

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 633 650**

51 Int. Cl.:

A61B 17/32 (2006.01)

A61M 37/00 (2006.01)

A61B 10/04 (2006.01)

A61B 10/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.07.2008 PCT/US2008/070341**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.01.2009 WO09012392**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2008 E 08796246 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.05.2017 EP 2166965**

54 Título: **Aparato de rotura y recolección de tejidos trans-epiteliales por fricción y método para inducir y/o aumentar una respuesta inmune**

30 Prioridad:

17.07.2007 US 950280 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

22.09.2017

73 Titular/es:

**LONKY, NEAL MARC (33.3%)
20776 Juniper Avenue
Yorba Linda, CA 92886, US;
LONKY, MARTIN L. (33.3%) y
HISTOLOGICS LLC (33.3%)**

72 Inventor/es:

**LONKY, NEAL MARC y
LONKY, MARTIN L.**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 633 650 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 de rotura y recolección de tejidos trans-epiteliales por fricción y método para inducir y/o aumentar una respuesta inmune

Campo de la invención

- 5 La invención se refiere a dispositivos de extracción y recogida de tejidos epiteliales para realizar biopsias a partir de lesiones y puntos de referencia anatómicos con riesgo de transformación neoplásica, incluyendo, pero sin limitarse a, la unión escamoso-cilíndrica del cuello uterino femenino, utilizada en métodos para inducir una respuesta inmune contra un patógeno y en los métodos de suministro de fármacos transepiteliales.

Descripción de la técnica relacionada

- 10 Los dispositivos anteriores incluyen cepillos con cerdas rígidas que perforan y cortan superficies epiteliales (patentes de EE.UU. Nos. 5.535.756; 6.258.044; 6.376.905; 6.494.845 y 6.132.421), curetas de metal o plástico individuales que se extienden en una dirección paralela al mango del aplicador y que son mucho más grandes que la innovación (patentes de EE.UU. Nos. 4.641.662 y 6.730.085), bisturíes o herramientas de corte afiladas similares (patentes de EE.UU. Nos. 5.857.982; 5.800.362; 3.774.590; 5.092.345; 4.061.146; 5.868.668; 6.053.877; 5.470.308; 7.137.956, 15 4.168.698 y 4.757.826; y publicaciones de EE.UU. Nos. 2005/0059905 y 2007/0093727), o grandes bucles de metal electrificados utilizados para producir biopsias excisionales (patentes de EE.UU. Nos. 5.913.857 y 5.951.550). Un dispositivo realiza citologías con cepillos simultáneas y biopsias de raspado en estructuras con conductos orgánicos (patente de EE.UU. No. 5.535.756).

- 20 La patente de EE.UU. 5.738.109 describe un catéter para citología con cepillo simultánea y con capacidad de biopsia de raspado sobre estructuras dentro de conductos orgánicos, mediante la recogida de células y tejidos en un cepillo que tiene cerdas semirrígidas irregulares, preferiblemente la parte de gancho de una almohadilla de Velcro, para recoger células y raspados de la ubicación seleccionada cuando el catéter es empujado y tirado hacia adelante y hacia atrás en el lugar seleccionado dentro del conducto. El catéter puede encerrarse en un manguito retráctil durante la inserción y/o retirada. Una ampliación en el extremo distal del catéter ayuda a abrir el conducto para alojar 25 el cepillo. Las cerdas irregulares relativamente rígidas mejoran la medida en que se pueden recoger células y tejidos y permitir la recogida de suficiente tejido para proporcionar una muestra de biopsia, sin riesgo sustancial de perforación del conducto.

- 30 La patente de EE.UU. 4.762.133 describe un método y un dispositivo para recoger simultáneamente muestras de células para citologías del endocérvix y exocérvix. El dispositivo incluye un mango para manipular y girar el dispositivo. Adyacente al mango se sitúa una superficie de recogida de células intermedia que está dimensionada y configurada para raspar muestras de células del exocérvix cuando está en contacto con el exocérvix y el dispositivo se hace girar. El dispositivo también incluye una superficie de recogida de células distal adyacente a la superficie de recogida de células intermedia que está dimensionada y configurada para raspar muestras de células de citología del canal endocervical cuando está situada dentro del canal y en contacto con sus paredes y el dispositivo es girado. 35 La superficie distal e intermedia están situadas adicionalmente en el dispositivo con respecto a cada una entre sí para permitir que el canal endocervical y el exocérvix se rasquen simultáneamente a medida que se hace girar el dispositivo.

- 40 Los papilomavirus humanos (VPH) son responsables de muchas lesiones cutáneas y mucosas. Algunos genotipos virales se consideran los agentes causales del cáncer cervical. La infección por VPH genital natural parece ser poco inmunogénica debido a sus características no productivas y no inflamatorias y también debido a los mecanismos desarrollados por el virus para contrarrestar la respuesta inmune.

Sumario de la invención

- 45 Un primer aspecto se refiere a un tejido configurado para raspar por fricción las superficies epiteliales incluyendo un material de soporte y una pluralidad de bucles fenestrados unidos al material de soporte, teniendo los bucles suficiente flexibilidad y rigidez para raspar con fricción las superficies epiteliales, donde los bucles son de aproximadamente 3 mm a aproximadamente 25 mm de longitud, en el que los bucles tienen un extremo corto de gancho, estando orientado el extremo de gancho de los bucles hacia el material de soporte y en el que la distancia desde la parte superior del bucle al fondo del gancho es inferior al 20% de la longitud del bucle mientras que los ganchos están dispuestos en filas y crean canales que recogen y atrapan el tejido dentro de los canales.

- 50 Un segundo aspecto se refiere a un aparato para obtener una muestra histológica que incluye un mango, una plataforma en un extremo distal del mango y un tejido configurado para raspar por fricción superficies epiteliales que incluyen un material de soporte y una pluralidad de bucles fenestrados unidos al material de soporte.

- 55 También se describe en la presente memoria un método para inducir una respuesta inmune contra un patógeno que normalmente evade el sistema inmunitario incluyendo la disrupción de células epiteliales que contienen el patógeno con un aparato de rotura de tejido transepitelial por fricción e introduciendo de este modo el patógeno, fragmentos de ADN, proteínas o material antigénico en el torrente sanguíneo de un paciente para provocar una respuesta

inmune.

También se describe en este documento un método de suministro de fármacos trans-epiteliales que incluye rasgar el tejido con un aparato de disrupción de tejido trans-epitelial y aplicar un fármaco a espacios intraepiteliales y subepiteliales creados por el tejido que se rompe.

5 Breve descripción de los dibujos

Figura 1. Aparato para la ruptura del tejido trans-epitelial por fricción de una superficie plana epitelial.

Figura 2. Aparato para la ruptura del tejido trans-epitelial por fricción de una superficie del conducto epitelial con una punta de cono cónico. A) Vista lateral, B) Vista oblicua, C) Vista superior.

10 Figura 3. Diagrama esquemático que muestra un método de ruptura friccional del tejido trans-epitelial de A) una superficie epitelial plana, o B) una superficie epitelial de un canal o cavidad corporal.

Figura 4. Disruptor del tejido trans-epitelial por fricción con un mango motorizado o vibratorio utilizado para hacer girar o agitar los bucles fenestrados.

Figura 5. Diagrama esquemático de un aparato con una plataforma desmontable que ancla bucles de fibra en un extremo distal del mango.

15 Figura 6. Diagrama esquemático de la ruptura friccional del tejido trans-epitelial. A) Representación de tejido con una superficie epitelial escamosa alineada. B) Aplicación del dispositivo de biopsia por fricción a la superficie corporal. C) La presión simultánea, la agitación y la fuerza rotatoria rompen y separan los ganchos/bucles. Las fuerzas abrasivas de fricción crean calor que comba la superficie epitelial. D) La abrasión suficiente crea cizallamiento y fractura de la
20 superficie epitelial a profundidades variables que pueden incluir fractura a través de la membrana basal en la capa subcutánea, E) Los ganchos se deslizan dentro del plano de fractura y con fuerzas abrasivas adicionales continúan cortando los fragmentos de tejido, mientras que simultáneamente se retiene el tejido para su captura y recolección. F) Al completarse el proceso de biopsia, la recogida de los ganchos dispuestos en filas crean canales que recogen y secuestran los fragmentos de tejido y grupos de células dentro de los canales creados en el dispositivo. Cuando se
25 retira el dispositivo de la superficie epitelial, se capturan muestras adicionales y se mantienen debido a la flexibilidad y retroceso de los ganchos.

Figura 7. A) Vista lateral de un aparato de biopsia focal, representado en el labio exterior del cuello uterino (exocérnix). B) Diagrama esquemático de aparatos para biopsias focales con una vista ampliada de la plataforma y los bucles.

30 Figura 8. A) Vista lateral del aparato para la biopsia simultánea de superficies epiteliales y superficies de tipo canal. Las fibras del núcleo centrales más largas se deslizan en un canal y un perímetro de aproximadamente 3 mm de fibras entra en contacto con una superficie epitelial externa. B) Diagrama esquemático de aparatos para una biopsia simultánea de superficies epiteliales y superficies de tipo canal con vista ampliada de la plataforma y los bucles.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Definiciones

35 La expresión de transición "que comprende" es sinónimo de "incluir", "contener", o "se caracteriza por", es inclusivo o abierto y no excluye elementos adicionales o elementos no valorados.

La expresión de transición "consistente en" excluye cualquier elemento, etapa o ingrediente no especificado en la reivindicación, pero no excluye componentes o etapas adicionales que no están relacionados con la invención tales como impurezas asociadas ordinariamente con la misma.

40 La expresión de transición "que consiste esencialmente en" limita el alcance de la reivindicación a los materiales o etapas especificados y aquellos que no afectan materialmente a la característica básica o nueva de la invención reivindicada.

45 Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "bucle fenestrado" se refiere a una forma de gancho en forma de "bastón de azúcar", formada cortando un bucle, en el que un extremo corto de gancho es menor que aproximadamente el 50% de la longitud del bucle. En algunas realizaciones, se forma un bucle fenestrado cortando un bucle una vez, dejando un brazo corto adyacente al bucle fenestrado.

Biopsia focal

50 Algunas realizaciones se refieren a un dispositivo de muestreo y recolección de tejido trans-epitelial friccional para realizar biopsias de lesiones sospechosas de albergar una enfermedad. En algunas realizaciones, el sitio de biopsia lesional no es mayor que aproximadamente 10 mm de diámetro (es decir, biopsia focal). En algunas realizaciones, las lesiones son accesibles para un examinador durante el examen de rutina. En otras realizaciones, la superficie es

accesible después de la entrada en una cavidad corporal a través de un orificio natural o canal quirúrgico a través de un trocar y la inspección usando un endoscopio con un puerto de biopsia. La cabeza del dispositivo permanece sobre la lesión o el área de la biopsia/terapia prevista debido a la naturaleza rígida del aplicador. Haciendo referencia a la Fig., un aparato de biopsia focal está configurado con bucles que tienen de aproximadamente 3 mm a aproximadamente 25 mm de longitud, preferiblemente aproximadamente 3 mm de longitud, en donde los bucles tienen un extremo corto de gancho, donde la distancia desde la parte superior del bucle hasta la parte inferior del gancho es inferior al 50% de la longitud del bucle.

Biopsia regional

En algunas realizaciones, la intención es hacer una biopsia y explorar grandes áreas geográficas de tejido en riesgo de enfermedad (por ejemplo, transformación neoplásica tal como, pero no limitada a, la unión escamoso-cilíndrica del cuello uterino femenino en presencia o ausencia de lesiones visualizadas). El dispositivo proporciona muestras de grupos o agrupaciones de fragmentos de tejido epitelial excavado para análisis, en contraste con otros métodos descritos en la técnica anterior que proporcionan células superficiales y exfoliadas mediante barrido de las células de dichos sitios de tejido objetivo, comúnmente con espátulas romas o dispositivos de cepillos de cerdas blandas. La intención es eliminar la evidencia basada en tejido con biopsia por fricción del área mayor, que puede oscilar entre 10-40 milímetros de diámetro.

Biopsia simultánea de superficies epiteliales y estructuras tipo canal

En algunas realizaciones, el dispositivo contiene un núcleo central de bucles fenestrados más largos (por ejemplo, de aproximadamente 4-7 mm de longitud), rodeados por un borde más ancho de bucles fenestrados más cortos (por ejemplo, de aproximadamente 3 mm de longitud). Los bucles más largos son geoméricamente aptos para deslizarse dentro de una estructura de canal central, tal como el canal endocervical del cuello uterino. Hay simultáneamente un contacto uniforme de las fibras de bucle fenestradas circunferencialmente alrededor del canal endocervical sobre la superficie exocervical plana. Con la rotación y la agitación en un movimiento de va y viene, el tejido se recoge dentro de los canales de bucle fenestrados como se ha descrito anteriormente.

Haciendo referencia a la figura 8, un disco central de fibras se desliza en un canal rodeado por un perímetro de fibras más cortas. En una realización, las fibras centrales de 9 mm de longitud están rodeadas por fibras de 3 mm. Un aparato con estos parámetros puede ser insertado sobre/en el cuello del útero y girado con revoluciones de giro. Después de la ruptura del tejido trans-epitelial por fricción, la muestra de biopsia que contiene la cabeza puede separarse e insertarse en un vial líquido de fijador.

Muestras de tejido de fricción y dispositivos de biopsia de recolección

Los dispositivos de biopsia de muestreo de tejido de fricción y de biopsia de recolección descritos en la presente memoria utilizan un tejido que incluye diminutos bucles de fibra de plástico (por ejemplo, nailon) que están fenestrados a una distancia mínima desde el vértice del bucle. Los bucles se flexionan pero no se fracturan bajo una fuerza de mínimo a moderada ni se separan bajo presión.

Los bucles semirrígidos pueden ser presionados de forma rotativa (por ejemplo, en un movimiento de barrido o circular) lejos o hacia el operador, perpendicular o en un ángulo en las superficies del tejido epitelial. Los bucles semirrígidos permanecen suficientemente flexibles para provocar la separación de los extremos fenestrados, creando fuerzas de fricción suficientes para causar calentamiento local y deformación de la superficie epitelial lejos del estroma subyacente. Los bucles están fenestrados de tal manera que con la presión aplicada son lo suficientemente flexibles para abrirse y proporcionar acceso a un "pozo de recogida" para fragmentos histológicos. Las puntas de los ganchos de las fibras están orientadas lejos del tejido. Al presionar y girar a través de la superficie del tejido, las fibras raspan, deforman y cortan el epitelio del estroma subyacente. Los fragmentos son extirpados de la superficie del tejido a través de la aplicación concomitante de fuerzas de fricción aplicadas a las superficies del tejido por los bucles fenestrados. Las fuerzas de fricción superan las fuerzas adhesivas y de unión del tejido de abajo para liberar fragmentos de diversas formas y tamaños, todos elegibles para su recolección en un laboratorio de histología, y posterior procesamiento y análisis.

Los bucles semirrígidos (por ejemplo, hechos de nilón) mantienen los fragmentos de tejido después de la escoriación porque los bucles son suficientemente elásticos para volver a cerrarse suficientemente y capturar el tejido retirado. Además, los espacios entre las fibras también retienen tejido excoriado. Las fuerzas de fricción exceden las fuerzas de unión proporcionadas por las moléculas de adhesión que anclan el epitelio a la membrana basal, así como la rotura de las fuerzas de Van der Waals.

Una vez que el epitelio es cortado por fricción del estroma subyacente, los aglomerados de tejido y los fragmentos epiteliales son barridos y excavados por el ápice distal más curvado del bucle y atrapados dentro de los espacios geoméricamente adaptados entre los bucles cerrados y fenestrados. Por lo tanto, el método es abrasión por fricción, excavación mediante rotación y otro movimiento direccional, y recolección de tejido dentro de canales entre bucles.

El tejido se puede cortar en formas uniformes tales como una forma de discos circulares o de borde recto y con una altura uniforme, permitiendo que el dispositivo proporcione una cobertura de 360 grados de las superficies de los

tejidos sobre lesiones sospechosas, sin un hueco dentro de la circunferencia del dispositivo. Esto es distinto respecto a los cepillos de cerdas que son espirales o están doblados en su forma, que presentan espacios superficiales que no permiten un contacto uniforme con el tejido diana y huecos que provocan la migración del dispositivo desde el sitio de la lesión hacia la dirección de rotación cuando tales dispositivos se presionan sobre lesiones y se rotan o se mueven para la recolección de tejidos.

Después de la biopsia, el tejido, las fibras y/o la cabeza del dispositivo (todos con el tejido atrapado entre las fibras) se retiran y se colocan en un vial de fijador líquido para trabajos de laboratorio posteriores. Un laboratorio puede retirar el tejido del dispositivo y procesarlo para su análisis. Por lo tanto, se puede diseñar intencionalmente el dispositivo en una realización en la que el usuario podría desacoplar fácilmente la cabeza del dispositivo del eje del dispositivo. Por ejemplo, algunas realizaciones pueden tener el eje insertado en el cabezal a través de un mecanismo de rosca de clip o de tornillo, un diseño de llave en la cerradura con un botón de liberación de presión o un tipo de fijación de bloqueo luer. Una vez obtenida la biopsia, las partes del cabezal y el mango/eje pueden desacoplarse, pudiendo descartarse el mango, o esterilizarlo y reutilizarlo y sumergir el cabezal en un vial de fijador.

Algunos métodos para eliminar el tejido del conjunto de fibras incluyen el aclarado bajo presión, inmersión y agitación manual o mecánica, o por sonicación. Alternativamente, las fibras se pueden cortar a partir del tejido en telfa u otro papel de filtro, y las fibras se arrancan del papel dejando toda la muestra de biopsia. Alternativamente, después de que el tejido se recoge en los canales del dispositivo, el tejido puede depositarse por rotación o agitación en un vial del fijador líquido, se enjuaga el dispositivo bajo pulverización presurizada o se elimina de las fibras de nylon cortando las fibras de nylon del tejido, (por ej., sobre papel de filtro), dejando así el tejido sobre el papel, que puede sumergirse en un fijador.

En las realizaciones preferidas, las fibras de tela se fabrican de manera similar al Velcro® u otro sujetador de tipo gancho y bucle, donde las hebras son más largas que el gancho y el bucle convencionales, de aproximadamente 3 mm de longitud, fenestradas más cerca del vértice del bucle en lugar de cerca de la base de un brazo del bucle, y por lo tanto aparecen en forma de horquilla en V. Tienen un extremo corto del gancho con la curvatura que comienza en 2 milímetros de la base. Debido a que los hilos del bucle son más largos, se flexionan y se doblan en un ángulo mayor y se torsionan con mayor elasticidad cuando se giran o se agitan comparado con el Velcro® estándar. Debido a que la fenestración está más cerca de la base en el Velcro® estándar, es improbable que las fenestraciones de bucles se separen, dejando la superficie lisa curvada del bucle en contacto con el tejido, no proporcionando suficientes fuerzas de fricción durante la rotación para cortar y separar el epitelio de la membrana basal subyacente y el estroma.

Las realizaciones preferidas utilizan bucles fenestrados de plástico minúsculos que se presionan perpendicularmente o en un ángulo en las superficies del tejido epitelial que, bajo fuerzas de presión rotatorias o de agitación, hacen que los fragmentos epiteliales de tejido sean separados por fricción de la membrana basal y del estroma de tejido subyacente. Los canales entre los bucles fenestrados atrapan y recogen los fragmentos de tejido. El proceso es similar al curetaje con una herramienta curvada roma, que también raspa, corta y hace tiras el epitelio del estroma subyacente de los tejidos diana. Por otra parte, el proceso está en contraste con el curetaje afilado en el que el borde afilado de la cureta primero incisa, perfora, después afeita y recoge el epitelio y el estroma subyacente de la superficie del tejido. El procedimiento en este documento descrito es menos perceptible para los pacientes que las biopsias convencionales y provoca una menor cantidad de pérdida de sangre y trauma.

En un aspecto, la presente invención se refiere a un aparato de fricción de tejido trans-epitelial. En algunas realizaciones, el aparato comprende bucles de 3 mm o menores adheridos y que sobresalen perpendicularmente desde una plataforma, con una densidad de 5-50 bucles por pulgada cuadrada, uniformemente espaciados o dispuestos en filas. Los bucles están fenestrados en el centro o en su aspecto lateral para permitir una flexibilidad agregada y son construidos de plástico, metal, u otro material rígido. El extremo redondeado del bucle está enfrente de la plataforma.

Los bucles tienen suficiente flexibilidad para soportar las fuerzas de rozamiento y de no fractura y poseen la suficiente resistencia a la tracción para generar la suficiente fuerza de rozamiento por fricción durante un movimiento de barrido o circular del dispositivo para retirar el epitelio del tejido. El espacio entre los bucles puede servir para capturar y albergar el tejido muestreado.

En algunas realizaciones diseñadas para la biopsia focal lesional, una plataforma plana, flexible, que ancla los bucles puede ser de cualquier tamaño, pero es prácticamente de aproximadamente 5-10 mm de diámetro y de forma circular. La forma puede tener otro diseño geométrico si tiene la ventaja de cubrir el área del tejido diana para el muestreo. La plataforma puede estar articulada de tal manera que pueda ser plegada o comprimida, insertada a través de un pequeño canal endoscópico y luego reintegrada en su estado original como una plataforma con una superficie de muestreo. Puede estar compuesta de plástico, tela u otro material compuesto. Los bucles están enroscados y se proyectan lejos de la plataforma hacia la superficie del tejido. Algunas realizaciones pueden comprender una fibra de cubo o "clavija" que penetra y ancla el centro del disco en el área de la biopsia objetivo, sirviendo como un poste central para girar el disco alrededor para su estabilidad.

En otras realizaciones destinadas a examinar un sitio de tejido regional más grande en riesgo de transformación

neoplásica u otro proceso de enfermedad, la forma óptima es circular; el diámetro puede oscilar entre aproximadamente 10-50 mm y los bucles se proyectan a distancias variadas desde la plataforma hasta hacia la superficie del tejido. Para exámenes histológicos que detectan neoplasias cervicales, el disco central de 5 mm de diámetro proyecta fibras de bucle fenestradas más largas (5-25 mm), y está rodeado circunferencialmente por las fibras de bucle de aproximadamente 3-23 mm de longitud anteriormente mencionadas. Las fibras más largas se deslizan dentro de las estructuras del canal (por ejemplo, el canal endocervical) simultáneamente con el contacto de las fibras más cortas con una superficie endotelial externa (por ejemplo, la superficie exocervical). Mediante presión y rotación o agitación, los tejidos endocervicales y exocervicales pueden ser cortados simultáneamente por fricción y recogidos. La exploración histológica puede ser necesaria para reflejar correctamente la presencia o ausencia de patología epitelial, debido a que las moléculas de adhesión pueden evitar la exfoliación representativa del tejido enfermo en algunos casos, dejando los métodos de cribado citológico carentes de precisión.

Preferiblemente, una muestra de biopsia trans-epitelial friccional se toma de una lesión o una región anatómica que está predispuesta a la enfermedad.

Algunas realizaciones comprenden un cilindro de plástico, metal, o composición mixta o cabeza convexa curvada, que proporciona una superficie plana para la plataforma a la que se va a unir. Es igual o mayor en diámetro a la plataforma. El cilindro tiene una longitud de 5-10 mm mientras que la base plana o convexa tiene un espesor menor de aproximadamente 3 mm.

Algunas realizaciones comprenden una sonda aplicadora en forma de varilla o cilíndrica compuesta de cualquier material adecuado (por ejemplo, madera, plástico, papel o metal), que tiene la base, plataforma y unidad de bucle en su extremo más distal, en donde la sonda aplicadora tiene aproximadamente 2- 5 mm de diámetro y 15-30 cm de longitud. Se construye mayor o menor dependiendo del acceso a la superficie del tejido. El eje de la varilla o sonda de aplicador de forma cilíndrica puede ser rígido o semirrígido para no arquearse o doblarse cuando se transmite la presión desde el mango a la cabeza del dispositivo.

Un mango en el que la sonda aplicadora puede ser trans-fijada es opcionalmente mecánico, proporcionando un movimiento motorizado rotativo, movimiento tipo taladro o de vibración agitada.

El mango del dispositivo estará compuesto de un material rígido, preferiblemente plástico similar al Lucite, claro u opaco en la coloración, plástico de nylon rígido, o alternativamente podría ser de madera o metal. El cabezal del dispositivo puede tomar formas tubulares, cilíndricas o de forma cónica, pero la cara más distal de la plataforma es circular, cuadrada o poligonal y puede estar compuesta de plástico (por ejemplo, nilón). El diámetro puede oscilar entre 5-50 mm. El tejido se suelda por ultrasonido a la plataforma de nilón, o se puede unir alternativamente a través de un adhesivo, o a través de un reborde o collar (por ejemplo, que encaje a presión en la plataforma en un rebaje en la cabeza del dispositivo).

En algunas realizaciones, el operador examina las superficies del tejido y elige un área a muestrear basándose en la presencia de una lesión sospechosa. En otras realizaciones, el operador elige un punto de referencia anatómico conocido como "en riesgo" para la transformación neoplásica o de enfermedad con el fin de muestrear toda la superficie elegida.

La palanca o sonda aplicadora es agarrada en su extremo proximal o empuñadura.

La parte o cabeza distal del dispositivo contiene la base, la plataforma y los bucles que sobresalen perpendicularmente desde la base hacia la superficie del tejido con los extremos más redondeados que se presionan contra la superficie del tejido.

Con una presión moderada, el examinador presiona y gira simultáneamente el dispositivo contra el tejido varias veces en sentido horario o antihorario, abriendo o separando los bucles fenestrados, realizando así una rotura friccional de la superficie del tejido. Alternativamente, se puede usar un movimiento de barrido. Si se utiliza un mango motorizado, se puede activar para ayudar en la rotación o vibración del dispositivo.

El tejido recolectado se recoge de la superficie del tejido, y se inspecciona algún tejido ya atrapado en los propios bucles y se puede extraer de los bucles, o los bucles pueden ser cortados del tejido y separados y el tejido restante ser colocado en una solución fijadora.

Como se muestra en la Fig. 1, la tela con bucles fenestrados (1) está conectada a la plataforma (2), que está en comunicación con la cabeza (3), situada en un extremo distal de la empuñadura (5), incluyendo opcionalmente una barra alargada (4). Haciendo referencia a la Fig. 3A, se aplica una fuerza moderada (8) contra una superficie de tejido (7). El cabezal del dispositivo se hace girar (9) sobre la superficie para separar por fricción o agitar el epitelio superficial. El cabezal del dispositivo se enjuaga o se coloca con tejido en los bucles en un fijador para el análisis patológico subsiguiente.

Un aparato con una plataforma cónica se representa en la Fig. 2. En la Fig. 2A, la tela con bucles fenestrados (1) está conectada a la plataforma cónica (6). Haciendo referencia a la Fig. 3B, puede insertarse un aparato con una plataforma cónica en un canal o cavidad. El cabezal del dispositivo se hace girar (9) mientras se mantiene la fuerza

de presión en la dirección (8). La cabeza del dispositivo con tejido en los bucles se aclara o se coloca en fijador patológico.

5 Un aparato con un motor configurado para hacer girar la plataforma está representado en la Fig. 4. La tela con bucles fenestrados (1) se une a la plataforma (2) en el cabezal (3) en el extremo distal de una varilla alargada (4), que está unida a una empuñadura (5) motorizada.

10 En algunas realizaciones, el cabezal es desmontable de la varilla/mango alargado. Haciendo referencia a la Fig. 5, una configuración de cabezal desmontable permite separar la parte distal con el cabezal (3), la plataforma (2) junto con los bucles que contienen el tejido unido y colocar en un medio conservante para la posterior retirada de tejido y tratamiento patológico. Algunas realizaciones pueden tener el eje insertado en el cabezal a través de un mecanismo de clip o de rosca, o un tipo de unión (23) de bloqueo luer. Los fragmentos de tejido que permanecen unidos al cabezal separable son además de cualquier tejido libre obtenido y son recogidos de la superficie del tejido o del dispositivo como resultado del muestreo del tejido por fricción.

15 Haciendo referencia a la Fig. 6, se obtienen muestras de tejido epitelial por rotura friccional de tejido trans-epitelial. En el panel (A) se representa una representación de tejido con una superficie epitelial escamosa alineada. El multicapas epitelial escamoso (11) se muestra con epitelio superficial plano y cuboide basal. La membrana basal (12) separa la multicapa epitelial escamosa del estroma del tejido subcutáneo (13) y el tejido subestromal subyacente (14). La Fig. 6B representa la aplicación del dispositivo de biopsia por fricción a la superficie del tejido. El cabezal del dispositivo (3) se aplica (24) a un área elegida en la que las partes curvas de los bucles fenestrados (1) presionan contra la superficie epitelial. Se muestra una representación de dos bucles adyacentes, que crean un canal de recolección. Un brazo más corto (15), adyacente al bucle fenestrado (1), puede permanecer después del corte de un bucle continuo inicial para crear el bucle fenestrado. En la Fig. 6C, la presión simultánea, la agitación y la fuerza de rotación (16) extienden y separan los ganchos/bucles. Las fuerzas abrasivas de fricción crean calor que deforma la superficie epitelial. Haciendo referencia a la Fig. 6D, una abrasión suficiente crea cizallamiento y fractura de la superficie epitelial a profundidades variables que podrían incluir fractura a través de la membrana basal en la capa subcutánea. Como se muestra en la Fig. 6E, los ganchos se deslizan en el plano de la fractura, y con fuerzas abrasivas adicionales continúan cortando los fragmentos de tejido, mientras que simultáneamente se retiene el tejido para su captura y recolección. Al finalizar el proceso de biopsia (Fig. 6F), la recogida de los ganchos dispuestos en filas crea canales que recolectan y secuestran los fragmentos de tejido y fragmentos de células dentro de los canales. Cuando se retira el dispositivo de la superficie epitelial, se consigue una recolección de muestras adicional debido a la flexibilidad y retroceso de los ganchos.

25 Haciendo referencia a la Fig. 7A, la ruptura friccional del tejido trans-epitelial con un aparato de biopsia focal se muestra en el labio exterior del exocérnix (17), alternativamente conocida como la "zona de transformación" del cuello uterino (18). En esta configuración, se utilizan bucles fenestrados (1) de aproximadamente 3 mm de longitud para romper y recoger los fragmentos de tejido. La figura 7B representa un aparato de biopsia focal ampliado, con una vista ampliada de los bucles fenestrados (1) unidos a la plataforma (2).

30 Haciendo referencia a la Fig. 8A, se muestra la biopsia transepitelial simultánea de las superficies epiteliales y superficies de tipo canal, en particular la biopsia del canal endocervical (20) y el área exocervical alrededor del canal endocervical (es decir, la zona de transformación). Haciendo referencia a la Fig. 8B, un núcleo central de bucles alargados de aproximadamente 5-25 mm de longitud (21) están rodeados por un borde más ancho de bucles fenestrados más cortos de aproximadamente 3-23 mm de longitud (22).

35 El dispositivo de muestreo y recolección de tejido friccional se puede utilizar en cualquier superficie corporal, tanto externa al cuerpo, las cavidades corporales, como en los órganos internos. Para acceder a las superficies epiteliales de los órganos internos del cuerpo, la cabeza del dispositivo puede desinflarse, plegarse o colapsarse para hacer pasar a través de una pequeña abertura u orificio, y volverse a abrir o expandir para exponer completamente el tejido a la superficie de la biopsia. Este dispositivo se puede utilizar en seres humanos o cualquier otro organismo vivo con una superficie epitelial. Cualquier superficie de tejido puede ser muestreada. La facilidad de uso en cada caso estará relacionada con la fuerza de la adhesión tisular individual y las fuerzas de unión en los lugares específicos. Los bucles mismos pueden cosechar el tejido y también servir como depósitos de recolección de tejidos para su posterior almacenamiento una vez colocados en un medio fijador. La plataforma con los bucles puede separarse de cualquier aplicador para su posterior examen y procesamiento (es decir, se desacopla del instrumento usado para presionar contra las superficies de tejido para obtener la muestra de tejido).

40 Si la superficie del tejido es un canal o una zona con forma cóncava del cuerpo, en lugar de un diseño de plataforma perpendicular, los bucles se unen directamente a la propia sonda que gradualmente se estrecha en el extremo para facilitar la inserción en el canal. Los bucles se proyectan perpendicularmente desde la superficie de la sonda en su extremo distal, y la unidad, una vez colocada en el canal que está revestido en su superficie con epitelio, se acopla a tal epitelio.

45 Los bucles se pueden montar en la plataforma o proyectarse desde la superficie del borde de la plataforma, perpendicular o en ángulo con la plataforma a lo largo del margen de la plataforma, o unirse a otros aplicadores de suministro, incluyendo el dedo enguantado del examinador u otros instrumentos quirúrgicos. La plataforma puede

ser de cualquier forma o tamaño que pueda caber en una superficie de tejido. El conjunto de base puede ser de cualquier forma o tamaño, y puede ser permanentemente rígido o plegable.

5 Si la superficie del tejido se encuentra dentro de una superficie de tejido en forma de canal, los bucles se pueden unir directamente a la sonda aplicadora, que puede insertarse en la cavidad corporal en forma de canal. La sonda con los bucles que sobresalen de la superficie y que entran en contacto con el epitelio se hace girar provocando el muestreo de rotura por fricción desde la superficie del tejido. La forma de la sonda se puede construir en cualquier forma que permita un ajuste apretado en el canal. Los bucles pueden estar dispuestos en filas o espaciados equitativamente, lo que permite el contacto máximo y la recolección de tejido.

10 Algunas realizaciones de la invención comprenden una asistencia mecánica motorizada a través de un mango mecánico en el que se inserta el extremo más proximal de la sonda aplicadora. Dicha asistencia mecánica puede mejorar la fuerza rotatoria o vibratoria que el dispositivo transmite al tejido después de establecer el contacto. Esto puede aumentar las fuerzas de fricción y la velocidad de la rotura/muestreo del tejido y acortar el tiempo del procedimiento.

Parámetros Preferidos de las Fibras

15 Los bucles de muestreo por fricción de la invención se denominan colectivamente fibras de bucle fenestradas. En realizaciones particularmente preferidas, las fibras se fabrican usando el lado del gancho de un Velcro® modificado u otro sujetador de tipo gancho y pelo, donde los hilos tienen aproximadamente 3 mm de longitud y tienen forma de V en horquilla. Tienen un extremo corto del gancho con la curvatura que comienza en 2 milímetros de la base. En diversas realizaciones, los bucles pueden tener de 2,5 a 25 mm de longitud, 3-5 mm de longitud, 3 - 10 mm de longitud, 3 - 15 mm de longitud, 3 - 20 mm de longitud o 3 - 25 mm de longitud.

20 En comparación, el Velcro® estándar tiene aproximadamente 2 mm de largo y tienen más forma de gancho. Por lo tanto, los bucles de la presente invención son más largos que los del Velcro® estándar, están hechos de un material de nylon similar al del Velcro® estándar, son más flexibles cuando se frota sobre una superficie de tejido debido a su longitud y tienen bucles más cortos que el gancho más cerca del extremo de los hilos. En particular, la distancia desde la parte superior del bucle hasta el fondo del gancho es inferior al 20% de la longitud del bucle. Esta distancia es también preferiblemente al menos 1% de la longitud del bucle, más preferiblemente al menos 5% de la longitud del bucle, y aún más preferiblemente al menos 10% de la longitud del bucle. Por lo tanto, la invención incluye ganchos en todos los intervalos entre cualquiera de las distancias mínimas preferidas y cualquiera de las distancias máximas preferidas. Los fondos de los ganchos se disponen preferiblemente de modo que estén todos aproximadamente a la misma distancia del bucle, aunque esto no es estrictamente necesario. Debido a que los ganchos están cortados en una posición relativamente distal, los extremos de los ganchos son más accesibles a la superficie del tejido permitiendo una transmisión uniforme de las fuerzas de fricción a la superficie del tejido. Como resultado, la acción de las fibras más eficazmente dobla y corta el tejido, mientras que los bucles barren y capturan el tejido.

35 En una realización preferida, las fibras de bucle están dispuestas de manera que capturen eficazmente el tejido. De acuerdo con la invención, las fibras están dispuestas en una orientación ordenada, es decir, las fibras están dispuestas en filas entre las que se puede capturar el tejido. Los ganchos pueden estar dispuestos para estar orientados aproximadamente en el mismo ángulo y dirección en cada una de las fibras. De este modo, las fibras se pueden organizar de tal manera que todas tengan una dirección y un ángulo de orientación coherentes. Además, la separación entre cada una de las fibras se puede hacer para que sea igual o diferente.

40 Durante el uso, el dispositivo puede orientarse de manera que las fibras sean perpendiculares al tejido y, a continuación, aplicarse la presión. Como resultado, la superficie epitelial se corta por fricción. De este modo, las fibras se montan preferiblemente sobre una plataforma plana o curvada, óptimamente de 4-10 mm de diámetro para optimizar este proceso. Sin embargo, también se pueden usar plataformas con formas alternativas en ciertas realizaciones. Debido a que las fibras pueden montarse directamente sobre la plataforma, que puede ser plana o ligeramente curvada, la orientación permanece uniformemente espaciada y los espacios dentro de los bucles fenestrados y entre ellos permanecen uniformemente distribuidos para facilitar la captura del tejido.

45 En algunas realizaciones, la plataforma puede tener la forma de una chincheta, en la que está unida al mango. Sin embargo, la plataforma y el mango pueden tomar una variedad de formas. Se prevé que el mango y la plataforma se pueden moldear de una sola pieza, y las fibras (por ejemplo, Velcro® modificado) se pueden unir con adhesivo o por soldadura ultrasónica o térmica del tejido a la plataforma.

Método de inducción de una respuesta inmune por autoinoculación

50 En algunas realizaciones, los dispositivos de muestreo y recolección de tejido trans-epitelial friccional descritos en este documento se utilizan para agitar y romper las células epiteliales que contienen un patógeno, o proteínas celulares alteradas por un patógeno, para inducir una respuesta inmune contra el patógeno. Esto da lugar a una auto-inoculación de tejidos que albergan patógenos y macromoléculas tales como ADN alterado viralmente y/o proteínas oncogénicas. El método también se puede denominar abrasión-excoriación friccional terapéutica. Este método es ventajoso cuando un patógeno es normalmente capaz de evadir una respuesta inmune. Por ejemplo,

algunos virus permanecen en las capas epiteliales superficiales donde están secuestrados del sistema inmunológico. Otros virus pueden integrarse en el ADN celular, evadiendo así la detección inmunológica.

5 Los métodos para inducir una respuesta inmune contra un patógeno que normalmente evade el sistema inmune comprenden las etapas de a) romper las células epiteliales que contienen el patógeno, ADN viralmente alterado u oncoproteínas celulares con un dispositivo de micro-curetaje descrito en la presente memoria, y b) introducir el patógeno en el torrente sanguíneo de un paciente para provocar una respuesta inmune.

10 En algunas realizaciones, los dispositivos de muestreo y recolección de tejido trans-epitelial friccional descritos en la presente memoria se utilizan para romper las células epiteliales para inducir una respuesta inmune contra los virus del papiloma humano (VPH). Los VPH son virus persistentes que pueden permanecer en sus huéspedes durante largos períodos de tiempo antes de causar cualquier efecto nocivo. Generalmente, el huésped reacciona a patógenos virales generando tanto respuestas humorales como mediadas por células. Las respuestas humorales están típicamente mediadas por anticuerpos e implican la secreción de anticuerpos tales como inmunoglobulina A (IgA) e inmunoglobulina G (IgG) por los linfocitos B. Por otro lado, las respuestas mediadas por células son llevadas a cabo por células efectoras inmunitarias tales como células dendríticas (DC), células naturales asesinas (NK), macrófagos y linfocitos T que secretan una serie de citocinas incluyendo interferones (INF) y el factor de necrosis tumoral (TNF) y regulan positivamente la expresión del ligando de Fas (FasL) y el ligando inductor de la apoptosis relacionado con TNF (TRAIL) en su superficie celular.

20 En el caso de la infección por VPH, la respuesta inmunitaria es frecuentemente débil o indetectable, y está acompañada de poca o ninguna inflamación. Incluso cuando se produce una respuesta inmune, puede no ser capaz de eliminar el virus. La rotura de la superficie epitelial por rotura friccional del tejido induce la reparación e inflamación y sirve para auto-inocular al paciente. Sin desear estar limitado por ninguna teoría, la exposición de la superficie epitelial a la rotura friccional del tejido, inducida únicamente por el aparato y métodos descritos en la presente memoria mediante calentamiento local de las fuerzas de fricción ejercidas, puede mejorar la inducción de la reparación, la inflamación y una respuesta inmune después de la autoinoculación del paciente. La agitación o lavado de una lesión sirve para introducir partículas virales en el torrente sanguíneo de un paciente donde pueden desencadenar una respuesta inmune humoral o relacionada con anticuerpos. Además, el método puede fracturar células liberando antígenos localmente dentro del estroma tisular induciendo una respuesta mediada por células asociada con la liberación de citoquinas y la atracción de células T auxiliares y asesinas al área de tejido muestreada.

30 Ventajosamente, el método de la presente invención auto-inocula a un paciente con partículas virales del serotipo viral específico con el que el paciente está infectado. Por el contrario, las estrategias actuales de vacuna son eficaces en un subconjunto de cepas de HPV. Por ejemplo, GARDASIL® de Merck & Co., Inc. está indicado para ayudar a prevenir el cáncer de cuello uterino, las lesiones cervicales precancerosas y de bajo grado, los precánceres vulvares y vaginales y las verrugas genitales causadas por los virus del papiloma humano (VPH) tipos 6, 11, 16 y 18 y Cervarix™ de Glaxo SmithKline es una vacuna candidata contra el cáncer de cuello uterino 16/18. La vacuna se inyecta comúnmente en una extremidad, no en el órgano diana en riesgo, en el cuello uterino, y sólo se ha documentado que provoca una reacción inmune de anticuerpo humoral.

Aplicación de fármacos

40 En algunas realizaciones, se usa un fármaco adyuvante o un agente de inmunomodulación en combinación con el método de autoinoculación, aumentando así la respuesta inmune. Por ejemplo, Imiquimod (crema tópica Aldara®, fabricada y comercializada por Graceway Pharmaceutical Company) está aprobada para el tratamiento de la queratosis actínica, verrugas genitales externas y carcinoma basocelular superficial (sBCC), un tipo de cáncer de piel. Se puede potenciar una respuesta inmune mediante el uso de tales agentes inmunomoduladores en combinación con la autoinoculación mediante los métodos descritos en la presente memoria. El fármaco coadyuvante puede aplicarse a las fibras de los bucles fenestrados directamente en forma de pasta de dientes en un cepillo de dientes, o puede utilizarse un canal dentro del aplicador para transmitir el fármaco desde la parte superior del mango por medio de un bulbo o jeringa de apriete, a través de un pequeño lumen en el centro del disco de tejido, concomitante con la rotura del tejido, suministrando el fármaco a las grietas de la fractura creadas durante el proceso de deformación por fricción y cizallamiento creado por el dispositivo.

50 Algunas realizaciones comprenden un método de suministro de fármacos a una lesión patológica o áreas de tejido que rompen concomitantemente los planos tisulares, creando grietas o vías para que los fármacos entren a través de los espacios intraepiteliales y subepiteliales. Esto contrasta con las terapias tópicas, que se absorben lentamente en y a través de los epitelios. La aplicación intra-lesional está más enfocada y requiere menos fármaco, presentando menos riesgo de efectos secundarios.

55 Puede usarse cualquier tipo de fármaco (por ejemplo, ablativo, antibiótico, antiséptico, inmunomodulador, etc).

En algunas realizaciones, el fármaco se suministra a través de un aplicador que comprende un tejido con bucles fenestrados como se describe en este documento. El fármaco se aplica de una manera similar a la aplicación de pasta de dientes a un cepillo de dientes, o el fármaco se puede inyectar sobre la plataforma o el aparato a través de

5 un canal que conduce a través de un mango hueco de aplicación. El aparato de aplicación de fármacos puede tener opcionalmente un elemento a través del cual se administra el fármaco (por ejemplo, una jeringa con un mecanismo de bloqueo). El fármaco se aplica a una "herida" creada por agitación por fricción del tejido. En algunas realizaciones, los bucles fenestrados pueden ser impregnados con un fármaco durante la fabricación, en el que el fármaco sale hacia fuera en el tejido roto cuando la fibra entra en contacto y macera/rompe el tejido.

Aunque la presente invención se ha descrito con algún detalle con fines de claridad y comprensión, cualquier experto en la técnica apreciará que se pueden realizar diversos cambios en forma y detalle sin apartarse del verdadero alcance de la invención.

REIVINDICACIONES

- 1.** Una tela configurada para friccionar abrasivamente las superficies epiteliales para recoger muestras de tejido epitelial que comprende:
- un material de soporte; y
- 5 una pluralidad de bucles fenestrados (1) unidos al material de soporte, teniendo dichos bucles (1) suficiente flexibilidad y rigidez para raspar por fricción dichas superficies epiteliales (7), donde los bucles (1) tienen un extremo corto de gancho, estando el extremo de gancho de los bucles (1) orientado hacia el material de soporte; y
- 10 en el que los ganchos están dispuestos en filas y crean canales que recogen y atrapan el tejido dentro de los canales;
- siendo el tejido caracterizado porque la distancia desde la parte superior del bucle (1) a la parte inferior del gancho es inferior al 20% de la longitud del bucle (1), en el que dichos bucles (1) tienen aproximadamente de 3 mm a aproximadamente 25 mm de longitud.
- 2.** La tela de la reivindicación 1, en la que el material de soporte es flexible.
- 15 **3.** La tela de la reivindicación 1, en la que los bucles (1) están hechos de plástico.
- 4.** La tela de la reivindicación 1, en la que los bucles (1) están hechos de nylon.
- 5.** Un aparato para obtener una muestra histológica que comprende:
- un mango rígido (5);
 - una plataforma (2) en un extremo distal del mango (5); y
- 20 una tela de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores unida a la plataforma (2).
- 6.** El aparato de la reivindicación 5, en el que la plataforma (2) es plana y tiene aproximadamente de 10 a 50 mm de diámetro.
- 7.** El aparato de la reivindicación 5, en el que la plataforma (2) es plana y tiene aproximadamente de 5 a 10 mm de diámetro y es de forma circular.
- 25 **8.** El aparato de la reivindicación 5, en el que la plataforma (2) es flexible y puede colapsarse y reintegrarse a su forma original.
- 9.** El aparato de la reivindicación 5, en el que la plataforma (2) es cónica.
- 10.** El aparato de la reivindicación 5, en el que un núcleo central de bucles fenestrados (21) de aproximadamente 5-25 mm de longitud está rodeado por un borde más ancho de bucles fenestrados más cortos (22) de
- 30 aproximadamente 3 mm a aproximadamente 23 mm de longitud.
- 11.** El aparato de la reivindicación 5, que comprende además una fibra de cubo que penetra y ancla el centro de la plataforma sobre un área de biopsia objetivo, en la que la fibra de cubo estabiliza la rotación de la plataforma en el área objetivo.
- 12.** El aparato de la reivindicación 5, en el que la plataforma (2) está contorneada de manera que los bucles (1) alcancen simultáneamente una pluralidad de áreas de una superficie epitelial tridimensional (7).
- 35 **13.** El aparato de la reivindicación 5, en el que la plataforma (2) es separable del mango (5).
- 14.** El aparato de la reivindicación 5, que comprende además un motor configurado para hacer girar la plataforma (2).

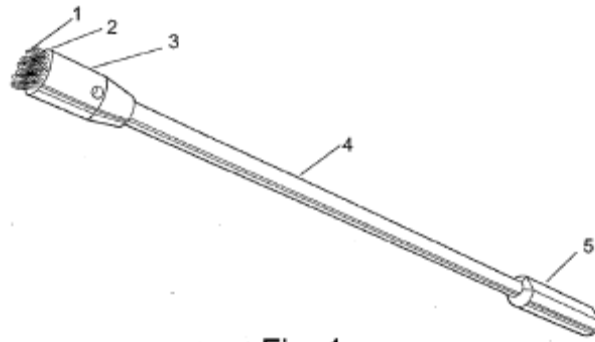


Fig. 1



Fig. 2A

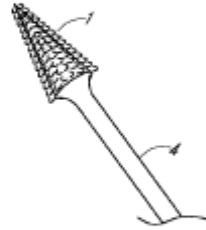


Fig. 2B



Fig. 2C

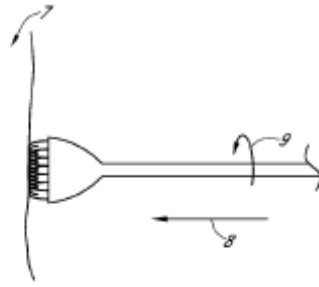


Fig. 3A

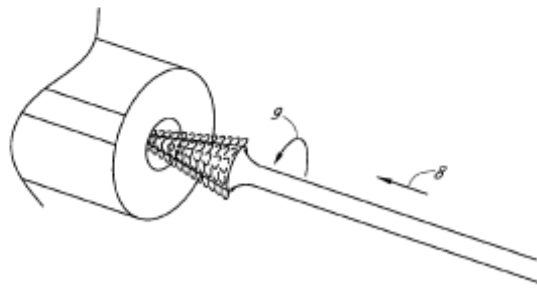
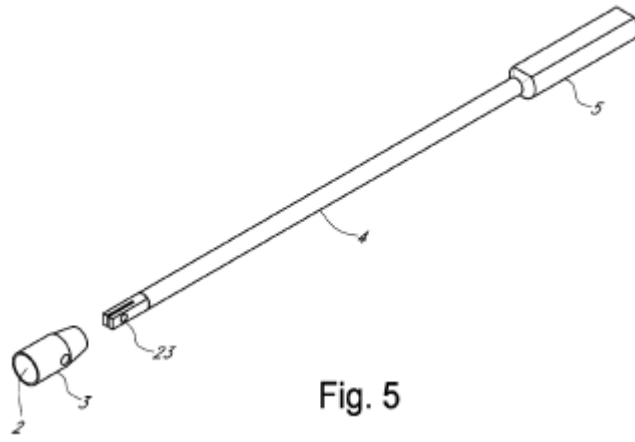
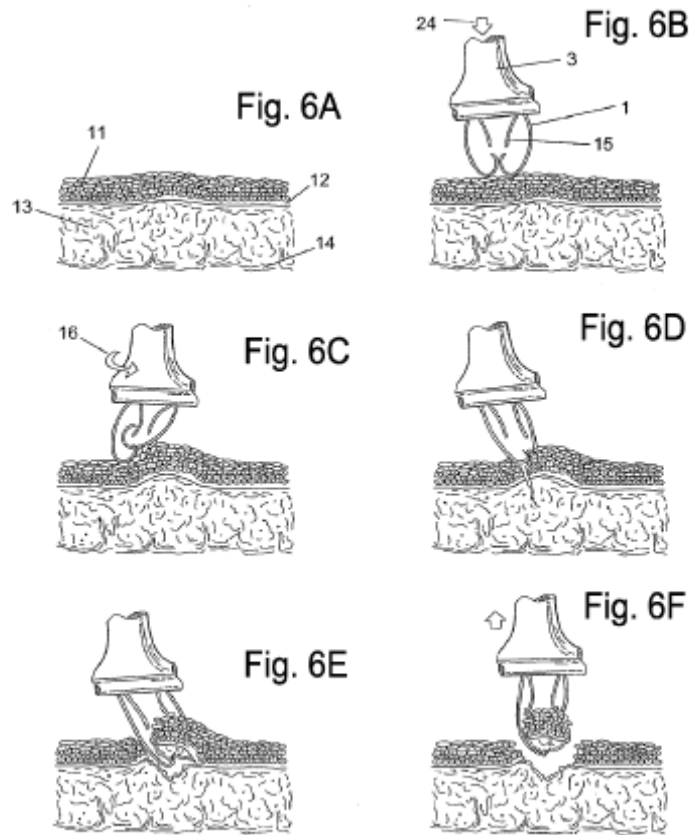


Fig. 3B



Fig. 4





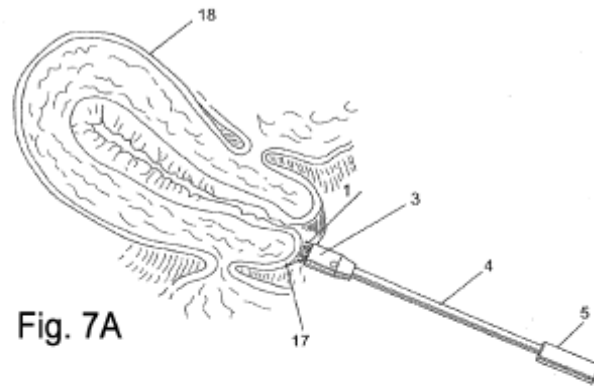


Fig. 7A

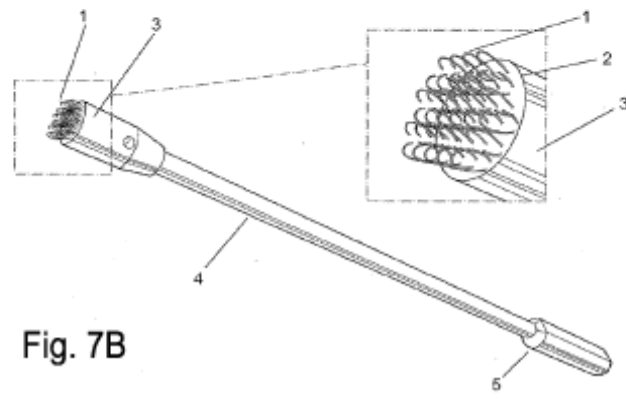


Fig. 7B

Fig. 8A

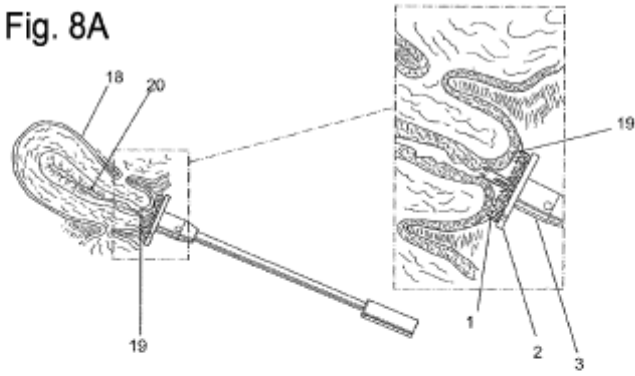


Fig. 8B

