

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 311**

21 Número de solicitud: 201630386

51 Int. Cl.:

**A61N 2/12** (2006.01)

**A61K 48/00** (2006.01)

**A61K 49/18** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

**31.03.2016**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**03.10.2017**

71 Solicitantes:

**UNIVERSITAT DE VALÈNCIA (90.0%)**

**Avda. Blasco Ibáñez, 13**

**46010 València (València) ES;**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA -**

**FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN**

**HOSPITAL LA FE (5.0%) y**

**FUNDACIÓ HOSPITAL UNIVERSITARI VALL**

**D'HEBRON- INSTITUT DE RECERCA (5.0%)**

72 Inventor/es:

**GARCÍA GIL-PEROTÍN, Sara María;**

**GARCÍA BELDA, Paula;**

**PRIMA GARCÍA, Helena ;**

**GARCÍA VERDUGO, José Manuel ;**

**CORONADO MIRALLES, Eugenio ;**

**LÓPEZ MUÑOZ, Ángel;**

**MARTÍ BONMATÍ, Luis y**

**SAHUQUILLO BARRIS, Juan**

74 Agente/Representante:

**SALVA FERRER, Joan**

54 Título: **SISTEMA PARA EL DIRECCIONAMIENTO DE CÉLULAS HACIA REGIONES INTERNAS  
OBJETIVO DE UN CUERPO HUMANO O ANIMAL, Y PROGRAMA DE ORDENADOR**

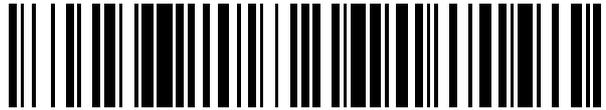
**ES 2 635 311 A1**

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 311**

21 Número de solicitud: 201630386

57 Resúmen:

Sistema para el direccionamiento de células hacia regiones internas objetivo de un cuerpo humano o animal, y programa de ordenador.

El sistema comprende:

- un electroimán (E) montado sobre un primer soporte (S1),
- un sistema electrónico de control del electroimán (E) que calcular la magnitud en tres dimensiones de un campo magnético a generar por el mismo (E) para que atraiga y retenga en unas regiones internas objetivo a unas células marcadas paramagnéticamente e inyectadas por vía intravenosa; y
- un imán permanente (IE) montado sobre un segundo soporte (S2) distanciado del electroimán (E), para focalizar el campo magnético generado por el electroimán (E) para dirigir con precisión, en tres dimensiones, las células marcadas hacia las regiones internas objetivo.

El programa de ordenador está adaptado para realizar el cálculo del campo magnético a generar por el electroimán (E) del sistema de la invención.

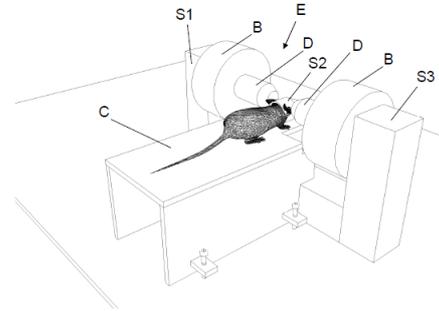


Fig. 3

## DESCRIPCIÓN

### **SISTEMA PARA EL DIRECCIONAMIENTO DE CÉLULAS HACIA REGIONES INTERNAS OBJETIVO DE UN CUERPO HUMANO O ANIMAL, Y PROGRAMA DE ORDENADOR**

5

#### Sector de la técnica

La presente invención concierne en general, en un primer aspecto, a un sistema para el direccionamiento de células hacia regiones internas objetivo de un cuerpo humano o animal, adaptado para atraer magnéticamente células marcadas con nanopartículas superparamagnéticas e inyectadas por vía intravenosa, y más particularmente a un sistema que atrae, retiene y dirige con precisión las células marcadas hacia regiones internas objetivo.

10 Un segundo aspecto de la presente invención concierne a un programa de ordenador, que incluye instrucciones de código que cuando se ejecutan en un ordenador realizan el cálculo del campo magnético a generar por el electroimán del sistema de la invención.

#### Estado de la técnica anterior

20

Existen varios estudios relacionados con la movilización de células marcadas con SPIOs (de los términos en inglés “superparamagnetic iron oxide nanoparticles”: nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas) mediante la aplicación de un campo magnético. En líneas generales, dichos trabajos han conseguido el direccionamiento de células marcadas a zonas del organismo como la cola, retina, cartílago, hígado, incluso a nivel de sistema nervioso central en médula espinal y tejido cerebral, pero todos ellos utilizando únicamente la aplicación de un imán estacionario, generalmente con una magnitud de campo elevada. A pesar de ello, en ningún caso existe constancia a nivel histológico de la localización específica de las células dentro de un mismo órgano.

30

Uno de tales estudios, centrado en particular en la focalización de células marcadas con SPIOs en el tejido cerebral, es el descrito en la solicitud de patente con número de publicación US2011/0070202 A1 (Yarowsky et al.). En este caso se lleva a cabo la administración de células progenitoras neurales (NSCs) marcadas con SPIOs, tanto intraventricularmente como intraarterialmente. El campo magnético se genera mediante un imán estacionario que aplica una magnitud de entre 0,3-0,6 T sobre uno de los hemisferios

35

cerebrales, y el tejido diana en cuestión es la región cortical. El principal problema de utilizar NSCs reside en la invasividad para su obtención, ya que para ello es necesario acceder a las paredes de los ventrículos laterales del cerebro y por tanto la necesidad de una delicada cirugía.

5

Por otra parte, tanto la utilización de la vía intraarterial como la de la vía intraventricular tiene muchos inconvenientes.

10

En particular, por lo que se refiere a la vía intraarterial, a pesar de que con ésta se evite la circulación pulmonar y así ser más fácil que lleguen las células de forma directa al tejido cerebral, ésta presenta un elevado riesgo de que se produzca la formación de tromboembolismo y que puedan generarse microinfartos a nivel cerebral. Es además un vía cruenta que requiere de cirugía cervical abierta, lo que supone un mayor riesgo peri- y postoperatorio para el animal. En caso de una supuesta traslación a humanos, la vía intraarterial supondría un riesgo aumentado de sangrado, y un aumento del coste de la intervención en caso de cateterización endovascular, y el caso de la cirugía abierta de carótida ni tan siquiera es una opción planteable por su morbilidad. Por su parte, para la administración vía intraventricular se requiere una intervención quirúrgica altamente invasiva, y por ello, resulta poco viable a la hora de su traslación a la práctica clínica.

15

20

Otro de tales estudios es el descrito en el siguiente artículo: "*In vitro angiogenic performance and in vivo brain targeting of magnetized endothelial progenitor cells for neurorepair therapies*", Carenza E., et al; Nanomedicine: NBM 2013; Enero 2014, 10(1), páginas 225–234. En éste se describe un sistema para movilizar células progenitoras endoteliales (EPCs) marcadas con SPIOs hacia regiones corticales de uno de los hemisferios en un modelo de infarto cerebral. En este caso, a diferencia del estudio anterior, las células son administradas vía intravenosa, por lo que deben recorrer un camino mucho más largo hasta alcanzar su objetivo. Las células son movilizadas mediante la atracción ejercida por un campo magnético generado por dos imanes permanentes externos de 0,3 T pegados con pegamento al cráneo del animal durante 24h.

25

30

El sistema descrito en el citado artículo de Carenza E. et al. reúne las características del preámbulo de la reivindicación 1 de la presente invención.

35

El campo magnético generado mediante los citados dos imanes permanentes es a todas luces excesivo y provoca que las células sean atraídas de forma brusca y poco específica,

accediendo únicamente a capas superficiales de las regiones corticales, prácticamente a nivel de las meninges casi en contacto con el cráneo (como muestran las imágenes del citado artículo). Puesto que el destino final de las células administradas para la terapia debería ser el foco de lesión isquémica, cabría anotar que éste no se encuentra en capas tan superficiales de la corteza, sino en zonas más profundas circundantes a la arteria cerebral media.

Por otra parte, el tener que aplicar el campo magnético durante un tiempo tan largo (24h), así como el tener que pegar los imanes permanentes al cráneo del animal, hacen que la propuesta realizada en dicho artículo sea realmente desventajosa, y difícilmente trasladable a humanos.

Existe, por tanto, la necesidad de ofrecer una alternativa al estado de la técnica que cubra las lagunas halladas en el mismo, mediante la provisión de un sistema que permita dirigir con muchas más precisión las células marcadas magnéticamente e inyectadas por vía intravenosa hacia regiones objetivo que el sistema descrito en el artículo de Carezza et al., y que no tenga las desventajas asociadas al mismo.

#### Explicación de la invención

Con tal fin, la presente invención concierne a un sistema para el direccionamiento de células hacia regiones internas objetivo de un cuerpo humano o animal, que comprende, de manera en sí conocida, unos medios de generación de campo magnético configurados para disponerse externamente adyacentes a una zona objetivo de dicho cuerpo humano o animal para atraer magnéticamente hacia regiones internas objetivo de dicha zona objetivo a unas células marcadas con nanopartículas superparamagnéticas que se inyecten por vía intravenosa, de forma distal, en el citado cuerpo humano o animal.

A diferencia del sistema propuesto en el anteriormente descrito artículo de Carezza et al., donde los medios de generación de campo magnético incluyen únicamente imanes estacionarios, pegados al cráneo del animal, y que ejercen una atracción magnética sobre las células que puede calificarse de brusca y poco precisa, en el sistema propuesto por la presente invención los citados medios de generación de campo magnético comprenden, de manera característica:

- un electroimán y un primer soporte en el que se encuentra montado al menos parte de dicho electroimán;

- un sistema electrónico de control del citado electroimán que comprende un sistema de procesamiento configurado para calcular por lo menos la magnitud en tres dimensiones de un campo magnético a generar por el electroimán y de una señal eléctrica de control a aplicar al electroimán para que lo genere, a partir de unas variables de entrada relativas al menos a las propiedades magnéticas y fisicoquímicas de las células marcadas, a la distancia entre el punto de inyección de las mismas y las regiones internas objetivo y al tiempo de aplicación del campo magnético, con el fin de que la aplicación de la señal eléctrica durante un tiempo determinado provoque que el electroimán genere un campo magnético con dicha magnitud calculada que atraiga y retenga a las células marcadas en las citadas regiones internas objetivo; y

- por lo menos un imán permanente y un segundo soporte sobre el que se encuentra montado dicho imán permanente distanciado del electroimán, estando el citado imán permanente configurado para que cuando, por mediación del mencionado segundo soporte, se dispone adyacente a dicha zona objetivo del cuerpo humano o animal, focalice el campo magnético generado por el electroimán para dirigir con precisión, en tres dimensiones, las células marcadas hacia las regiones internas objetivo.

Mediante el uso de un electroimán se consigue modular la fuerza magnética de extracción de las células del torrente sanguíneo y por tanto el direccionamiento, y mediante el uso conjunto con el electroimán de uno o más imanes permanentes (separados del electroimán) se consigue mejorar la precisión en el mencionado direccionamiento, una vez las células ya se encuentran más próximas a su objetivo final, es decir a las regiones internas objetivo.

De acuerdo a un ejemplo de realización, el electroimán comprende dos bobinas y dos respectivos polos alineados entre sí y configurados para disponer al cuerpo humano o animal entre los mismos, quedando los polos a lado y lado de la citada zona objetivo del mismo.

En función del ejemplo de realización las dos bobinas y dos polos se encuentran montados todos en el citado primer soporte o, alternativamente, una de las bobinas y su correspondiente polo se encuentran montados en el primer soporte, y la otra bobina y polo se encuentran montados en un tercer soporte, estando el segundo soporte configurado para disponer al imán o imanes permanentes distanciados de ambos polos y bobinas del electroimán.

Ventajosamente, el sistema de la invención comprende una plataforma o camilla regulable en altura configurada para soportar al cuerpo humano o animal sobre la misma y posicionarlo convenientemente entre los dos polos del electroimán.

5

Según un ejemplo de realización, las regiones internas objetivo pertenecen al sistema nervioso central.

De acuerdo a un ejemplo de realización preferido, el citado segundo soporte es móvil.

10

Según una variante de dicho ejemplo de realización preferido, el segundo soporte está configurado para acoplarse a una parte del cuerpo humano o animal posicionando al imán o imanes permanentes que soporta adyacentes a la citada zona objetivo.

15

Para una implementación de dicha variante, el segundo soporte es un casco o gorro esterotáxico configurado para acoplarse a la cabeza del cuerpo humano o animal, posicionando tridimensionalmente al imán o imanes permanentes adyacentes a la misma, para focalizar el campo magnético generado por el electroimán en regiones internas objetivo dentro del tejido cerebral de dicha cabeza.

20

El uso de un soporte para el imán o los imanes permanentes proporciona un gran número de ventajas, entre las que se encuentran las relativas a una mayor facilidad y flexibilidad a la hora de posicionar al imán o imanes con respecto a la zona objetivo, pudiendo estar éstos integrados o acoplados, de manera fija o preferentemente amovible, con respecto al soporte, en posiciones fijas o regulables, así como las asociadas a poder prescindir de la necesidad de tener que aplicar algún tipo de pegamento o adhesivo sobre el cráneo del animal. Este aspecto es muy importante a tener en cuenta a la hora de utilizar el sistema de la presente invención en la práctica clínica con pacientes.

25

30

Se propone asimismo la provisión, de acuerdo a unos ejemplos de realización, de diferentes tipos de soporte (cascos, bandas, cinturones, corsés, etc.), cada uno de ellos adaptado para acoplarse a una parte específica del animal o humano, para diferentes animales y humanos.

35

Por lo que se refiere a las citadas variables asociadas a propiedades fisicoquímicas de las células marcadas, éstas se refieren, según una realización, al menos al diámetro medio de

las mismas, teniendo éste, para unos casos de particular interés, un valor que está entre 10 y 20 micras, preferentemente de sustancialmente 15 micras.

5 Según un ejemplo de realización, el sistema de procesamiento del sistema de la presente invención tiene definidas unas restricciones para llevar a cabo el mencionado cálculo de la magnitud del campo magnético para que esté por encima de la magnetización de saturación de las células marcadas, y que tenga un valor preferentemente de entre 180 y 270 mT, y con más preferencia de entre 200 y 250 mT.

10 Por lo que se refiere al imán o imanes permanentes, éste o cada uno de los mismos tiene una potencia magnética de preferentemente hasta 150 mT a distancia cero.

15 En cuanto al mencionado anteriormente tiempo determinado, ventajosamente éste tiene un valor de entre 1 y 60 minutos, preferentemente de entre 20 y 50 minutos y más preferentemente de sustancialmente 45 minutos.

20 Tanto los valores de magnitud el campo magnético como los valores del tiempo de aplicación del mismo constituyen diferencias sustanciales con las propuestas del estado de la técnica donde los valores de magnitud son más grandes y, aun así, los tiempos de aplicación son considerablemente largos, por ejemplo de 24h en la propuesta descrita en el artículo de Carenza et al.

25 De manera preferida, las citadas células son células madre mesenquimales (MSCs, de los términos en inglés "Mesenchymal Stem Cells") y las nanopartículas superparamagnéticas son partículas superparamagnéticas ultrapequeñas de óxido de hierro (SPIOs), por lo que el sistema de la presente invención se encuentra particularmente adaptado para trabajar con tal clase de células y tal clase de marcación.

30 En relación a tal aplicación, es conocido que la terapia celular es un campo en auge. Se están realizando numerosos ensayos en que se demuestra el papel de la infusión e injerto de células madre mesenquimales (MSCs) en la reparación, tras lesión, de múltiples órganos y sistemas, entre ellos el sistema nervioso central (SNC). Pese a obtenerse resultados esperanzadores, el principal inconveniente es el bajo rendimiento de las técnicas conocidas en el estado de la técnica, ya que solo entre el 5-10% de las células accede al SNC, y en  
35 concreto a las zonas amenazadas. Esto es debido a los filtros pulmonar y hepático, entre otros, que sucesivamente en cada ciclo cardíaco van secuestrando un porcentaje de las

MSCs, que no alcanzan el órgano diana. El sistema propuesto por la presente invención, mediante la aplicación de campos magnéticos en las tres dimensiones del espacio, de magnitud variable y obtenida por cálculos matemáticos, permite aumentar en hasta diez veces el rendimiento del injerto, alcanzándose las regiones dañadas con gran precisión, lo que permite potenciar el efecto terapéutico que se ha demostrado que las MSCs poseen.

Así pues, mediante el uso del sistema propuesto por la presente invención, se consigue que las células marcadas se encuentren finalmente distribuidas dentro del parénquima cerebral, normalmente cerca de grandes vasos sanguíneos, pero en zonas profundas de la corteza que corresponderían a la zona de infarto en un modelo de ictus, cosa que se ha conseguido gracias al cálculo teórico de la resultante del campo magnético.

Para otro ejemplo de realización, el sistema de la presente invención comprende además un sistema de detección configurado y dispuesto para detectar la concentración de células marcadas en como mínimo las regiones internas objetivo, estando el citado sistema de detección conectado con el sistema electrónico de control para suministrarle información de detección relativa a dicha detección, y estando el sistema electrónico de control configurado para ajustar el control del electroimán en función de la información de detección recibida, variando la magnitud del campo magnético generado y/o aumentando o disminuyendo el tiempo de aplicación y/o parando o iniciando la aplicación del mismo. Se consigue así proporcionar un control en lazo cerrado que optimiza el direccionamiento con precisión de las células marcadas hacia las regiones internas objetivo.

El citado sistema de detección es, de acuerdo a una variante de dicho ejemplo de realización, un sistema basado en neuroimagen por resonancia magnética, aunque la inclusión de cualquier otra clase de sistema de detección también se contempla.

Por lo que se refiere al anteriormente mencionado cálculo de por lo menos la magnitud del campo magnético a generar por el electroimán, ventajosamente ésta se realiza también a partir de otras variables de entrada adicionales, tal como las relativas a densidad y/o viscosidad del medio, a un mapa topográfico y/o de conexiones (venas, órganos, etc.), etc.

Para llevar a cabo el mencionado cálculo del campo magnético, debe entenderse que éste debe ser suficientemente grande como para arrancar las células marcadas del flujo sanguíneo con el fin de dirigir las hacia las regiones internas objetivo, por lo que en general

es necesario conocer la densidad y/o viscosidad del medio, en particular del medio cerebral cuando las regiones internas objetivo se encuentran dentro del tejido cerebral.

5 Por ello, de acuerdo a una realización del sistema de la presente invención, el mencionado cálculo del campo magnético se lleva a cabo teniendo en cuenta que la fuerza magnética de atracción que experimentan las células marcadas con nanopartículas superparamagnéticas en la dirección de aplicación del campo magnético es proporcional a  $F_M = k_0 \cdot M \cdot V$ , donde  $F_M$  es la fuerza magnética,  $M$  el campo magnético,  $V$  el volumen del fluido y  $k_0$  el coeficiente de permeabilidad en el vacío, y utilizando, por otra parte, para el cálculo de la fuerza hidrodinámica de arrastre de las células por el flujo sanguíneo la aproximación de Stokes (aproximación de arrastre en una esfera en un campo aplicado),  $F_a = 6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot R \cdot v_r$ , donde  $\eta$  es la viscosidad del medio,  $R$  es el radio de la célula, y  $v_r$  indica la velocidad de las células en una determinada dirección. La fuerza magnética  $F_M$  (calculada según la anterior expresión) para igualar o superar a la fuerza de arrastre debe de ser igual o mayor a dicha fuerza  $F_a$ .

15

El cálculo del campo magnético se lleva a cabo, en general, por parte de un algoritmo implementado en el sistema de procesamiento del sistema electrónico de control.

20 Un segundo aspecto de la presente invención concierne a un programa de ordenador, que incluye instrucciones de código que cuando se ejecutan en un ordenador realizan el cálculo de al menos la magnitud en tres dimensiones del campo magnético a generar por el electroimán y de una señal eléctrica de control a aplicar al electroimán para que lo genere, de acuerdo con el sistema de la presente invención, según uno cualquiera de los ejemplos de realización descritos en relación al mismo. Ventajosamente, el citado programa de ordenador implementa el citado algoritmo.

25

Un aspecto adicional de la presente invención concierne a un método para el direccionamiento de células hacia regiones internas objetivo de un cuerpo humano o animal, que comprende:

30

- inyectar por vía intravenosa, en el citado cuerpo humano o animal, de forma distal con respecto a dicha regiones internas objetivo, unas células marcadas con nanopartículas superparamagnéticas; y

35

- dirigir con precisión, en tres dimensiones, las células marcadas hacia las regiones internas objetivo, utilizando el sistema propuesto por la presente invención.

Sirva la descripción de las funciones de los elementos del sistema propuesto por la presente invención hecha en los diversos ejemplos de realización expuestos arriba, como válida para describir correspondientes etapas o acciones del método de la presente invención.

5

#### Breve descripción de los dibujos

Las anteriores y otras ventajas y características se comprenderán más plenamente a partir de la siguiente descripción detallada de unos ejemplos de realización con referencia a los dibujos adjuntos, que deben tomarse a título ilustrativo y no limitativo, en los que:

10

La Figura 1 ilustra a parte del sistema propuesto por la presente invención, para un ejemplo de realización.

15

Las Figuras 2a, 2b y 2c son unas vistas en, respectivamente, perspectiva, planta y alzado frontal del segundo soporte del sistema de la presente invención y de un imán permanente montado en el mismo, para un ejemplo de realización para el que el segundo soporte adopta la forma de un casco para una rata.

20

La Figura 3 ilustra al sistema propuesto por la presente invención, con una rata dispuesta sobre la camilla del mismo portando el segundo soporte en forma de casco de la Figura 2.

La Figura 4 muestra sendas imágenes obtenidas mediante un microscopio electrónico de transmisión de alta resolución (en inglés "High-resolution transmission electron microscopy", o HRTEM) de las USPIO magnéticas utilizadas en un experimento por los presentes inventores para probar el sistema propuesto por la presente invención. En la vista izquierda se muestra una imagen general y en la de la derecha un detalle de una zona más pequeña.

25

La Figura 5 es una gráfica que muestra la medida de la magnetización de las USPIO en función de la temperatura aplicando un campo magnético de 1 Oe. La medida se realizó con un protocolo de ZC/ZFC, donde se puede observar una temperatura de bloqueo de unos 70 K. Por debajo de la temperatura de bloqueo las USPIO presentan un comportamiento ferromagnético y para temperaturas superiores las USPIO serán superparamagnéticas.

30

35

La Figura 6a es una gráfica en la que se pueden apreciar los ciclos de histéresis de las USPIO a dos temperaturas, a 300 K y a 2K, donde se puede observar que a 2 K las USPIO presentan un ciclo de histéresis típico de nanopartículas ferromagnéticas. A temperaturas altas y concretamente a temperatura ambiente las nanopartículas presentan un comportamiento superparamagnético, lo que significa que las partículas son magnéticas solamente en presencia de un campo magnético.

La Figura 6b es una gráfica que muestra una ampliación del ciclo de histéresis a 2 K de la gráfica de la Figura 6a.

Las Figuras 7a y 7b son sendas gráficas que ilustran, para un experimento llevado a cabo por los presentes inventores, la medida de la magnetización de las células marcadas con USPIO de hierro en función de la temperatura aplicando un campo magnético de 50 Oe y la temperatura de bloqueo sobre unos 70 K. En la Figura 7b se aprecian los ciclos de histéresis de las USPIO a dos temperaturas, de 300 K y 2 K, mostrando un comportamiento superparamagnético a partir de 70 K. Se puede concluir que las células marcadas con las USPIO preservan el mismo comportamiento magnético.

La Figura 8 es una tabla comparativa que muestra el gradiente del campo magnético generado por el electroimán del sistema de la invención a diferentes distancias a lo largo del eje Z (ver Fig. 1), con y sin imán permanente. Un dato importante que se extrae de esta comparativa es que el uso del imán permanente otorga un aumento considerable de la fuerza magnética en un área muy pequeña, focalizando la fuerza magnética en un área determinada.

La Figura 9 muestra el gradiente de campo magnético en la dirección ZX (ver Fig. 1) sobre la cabeza de la rata, donde se aprecia claramente el efecto de la presencia del imán estacionario porque aumenta localmente el flujo de campo magnético en la zona de interés.

### 30 Descripción detallada de unos ejemplos de realización

En la Figura 1 se muestra un esquema experimental del sistema propuesto por la presente invención donde se muestran parte de los componentes del mismo, para un ejemplo de realización. En particular, en la Figura 1 se muestra a un electroimán E que incluye dos bobinas B y sus correspondientes polos D, los cuales están alineados entre sí a lo largo del eje Z, según la nomenclatura de ejes X, Y, Z ilustrada, la cual que se va a seguir durante

todo el proceso del experimento que se describirá a continuación. La bobina B se encuentra montada sobre un soporte S1 (estacionario o móvil). También se ilustra en la Figura 1 a una camilla C, preferentemente regulable al menos en altura, incluida en el sistema de la invención y cuyo fin es el de sustentar al animal sobre la misma.

5

Respecto a los ejes indicados en la Figura 1, debe indicarse que el eje Z transcurre a través de la cabeza de la rata u otro animal, cuando ésta se dispone sobre la camilla C, que el eje Y es la altura y el X la profundidad.

10 En las Figuras 2a, 2b y 2c se muestra el diseño del casco que constituye el segundo soporte S2, y que llevará el animal para añadir el imán o los imanes permanentes IE que se dispongan en cada experimento o aplicación del sistema de la invención.

15 En particular en la Figura 2a se ilustra al casco S2 en perspectiva, en la 2b en planta desde arriba y en la 2c en alzado frontal desde la derecha (según la posición ilustrada en la Figura 2a). Puede apreciarse cómo se ha optimizado la forma del casco para adaptarlo a la cabeza de la rata. Se han abierto orificios para los ojos, las orejas y el hocico. Aunque solamente se ha dispuesto un imán permanente IE, para otras realizaciones se disponen varios.

20 En la Figura 3 se muestra de nuevo al sistema de la invención, una vez se ha dispuesto a una rata sobre la camilla C portando el segundo soporte, es decir el casco S2, con el imán permanente IE, con el fin de someterla al experimento que se describirá a continuación para migración y direccionamiento de las células marcadas con USPIO hacia las regiones internas de su cerebro.

25

Descripción del experimento:

30 Para la realización del citado experimento, los presentes inventores se plantearon aumentar el rendimiento de células madre que llegaban a regiones del cerebro que habían sido dañadas (por ejemplo, en un infarto cerebral). Se formuló la hipótesis de que células marcadas con hierro podían ser movidas o dirigidas mediante la acción de campos magnéticos.

35 En primer lugar, se tuvo que determinar el tipo celular y el tipo de marcaje con hierro. En el laboratorio de los presentes inventores se realizan estudios de terapia celular, y últimamente están desarrollando el campo de las células madre mesenquimales (MSCs) por sus

propiedades biológicas peculiares, entre ellas, una tasa de rechazo muy baja, versatilidad en cuanto a su potencial de diferenciación, capacidad inmunomoduladora (contra la inflamación) y potencia reparadora (mediante secreción in situ de factores de crecimiento). El segundo punto, es decir el del marcaje, se resolvió acudiendo a la Nanomedicina, ya que existen en el mercado (en diversas composiciones y tamaños) partículas de hierro con propiedades superparamagnéticas, de muy pequeño tamaño, y de baja toxicidad, las llamadas USPIO. Las USPIO tienen una enorme utilidad en Biomedicina como agentes de contraste en resonancia magnética de imagen o como sistemas transportadores de fármacos, entre otras aplicaciones.

10

El siguiente paso fue combinar ambas, para lo que se realizaron diversos experimentos con partículas policatiónicas, ya que sin ellas el marcaje de MSCs con USPIO estaba del todo ausente. Se decidió usar poli-L-lisina, de baja toxicidad y esto permitió un marcaje óptimo con las nanopartículas. Le siguió el estudio morfológico y magnético de las USPIO (tanto individuales como asociadas a las células), de vital importancia para determinar su cantidad y estabilidad dentro de las células in vitro y su comportamiento in vivo, siendo especialmente importante sus propiedades fisicoquímicas, en concreto el tamaño, para poder conocer los parámetros esenciales para conseguir la migración y direccionamiento de las MSCs-USPIO en cualquier punto del cerebro de una rata.

20

#### *Caracterización morfológica de las USPIO:*

Para la caracterización morfológica de las USPIO se utilizó un microscopio electrónico de alta resolución HR-TEM. Las USPIOs utilizadas se tratan de partículas de óxido de hierro concretamente de maghemita ( $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), muy pequeñas, con una media de tamaño de 24.36 nm de diámetro hidrodinámico (rango 5-25 nm), y la representación de la distribución de tamaños de la muestra se puede considerar homogénea. En la Figura 4 se muestran imágenes de las mismas tomadas en el microscopio. Las USPIO presentan un tamaño que varía de 5 nm a 25 nm, demostrando que estas USPIO están en el rango superparamagnético.

30

#### *Caracterización magnética de las USPIO:*

Las USPIO de hierro ( $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) presentan un comportamiento superparamagnético, y esto se corroboró empíricamente, así como sus principales propiedades magnéticas, mediante un magnetómetro (SQUID).

35

El protocolo que se siguió fue el siguiente (Figura 5):

- Protocolo “Zero Field Cool” (ZFC): las USPIO se enfriaron hasta 2 K sin campo magnético. Inmediatamente después bajo un campo magnético externo de 1 Oe se midió el ZFC desde 2 K hasta 298 K.
- Protocolo “Field Cool”, consiste en calentar el sistema hasta 298 K en presencia de un campo magnético H, se mide FC mientras se disminuye la temperatura T.

10

Los resultados mostraron que la magnetización ( $M_{FC}$ ) aumentaba siempre cuando la temperatura disminuía, siguiendo un comportamiento típico de SSG (comportamiento de “Super Spin glass”). La temperatura de bloqueo era de  $T_B = 69$  K. Por encima de esta temperatura la magnetización disminuye a medida que la temperatura aumenta. Además, por encima de la temperatura de bloqueo la mayoría de las USPIO de  $Fe_2O_3$  son superparamagnéticas (SPM) y por debajo de esta temperatura son ferromagnéticas. Es decir, se necesitan unas nanopartículas que solo sean magnéticas cuando exista un campo magnético externo, y a ese respecto, estas nanopartículas son óptimas para trabajar a temperaturas por encima de la temperatura de bloqueo en su fase superparamagnética. Sin embargo, cuando están en su fase ferromagnética las nanopartículas poseen una magnetización incluso cuando no existe campo magnético externo aplicado.

15

20

En la Figura 6a se muestran las curvas de magnetización de las USPIO por debajo de la temperatura de bloqueo a 2K, mostrando un ciclo de histéresis de la fase ferromagnética con un campo coercitivo  $H_c$  de 208 Oe. Una ampliación de dicho ciclo de histéresis se ilustra en la Figura 6b.

25

En la Figura 6 también se muestran las curvas de magnetización de las USPIO a 300 K, mostrando un campo coercitivo  $H_c$  de 4 Oe. A temperaturas por encima de la temperatura de bloqueo a 300 K, la coercividad es cero mostrando un comportamiento superparamagnético, indicando que las USPIO se desmagnetizan en ausencia de campo externo. El campo magnético para saturar las USPIO es de 100 mT, indicando que las USPIO se saturan para campos magnéticos externos mayores a 100 mT y pueden empezar a moverse, a partir de este valor, en la dirección del campo magnético.

30

35

*Caracterización magnética de las células madre marcadas con USPIO y cálculo de la cantidad de hierro que hay por USPIO:*

Las células marcadas con USPIO de hierro fueron analizadas asimismo con un magnetómetro (SQUID). Esta caracterización demostró que las células con USPIO siguen siendo magnéticas y permitió cuantificar fidedignamente la cantidad de USPIO de hierro por célula.

En la Figura 7a se muestra la medida de la magnetización en función de la temperatura medida con los protocolos ZFC/FC, donde la temperatura de bloqueo fue de  $T_B=70$  K. Las células marcadas con las USPIO son supermagnéticas para temperaturas mayores de 70 K. La Figura 7b muestra los ciclos de histéresis para las células a dos temperaturas en la fase ferromagnética a 2 K y en la fase superparamagnética a una temperatura de 300 K. Para hacer el cálculo de la cantidad de hierro en cada célula se toma el dato de la magnetización de remanencia de las células marcadas y se divide por el número de células de la muestra, obteniendo así la magnetización por célula. Como dentro de cada célula lo único que es magnético es el hierro, para obtener el peso de hierro por célula se divide la magnetización de las células por la magnetización de las USPIO. La cantidad de hierro que hay por célula es  $3.69 \cdot 10^{-7}$  g·Fe/células.

Por tanto, tanto las nanopartículas como las MSCs marcadas con USPIO tienen un comportamiento magnético similar.

Posteriormente se realizaron experimentos de migración *in vitro* de MSC-USPIO en medio líquido y semisólido (densidad cerebro) que mostraron de manera indiscutible que las células cargadas de hierro se movían en función de campos magnéticos aplicados, y que, además, sus propiedades y viabilidad no se veían alteradas por el hierro o por los imanes. Estos experimentos se realizaron con imanes estacionarios y con electroimán (7 Amperios), creando un campo magnético por encima de la magnetización de saturación (véanse gráficos de la variación del campo magnético con la distancia al imán estacionario IA y al electroimán E en la Figura 8).

Finalmente se realizó el ensayo *in vivo* en un modelo de rata control. Para ello se utilizó el sistema de la invención compuesto por:

- a) Un electroimán E (Figura 1) consistente en: dos bobinas (B) y dos polos (D) conectados a una fuente de alimentación. El papel del electroimán E, con una

intensidad de corriente eléctrica de 7 Amperios, es el de mantener un campo magnético de entre 200-250 mT en la región de la cabeza del animal para retener el mayor número de células.

- 5 b) Un casco S2 de ácido poliláctico, polímero biocompatible, diseñado a medida de la cabeza de la rata (Figura 2) y en uno de cuyos lados se había colocado un imán estacionario IE con una potencia magnética de hasta 150 mT a distancia cero. Ese imán estacionario IE sería el responsable de focalizar el campo magnético, como se demostró en los mapas de campo magnético (Figura 8). El campo magnético de las bobinas se midió con un teslámetro digital equipado de una sonda Hall de
- 10 sensibilidad estándar, montada en un manipulador lineal XYZ. La sonda tiene una precisión mejor del 99.997%. Se realizaron medidas del campo magnético a diferentes distancias de los polos de las bobinas según se observa en la Figura 8. Las medidas corresponden a secciones en el plano XY, con dimensiones 27x26 mm. Las distancias en el eje Z están referenciadas a la superficie del polo D del
- 15 electroimán E.
- c) Un soporte o camilla C donde se coloca al animal en posición de decúbito prono con la cabeza situada junto al polo D del electroimán E (Figura 3). Este soporte para la rata permite el ajuste en altura y su posicionamiento en la posición adecuada dentro del campo magnético generado por el electroimán E.

20 Tras colocar a la rata control, previamente anestesiada, se administraron por vía intravenosa en la vena de la cola, 1-2 millones de células marcadas con hierro, y a continuación se activó el campo magnético de 0 A (grupo control sin imán), -7 A (grupo experimental) (de manera que el polo D dispuesto a la izquierda de la rata sería el sur y el dispuesto a la

25 derecha el norte), consiguiendo las intensidades de campo magnético citadas (véase en la Figura 8 el gradiente de campo magnético).

Asimismo se realizó un análisis histológico de células marcadas con hierro en las diferentes regiones de los cerebros de unas ratas, después de utilizar sobre las mismas el sistema de

30 la presente invención para la aplicación del campo magnético combinado (electroimán + imán estacionario), que mostró un aumento claro del número de células respecto a los controles realizados sobre una rata de control.

El análisis histológico de los cerebros mostró un aumento significativo de concentración de

35 células en la región donde se hallaba ubicado el imán permanente, el cual estaba colocado sobre la piel de la rata a la altura de la región media. Se aplicó un campo magnético

combinado, en un caso aplicando una corriente de -7A en las bobinas B, y en otro aplicando +7A.

5 En los dos casos en que se aplicó el campo magnético, aunque de mayor entidad en el caso de la aplicación de un campo de +7A, se observó un mayor número de células en los cuadrantes correspondientes a regiones medias y posteriores. Sin embargo, en los controles, aunque sí que se observaron células (como se había descrito en casos de infusión intravenosa de MSCs de injerto espontáneo), se encontraron menos de 3 células por cuadrante.

10

En la Figura 8 se muestra, en escala de grises, el gradiente de campo magnético que genera el electroimán E cuando se ajusta una intensidad de corriente de -7 A en las bobinas B. Se midió experimentalmente un punto por cada milímetro con un medidor de campo. Cada grafica muestra el gradiente de campo magnético en el eje XY (véase Figura 1) para 15 diferentes distancias a lo largo del eje Z. Las medidas se realizaron sin y con el imán permanente IE, con el fin de proporcionar la comparativa del gradiente de campo magnético sin y con imán permanente que se ilustra en la Figura. En ésta se aprecia un ligero aumento en el gradiente de campo magnético cuando se utiliza el imán permanente, y, sobre todo, una gran focalización del mismo incluso en zonas profundas.

20

Asimismo, en la Figura 9 se muestra, también en escala de grises, el gradiente de campo magnético en la dirección ZX (ver Fig. 1) sobre la cabeza de la rata, donde se aprecia claramente el efecto de la presencia del imán estacionario IE porque aumenta localmente el flujo de campo magnético en la zona de interés.

25

Un experto en la materia podría introducir cambios y modificaciones en los ejemplos de realización descritos sin salirse del alcance de la invención según está definido en las reivindicaciones adjuntas.

## REIVINDICACIONES

1.- Sistema para el direccionamiento de células hacia regiones internas objetivo de un cuerpo humano o animal, que comprende unos medios de generación de campo magnético configurados para disponerse externamente adyacentes a una zona objetivo de dicho cuerpo humano o animal para atraer magnéticamente hacia regiones internas objetivo de dicha zona objetivo a unas células marcadas con nanopartículas superparamagnéticas que se inyecten por vía intravenosa, de forma distal, en dicho cuerpo humano o animal, estando el sistema **caracterizado** porque dichos medios de generación de campo magnético comprenden:

- un electroimán (E) y un primer soporte (S1) en el que se encuentra montado al menos parte de dicho electroimán (E);

- un sistema electrónico de control de dicho electroimán (E) que comprende un sistema de procesamiento configurado para calcular al menos la magnitud en tres dimensiones de un campo magnético a generar por el electroimán (E) y de una señal eléctrica de control a aplicar al electroimán (E) para que lo genere, a partir de unas variables de entrada relativas al menos a las propiedades magnéticas y fisicoquímicas de las células marcadas, a la distancia entre el punto de inyección de las mismas y las regiones internas objetivo y al tiempo de aplicación del campo magnético, con el fin de que la aplicación de la señal eléctrica durante un tiempo determinado provoque que el electroimán (E) genere un campo magnético con dicha magnitud calculada que atraiga y retenga a las células marcadas en dichas regiones internas objetivo; y

- al menos un imán permanente (IE) y un segundo soporte (S2) sobre el que se encuentra montado dicho imán permanente (IE) distanciado del electroimán (E), estando dicho imán permanente (IE) configurado para que cuando, por mediación de dicho segundo soporte (S2), se dispone adyacente a dicha zona objetivo del cuerpo humano o animal, focalice el campo magnético generado por el electroimán (E) para dirigir con precisión, en tres dimensiones, las células marcadas hacia las regiones internas objetivo.

2.- Sistema de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho electroimán (E) comprende dos bobinas (B) y dos respectivos polos (D) alineados entre sí y configurados para disponer al cuerpo humano o animal entre los mismos, quedando los polos (D) a lado y lado de dicha zona objetivo del mismo.

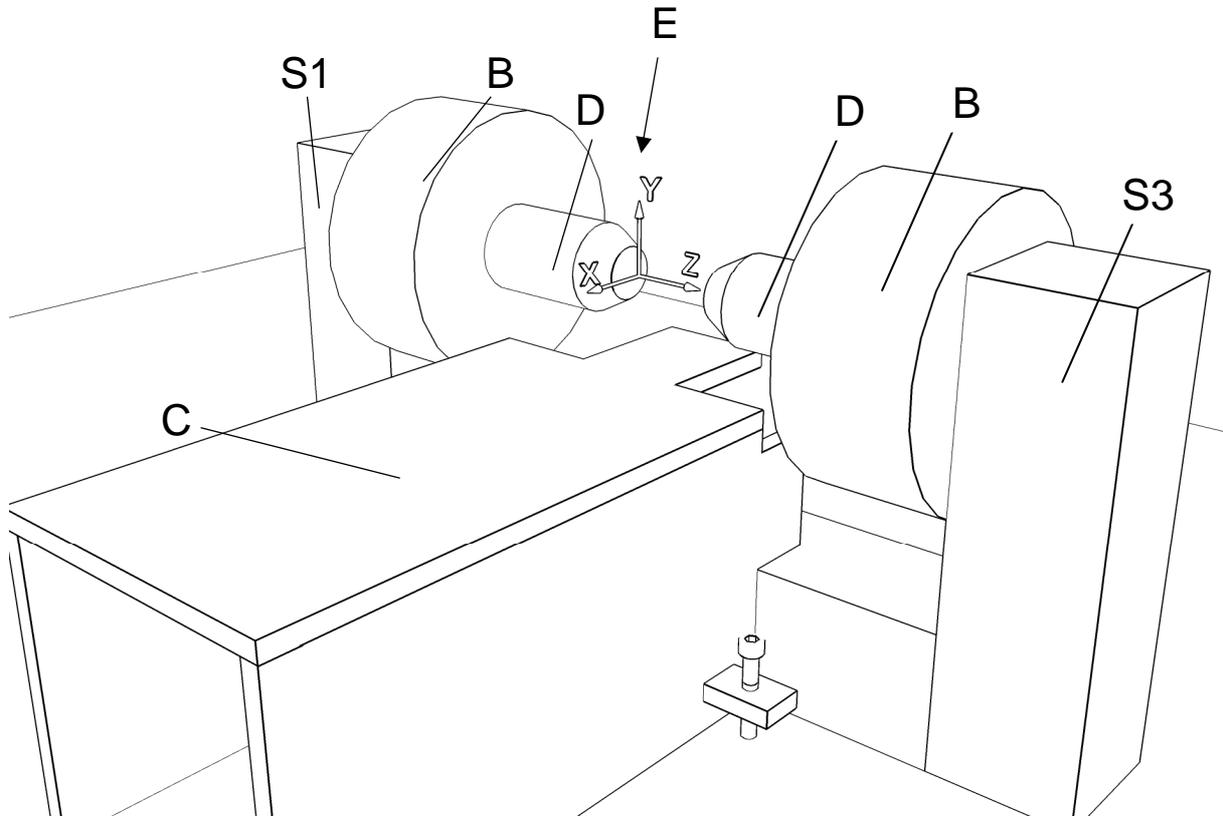
- 3.- Sistema de acuerdo con la reivindicación 2, en el que una de dichas bobinas (B) y su correspondiente polo (D) se encuentran montados en dicho primer soporte (S1), y la otra bobina (B) y polo (D) se encuentran montados en un tercer soporte, estando el segundo soporte (S2) configurado para disponer al imán permanente (IE), que es al menos uno, distanciado de ambos polos (D) y bobinas (B) del electroimán (E).
- 4.- Sistema de acuerdo con la reivindicación 2 ó 3, que comprende una plataforma o camilla (C) regulable en altura configurada para soportar al cuerpo humano o animal sobre la misma y posicionarlo entre los dos polos (D) del electroimán (E).
- 5.- Sistema de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho segundo soporte (S2) es móvil.
- 6.- Sistema de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el segundo soporte (S2) está configurado para acoplarse a una parte del cuerpo humano o animal posicionando al imán permanente (IE) que soporta, que es al menos uno, adyacente a dicha zona objetivo.
- 7.- Sistema de acuerdo con la reivindicación 6, en el que las regiones internas objetivo pertenecen al sistema nervioso central.
- 8.- Sistema de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el segundo soporte (S2) es un casco o gorro esterotáxico configurado para acoplarse a la cabeza del cuerpo humano o animal, posicionando tridimensionalmente al imán permanente (IE), que es al menos uno, adyacente a la misma, para focalizar el campo magnético generado por el electroimán (E) en regiones internas objetivo dentro del tejido cerebral de dicha cabeza.
- 9.- Sistema de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dichas variables asociadas a propiedades fisicoquímicas de las células marcadas se refieren al menos al diámetro medio de las mismas.
- 10.- Sistema de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el diámetro medio de las células marcadas tiene un valor que está entre 10 y 20 micras, preferentemente de sustancialmente 15 micras.

- 11.- Sistema de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el sistema de procesamiento tiene definidas unas restricciones para llevar a cabo dicho cálculo de la magnitud del campo magnético para que esté por encima de la magnetización de saturación de las células marcadas, y que tenga un valor preferentemente de entre 180 y 270 mT, y con más preferencia de entre 200 y 250 mT.
- 12.- Sistema de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, en el que dicho imán permanente (IE), que es al menos uno, tiene una potencia magnética de hasta 150 mT a distancia cero.
- 13.- Sistema de acuerdo con la reivindicación 11 ó 12, en el que dicho tiempo determinado tiene un valor de entre 1 y 60 minutos, preferentemente de entre 20 y 50 minutos y más preferentemente de sustancialmente 45 minutos.
- 14.- Sistema de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dichas células son células madre mesenquimales y dichas nanopartículas superparamagnéticas son partículas superparamagnéticas ultrapequeñas de óxido de hierro.
- 15.- Sistema de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un sistema de detección configurado y dispuesto para detectar la concentración de células marcadas en al menos las regiones internas objetivo, estando dicho sistema de detección conectado con el sistema electrónico de control para suministrarle información de detección relativa a dicha detección, y estando el sistema electrónico de control configurado para ajustar el control del electroimán (E) en función de la información de detección recibida, variando la magnitud del campo magnético generado y/o aumentando o disminuyendo el tiempo de aplicación y/o parando o iniciando la aplicación del mismo.
- 16.- Sistema de acuerdo con la reivindicación 15, en el que dicho sistema de detección es un sistema basado en neuroimagen por resonancia magnética.
- 17.- Sistema de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dichas variables de entrada son relativas también a al menos densidad y/o viscosidad del medio.
- 18.- Sistema de acuerdo con la reivindicación 17, donde el sistema de procesamiento está adaptado para llevar a cabo dicho cálculo de al menos la magnitud del campo magnético

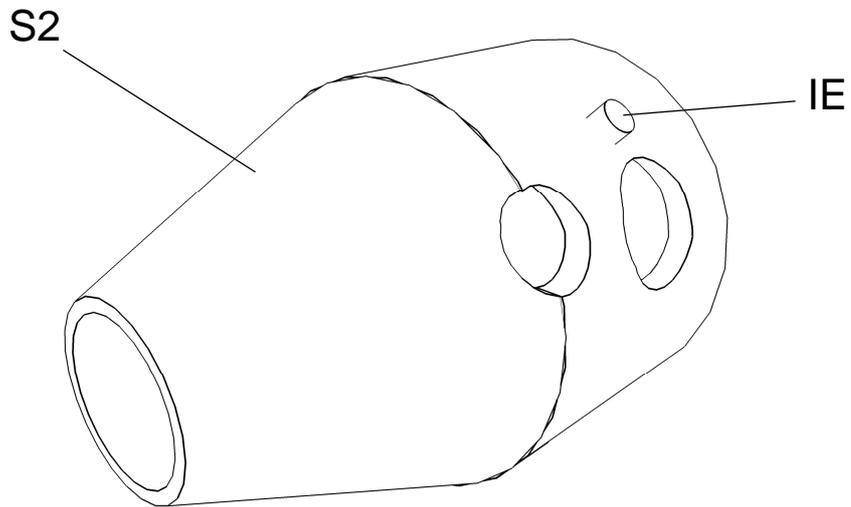
calculando primero la fuerza hidrodinámica de arrastre ( $F_A$ ) de las células marcadas por parte del flujo sanguíneo, y estableciendo como condición para el cálculo de la magnitud del campo magnético que la fuerza magnética ( $F_M$ ) de atracción que experimentan las células marcadas con nanopartículas superparamagnéticas en la dirección de aplicación del mismo debe tener un valor igual o mayor al de dicha fuerza hidrodinámica de arrastre ( $F_a$ ) calculada.

19.- Sistema de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el sistema de procesamiento está adaptado para realizar dicho cálculo de la fuerza hidrodinámica de arrastre ( $F_a$ ) de las células por el flujo sanguíneo utilizando la aproximación de Stokes o aproximación de arrastre en una esfera en un campo aplicado, según la siguiente expresión:  $F_a=6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot R \cdot v_r$ , donde  $\eta$  es la viscosidad del medio, R es el radio de la célula, y  $v_r$  indica la velocidad de las células en una determinada dirección.

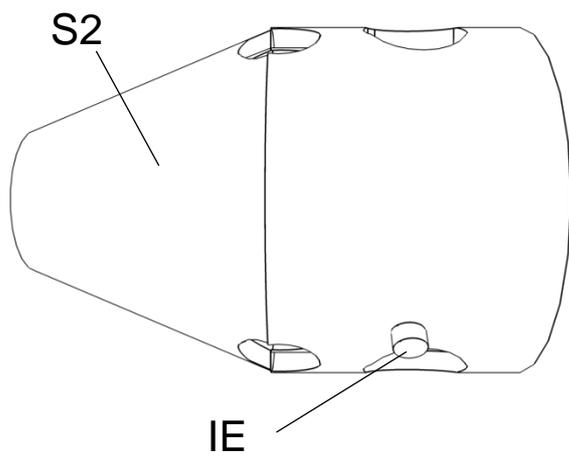
20.- Programa de ordenador, que incluye instrucciones de código que cuando se ejecutan en un ordenador realizan el cálculo de al menos la magnitud en tres dimensiones del campo magnético a generar por el electroimán (E) y, con el fin de que lo genere, de una señal eléctrica de control a aplicar al electroimán (E) del sistema de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.



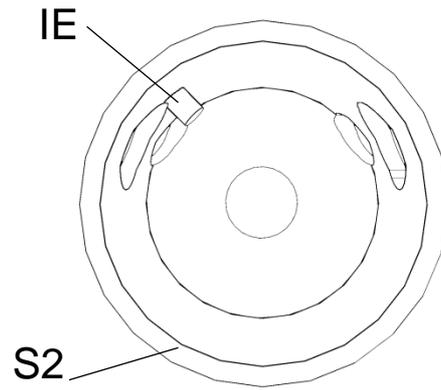
**Fig. 1**



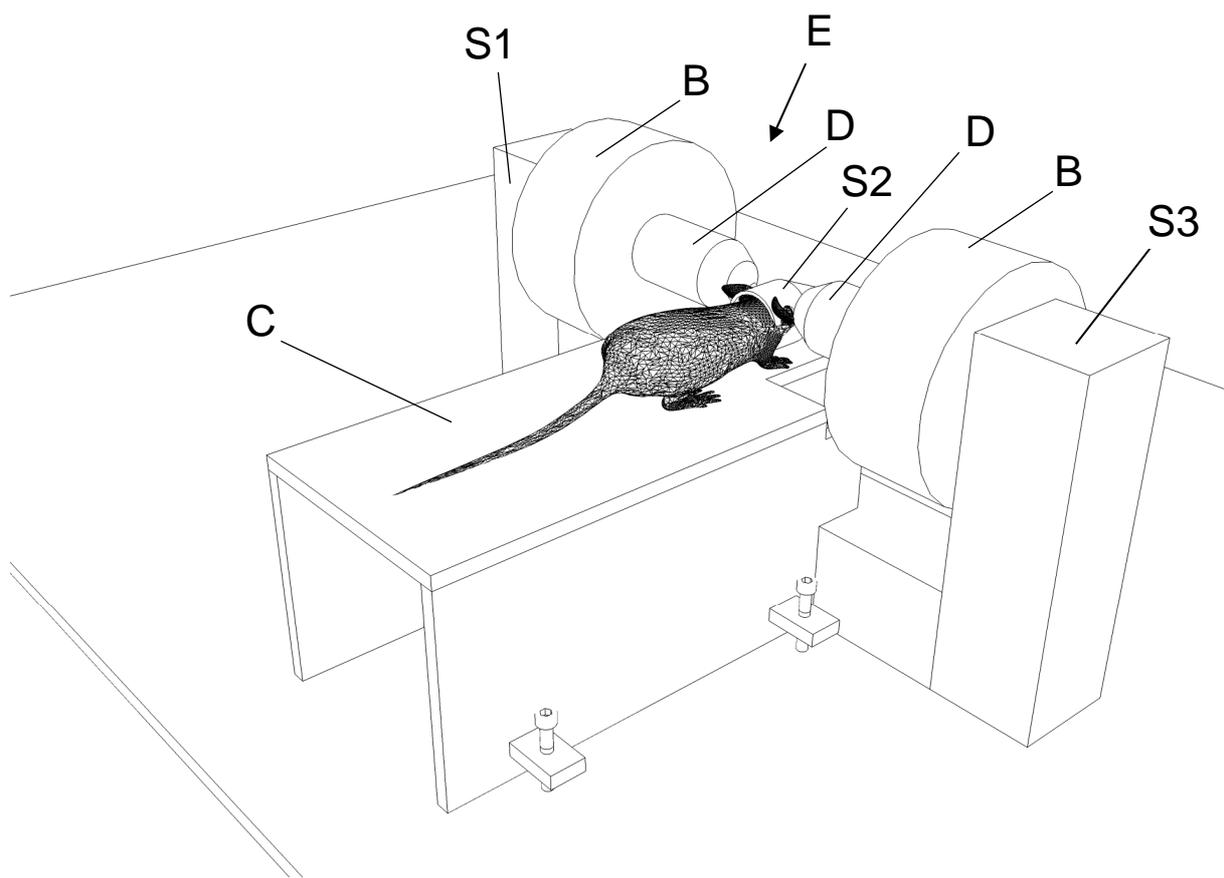
**Fig. 2a**



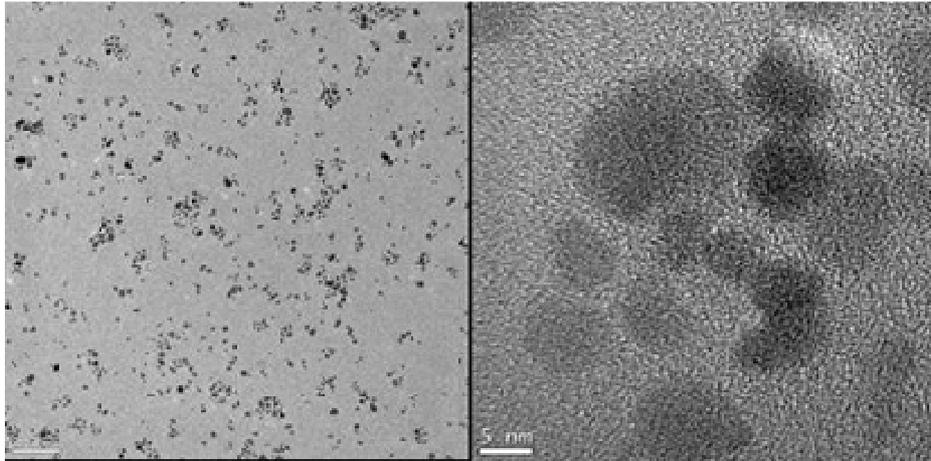
**Fig. 2b**



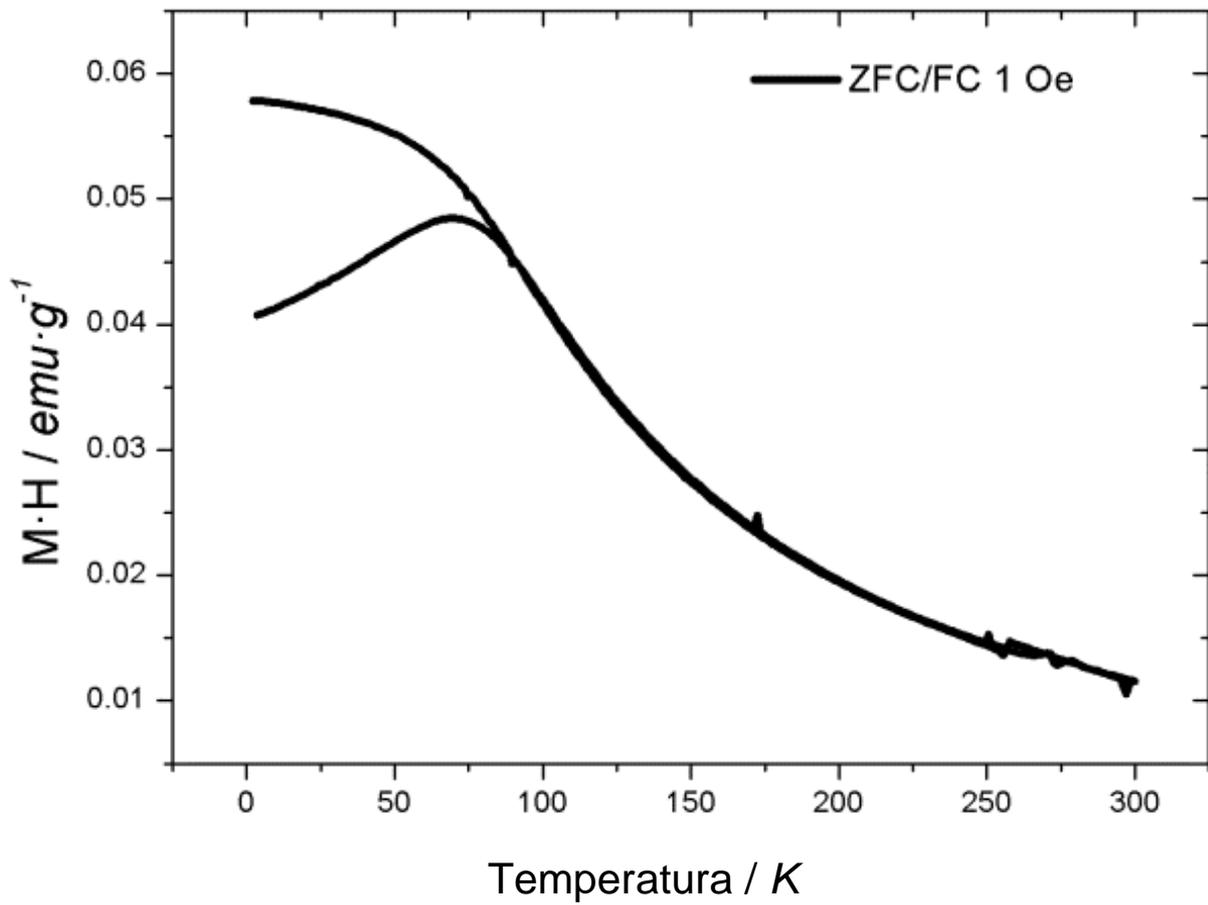
**Fig. 2c**



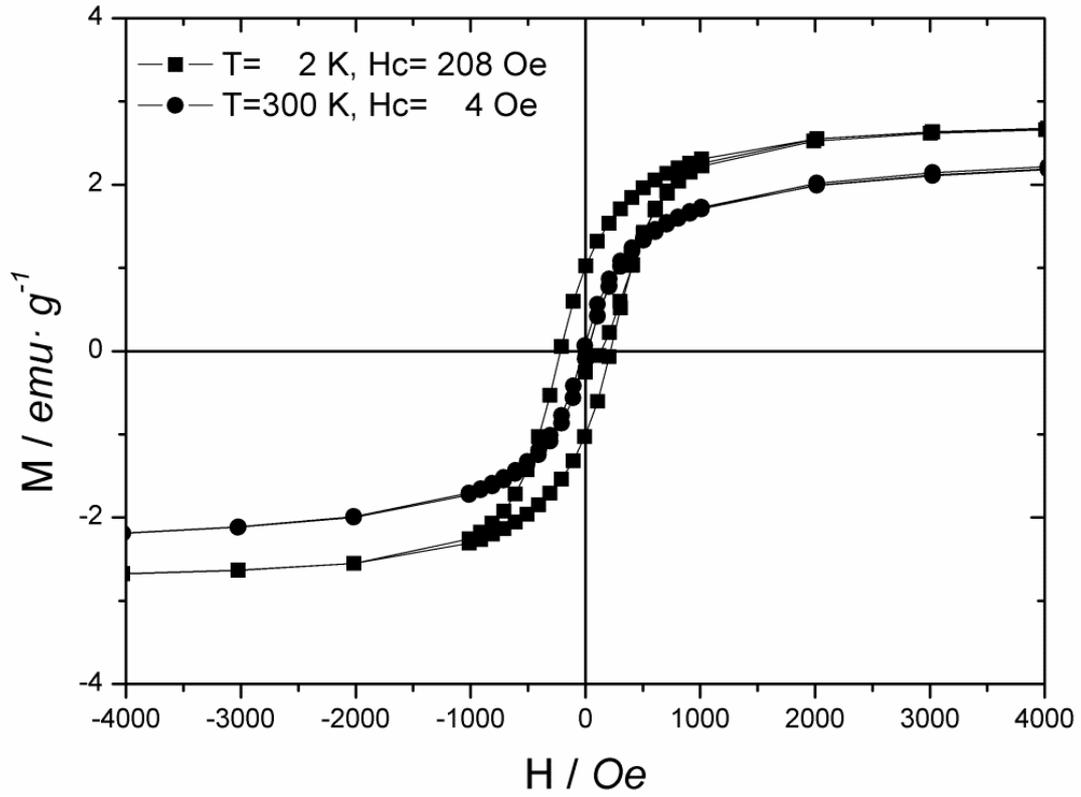
**Fig. 3**



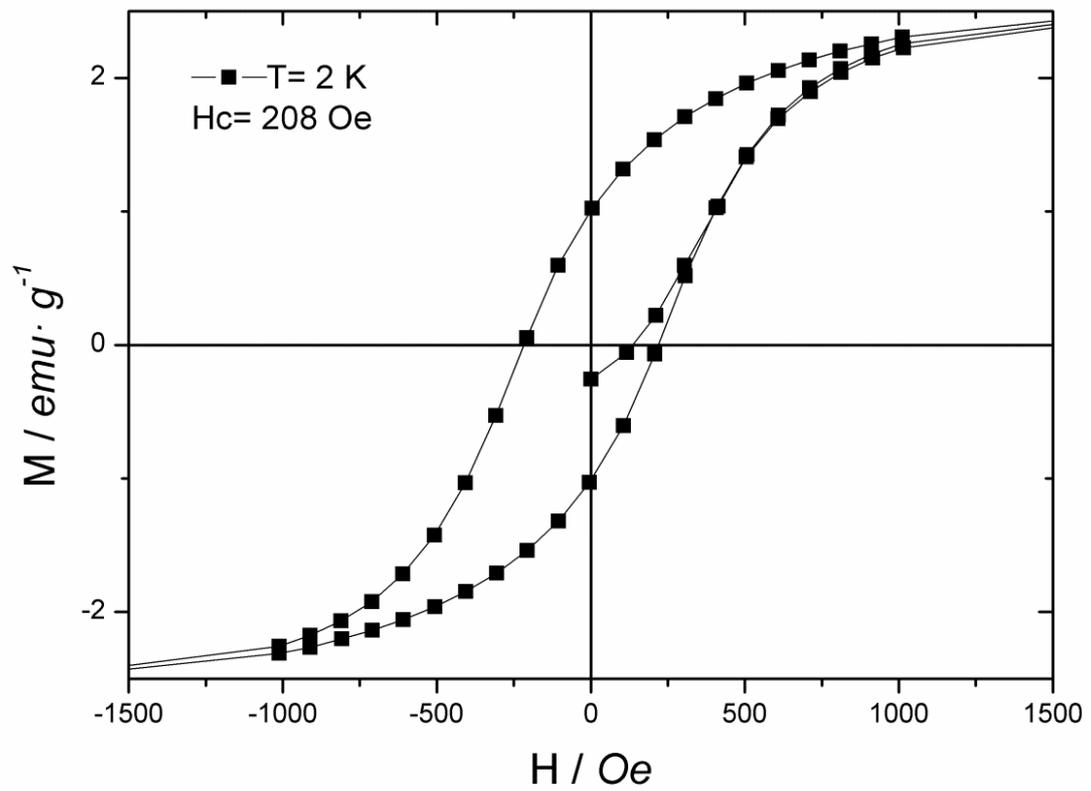
**Fig. 4**



**Fig. 5**



**Fig. 6a**



**Fig. 6b**

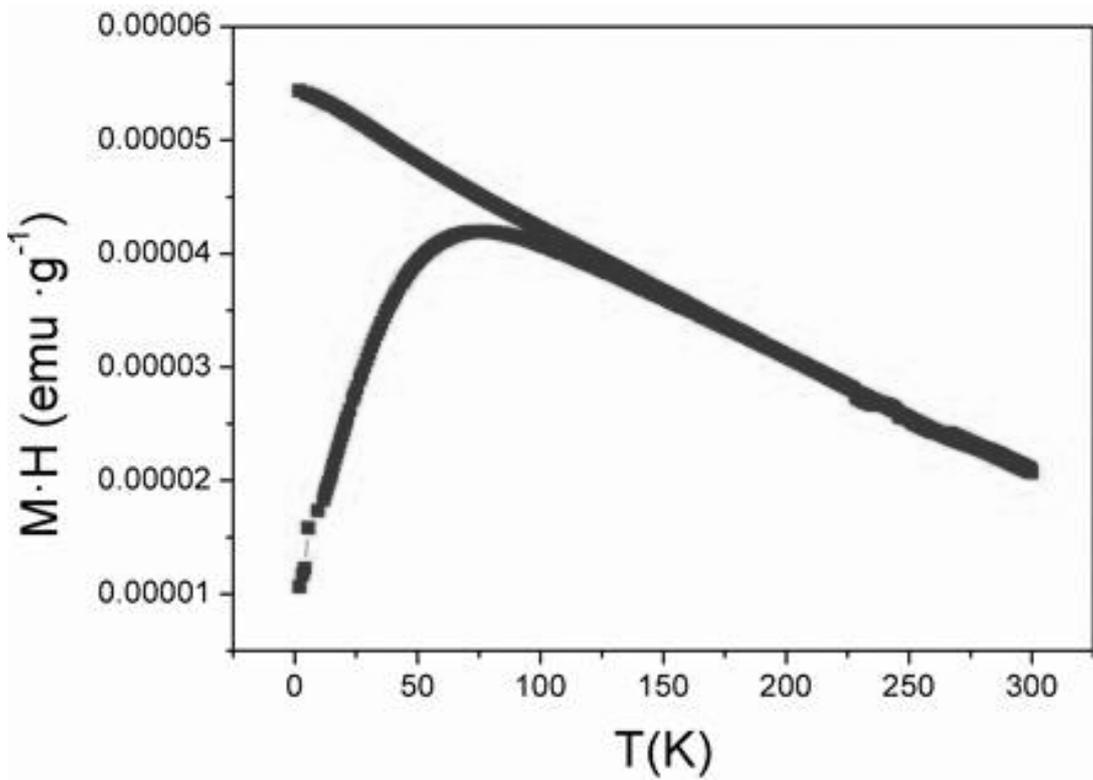


Fig. 7a

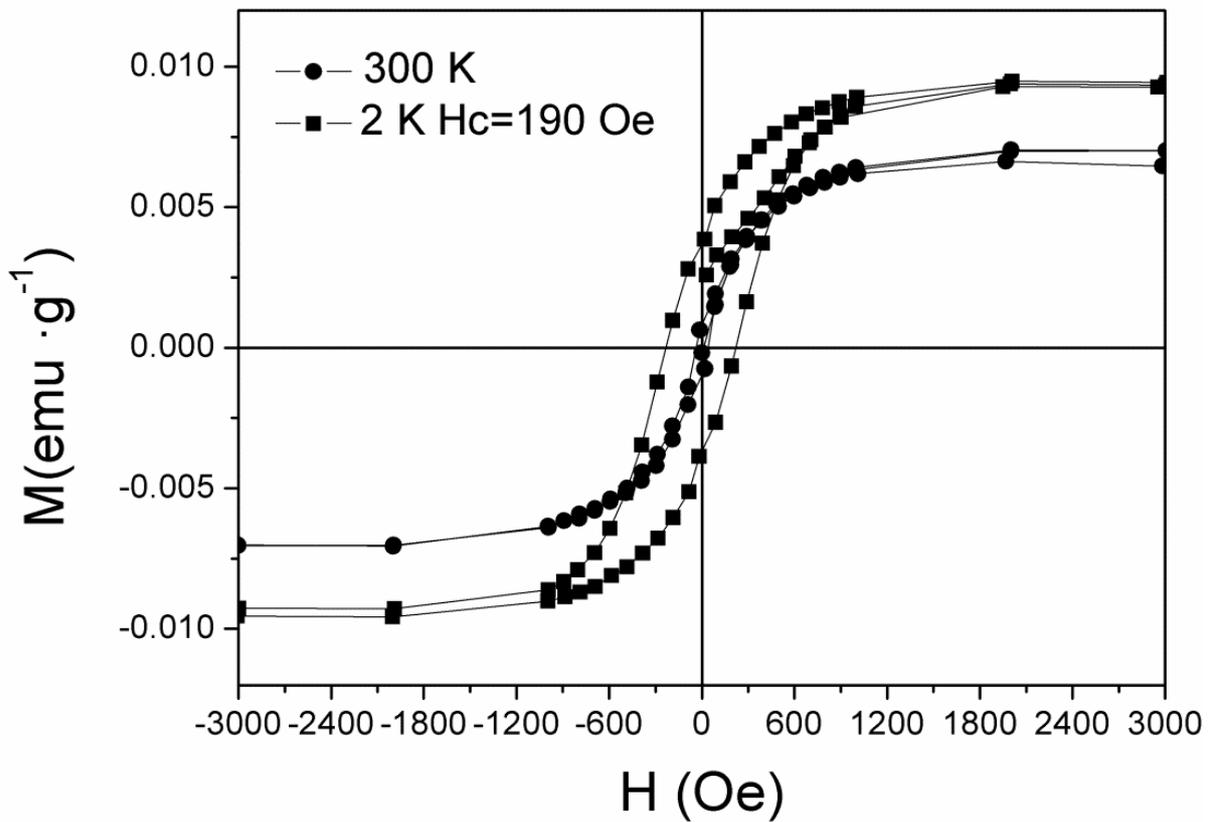
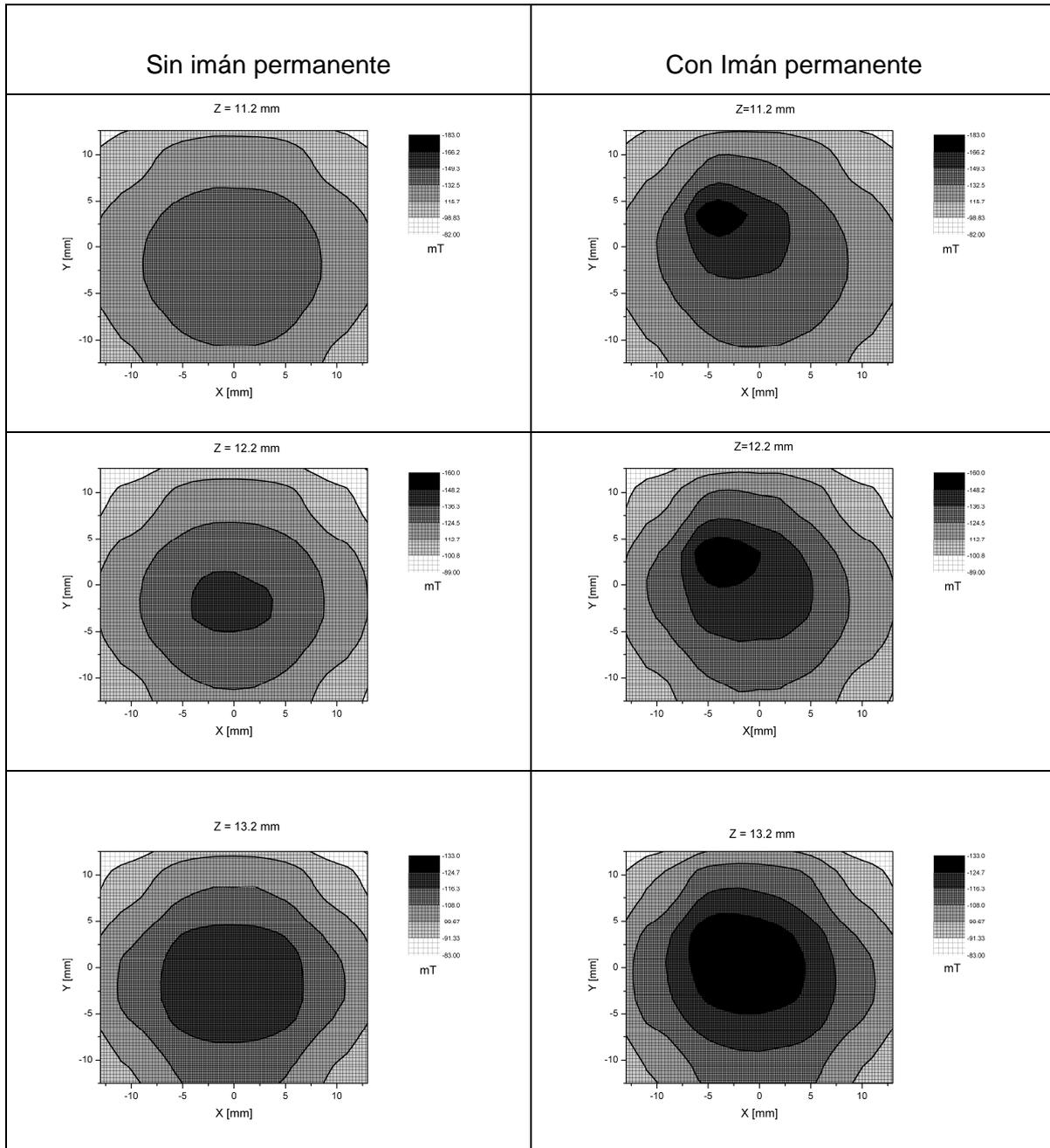
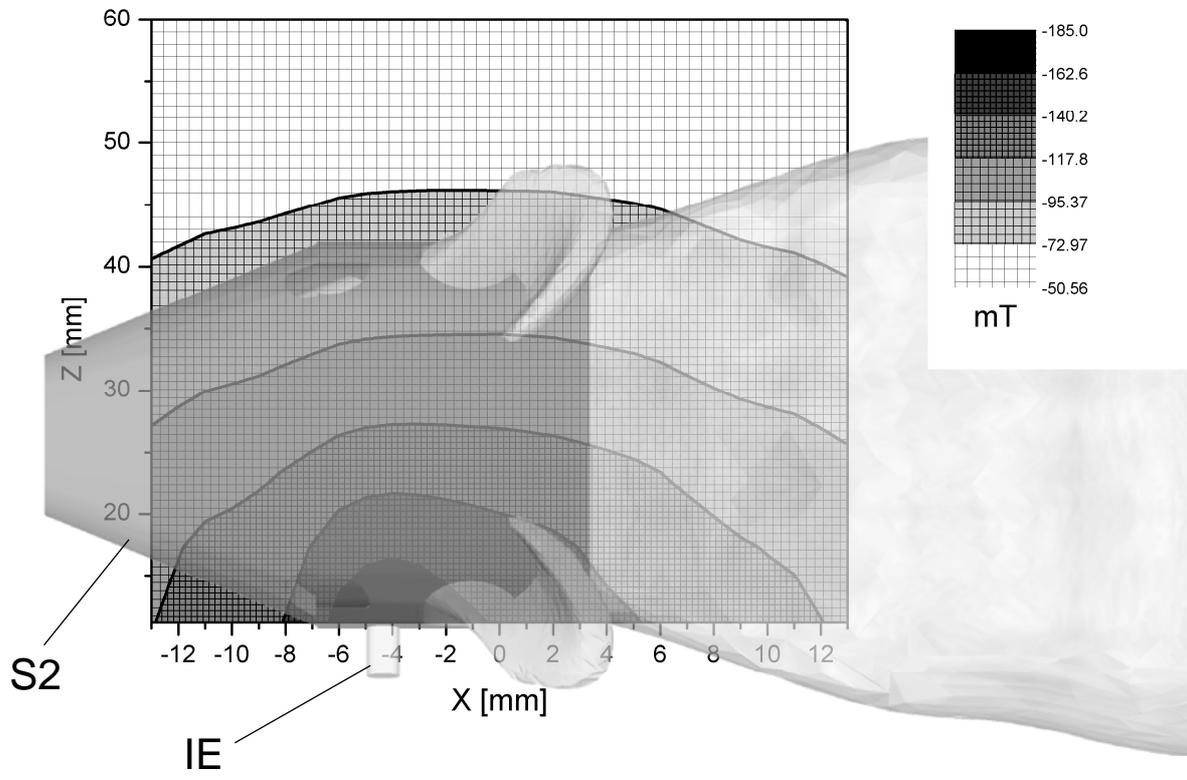


Fig. 7b



**Fig. 8**



**Fig. 9**



- ②① N.º solicitud: 201630386  
②② Fecha de presentación de la solicitud: 31.03.2016  
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	US 2009287036 A1 (SHAPIRO BENJAMIN et al.) 19/11/2009, párrafos [0055 - 0056]; párrafo [0059]; párrafo [0069]; párrafo [0073]; párrafo [0080]; párrafo [0087]; párrafos [0095 - 0100]; párrafo [0105]; figuras 1 - 2 y 8.	1-20
A	US 2011301452 A1 (MASCHKE MICHAEL et al.) 08/12/2011, párrafos [0060 - 0061]; párrafos [0066 - 0067]; figura 3.	3-4
A	US 2011070202 A1 (YAROWSKY PAUL et al.) 24/03/2011, figura 4.	6
A	WO 2015023980 A2 (METHODIST HOSPITAL et al.) 19/02/2015, figura 1.	8
A	SHAPIRO, B. "Towards dynamic control of magnetic fields to focus magnetic carriers to targets deep inside the body", Journal of Magnetism and Magnetic Materials, Volume 321, Issue 10, May 2009, Pages 1594-1599, ISSN 0304-8853, <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.jmmm.2009.02.094">http://dx.doi.org/10.1016/j.jmmm.2009.02.094</a> . ( <a href="http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304885309001619">http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304885309001619</a> )	1,17-20

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia  
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría  
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita  
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud  
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

**El presente informe ha sido realizado**

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe  
15.02.2017

Examinador  
E. P. Pina Martínez

Página  
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

**A61N2/12** (2006.01)

**A61K48/00** (2006.01)

**A61K49/18** (2006.01)

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

A61N, A61K

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

INVENES, EPODOC

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 15.02.2017

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-20	<b>SI</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-20	<b>NO</b>

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

**Base de la Opinión.-**

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

**1. Documentos considerados.-**

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

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	US 2009287036 A1 (SHAPIRO BENJAMIN et al.)	19.11.2009

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

Se considera D01 el documento del estado de la técnica anterior más próximo al objeto de la solicitud. Este documento afecta al requisito de actividad inventiva de todas las reivindicaciones, tal y como se explicará a continuación.

Reivindicación 1

El documento D01 describe el siguiente dispositivo (entre paréntesis se incluyen referencias a D01, ver figuras 1-2):

Sistema (10) para el direccionamiento de células hacia regiones internas objetivo de un cuerpo humano que comprende unos medios de generación de campo magnético (20, 22; párr. [0025]) configurados para disponerse externamente adyacentes a una zona objetivo de dicho cuerpo humano para atraer magnéticamente hacia regiones internas objetivo de dicha zona objetivo unas células marcadas con nanopartículas magnéticas (párr. [0080]) que se inyecten por vía intravenosa (210) en dicho cuerpo humano, comprendiendo dichos medios de generación de campo magnético:

- un electroimán (20,22);
- un sistema electrónico de control (40) de dicho electroimán (20,22, 30) que comprende un sistema de procesamiento (50) configurado para calcular la magnitud en tres dimensiones del campo magnético que generará el electroimán (ver fig. 8) y de una señal eléctrica de control aplicable al electroimán para que lo genere a partir de unas variables de entrada relativas a las propiedades magnéticas y fisicoquímicas de las células marcadas, la geometría vascular del paciente y el tiempo de aplicación del campo magnético (ver párr.. [0095]- [0098]);
- unos imanes permanentes adicionales (fig. 2, párr. [0059]) que focalizan el campo magnético generado por el primer electroimán (20,22).

La diferencia observada entre el dispositivo anteriormente descrito y el dispositivo reivindicado en la solicitud reside en que los medios de procesamiento de este último están específicamente configurados para calcular la señal de control a partir de la distancia entre el punto de inyección y la región interna objetivo.

No obstante, se considera la elección de la distancia una selección obvia dentro de los parámetros que constituyen la geometría vascular del paciente mencionada en D01 en relación con la definición del algoritmo de control del procesador (ver párr. [0095]- [0098]).

En cuanto a los soportes de los imanes o electroimanes se consideran características implícitamente descritas en D01.

En consecuencia, se considera que la reivindicación 1 no cumple con el requisito de actividad inventiva establecido en el art. 8.1 de la Ley de Patentes 11/86.

Reivindicaciones 2-20

Las reivindicaciones dependientes 2-20 no comprenden características adicionales o alternativas que, en combinación con las características de las reivindicaciones de las que dependen, satisfagan el requisito de actividad inventiva (art. 8.1 Ley 11/86).

En conclusión, a la vista del estado de la técnica anterior, la solicitud no satisface los requisitos de patentabilidad establecidos en el Art. 4.1 de la ley de Patentes 11/86.