteasas: mezcla de colagenasa/termolisina (3 mg/ml y 1,5 mg/ml, respectivamente; Figura 14B) mezcla de tripsina/papaína (4 mg/ml y 2 mg/ml) o mezcla de tripsina/colagenasa (3 mg/ml de cada).

30 El desbridamiento con enzimas transmitidos, por ejemplo papaína o pepsina (2 mg/ml y 3 mg/ml, respectivamente durante 2 horas) resultó en la curación suave (comparar Figura 15A con Figura 15B; fotografías tomadas 20 días después de la inducción de las quemaduras).

EJEMPLO 2. RETIRADA ENZIMÁTICA DE LA EPIDERMIS

35 Usando un aparato que incluía el aplicador 24 ilustrado en la FIGURA 12, se aplicó una solución de enzimas que contenía Colagenasa (1 mg/ml, Sigma Cat. N° C0130) y Termolisina (0,5 mg/ml, Sigma tipo x, Cat N° P1512) en 0,1 M de regulador PBS, pH 7,5 en una muestra de piel recientemente retirada de un cerdo blanco grande femenino adulto (1 año de edad, 90 kg), montado en un soporte plano y pre-lavado con un 70% (v/v) de etanol acuoso, a un caudal de 3-4 ml/hora durante 3 horas a temperatura ambiente.

40 Después de este tratamiento y la separación del aparato, se observó macroscópicamente la retirada de pelo completa del área tratada, acompañada por la formación de una retirada en forma de cráter suave del volumen de la piel. La muestra de piel se fijó inmediatamente en formalina regulada neutra (4% v/v) durante 48 horas. La piel fue después enjuagada con agua destilada, deshidratada en alcohol y embebida en parafina. Las secciones de serie histológicas teñidas (0,8 µm de grosor) se prepararon en un plano paralelo a la dirección de la Epidermis-Dermis, montadas en portaobjetos, teñidas con Hematoxilina-Eosina y examinadas bajo microscopio de luz. EL examen de los bordes del área tratada indicó claramente la retirada de la epidermis enzimática del área tratada en comparación con el área sin tratar.

50 La descripción precedente de las realizaciones específicas revelará así completamente la naturaleza general de la invención que otros pueden, aplicando el conocimiento actual, modificar y/o adaptar fácilmente para varias aplicaciones como realizaciones específicas sin experimentación indebida y sin salirse del concepto genérico, y, por lo tanto, dichas adaptaciones y modificaciones se pretende que estén comprendidas dentro del significado y rango de equivalentes de las realizaciones descritas. Se entenderá que la fraseología o terminología empleada en la presente es para el propósito de descripción y no de limitación. Los medios, materiales y pasos para llevar a cabo las varias funciones descritas pueden tomar una variedad de formas alternativas sin salirse de la invención.

55

REIVINDICACIONES

1. Un aplicador para tratar una lesión cutánea que comprende:

- 5 (a) una unidad de alojamiento [202] que tiene al menos una apertura formada en la misma y un primer eje longitudinal; y
(b) medios para fijar [208] el aplicador a la piel alrededor de la circunferencia de la lesión cutánea; en donde dicha unidad de alojamiento comprende:
- 10 (i) una pluralidad de tubos de entrada [204], cada uno de dicha pluralidad de tubos de entrada teniendo un primer eje longitudinal y configurado para ser ajustable a lo largo de su eje longitudinal a través de la mencionada al menos una apertura; y
(ii) al menos un tubo de salida [206] que tiene un segundo eje longitudinal, **caracterizado porque** al menos uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada comprende un alambre desviable [226] que se extiende a lo largo del primer eje longitudinal del mencionado al menos un tubo de entrada y está unido operativamente al mismo.
- 15
2. El aplicador de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la unidad de alojamiento [202] comprende una pluralidad de aperturas, y en donde cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada [204] y el al menos un tubo de salida [206] se extienden a través de una correspondiente de cada una de la mencionada pluralidad de aperturas; o en donde cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada es ajustable en posición y ángulo con respecto a la unidad de alojamiento; o en donde cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada es extensible o retráctil a lo largo de su eje longitudinal; o además comprende un mecanismo de tornillo ajustable en comunicación con cada uno de los mencionados tubos de entrada para extender o retraer de este modo cada tubo de entrada a lo largo de su eje longitudinal; o comprendiendo además un depósito de recolección [216] que está en comunicación fluida con el al menos un tubo de salida y configurado para recolectar fluidos drenados del mencionado al menos un tubo de salida; o comprendiendo además una fuente de vacío que está en comunicación fluida con el al menos un tubo de salida, adaptada para generar una presión negativa en la lesión cutánea ocluida.
- 20
3. El aplicador de acuerdo con la reivindicación 1, en donde cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada [204] tiene un extremo proximal y un extremo distal [222], el extremo distal configurado para encarar la mencionada lesión cutánea y en donde el mencionado extremo distal está curvado suavemente para formar una punta no traumática.
- 25
4. El aplicador de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la abertura en el extremo distal [222] del al menos un tubo de entrada [204] está en un ángulo con respecto al eje central del tubo de entrada, preferiblemente en donde el extremo distal de al menos uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada comprende una pluralidad de aberturas.
- 30
5. El aplicador de acuerdo con la reivindicación 1, en donde cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada [204] está construido de un elastómero flexible, preferiblemente en donde el elastómero flexible comprende un material seleccionado del grupo consistente de: silicona, poliuretano, goma natural, neopreno y etilo vinil acetato.
- 35
6. El aplicador de acuerdo con la reivindicación 1, comprendiendo además al menos un depósito [210] en comunicación fluida con la pluralidad de tubos de entrada [204], el al menos un depósito está adaptado para contener fluidos.
- 40
7. El aplicador de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el al menos un depósito [210] está adaptado para contener una solución terapéutica que comprende una cantidad efectiva de al menos una proteasa catalíticamente activa.
- 45
8. El aplicador de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la al menos una proteasa catalíticamente activa es seleccionada del grupo consistente de: papaína, bromelaína, activador plasminógeno, plasmina, proteasa de mastocitos, hidrolasa lisosomal, estreptoquinasa, pepsina, vibriolisina, proteasa krill, quimi tripsina, tripsina, colagenasa, elastasa, dipasa, proteinasa K, proteasa multifuncional Clostridium y proteasa Bacillus subtilis.
- 50
9. El aplicador de acuerdo con la reivindicación 6, comprendiendo además un conector que está en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada [204] de la mencionada pluralidad de tubos de entrada y con el al menos un depósito [210], para abrir y cerrar de este modo la comunicación fluida entre el mencionado al menos un tubo de entrada y el mencionado al menos un depósito, preferiblemente en donde el conector incluye al menos un elemento seleccionado del grupo consistente de: cerradura luer y medio de válvula.
- 55
- 60

- 5 **10.** El aplicador de acuerdo con la reivindicación 6, comprendiendo además un separador que está en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada [204] de la mencionada pluralidad de tubos de entrada y con el al menos un depósito [210], para desconectar y reconectar reversiblemente de este modo el mencionado al menos un tubo de entrada del mencionado al menos un depósito.
- 10 **11.** El aplicador de acuerdo con la reivindicación 6, comprendiendo además un medio de control que está en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada [204] de la mencionada pluralidad de tubos de entrada y con el al menos un depósito [210], para controlar de este modo el caudal de los fluidos que fluyen desde el al menos un depósito a través del al menos un tubo de entrada, preferiblemente en donde el medio de control es seleccionado del grupo consistente de: bomba peristáltica y un contador de goteo.
- 15 **12.** El aplicador de acuerdo con la reivindicación 6, comprendiendo además un medio de termostatación en comunicación fluida con el al menos un depósito [210] para afectar de este modo a la temperatura de los fluidos contenidos en el mencionado al menos un depósito; o comprendiendo además al menos un filtro dentro de al menos un tubo de entrada [204] de la mencionada pluralidad de tubos de entrada, para filtrar los fluidos que fluyen a través del mencionado al menos un tubo de entrada.
- 20 **13.** El aplicador de acuerdo con la reivindicación 1, comprendiendo además una pluralidad de depósitos [210] en donde un primer depósito de dicha pluralidad de depósitos está adaptado para contener una primera solución que comprende al menos una proteasa catalíticamente no activa y en donde un segundo depósito de dicha pluralidad de depósitos está adaptado para contener una segunda solución que comprende un agente capaz de activar la al menos una proteasa catalíticamente no activa, el primer depósito y el segundo depósito estando en comunicación fluida entre sí y al menos uno de dichos primer y segundo depósitos estando además en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada [204] de la mencionada pluralidad de tubos de entrada.
- 25 **14.** El aplicador de acuerdo con la reivindicación 13, comprendiendo además una cámara de mezclado que está en comunicación fluida con los mencionados primer y segundo depósitos [210] y con al menos un tubo de entrada [204], para contener de este modo una mezcla proteolítica catalíticamente activa que comprende una primera y una segunda soluciones; o en donde la cámara de mezclado comprende además medios de mezclado.
- 30 **15.** El aplicador de acuerdo con la reivindicación 2, en donde cuando la unidad de alojamiento [202] comprende una pluralidad de aperturas, y en donde cuando cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada [204] y el al menos un tubo de salida [206] se extienden a través de una correspondiente de cada una de la mencionada pluralidad de aperturas, el aplicador comprende además una pluralidad de unidades de sellado, cada unidad de sellado estando configurada para evitar el paso de fluidos entre el diámetro externo del mencionado tubo de entrada y su apertura correspondiente; o el aplicador además comprende una unidad de sellado configurada para evitar el paso de fluidos entre el diámetro externo del mencionado tubo de salida y su apertura correspondiente; preferiblemente en donde el mencionado al menos un tubo de salida está configurado para ser ajustable a través de su apertura correspondiente.
- 35 **16.** El aplicador de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el medio para la fijación [208] del aplicador a la piel comprende un primer plano unido al alojamiento y un segundo plano configurado para rodear y adherirse a la lesión.
- 40 **17.** El aplicador de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el medio adhesivo es biocompatible; o en donde el segundo plano está cubierto con una película desprendible protectora.
- 45 **18.** El aplicador de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el mencionado alambre desviable [226] no se extiende más allá del mencionado extremo distal [222] de la mencionada al menos una entrada [204]; o en donde el alambre desviable comprende un material rígido que es flexible y elástico; o en donde el alambre desviable comprende un material seleccionado del grupo consistente de: plata, platino, acero inoxidable y polímero; o en donde el mencionado al menos un tubo de entrada [204] comprende un primer lumen para contener fluidos y un segundo lumen configurado para contener en el mismo el alambre desviable.
- 50 **19.** Un aparato para tratar una lesión cutánea que comprende:
- 55 (a) un separador [230] para ocluir un área que comprende la lesión cutánea, el separador teniendo un plano inferior que encara a la piel, un plano superior que encara al alojamiento, en donde el plano inferior comprende medios adhesivos para fijar [208] el separador a la piel en la circunferencia de la mencionada lesión cutánea; y
- 60 (b) un aplicador que comprende una unidad de alojamiento [202] que tiene al menos una apertura formada en el mismo y un primer eje longitudinal, dicha unidad de alojamiento comprendiendo:

(i) una pluralidad de tubos de entrada [204], cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada teniendo un primer eje longitudinal y configurado para ser ajustable a lo largo de su eje longitudinal a través de la mencionada al menos una apertura;

5 (ii) al menos un tubo de salida [206] que tiene un segundo eje longitudinal; y

(iii) medios para fijar el aplicador al plano superior del separador, **caracterizado porque**

al menos uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada comprende un cable desviable [226] que se extiende a lo largo del primer eje longitudinal del mencionado al menos un tubo de entrada y está unido operativamente al mismo.

10 **20.** El aparato de acuerdo con la reivindicación 19, en donde el separador [230] comprende un material impermeable resistente a los líquidos; o en donde el separador comprende un elastómero, preferiblemente en donde el elastómero es un material similar a la espuma; o en donde el separador comprende un material seleccionado del grupo consistente de: silicona, espuma de silicona, poliuretano, goma natural, neopreno y etilo vinil acetato; o

15 en donde el medio adhesivo comprende un material seleccionado del grupo consistente de: resina termoplástica, adhesivo sensible a la presión, adhesivo hidrocoloide y goma; o en donde la al menos una apertura del mencionado aplicador comprende una pluralidad de aperturas, y en donde cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada [204] y al menos un tubo de salida [206] se extienden a través de una correspondiente de cada una de la mencionada pluralidad de aperturas; o

20 en donde cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada es ajustable en posición y ángulo con respecto a la unidad de alojamiento [202]; o comprendiendo además un depósito de recolección [216] que está en comunicación fluida con el al menos un tubo de salida y configurado para recolectar fluidos drenados desde el mencionado al menos un tubo de salida; o

25 en donde el mencionado al menos un tubo de salida está configurado para ser ajustable a través de su apertura correspondiente.

21. El aparato de acuerdo con la reivindicación 19, en donde cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada [204] tiene un extremo proximal y un extremo distal [222], el extremo distal estando configurado para encarar la mencionada lesión cutánea y en donde el mencionado extremo distal está suavemente curvado para formar un punto no traumática; preferiblemente en donde la apertura en el extremo distal del al menos un tubo de entrada está en un ángulo con respecto al eje central del tubo de entrada.

35 **22.** El aparato de acuerdo con la reivindicación 19, en donde, cada uno de la mencionada pluralidad de tubos de entrada [204] es extensible o retráctil a lo largo de su eje longitudinal; o comprende además un mecanismo de tornillo ajustable en comunicación con cada uno de los mencionados tubos de entrada para extender o retraer de este modo cada tubo de entrada a lo largo de su eje longitudinal.

40 **23.** El aparato de acuerdo con la reivindicación 19, comprendiendo además al menos un depósito [210] en comunicación fluida con la pluralidad de tubos de entrada [204], el al menos un depósito está adaptado para contener fluidos.

45 **24.** El aparato de acuerdo con la reivindicación 23, en donde el al menos un depósito [210] está adaptado para contener una solución terapéutica que comprende una cantidad efectiva de al menos una proteasa catalíticamente activa.

50 **25.** El aparato de acuerdo con la reivindicación 24, en donde la al menos una proteasa catalíticamente activa es seleccionada del grupo consistente de papaína, bromelaína, activador plasminógeno, plasmina, proteasa de mastocitos, hidrolasa lisosomal, estreptoquinasa, pepsina, vibriolisina, proteasa krill, quimiotripsina, tripsina, colagenasa, elastasa, dipasa, proteinasa K, proteasa multifuncional Clostridium y proteasa Bacillus subtilis.

55 **26.** El aparato de acuerdo con la reivindicación 23, comprendiendo además un conector que está en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada [204] de la mencionada pluralidad de tubos de entrada y con al menos un depósito [210], para abrir y cerrar de este modo la comunicación fluida entre el mencionado al menos un tubo de entrada y el mencionado al menos un depósito.

60 **27.** El aparato de acuerdo con la reivindicación 26, en donde el conector incluye al menos un elemento seleccionado del grupo consistente de: cerradura luer y medio de válvula.

28. El aparato de acuerdo con la reivindicación 23, comprendiendo además un separador que está en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada [204] de la mencionada pluralidad de tubos de entrada y con el al menos un depósito [210] para desconectar y reconectar reversiblemente de este modo el mencionado al menos un tubo de entrada del mencionado al menos un depósito; o

- comprendiendo además un medio de control que está en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada de la mencionada pluralidad de tubos de entrada y con el al menos un depósito, para controlar de este modo el caudal de los fluidos que fluyen desde el al menos un depósito a través del al menos un tubo de entrada, preferiblemente en donde el medio de control es seleccionado del grupo consistente de: bomba peristáltica y un contador de goteo; o
- 5 comprendiendo además un medio termorregulador en comunicación con el al menos un depósito para afectar de este modo a la temperatura de los fluidos contenidos en el mencionado al menos un depósito; o
comprendiendo además al menos un filtro dentro de al menos un tubo de entrada de la mencionada pluralidad de tubos de entrada, para filtrar los fluidos que fluyen a través del mencionado al menos un tubo de entrada.
- 10 **29.** El aparato de acuerdo con la reivindicación 19, comprendiendo además una pluralidad de depósitos [210] en donde un primer depósito de dicha pluralidad de depósitos está adaptado para contener una primera solución que comprende al menos una proteasa catalíticamente no activa y en donde un segundo depósito de dicha pluralidad de depósitos está adaptado para contener una segunda solución que comprende un agente capaz de activar la al
- 15 menos una proteasa catalíticamente no activa, el primer depósito y el segundo depósito estando en comunicación fluida entre sí y al menos uno de los mencionados primer y segundo depósitos además estando en comunicación fluida con al menos un tubo de entrada [204] de la mencionada pluralidad de tubos de entrada.
- 30.** El aparato de acuerdo con la reivindicación 29, comprendiendo además una cámara de mezclado que está en comunicación fluida con los mencionados primer y segundo depósitos [210] y con al menos un tubo de entrada [201], para mantener de este modo una mezcla proteolítica catalíticamente activa que comprende las mencionadas primera y segunda soluciones, preferiblemente en donde la cámara de mezclado comprende además medios de mezclado.
- 20 **31.** El aparato de acuerdo con la reivindicación 19, comprendiendo además un emplasto adhesivo que está en comunicación con el mencionado alojamiento y se extiende hacia afuera del primer eje longitudinal del mencionado alojamiento, el emplasto teniendo un plano superior que encara al aplicador y un plano inferior que encara la lesión, en donde el plano inferior comprende medios adhesivos.
- 25 **32.** El aparato de acuerdo con la reivindicación 31,
en donde el medio adhesivo es biocompatible; o
30 en donde el plano inferior del emplasto está cubierto con una película desprendible protectora.
- 33.** El aparato de acuerdo con la reivindicación 19, en donde el mencionado alambre desviable [226] no se extiende más allá del extremo distal [222] de la mencionada al menos una entrada [204]; o
- 35 en donde el alambre desviable comprende un material rígido que es flexible y elástico; o
en donde el alambre desviable comprende un material seleccionado del grupo consistente de: plata, platino, acero inoxidable y polímero; o
en donde el al menos un tubo de entrada comprende un lumen longitudinal configurado para contener el alambre desviable.

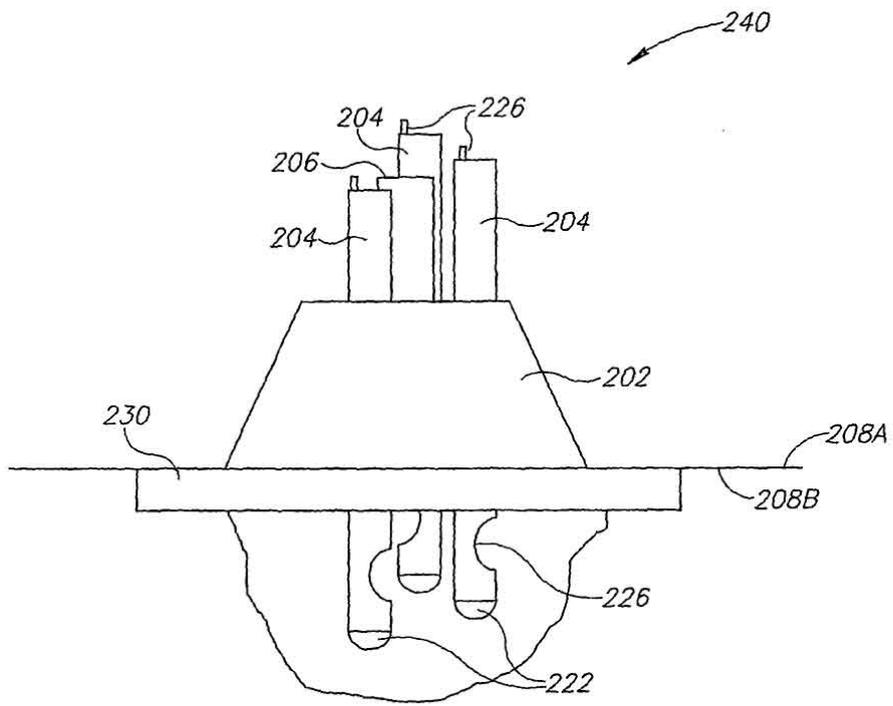


FIG.1A

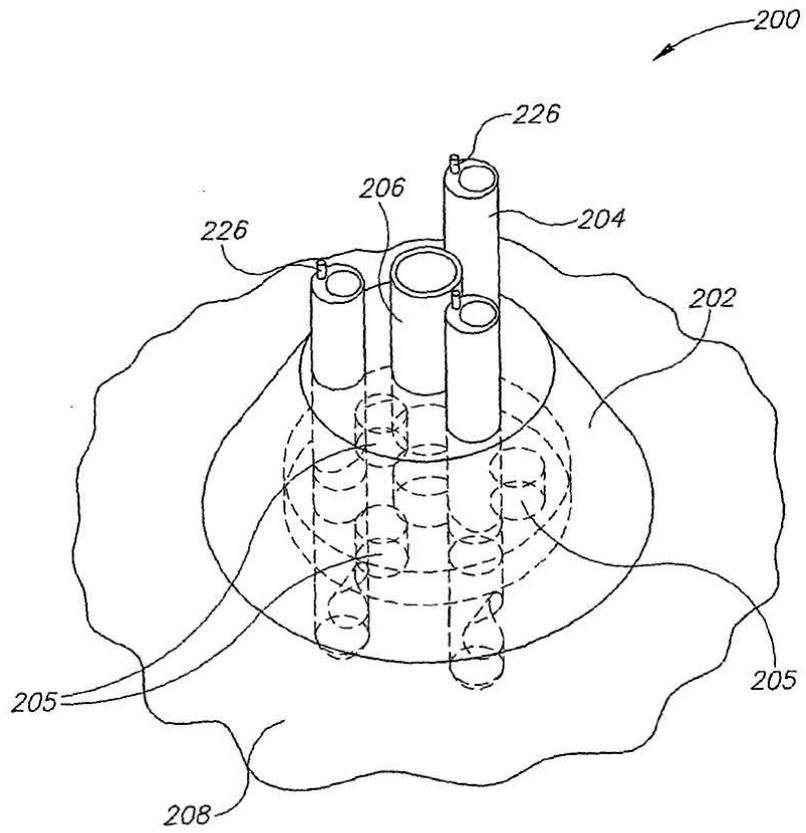


FIG.1B

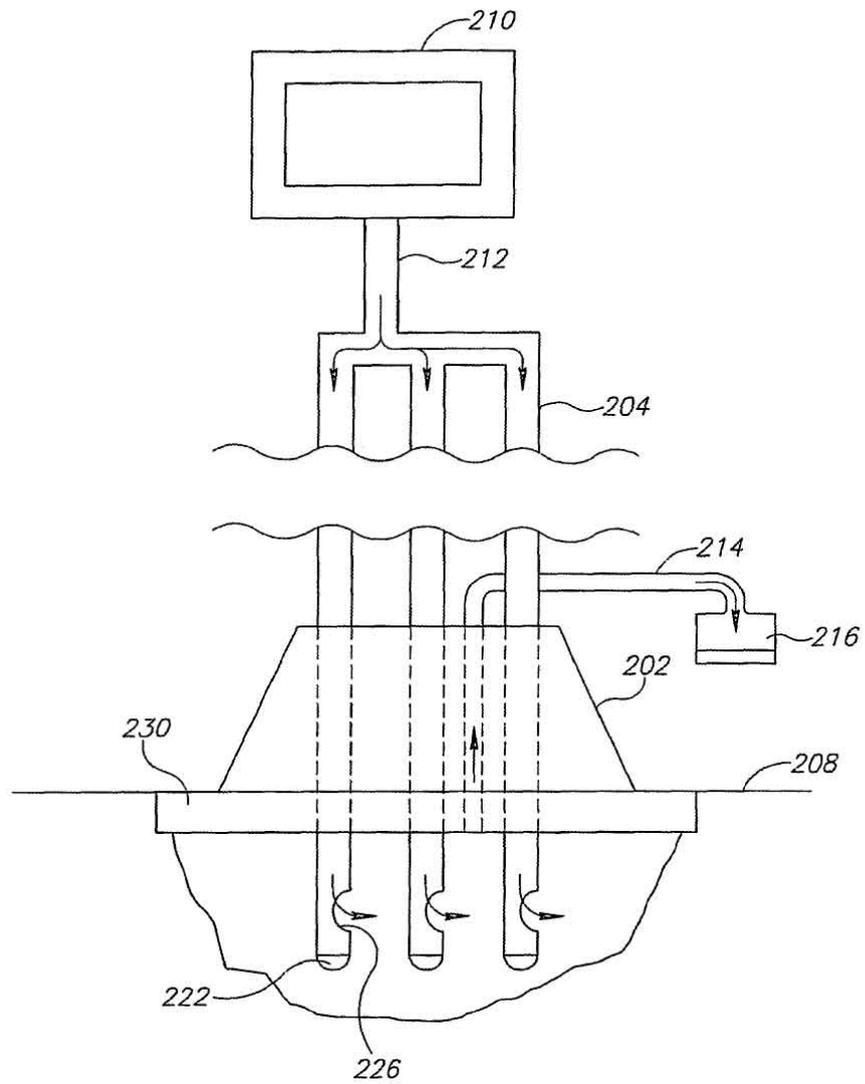


FIG.2

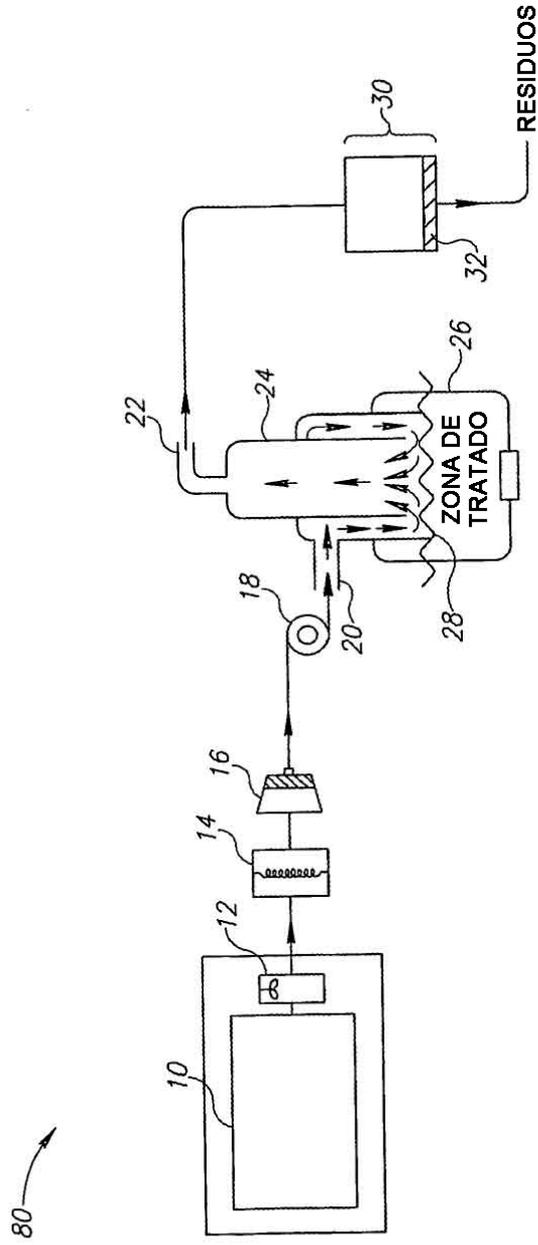


FIG.3

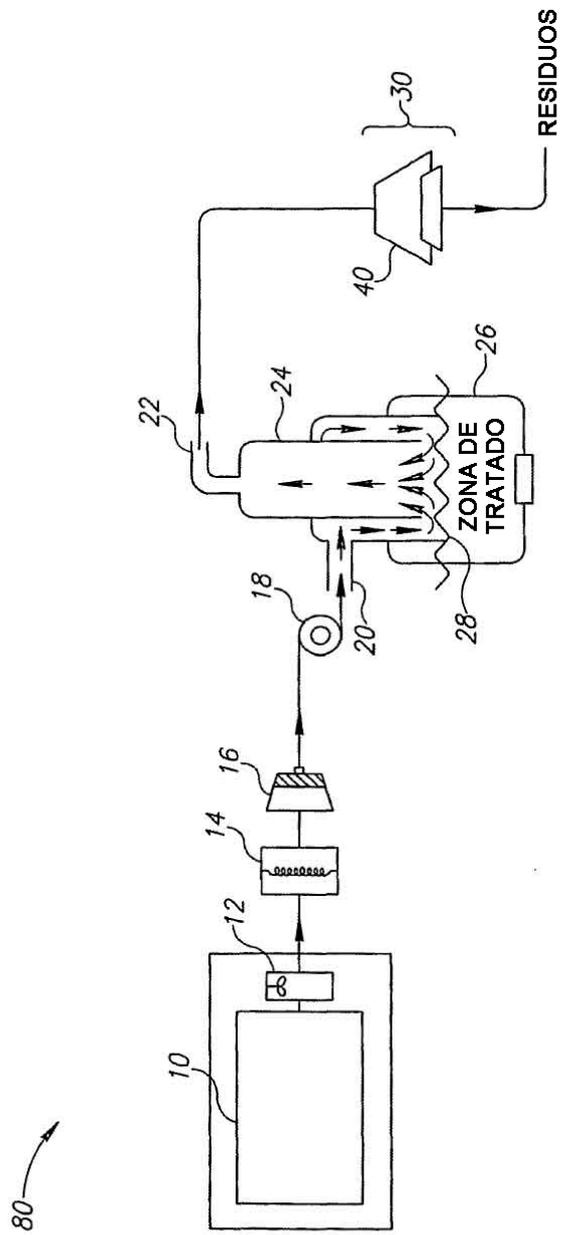


FIG.4

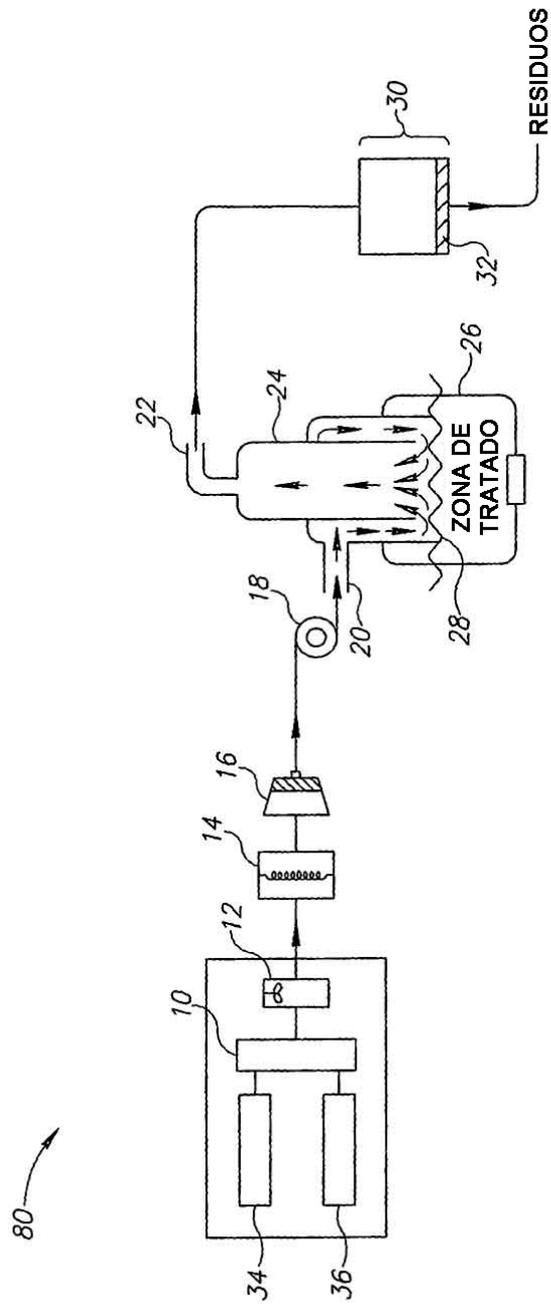


FIG.5

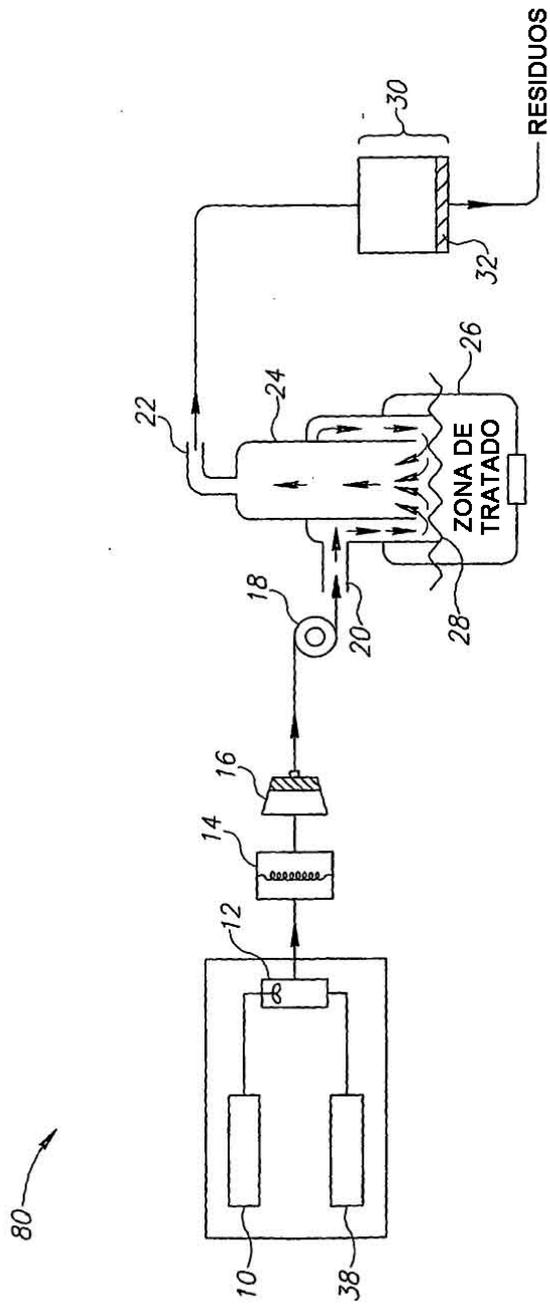


FIG.6

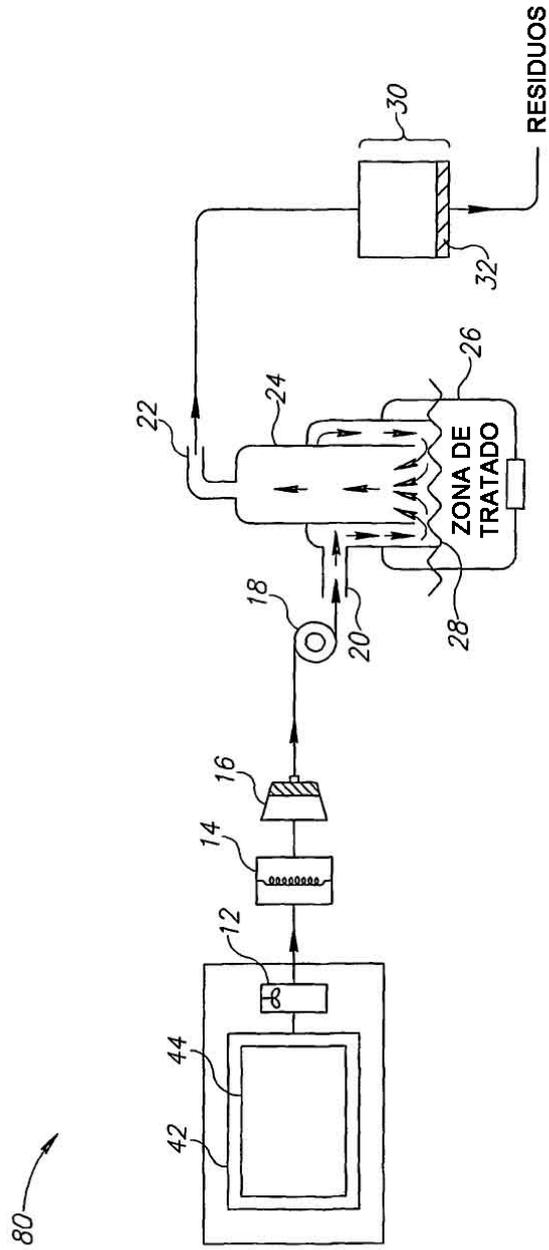


FIG.7

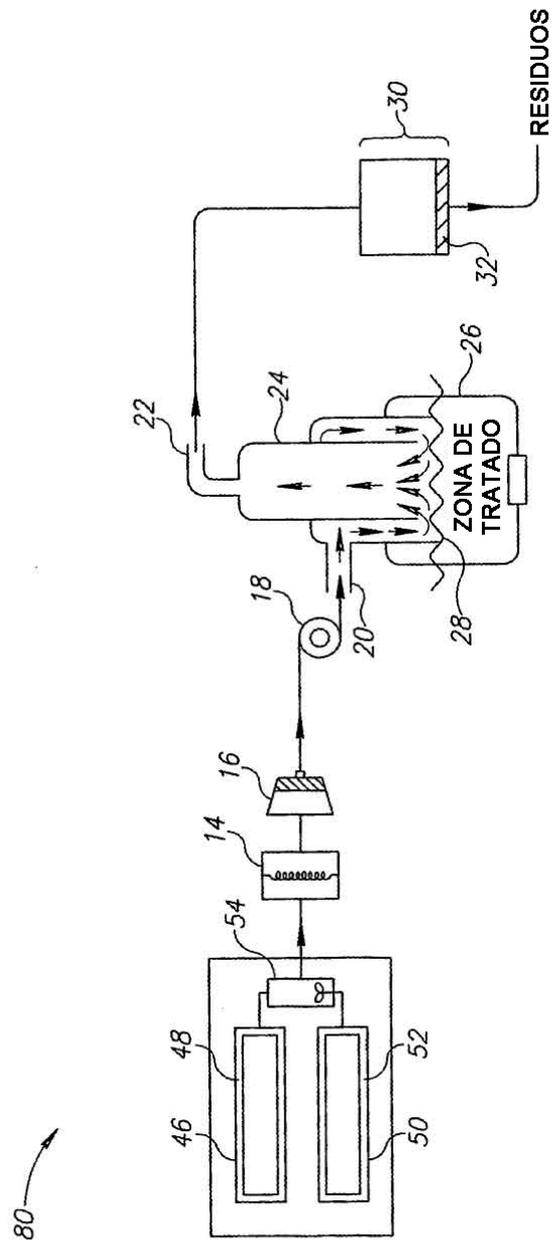


FIG.8

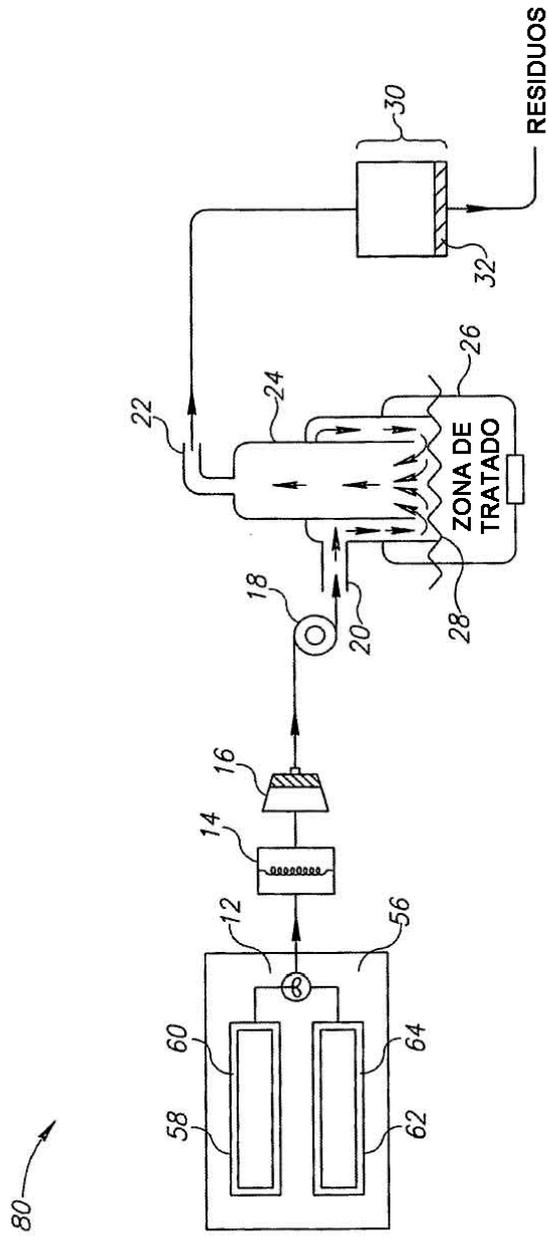


FIG.9

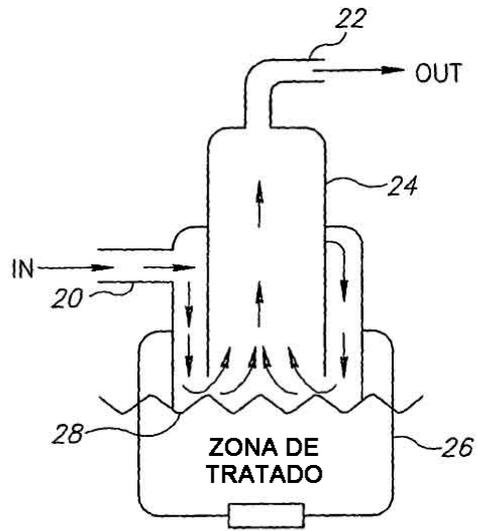


FIG.10

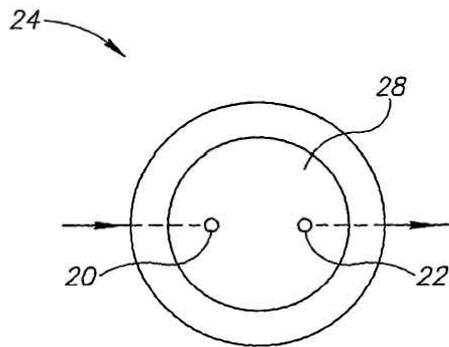


FIG.11

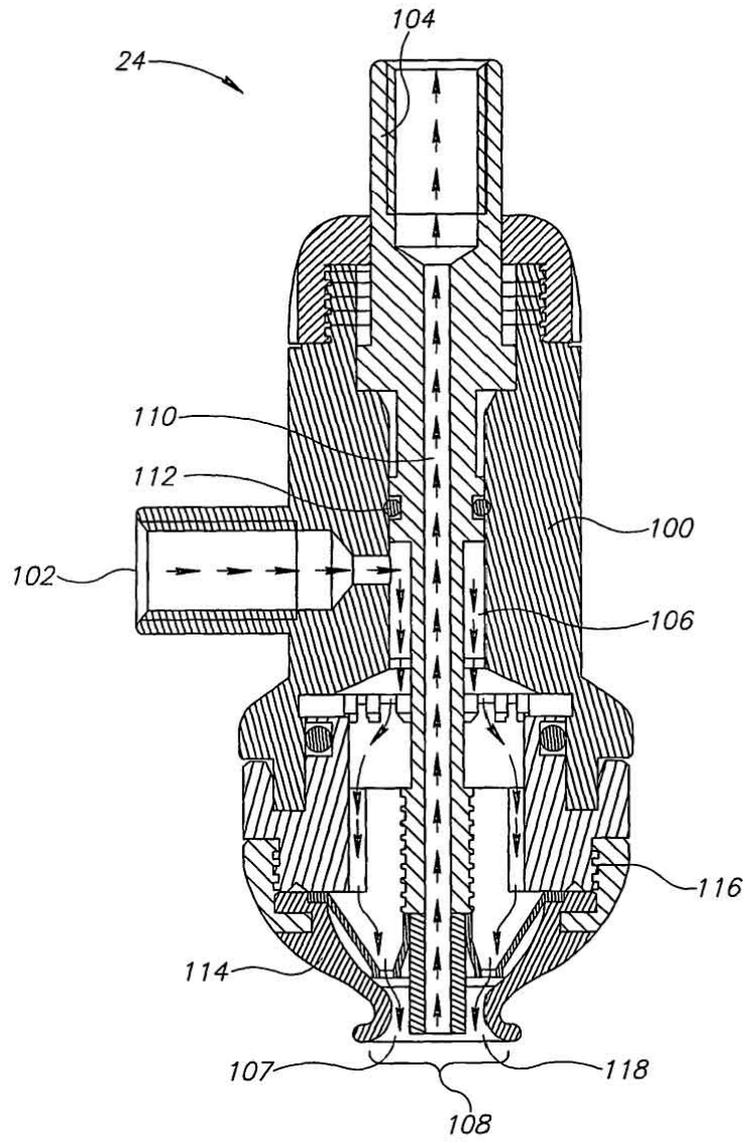


FIG.12

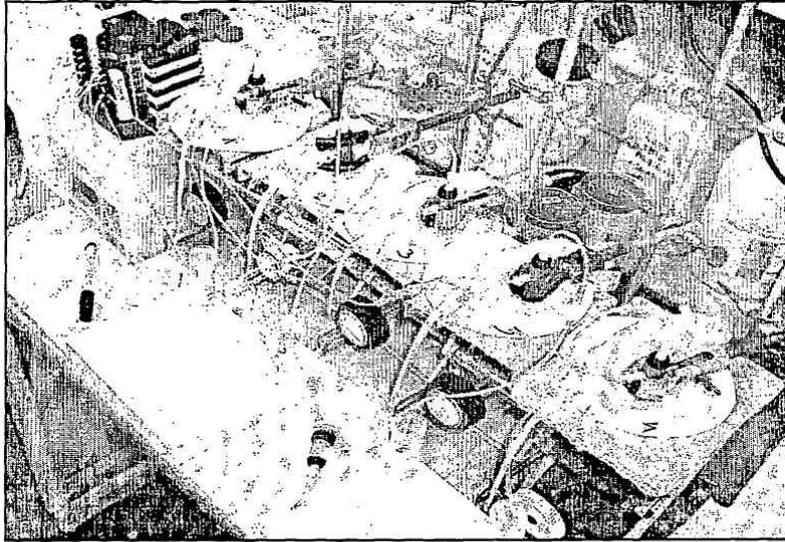


FIG. 13A

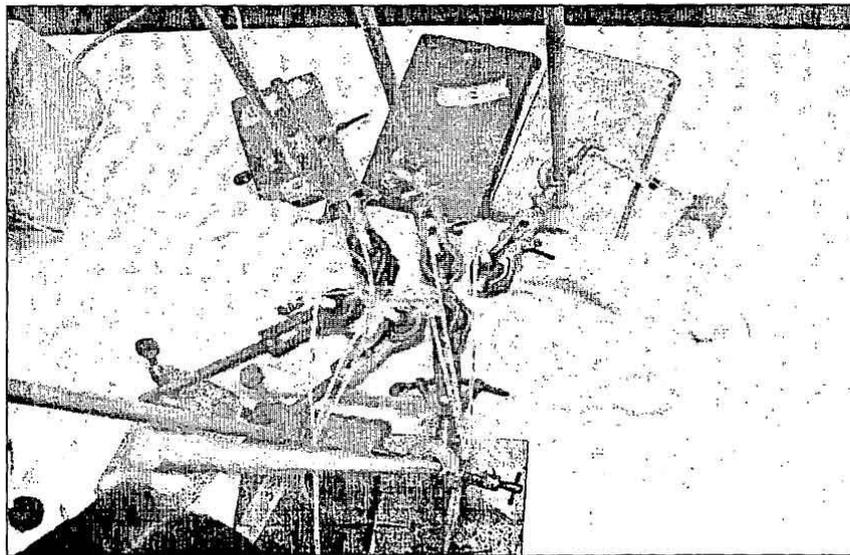


FIG. 13B

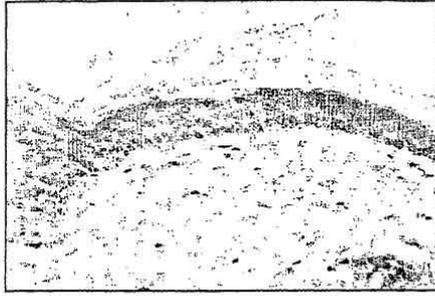


FIG. 14A

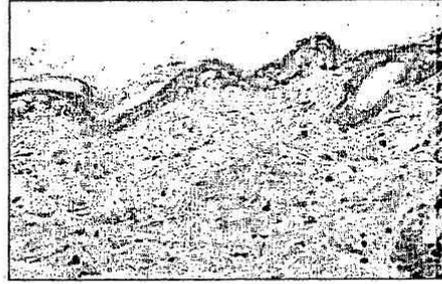


FIG. 14B



FIG. 14C

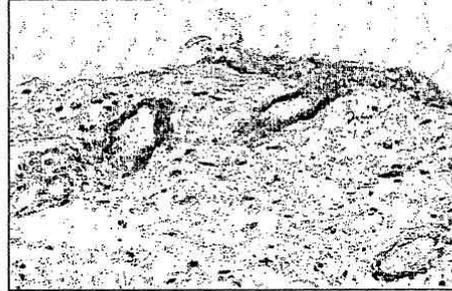


FIG. 14D



FIG. 14E

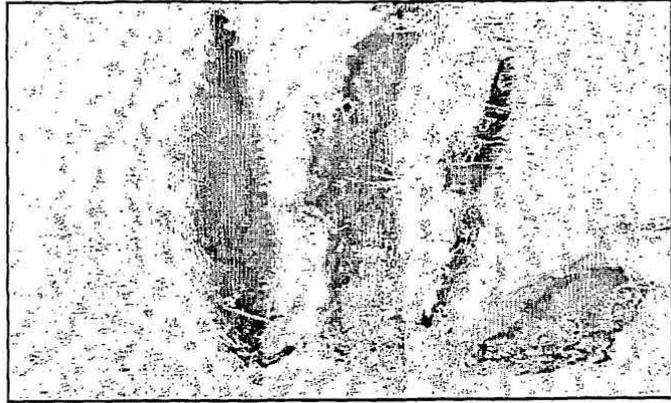


FIG. 15A

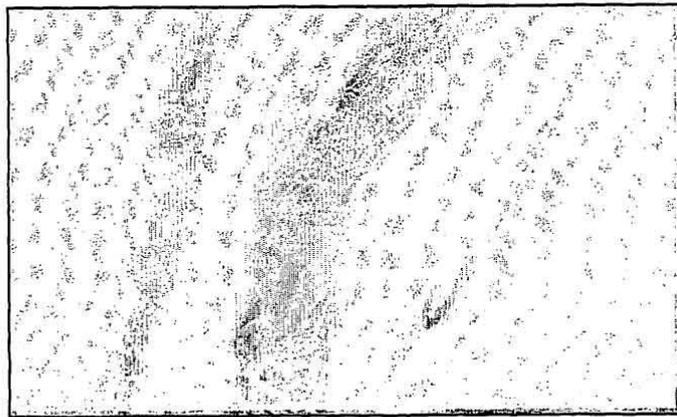


FIG. 15B

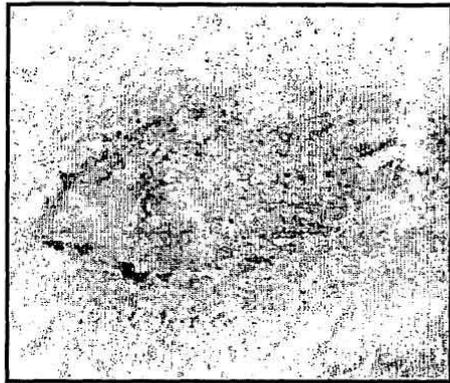


FIG. 16A

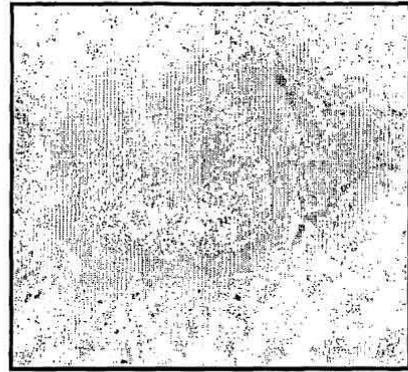


FIG. 16B

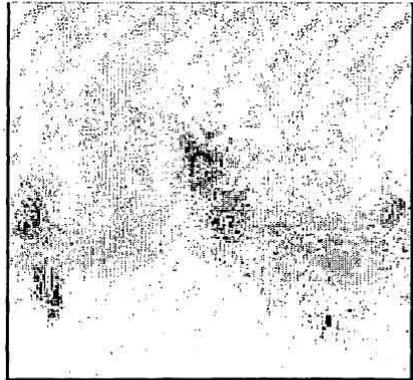


FIG. 17A

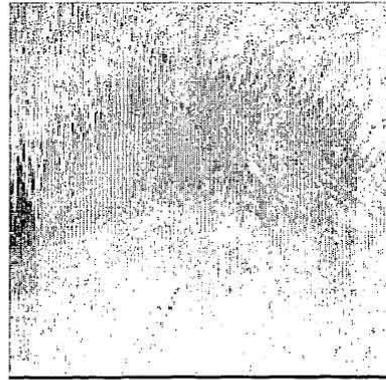


FIG. 17B