

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 019 564**

51 Int. Cl.:

A61N 1/36 (2006.01)
A61N 1/04 (2006.01)
A61F 9/00 (2006.01)
A61N 1/378 (2006.01)
G02C 7/04 (2006.01)
G02C 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.10.2020** **PCT/US2020/057680**
87 Fecha y número de publicación internacional: **06.05.2021** **WO21086924**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2020** **E 20881237 (0)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2025** **EP 4051373**

54 Título: **Sistema que induce cambios epigenéticos en las células y tejido oculares y orbitales**

30 Prioridad:

28.10.2019 US 201962927038 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.05.2025

73 Titular/es:

UNIVERSITY OF SOUTHERN CALIFORNIA
(100.00%)
1150 South Olive Street, Suite 2300
Los Angeles, CA 90015, US

72 Inventor/es:

HUMAYUN, MARK S.;
LAZZI, GIANLUCA;
SALHIA, BODOUR;
MACHNOOR, MANJUNATH y
PAKNAHAD, JAVAD

74 Agente/Representante:

PONTI & PARTNERS, S.L.P.

ES 3 019 564 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

Sistema que induce cambios epigenéticos en las células y tejido oculares y orbitales

5 ANTECEDENTES

1. Campo

10 [0001] La presente memoria descriptiva se refiere a sistemas y procedimientos para inducir cambios en un ojo o zonas adyacentes .

2. Descripción de la técnica relacionada

15 [0002] La ceguera retiniana, tal como la retinosis pigmentaria (RP), la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) y el glaucoma (GPAA), son enfermedades multifásicas que se caracterizan por una muerte neuronal continua (pérdida de fotorreceptores en la RP y la DMAE, y pérdida de células ganglionares en el GPAA). La reconexión, la reprogramación y la migración neuronal pueden manifestarse de forma temprana en estas enfermedades. Se han identificado diversos mecanismos que explican la muerte neuronal en estos diferentes trastornos de ceguera retiniana (por ejemplo mutaciones genéticas en la RP, anomalías del metabolismo lipídico e inflamación en la DMAE, y presión intraocular elevada en el GPAA, por mencionar algunos). Si bien existen tratamientos para mejorar estas enfermedades, para muchos de los afectados no existe cura. Por lo tanto, es necesario mejorar el tratamiento de estas enfermedades.

25 [0003] El documento US-A1-2018/332409 divulga un audífono montado en el ojo que estimula una córnea utilizando sonido capturado con un micrófono. El documento WO-A1-2019/028474 divulga sistemas y procedimientos para la estimulación inalámbrica de tejido biológico, en particular para la terapia del glaucoma. El documento US-A1-2016/106576 divulga controladores para el tratamiento del ojo seco que comprenden un parche fijado a la piel de los párpados superior y/o inferior para suministrar calor.

30 RESUMEN

35 [0004] Los aspectos de la presente invención se describen en las reivindicaciones independientes, y las características preferidas en las reivindicaciones dependientes. Se describe un sistema para provocar cambios en las células o el tejido oculares o adyacentes al ojo. El sistema incluye una bobina de RF externa configurada para transmitir señales de RF. El sistema también incluye un dispositivo portátil configurado para disponerse de manera extraíble en el ojo, incluyendo el dispositivo portátil una pluralidad de bobinas de radiofrecuencia (RF) internas configuradas para recibir las señales de RF de la bobina de RF externa, y una pluralidad de electrodos de estimulación configurados para estimular electromagnéticamente una parte del ojo o una zona adyacente al ojo, provocando cambios en las células o el tejido oculares o adyacentes al ojo.

40 [0005] También se describe con fines ilustrativos un procedimiento para provocar cambios en las células o el tejido oculares o adyacentes al ojo. El procedimiento incluye transmitir señales de RF mediante una bobina de RF externa. El procedimiento también incluye recibir señales de RF de la bobina de RF externa mediante una pluralidad de bobinas de radiofrecuencia (RF) internas de un dispositivo portátil dispuesto de manera extraíble en el ojo. El procedimiento también incluye estimular, mediante una pluralidad de electrodos de estimulación, una parte del ojo o una zona adyacente al ojo, lo que provoca los cambios en las células o el tejido oculares o adyacentes al ojo.

50 [0006] También se describe un dispositivo portátil con una superficie exterior y una superficie interior, estando la superficie interna configurada para entrar en contacto de forma extraíble con el ojo del usuario. El dispositivo portátil también incluye una pluralidad de electrodos de estimulación configurados para estimular electromagnéticamente una parte del ojo o una zona adyacente al ojo, lo que provoca cambios en las células o el tejido oculares o adyacentes al ojo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

55 [0007] Otros sistemas, procedimientos, características y ventajas de la presente invención resultarán evidentes para un experto en la materia al examinar las siguientes figuras y la descripción detallada. Las partes de componentes mostradas en los dibujos no están necesariamente a escala y pueden estar exagerados para ilustrar mejor las características importantes de la presente invención.

60 La Figura 1 ilustra una descripción general de un proceso del sistema, de acuerdo con varias realizaciones de la presente invención.

La Figura 2A ilustra un sistema para inducir cambios en un ojo o zonas circundantes/adyacentes, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

65 La Figura 2B ilustra un dispositivo portátil utilizado en el sistema de la Figura 2A, según diversas realizaciones de la presente invención.

La Figura 2C ilustra los electrodos de estimulación del dispositivo portátil, según diversas realizaciones de la presente

invención.

La Figura 3 ilustra partes del ojo que pueden ser tratadas por el sistema, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

La Figura 4 ilustra bobinas de RF externas ubicadas en dispositivos, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

Las Figuras 5A-5C ilustran realizaciones del sistema, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

La Figura 6A ilustra un proceso de provocar cambios utilizando el sistema, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

La Figura 6B ilustra un proceso de verificación de la inducción de cambios epigenéticos por el sistema, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

Las Figuras 7A-7L ilustran un esquema del circuito del sistema y las características de estos componentes, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

Las Figuras 8A-8D ilustran un esquema del circuito del sistema y las características de estos componentes, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

Las Figuras 9A-9B ilustran una simulación del sistema, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

La Figura 10 ilustra un mapa de calor de agrupamiento jerárquico no supervisado de las regiones diferencialmente metiladas (RDM) más significativas, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

La Figura 11 ilustra un diagrama de dispersión que muestra la correlación entre los valores beta de metilación derivados de la secuenciación del genoma completo con bisulfito (WGBS, *whole genome bisulfite sequencing*) y la secuenciación con bisulfito dirigida, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

La Figura 12 ilustra los niveles de expresión de genes seleccionados determinados por reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa cuantitativa (qRT-PCR) de retinas de rata con degeneración de la retina en múltiples puntos temporales posteriores a la estimulación eléctrica transcorneal (EET), de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

Las FIGURAS 13A-13B ilustran regiones diferencialmente metiladas (RDM, *differentially methylated regions*) identificadas como las más significativamente alteradas después de la estimulación eléctrica, de acuerdo con realizaciones de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0008] Aunque el campo de la epigenética clásica ha sido ampliamente estudiado, la neuroepigenética (relativa al estudio de la epigenética en neuronas postmitóticas) es un campo de estudio relativamente incipiente y emergente. Además, existe una escasez especial de datos sobre la epigenética de la retina, considerada una extensión del Sistema Nervioso Central (SNC). La estimulación eléctrica de la retina o de células de Müller cultivadas puede provocar cambios transcriptómicos indicativos de cambios neuroprotectores, que incluyen la regulación negativa de genes proapoptóticos, tales como Bax y la regulación positiva de genes prosupervivencia, tales como el factor neurotrófico derivado del cerebro (bdnf). Los sistemas y procedimientos descritos en este documento demuestran, por primera vez, que la estimulación eléctrica no invasiva controlada puede provocar cambios epigenéticos en la retina con implicaciones para la neuroprotección. Los sistemas y procedimientos descritos en este documento permiten una neuroprotección retiniana sistemática y, por lo tanto, más fiable, y reproducible.

[0009] Por consiguiente, los sistemas y procedimientos descritos en este documento se basan en la remodelación neuroepigenética y de la cromatina de la retina, inducida mediante estimulación eléctrica controlada, que constituye un determinante molecular clave de la neuroprotección. Esto es fundamental para el tratamiento de enfermedades degenerativas de la retina, tal como se muestra en Figura 1. Los sistemas y procedimientos descritos en este documento utilizan un dispositivo portátil no invasivo para controlar la estimulación eléctrica e inducir cambios epigenéticos en el ojo, ralentizando así la progresión de la degeneración neuronal. En algunas realizaciones, el dispositivo portátil es una lente de contacto blanda con forma de rosquilla, con bobinas y electrodos, que se usa por la noche y que en este documento se denominará "lente electrónica".

[0010] Los mecanismos patológicos en las enfermedades retinianas prevalentes (por ejemplo, la degeneración de los fotorreceptores, tales como la retinosis pigmentaria (RP) y la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), o el glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA)) se están comprendiendo mejor. A pesar de esto, debido a las más de 100 mutaciones que causan la RP, por ejemplo, curar esta familia de mutaciones más allá del éxito puntual de la terapia génica, tal como se observa en la rara condición de amaurosis congénita de Leber (mutación RPE65), ha sido una tarea abrumadora. De manera similar, el control de la presión intraocular se vuelve más difícil con la progresión del glaucoma y se necesita neuroprotección.

[0011] Los usos previos de la estimulación eléctrica y magnética de la retina se han limitado a dispositivos de rehabilitación, a menudo utilizados para eludir las neuronas dañadas y restaurar parcialmente la visión en pacientes con ceguera casi total. Los sistemas y procedimientos descritos en este documento introducen un enfoque diferente mediante un cambio de paradigma para prevenir o retrasar la pérdida neuronal que se experimenta en enfermedades incurables, tales como la RP, la DMAE y el GPAA. Los campos electromagnéticos controlados pueden modular las alteraciones neuronales funcionales y morfológicas mediante la explotación de la regulación transcripcional de la expresión génica, potenciada por el empaquetamiento de la cromatina y la remodelación epigenómica. Este enfoque puede utilizarse tanto en las primeras etapas de la evolución de las enfermedades de la retina para ralentizar su

progresión como en las últimas etapas de la enfermedad, complementando las terapias farmacológicas y quirúrgicas. Es importante destacar que la forma de estimulación eléctrica utilizada en este documento es muy diferente y no es la del tipo utilizado en las prótesis neuronales, que utilizan la estimulación eléctrica para eludir los fotorreceptores dañados y activar las neuronas retinianas restantes para restaurar la función visual.

[0012] La estimulación eléctrica transcorneal (EET) puede reducir la tasa de muerte de fotorreceptores y retrasar la progresión de enfermedades degenerativas de la retina. Otros procedimientos invasivos pueden tener diversos efectos en la retina, desde la estimulación de la supervivencia de las células ganglionares retinianas axotomizadas hasta el rescate de los fotorreceptores. Sin embargo, no se han caracterizado suficientemente las causas responsables de estos efectos ni se conocen bien sus mecanismos fundamentales .

[0013] La Figura 2A ilustra un sistema 200 para estimulación eléctrica transcorneal (EET). El sistema 200 incluye un dispositivo portátil 202 configurado para colocarse de forma extraíble en el ojo 203. Es decir, el dispositivo portátil 202 puede colocarse y extraerse del ojo 203. El dispositivo portátil 202 puede ser similar en material, forma y dimensiones a una lente de contacto. En algunas realizaciones, el dispositivo portátil 202 tiene una abertura 207 en el centro que permite la oxigenación corneal. La abertura 207 también puede proporcionar una abertura para la córnea, el iris y la pupila (entre otras partes del ojo 203) para que el usuario pueda ver a través del dispositivo portátil 202.

[0014] El dispositivo portátil 202 incluye una pluralidad de bobinas de radiofrecuencia (RF) internas 204 conectadas a una pluralidad de electrodos de estimulación 206. También pueden estar conectados a las bobinas de RF internas 204 y a los electrodos de estimulación uno o más condensadores y diodos 210.

[0015] Los electrodos de estimulación 206 no cubren ni dañan la córnea y están diseñados para maximizar el flujo de corriente eléctrica en la retina según lo determinado a través de simulaciones computacionales descritas en este documento.

[0016] Las bobinas de RF internas 204 están configuradas para recibir inductivamente energía de las bobinas de RF externas 208. Es decir, las bobinas de RF externas 208 envían señales de RF a las bobinas de RF internas 204, y bobinas de RF internas 204 reciben las señales de RF. La energía recibida de las bobinas de RF externas 208 se suministra a los electrodos de estimulación para estimular diversas partes del ojo 203.

[0017] Puede haber cualquier número de electrodos de estimulación 206 ubicados en diversas ubicaciones del dispositivo portátil 202. Los electrodos de estimulación 206 pueden tener cualquier forma, según sea apropiado para el tratamiento del ojo 203. También puede haber cualquier número de bobinas de RF internas 204, cada una con cualquier número de espiras. El número exacto de bobinas de RF internas 204 y electrodos de estimulación 206 puede variar según la aplicación del sistema 200 y/o el tamaño o las dimensiones del ojo 203 del usuario. De igual manera, el número exacto de bobinas de RF externas 208 también puede variar.

[0018] La Figura 2B ilustra el dispositivo portátil 202 sin las bobinas de RF internas 204. El dispositivo portátil 202 tiene una superficie exterior 212 y una superficie interior 214. La superficie interior 214 está configurada para entrar en contacto con el ojo 203 del usuario. La superficie exterior 212 está opuesta a la superficie interior 214 y la superficie exterior 212 está orientada hacia las bobinas de RF externas 208. El dispositivo portátil 202 también puede incluir una pluralidad de ranuras 216 para recibir y alojar las bobinas de RF internas 204. La pluralidad de ranuras 216 pueden estar ubicadas en la superficie exterior 212 o en la superficie interior 214. En algunas realizaciones, la pluralidad de ranuras 216 son canales formados dentro del dispositivo portátil 202 y las bobinas de RF internas 204 están integradas en el dispositivo portátil 202 entre la superficie exterior 212 y la superficie interior 214.

[0019] Los electrodos de estimulación 206 y los condensadores y diodos 210 pueden ubicarse en la superficie exterior 212 o en la superficie interior 214 del dispositivo portátil 202 o, en algunas realizaciones, pueden estar integrados en el material del dispositivo portátil 202, de modo que se encuentren entre la superficie exterior 212 y la superficie interior 214. La ubicación eficaz de los electrodos de estimulación 206 en el ojo 203 ayuda a reducir la impedancia, en comparación con un sistema donde los electrodos de estimulación se ubican fuera del ojo y el párpado se encuentra entre este y los electrodos de estimulación. En sistemas donde el párpado separa el ojo de los electrodos de estimulación, el párpado y otras partes del usuario pueden introducir impedancia en el sistema, lo que reduce la eficiencia y la eficacia.

[0020] La Figura 2C ilustra un ejemplo de disposición de los electrodos de estimulación 206 (por ejemplo, electrodo negativo 206A, electrodo positivo 206B, electrodo de tierra 206C) del dispositivo portátil 202. Puede haber un electrodo de tierra 206C en forma de arco ubicado en la mitad superior del dispositivo portátil 202. También puede haber un electrodo negativo 206A ubicado en el cuadrante inferior derecho del dispositivo portátil 202 y un electrodo positivo 206B ubicado en el cuadrante inferior izquierdo del dispositivo portátil 202. La ubicación de los electrodos de estimulación 206 puede dar lugar a una estimulación enfocada en una ubicación particular 218 del ojo.

[0021] La realización mostrada en la Figura 2C es un ejemplo de realización de ubicaciones y formas de los electrodos de estimulación 206 para enfocar la estimulación en la ubicación 218, y son posibles otras realizaciones para enfocar la estimulación en otras ubicaciones.

[0022] Podría existir una relación entre los cambios en la cromatina y la dinámica epigenómica con la exposición a campos electromagnéticos, en particular aplicados en la retina. Si bien las alteraciones genéticas y epigenéticas intervienen en el inicio y la progresión de la degeneración retiniana, no existen terapias basadas en epigenética que ralenticen o detengan la progresión implacable de los cambios degenerativos en la retina, ni a nivel de los fotorreceptores ni de las células ganglionares. Los sistemas y procedimientos descritos en este documento son un medio completamente diferente para utilizar campos electromagnéticos y hacerlo de forma no invasiva para inducir cambios epigenéticos que serían neuroprotectores (es decir, mediante una lente personalizada con bobinas y electrodos biocompatibles para inducir cambios epigenéticos que protejan las neuronas retinianas en modelos animales de degeneración de fotorreceptores y células ganglionares). Este enfoque puede emplearse tanto en etapas tempranas de enfermedades, tales como la RP, DMAE y GPAA, como tratamiento complementario en etapas tardías de enfermedades retinianas, en combinación con fármacos, dispositivos o cirugía. Por ejemplo, el dispositivo portátil 202 podría usarse durante la noche, ya que no cubre completamente la córnea y, por lo tanto, no interfiere con su oxigenación. Su uso nocturno también facilitaría su cumplimiento, ya que no interferiría con actividades diurnas, tales como la lectura.

[0023] Los sistemas y procedimientos descritos en este documento también podrían utilizarse para otras enfermedades neurodegenerativas y lesiones neuronales, tales como accidentes cerebrovasculares o lesiones en la cabeza cerradas. Podrían beneficiarse de estos sistemas y procedimientos en enfermedades en las que se sabe que las alteraciones epigenéticas intervienen en su progresión, tales como el cáncer. Por ejemplo, se podría ralentizar la progresión del glioblastoma en etapa temprana (un tipo de cáncer cerebral), pero también se podrían proteger las neuronas alrededor del cáncer de la muerte celular.

[0024] La figura 3 ilustra el ojo 203 y diversas zonas del ojo que pueden estimularse utilizando el sistema 200. En particular, la retina 302 y el nervio óptico 304 pueden estimularse para tratar la ceguera retiniana, tal como la retinosis pigmentaria (RP), la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) y el glaucoma (GPAA). El cuerpo ciliar 306 puede estimularse para tratar o retrasar la presbicia. Se pueden tratar partes del ojo o dentro del ojo, así como las zonas adyacentes. La glándula lagrimal (no se muestra en la imagen), que produce lágrimas, también puede estimularse para tratar el ojo seco. También puede tratarse el epitelio corneal.

[0025] La Figura 4 ilustra dispositivos de ejemplo que pueden alojar las bobinas de RF externas 208. Las bobinas de RF externas 208 pueden alojarse, por ejemplo, en una mascarilla 402 o unas gafas 404. El sistema 200 puede utilizarse mientras el usuario duerme. Por lo tanto, se puede utilizar una mascarilla 402 con las bobinas de RF 208 en una ubicación que coincida con los ojos del usuario. De igual forma, se pueden utilizar gafas 404 cuando el usuario no duerme, con las bobinas de RF 208 en una ubicación que coincida con los ojos del usuario. Las bobinas de RF 208 pueden estar a una distancia suficiente de las bobinas de RF internas 204 para alimentar inductivamente los electrodos de estimulación 206 cuando el usuario lleva puesta la mascarilla 402 o las gafas 404. Los dispositivos que alojan las bobinas de RF externas 208 pueden contener una fuente de alimentación o estar conectados a una fuente de alimentación para alimentar las bobinas de RF externas 208.

[0026] La Figura 5A ilustra un sistema 500 con un dispositivo portátil 202 y bobinas de RF externas 208, tal como se describe en este documento. El dispositivo portátil 202 puede tener electrodos de estimulación 206 conectados a bobinas de RF internas 204, tal como se describe también en este documento. Las bobinas de RF internas 204 pueden ser alimentadas inductivamente por las bobinas de RF externas 208. Las bobinas de RF internas 204 pueden alimentar los electrodos de estimulación 206 para estimular partes del ojo, tal como se describe en este documento.

[0027] La Figura 5B ilustra un sistema 520 que no incluye transferencia de energía inductiva. El dispositivo portátil 202 incluye los electrodos de estimulación 206 y también incluye una fuente de alimentación interna 502 configurada para alimentar los electrodos de estimulación. La fuente de alimentación interna 502 puede estar dispuesta sobre o dentro del dispositivo portátil 202. En algunas realizaciones, la fuente de alimentación interna 502 es una batería. En algunas realizaciones, la fuente de alimentación interna 502 es un dispositivo que genera electricidad a partir del movimiento, tal como un generador triboeléctrico. La electricidad puede generarse a partir del movimiento del usuario, incluido el movimiento ocular. De esta manera, el sistema 520 es un aparato de tratamiento autónomo. En realizaciones donde la fuente de alimentación interna 502 es un dispositivo que genera electricidad, la fuente de alimentación interna también puede incluir un dispositivo de almacenamiento de energía, tal como una batería.

[0028] La Figura 5C ilustra un sistema 540 que tampoco incluye transferencia de energía inductiva. El dispositivo portátil 202 incluye los electrodos de estimulación 206 que están conectados a una fuente de alimentación externa 504 configurada para alimentar los electrodos de estimulación 206. En algunas realizaciones, la fuente de alimentación externa 504 es una batería. En algunas realizaciones, la fuente de alimentación externa 504 es un dispositivo que genera electricidad a partir de energía solar, tal como un panel solar. En algunas realizaciones, la fuente de alimentación externa 504 es un dispositivo que genera electricidad a partir del movimiento, tal como un generador triboeléctrico. La electricidad puede generarse a partir del movimiento del usuario. La fuente de alimentación externa 504 puede estar ubicada en un dispositivo que el usuario usará, tal como gafas o un sombrero o un parche adhesivo para colocar sobre la piel del usuario. En realizaciones donde la fuente de alimentación externa 504 es un dispositivo que genera electricidad, la fuente de energía externa 504 también puede incluir un dispositivo de almacenamiento de

energía, tal como una batería.

[0029] En algunas realizaciones, un dispositivo informático móvil externo, tal como un teléfono inteligente, un ordenador portátil o una tableta, puede controlar el dispositivo portátil 202, incluyendo, por ejemplo, proporcionar instrucciones para controlar los electrodos de estimulación. El dispositivo informático móvil externo puede estar acoplado al dispositivo portátil 202 de forma comunicativa mediante una conexión por cable o inalámbrica, y la comunicación puede realizarse mediante hardware adecuado, tal como transceptores, y los protocolos de comunicación correspondientes, tal como Bluetooth.

[0030] La Figura 6A ilustra un proceso 600 para provocar cambios en las células o el tejido oculares o adyacentes al ojo, descrito en el presente documento con fines ilustrativos. Una bobina de radiofrecuencia (RF) externa (por ejemplo la bobina de RF externa 208) transmite señales de RF (etapa 602). Una pluralidad de bobinas de RF internas (por ejemplo las bobinas de RF internas 204) reciben las señales de RF de la bobina de RF externa (etapa 604). Las bobinas de RF internas se ubican en un dispositivo portátil (por ejemplo el dispositivo portátil 202) que se dispone de forma extraíble en el ojo (por ejemplo el ojo 203). Una pluralidad de electrodos de estimulación (por ejemplo, los electrodos de estimulación 206) estimulan una parte del ojo o una zona del paciente/usuario adyacente al ojo, provocando cambios en las células o el tejido oculares o adyacentes al ojo (etapa 606). Tal como se utiliza en este documento, "células o tejido adyacentes al ojo" se refiere a cualquier célula o tejido cerca, alrededor, en la proximidad de, adyacente a o que rodea el ojo y "zona del paciente o usuario adyacente al ojo" se refiere a cualquier zona del cuerpo cerca, alrededor, en la proximidad de, adyacente a o que rodea el ojo.

[0031] La Figura 6B ilustra un proceso 620 para verificar la inducción de cambios epigenéticos mediante los sistemas descritos en este documento. El proceso 620 se describe en el presente documento con fines ilustrativos. En particular, uno o más etapas del proceso 600 pueden realizarse utilizando un dispositivo informático con un procesador informático y una memoria no transitoria que almacena instrucciones para su ejecución por el procesador informático.

[0032] Las regiones diferencialmente metiladas (RDM) se miden mediante secuenciación del genoma completa con bisulfato, en respuesta a la estimulación eléctrica (etapa 622). Las RDM se validan mediante secuenciación dirigida de amplicones con bisulfato (etapa 624). Se confirman los cambios transcripcionales (etapa 626) y las RDM se utilizan como biomarcadores de la respuesta a la estimulación eléctrica y para monitorizar la duración del efecto a nivel molecular (etapa 628).

[0033] Con respecto a las bobinas de RF internas 204 y externas, se pueden utilizar diversos componentes eléctricos. Tradicionalmente, los rectificadores de media onda son soluciones populares para electrodos pasivos inalámbricos. Sin embargo, la solución del rectificador de media onda (HWR) no proporciona una forma de onda con carga equilibrada. Es decir, el HWR siempre es monofásico en cada ciclo. El uso de formas de onda con carga equilibrada es importante para evitar que la carga desequilibrada se transmita a través del tejido ocular. Las formas de onda con carga equilibrada son bifásicas en cada ciclo.

[0034] El circuito 700 que se muestra en la Figura 7A puede utilizarse en los sistemas y procedimientos descritos en este documento. El circuito 700 incluye una parte transmisora 702 y una parte receptora 704. La parte transmisora 702 puede utilizarse con las bobinas de RF externas 206 y la parte receptora 704 puede utilizarse con las bobinas de RF internas 204. El circuito 700 es capaz de proporcionar una tensión de salida con carga equilibrada y mayor que la de un sistema rectificador de media onda para unas condiciones de carga y entrada determinadas. La tensión de salida a través de la resistencia de carga es la diferencia de tensión entre los nodos OUT_p y OUT_n . El circuito 700 asume que la carga del sistema de estimulación de corriente está en k Ω . En un circuito HWR, un extremo de la resistencia de carga está conectado a tierra y el otro extremo de la resistencia de carga oscila a un valor positivo o negativo según la polaridad del diodo. La conexión a tierra de la resistencia de carga también está conectada a un extremo de la bobina receptora para completar el circuito. Sin embargo, a diferencia del HWR, el circuito 700 alcanza una mayor tensión a lo largo de la resistencia de carga (R_{carga}) generando una tensión negativa sin perder eficiencia. La tensión a lo largo de la carga se expresa como $V(a)-V(b)$.

[0035] El inductor receptor $L_{Receptor}$, D_1 , C_{s1} y C_{L1} forman un circuito rectificador positivo con carga equilibrada HWR en el nodo OUT_p . De forma similar, el inductor receptor $L_{Receptor}$, D_2 , C_{s2} y C_{L2} forman un circuito rectificador negativo con carga equilibrada HWR en el nodo OUT_n . Normalmente, un condensador en serie con un solo circuito HWR reducirá la tensión de salida. Sin embargo, en el circuito 700, la tensión de salida efectiva aumenta cuando la tensión de carga se deriva diferencialmente. La resistencia de carga está conectada de forma que actúa como un bloqueador de RF. Las Figuras 7B-7E ilustran el rendimiento del circuito 700. Las formas de onda se pueden ajustar ajustando componentes, tales como condensadores.

[0036] Además, se pueden realizar etapas adicionales para aumentar la tensión de salida más allá de lo que proporciona la topología del circuito. Los efectos de estas etapas adicionales se ilustran en las Figuras 7F-7I. La señal de entrada transmitida puede ser una señal de RF pulsada. El uso de una señal de RF de Tipo 3 no solo conduce a una mayor tensión inducida, sino que también conduce a una inducción asimétrica de la tensión de circuito abierto de la bobina secundaria. Esta asimetría en la tensión inducida aumenta la tensión de salida de la carga. Las tensiones pico a pico de todas las señales pueden ser iguales (por ejemplo 5 V). La asimetría inducida por la señal de Tipo 3

puede atribuirse a la propiedad de diferenciación del proceso de inducción.

[0037] El circuito 700 puede modificarse aún más añadiendo un diodo D3 tal como se muestra en la Figura 7J para aumentar la tensión anódica sin afectar el voltaje catódico. El efecto del circuito modificado sobre la tensión de carga y la carga se muestra en las figuras 7K y 7L. El circuito A referenciado en las figuras 7K y 7L es el circuito de la Figura 7J sin diodo D3, y el circuito B referenciado en las figuras 7K y 7L es el circuito de la Figura 7J. Esta modificación también ayuda a controlar la tasa de decaimiento de la carga anódica independientemente de la tasa de decaimiento de la carga catódica. Esto resulta útil para ajustar la forma de la onda de estimulación sin afectar la eficiencia del sistema. No es posible ajustar independientemente las tasas de decaimiento anódico en los rectificadores de media onda y circuitos de duplicación de tensión existentes, que son monofásicos.

[0038] Se pueden elegir valores mayores de capacitancia para C_{s1} y C_{s2} que para C_{L1} y C_{L2} . Valores mayores de capacitancia en serie pueden conducir a una mayor corriente y tensión de carga. Esto proporciona menor resistencia al flujo de corriente a través de los diodos. Además, esto conduce a una carga y descarga rápidas del pulso catódico.

[0039] La tensión de salida para una entrada de tensión de RF de tipo 3, polaridad relativa de la bobina que se muestra en el circuito 700, puede aumentarse incrementando la conducción del diodo D_2 . Por ejemplo, al sustituir un diodo 1N5819 por un diodo MBR745, se aumenta la tensión de salida. Asimismo, un diodo y un condensador en paralelo al par D_2 y C_{s2} pueden aumentar la tensión de salida.

[0040] A continuación se muestran, la tensión de salida y las formas de onda de equilibrio de carga de un HWR y el circuito 700. Ambos sistemas se comparan con formas de onda de entrada, bobinas transmisora-receptora y condiciones de carga similares. Los detalles de los parámetros de simulación se detallan en la tabla a continuación. La tensión de salida del circuito propuesto es superior a la del HWR. Además, a diferencia del HWR, el circuito 700 logra el equilibrio de carga.

	HWR	Circuito 700
Diodos utilizados	1N5819	1N5819 (MBR745)
Carga	2 k Ω	2 k Ω
Forma de onda de entrada	misma	misma
Inductancia de la bobina Tx	1 uH, 0,5 Ω	1 uH, 0,5 Ω
Inductancia de la bobina Rx	10 uH, 1 Ω	10 uH, 1 Ω
Condensadores	0,2 uF (valores más altos probados)	0,2 uF y 5 uF

[0041] En las figuras 7H y 7I se muestra una comparación de la tensión de salida y la carga entre el sistema propuesto descrito en este documento y el HWR.

[0042] El circuito 800 que se muestra en la Figura 8A puede utilizarse en los sistemas y procedimientos descritos en el presente documento. El circuito 800 incluye una parte transmisora 802 y una parte receptora 804. La parte transmisora 802 puede utilizarse con las bobinas de RF externas 206 y la parte receptora 804 puede utilizarse con las bobinas de RF internas 204.

[0043] Al igual que el circuito 700, el circuito 800 tiene carga equilibrada. Sin embargo, el circuito 700 genera diferentes formas de onda según la resistencia de carga, que es la resistencia del ojo. Por lo tanto, diferentes ojos y diferentes estados de los ojos pueden generar diferentes resistencias de carga, y la forma de la onda de la parte receptora 704 puede variar según el ojo.

[0044] En cambio, el circuito 800 es independiente de la carga. Es decir, independientemente de la resistencia de carga del ojo del usuario, se obtiene la misma forma de onda desde la parte receptora 804. La Figura 8B ilustra la forma de onda de la tensión de entrada. Las figuras 8C y 8D ilustran la misma forma de onda que se logra en la parte receptora 804 independientemente de la resistencia de carga, lo que demuestra la capacidad del circuito 800 de ser independiente de la carga.

[0045] Volviendo a los efectos de la estimulación eléctrica, las neuronas se comunican mediante señales eléctricas, y se ha demostrado que la estimulación eléctrica induce plasticidad neuronal y protege el sistema nervioso dañado, incluido el de la retina. Si bien la estimulación eléctrica del ojo ha demostrado ser eficaz, es importante evitar la estimulación de otras neuronas, incluidas las del sistema nervioso central. Por lo tanto, se diseñó una configuración de sistema de tierra que puede limitar sustancialmente las distribuciones de tensión, así como los campos eléctricos inducidos en el cerebro, mediante el software COMSOL Multiphysics. La Figura 9A muestra un modelo de cabeza humana que incluye el sistema de tierra diseñado y los electrodos de estimulación. Las distribuciones de tensión focalizadas en los ojos se representan en la Figura 9B. Los hallazgos iniciales de la simulación demuestran el potencial para la estimulación selectiva del ojo y la mejora adicional del gradiente de tensión a lo largo de la retina. Esto demuestra la mayor eficacia para la estimulación de la retina, además de evitar la actividad neuronal inducida en otras partes del cuerpo humano utilizando la geometría de tierra diseñada.

[0046] Los resultados computacionales preliminares muestran que, con una bobina de 12 espiras con una inductancia de 5 uH en la lente electrónica del tamaño de un ojo de rata (aproximadamente 8 mm de diámetro), la retina puede estimularse con una corriente alterna de aproximadamente 100 uA utilizando una bobina externa alimentada con una corriente de 1 A, que es comparable a las magnitudes de corriente utilizadas en los sistemas de retina artificial comercializados actualmente y que se ha demostrado segura a frecuencias extremadamente bajas. Para mejorar aún más el acoplamiento entre la bobina externa y la bobina de la lente, se pueden utilizar soluciones directamente aplicables a la geometría propuesta. En algunas realizaciones, la lente inalámbrica se usará durante un período limitado a diario, principalmente por la noche, con la bobina externa transmisora integrada en una mascarilla portátil o dispositivo similar.

[0047] La cromatina es un conjunto jerárquico compacto y altamente organizado de ADN y proteínas, que se pliega intrincadamente en tres dimensiones, formando diferentes niveles de organización en el núcleo. La densidad de empaquetamiento de la cromatina tiene un efecto no monótono en la probabilidad de expresión génica, ya que aumenta las tasas de expresión a densidades de empaquetamiento de cromatina inferiores al ~35 % de la concentración volumétrica de cromatina y suprime la expresión a densidades de cromatina más altas debido a los efectos competitivos de dos consecuencias de la aglomeración molecular: el aumento de la unión de complejos transcripcionales y la supresión de la difusión. Evidencias recientes indican que el escalado del empaquetamiento de la cromatina modula tanto la diversidad transcripcional (el rango dinámico de la expresión génica) como la variación intercelular en la transcripción génica. El empaquetamiento de la cromatina regula el acceso transcripcional de las células a su espacio genómico y se espera que tenga implicaciones en una amplia gama de procesos celulares (por ejemplo diferenciación celular, plasticidad, regeneración tisular y muchas enfermedades, incluidas las neurodegenerativas). Dependiendo de su ubicación en el genoma, la metilación del ADN también puede afectar la estructura proximal de la cromatina y regular la expresión génica, desempeñando un papel crucial en procesos biológicos que incluyen el desarrollo embrionario, la inactivación del cromosoma X, la impronta genómica y la estabilidad cromosómica. Por lo tanto, determinar el estado de metilación con una resolución de una sola base en el genoma es un paso importante para dilucidar su papel en la regulación de numerosos procesos celulares y su alteración en enfermedades.

[0048] Para empezar a explorar hasta qué punto los cambios en la metilación del ADN pueden alterarse en respuesta a la estimulación eléctrica in vivo, se realizó la secuenciación del genoma completa con bisulfito (WGBS) en tres retinas de rata con degeneración retiniana (RCS) tratadas con EET y tres con tratamiento simulado. La WGBS permite la detección de la metilación del ADN con una resolución de un solo par de bases. El tratamiento del ADN con bisulfito de sodio permite la discriminación de citosinas metiladas y no metiladas en un dinucleótido CpG. La epigenómica comparativa ha revelado que los patrones de metilación del ADN en todo el genoma para ciertos elementos genómicos se conservan en vertebrados, lo que sugiere que las funciones reguladoras de la metilación del ADN también se conservan en diferentes especies. De manera resumida, el ADN genómico se cizalla, se repara en sus extremos, se adenila en 3' y se liga a adaptadores. El ADN ligado al adaptador se trata posteriormente con bisulfito de sodio y se amplifica por PCR para alcanzar el rendimiento necesario para la secuenciación. La secuenciación de extremos apareados de bibliotecas convertidas con bisulfito se realizó en el sistema NovaSeq 6000. Las lecturas de WGBS se alinearon con el ensamblaje del genoma de *Rattus norvegicus* RNOR6 utilizando el mapeador de lecturas de bisulfito Bismark de código abierto con el algoritmo de alineación Bowtie2.

[0049] El análisis de datos realizado con el programa informático metilene identificó 2996 diferencias estadísticamente significativas en la metilación del ADN entre las retinas tratadas con EET y las tratadas de forma simulada. La agrupación jerárquica no supervisada de las regiones diferencialmente metiladas (RDM) más significativas y los genes asociados separó con precisión el grupo de control tratado de forma simulada del grupo estimulado eléctricamente (Figura 10). Para obtener una investigación preliminar de los mecanismos moleculares subyacentes a la estimulación eléctrica, los genes asociados con las RDM más significativas se sometieron a un análisis central de Ingenuity Pathway Analysis (IPA). De mayor relevancia, las categorías de enfermedades con mayor enriquecimiento, con un valor p inferior a 10⁻³, se asociaron con trastornos neurológicos, incluyendo muchos trastornos hereditarios y ligados al cromosoma X. Entre los genes con mayor hipermetilación implicados en la progresión de enfermedades neurológicas se encontraban *Kcnab2*, *Cnr* y *Nfia* (Figura 10). La señalización del citoesqueleto de actina y *pdgf* fueron las vías canónicas más enriquecidas, siendo la remodelación del citoesqueleto importante en múltiples aspectos del desarrollo de la retina y también en la función neuronal. Además, se identificó la hipometilación de los genes *prosupervivencia* *bdnf* y *pdgfa*, cuya inducción eléctrica se ha demostrado previamente. Otros genes dentro de las RDM significativas incluyen la hipermetilación del regulador de la GTPasa de la Retinosis Pigmentaria (*rpgr*) y la proteína 1 que interactúa con *rpgr* (*rpgr1*). Se realizó la secuenciación dirigida de amplicones con bisulfito en 18 de estas RDM para confirmar los cambios en la metilación del ADN en respuesta a la estimulación con EET en una cohorte independiente de retinas de ratas RCS. De estas 18 RDM, 9 mostraron una buena concordancia entre la secuenciación del genoma completo y las secuenciaciones dirigidas con bisulfito, con una correlación de 0,725 (Figura 11), validando el procedimiento de identificación de RDM consistentes después del tratamiento con EET.

[0050] Para comenzar a dilucidar las consecuencias funcionales de la desregulación epigenética observada y proporcionar un vínculo más directo entre los genes diferencialmente metilados y los cambios funcionales y la neuroprotección, se midió la expresión génica dirigida mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa cuantitativa (qRT-PCR) en 30 genes asociados con RDM en una cohorte independiente de retinas

de rata RCS con estimulación con EET (n = 2) y con estimulación simulada (n = 2). Se examinó la durabilidad de la respuesta a lo largo del tiempo, mediante la recolección de retinas de rata el mismo día, los días 1, 3 y 6 posteriores a la estimulación. La expresión génica se normalizó con un gen de referencia interno (Gapdh) y, posteriormente, se normalizó la expresión con controles con estimulación simulada. La expresión de ARN de 30 genes asociados con RDM se representó gráficamente y analizó mediante análisis de componentes principales (PCA, *principle component analysis*). De los 30 genes, 27 (90 %) se sobreexpresaron (n = 19) o se infraexpresaron (n = 8) en al menos un 20 % en cualquier punto temporal (Figura 12). Tres genes no mostraron cambios en su expresión génica. El PCA reveló tres potenciales de expresión diferentes, definidos por el momento y la duración del cambio de expresión en comparación con los controles simulados. Doce genes mostraron una inducción rápida (día 0-1) inmediatamente después del tratamiento con EET, pero la expresión fue transitoria y regresó a los niveles del control entre los días 3 y 6. Esto incluyó la regulación positiva de genes relacionados con el desarrollo sano de la retina, tales como Rpgr y Ablim123, y también la regulación positiva de genes relacionados con la remodelación del citoesqueleto, tales como Sept9 y Mpp6, que también ha demostrado ser importante en la regeneración retiniana del pez cebra 24. Otro grupo de siete genes mostró una inducción rápida y sostenida de la expresión hasta el día 6. Este grupo de genes incluía la regulación positiva de Pdgfa y Slco5a1 (Figura 11). Se sabe que Pdgfa no solo se estimula mediante estimulación eléctrica, sino que también atrae astrocitos y promueve la supervivencia celular. Slco5a1 es un gen con funciones conocidas en la función de los bastones.

[0051] El último grupo de 8 genes presentó una regulación negativa en comparación con el control, pero la reducción de la expresión se retrasó y no fue evidente hasta el día 6 después de la EET. Estos incluyeron la regulación negativa de genes que se sabe que promueven la angiogénesis y la neovascularización, tales como Fgf8 y Fech (Figura 12). Se ha demostrado que la neovascularización ocular aberrante, impulsada por factores angiogénicos, es causa de varias enfermedades oculares que pueden causar ceguera 27, y la inhibición de estos factores, incluido Fech28, se está explorando actualmente como posible terapia. Además, genes proapoptóticos, tales como Rassf129 (Figura 11) también se encontraron que estaban regulados a la baja. Como los genes asociados con la proliferación celular y la apoptosis se identificaron tanto en la metilación como en los análisis de expresión génica, se exploró la posibilidad de que el tratamiento con EET también pudiera inhibir la apoptosis de las células de la retina. Para lograr esto, se realizó una tinción inmunohistoquímica (IHC) de la caspasa-3 escindida, un marcador de células apoptóticas, en secciones completas del ojo de ratas tratadas con EET o con tratamiento simulado, en múltiples puntos de tiempo después de la estimulación. Se examinaron tres campos de visión separados para cada ojo, con un promedio de 1353 células contadas en todas las capas de la retina para cada ojo. El porcentaje de células apoptóticas encontradas fue del 1,46 % en las ratas de control, en comparación con el 0,89 % en las ratas tratadas con EET después del día 6 (valor p 0,021).

[0052] En conjunto, estos datos preliminares proporcionan evidencia convincente de que EET puede inducir cambios epigenéticos y a nivel de cromatina (Figuras 10-12). Lo más importante es que se ha demostrado que estos cambios se traducen en cambios funcionales, como lo demuestran los cambios correspondientes en la expresión génica, que pueden vincularse directamente con la regeneración retiniana, el aumento de la supervivencia celular y la inhibición de la apoptosis, la remodelación del citoesqueleto y la inhibición de la neovascularización ocular, lo que respalda la idea de que la EET induce la remodelación neuroepigenética, que conduce a la supervivencia y regeneración de la retina. Por lo tanto, los datos preliminares apuntan a que la EET desencadena una serie de cambios moleculares beneficiosos en la retina.

[0053] Las Figuras 13A-13B ilustran regiones diferencialmente metiladas (RDM) identificadas como las más significativamente alteradas tras la estimulación eléctrica, y estas RDM podrían servir como supuestos biomarcadores de respuesta. La lista en las Figuras 13A-13B no es una lista exclusiva.

[0054] Se han descrito ejemplos de realización de los procedimientos/sistemas con fines ilustrativos. Por consiguiente, la terminología empleada en este documento debe leerse sin carácter limitativo. Si bien los expertos en la materia podrán realizar modificaciones menores a las enseñanzas aquí expuestas, se entenderá que lo que se pretende circunscribir en el alcance de la patente aquí garantizada son todas aquellas realizaciones que se ajusten razonablemente al alcance en la técnica aquí aportado, y que dicho alcance no estará limitado, salvo en vista de las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo portátil (202) para estimulación eléctrica transcorneal, que comprende:
un material con forma de lente de contacto y configurado para colocarse de forma extraíble en un ojo (203) de un
5 usuario, teniendo el material una superficie exterior (212) y una superficie interior (214), estando la superficie interior
configurada para entrar en contacto con el ojo del usuario de forma extraíble, en el que el material comprende una
abertura (207) ubicada en el centro del material; y
una pluralidad de electrodos de estimulación (206) ubicados sobre o dentro del material y que incluyen un electrodo
10 de tierra (206C), un electrodo negativo (206A) y un electrodo positivo (206B), en el que la pluralidad de electrodos de
estimulación están configurados para estimular electromagnéticamente una parte del ojo o una zona adyacente al ojo.
2. Dispositivo portátil (202), según la reivindicación 1, que comprende además una pluralidad de bobinas de
radiofrecuencia, RF, internas (204) configuradas para recibir señales de RF desde una bobina de RF externa (208).
- 15 3. Dispositivo portátil (202), según la reivindicación 2, en el que la pluralidad de bobinas de RF internas (204) están
ubicadas dentro de ranuras (216) en la superficie interna (214).
4. Dispositivo portátil (202), según la reivindicación 1, en el que la pluralidad de electrodos de estimulación (206) están
20 alimentados por una batería.
5. Dispositivo portátil (202), según la reivindicación 1, que comprende además un generador triboeléctrico, en el que
la pluralidad de electrodos de estimulación (206) están configurados, además, para ser alimentados por el generador
triboeléctrico.
- 25 6. Dispositivo portátil (202), según la reivindicación 2, que comprende, además, uno o más condensadores conectados
a la pluralidad de bobinas de RF internas (204).
7. Dispositivo portátil (202), según la reivindicación 2, en el que las bobinas de RF internas (204) están fabricadas de
metales u otros materiales conductores.
- 30 8. Sistema (200) que comprende:
un dispositivo portátil (202) según cualquier reivindicación anterior; y
una bobina de RF externa (208) configurada para transmitir señales de RF.
- 35 9. Sistema (200), según la reivindicación 8, en el que se utiliza una forma de onda de carga equilibrada para estimular
la parte del ojo (203) o la zona adyacente al ojo.
10. Sistema (200), según la reivindicación 8, en el que la bobina de RF externa (208) está integrada en una mascarilla
o en una montura de gafas configuradas para ser usadas por el usuario.
- 40 11. Sistema (200), según la reivindicación 8, en el que la parte del ojo (203) es una retina y un nervio óptico, o un
cuerpo ciliar.
12. Procedimiento para operar un dispositivo portátil (202) que tiene un material con forma de lente de contacto y que
45 comprende una abertura (207) ubicada en el centro del material, estando el material configurado para colocarse de
forma extraíble en un ojo (203), comprendiendo el procedimiento:
transmitir señales de RF mediante una bobina de radiofrecuencia RF externa (208);
recibir las señales de RF de la bobina de RF externa mediante una pluralidad de bobinas de RF internas (204) ubicadas
sobre o dentro del material del dispositivo portátil; y
50 recibir las señales de RF de la pluralidad de bobinas de RF internas mediante una pluralidad de electrodos de
estimulación (206) ubicados sobre o dentro del material del dispositivo portátil, incluyendo la pluralidad de electrodos
de estimulación un electrodo de tierra (206C), un electrodo negativo (206A) y un electrodo positivo (206B).

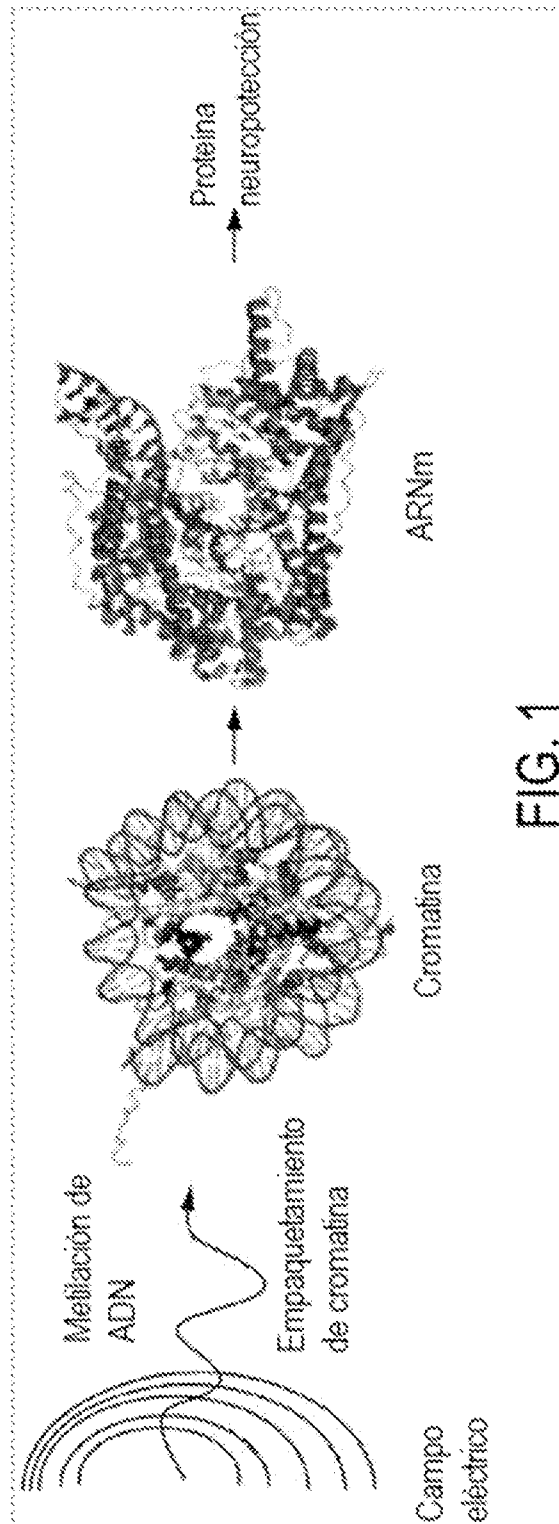
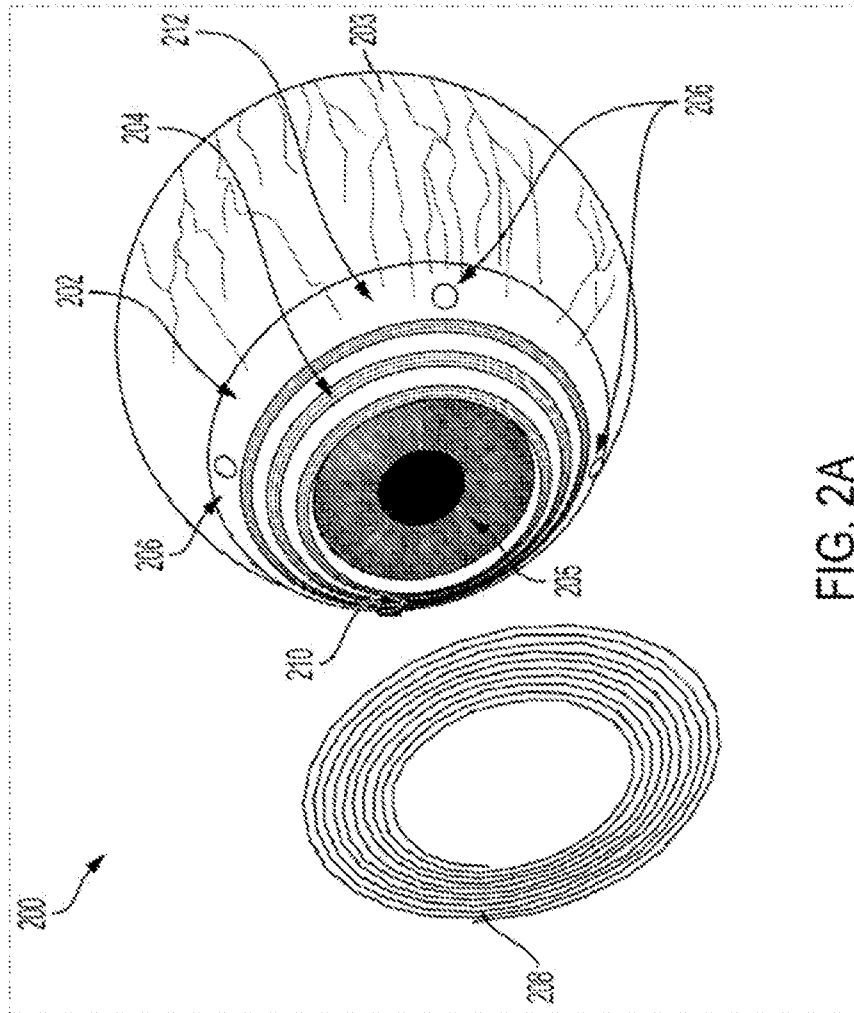
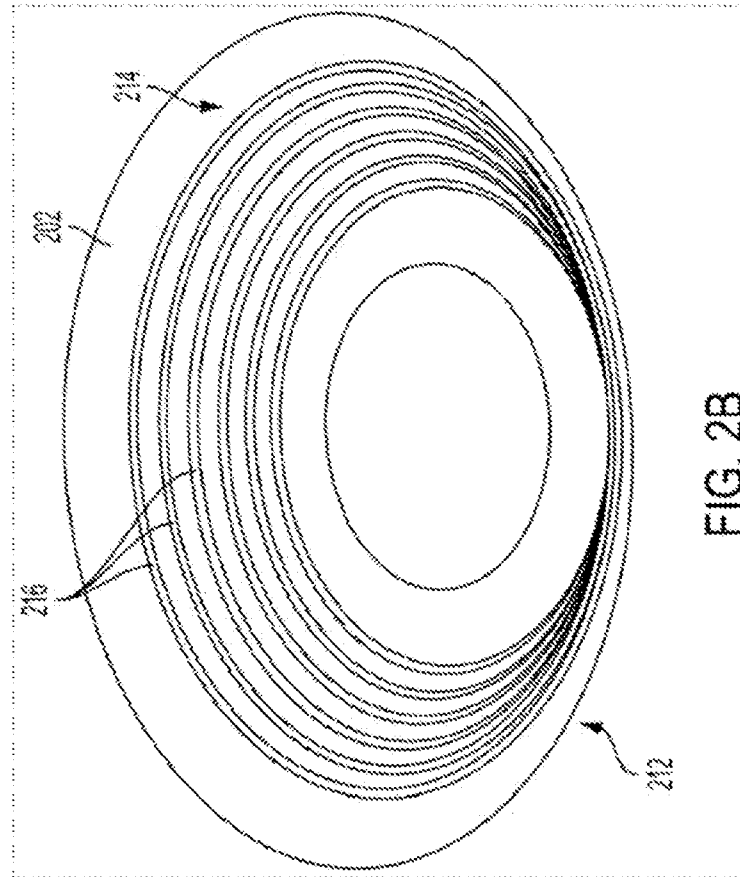
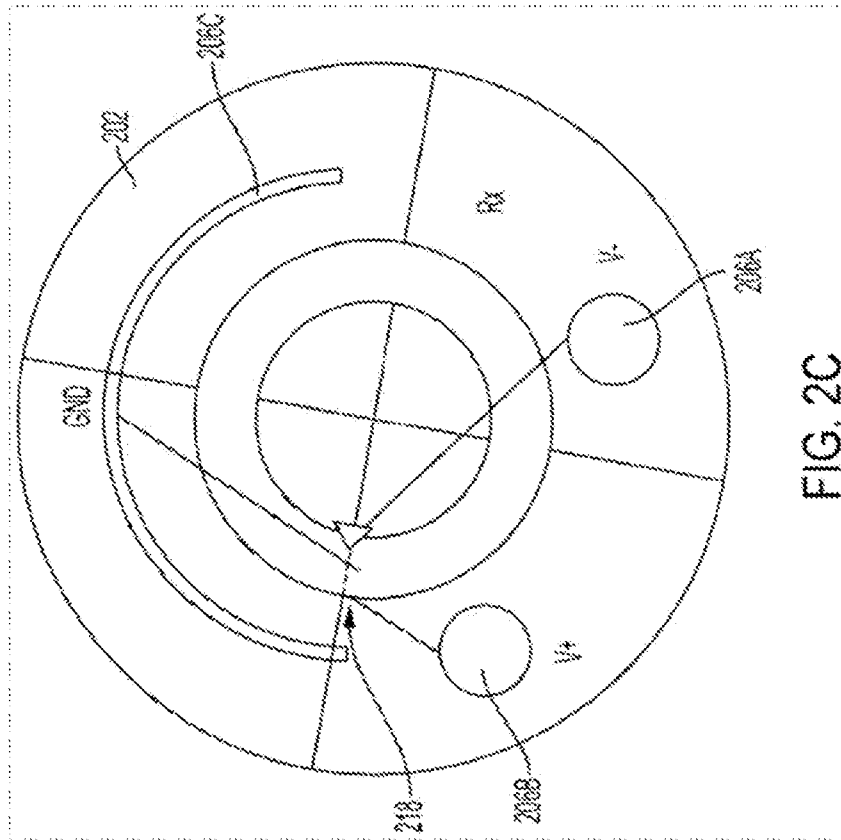


FIG. 1







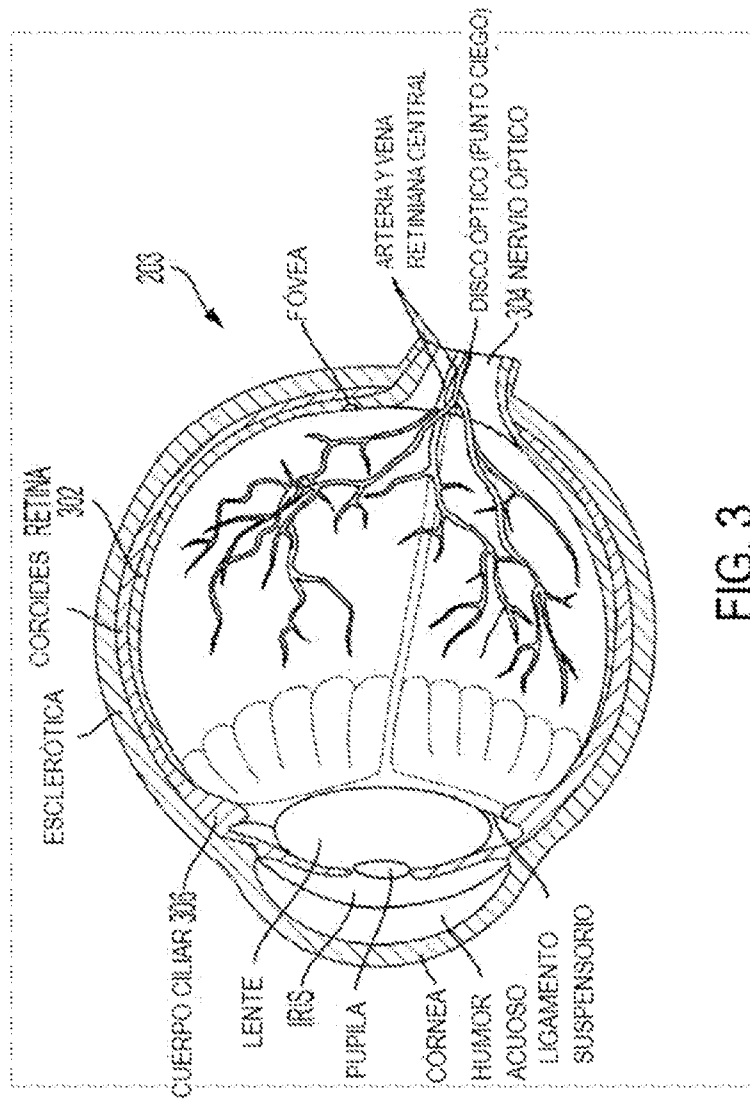
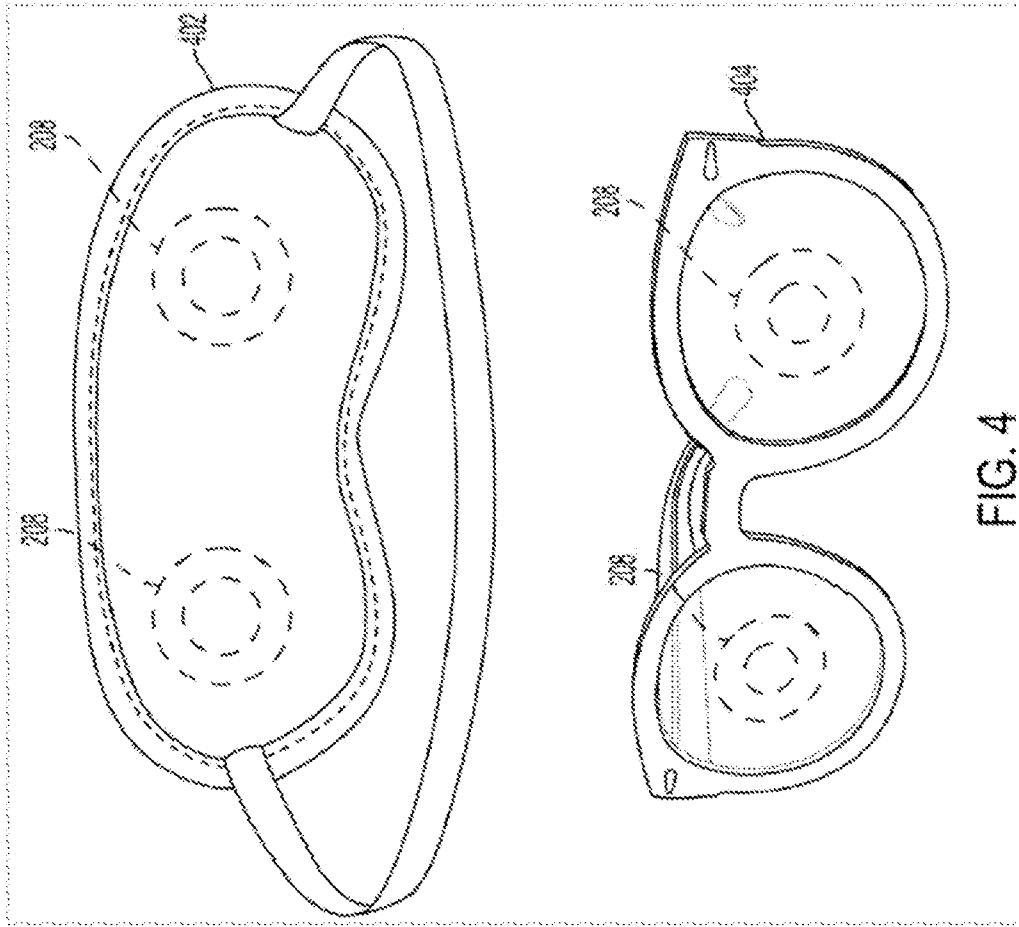
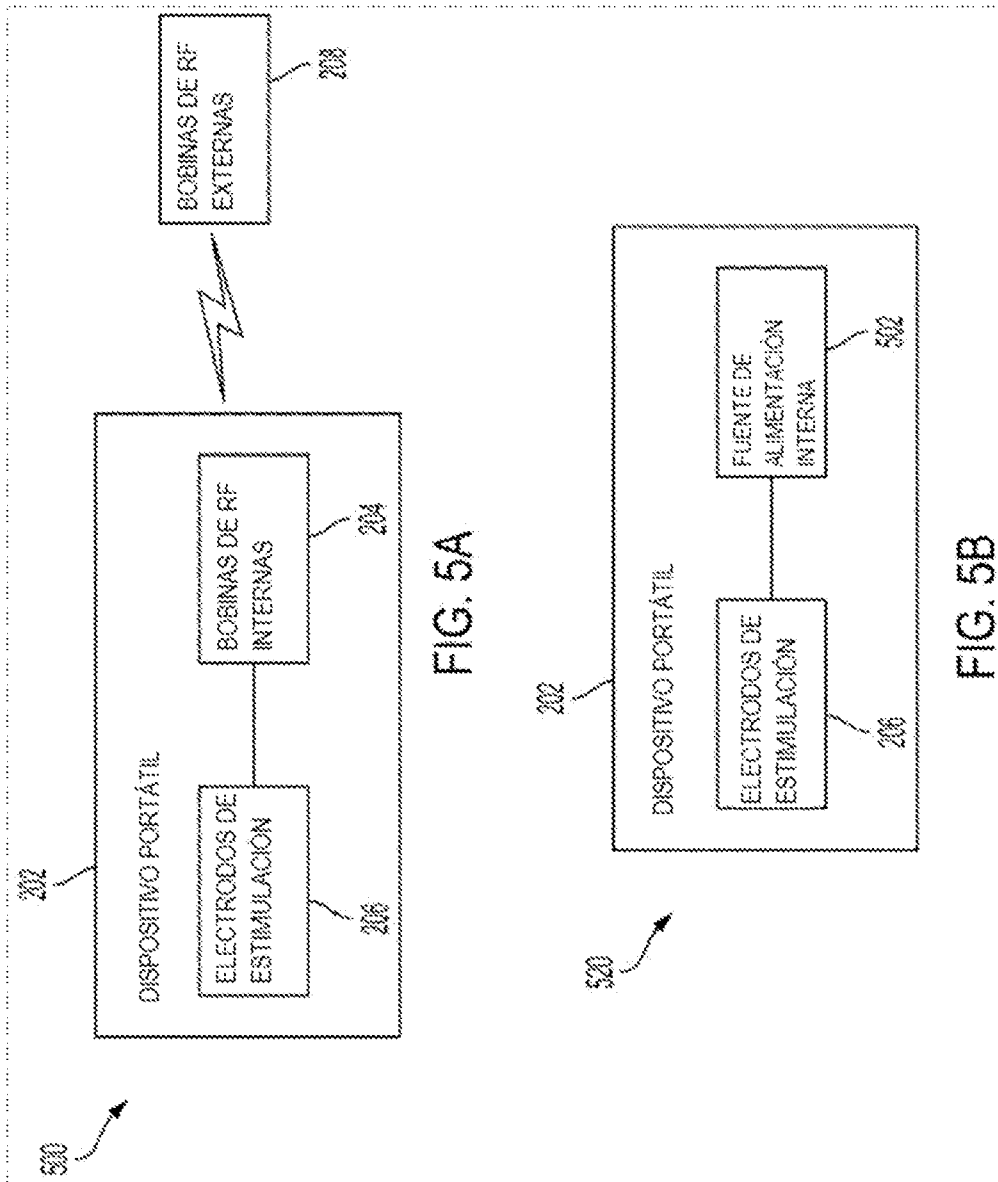
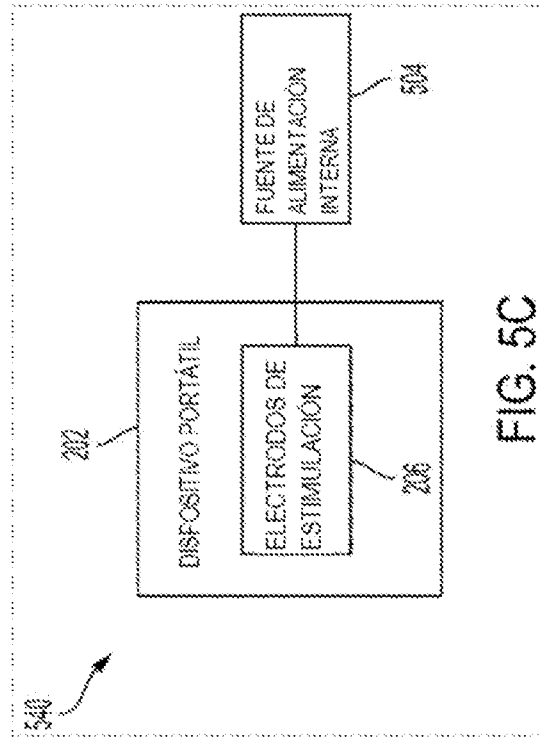
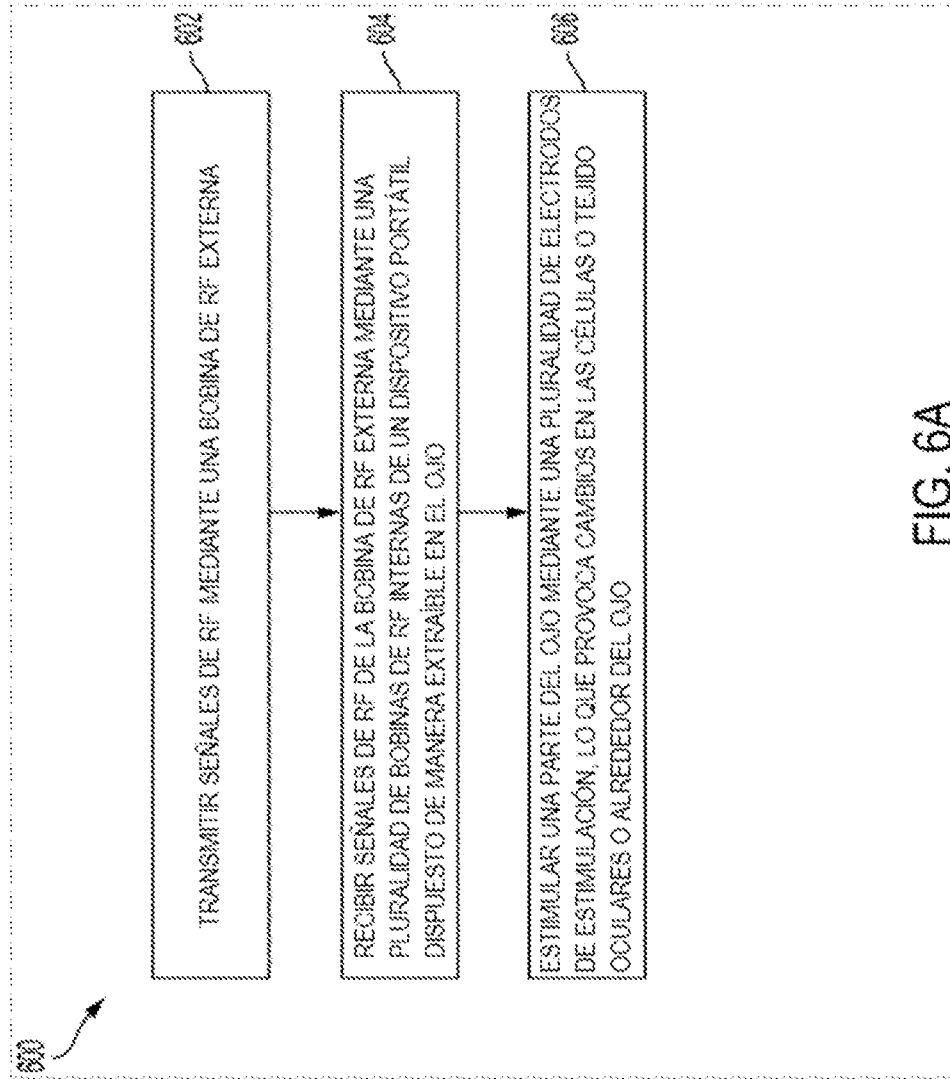


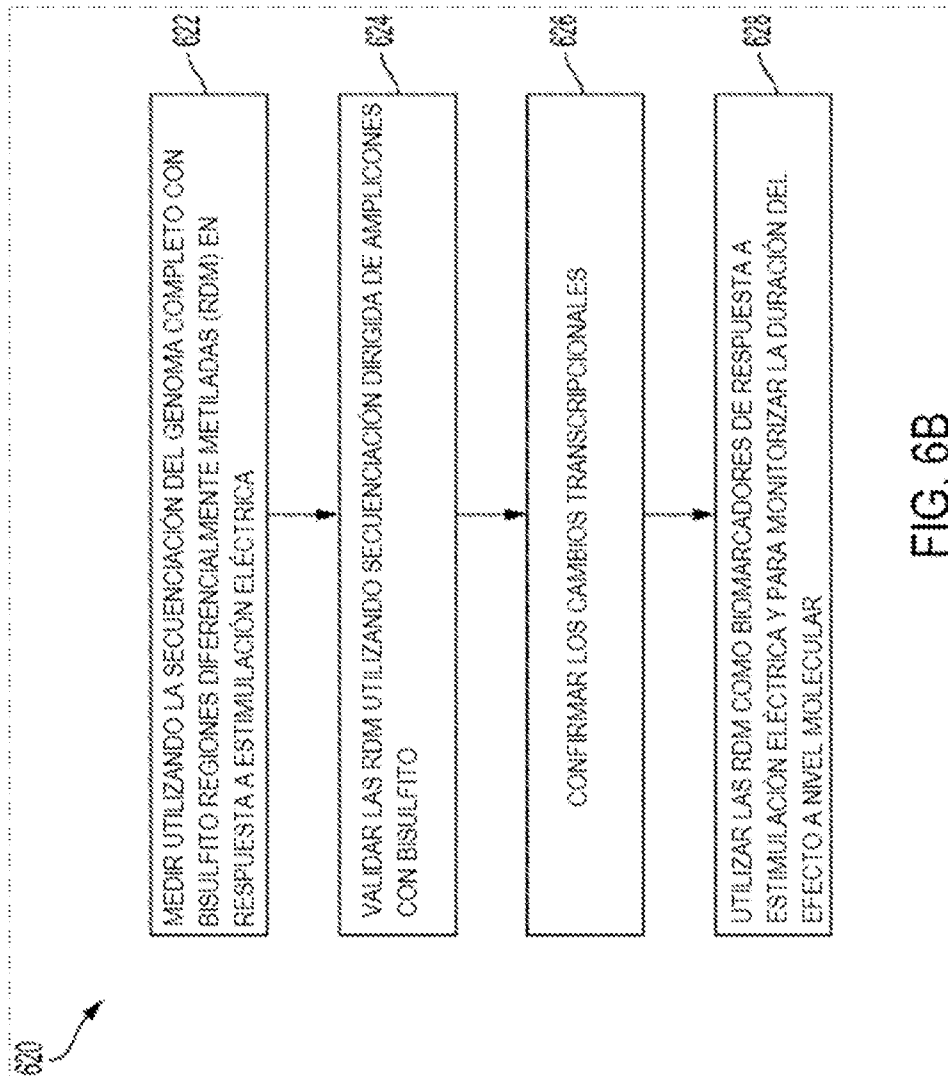
FIG. 3

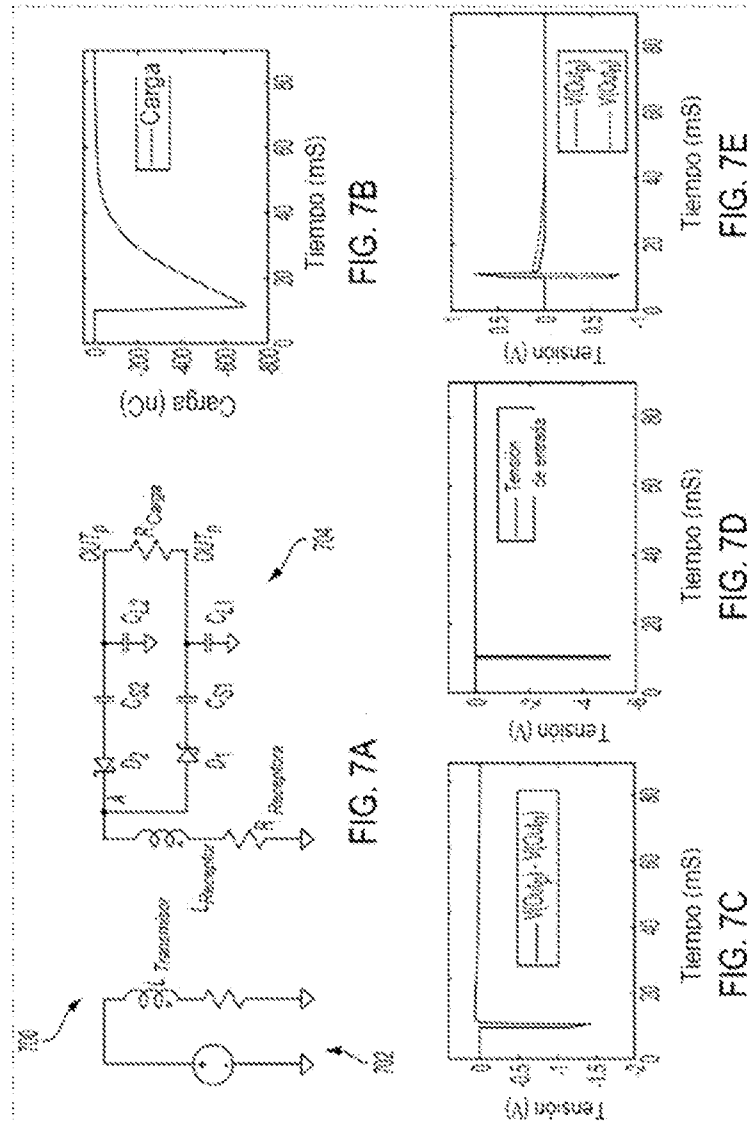












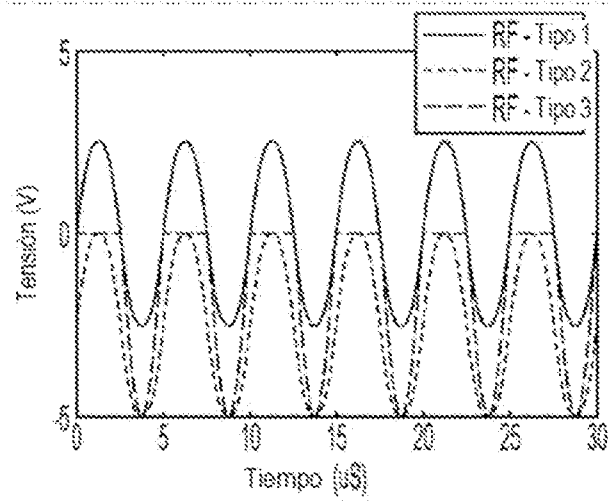


FIG. 7F

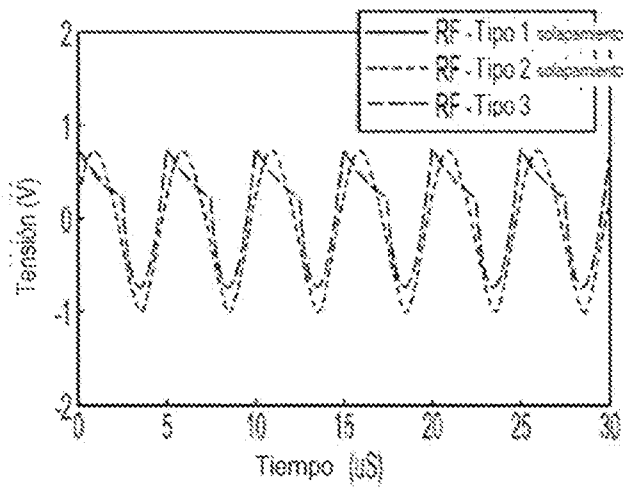
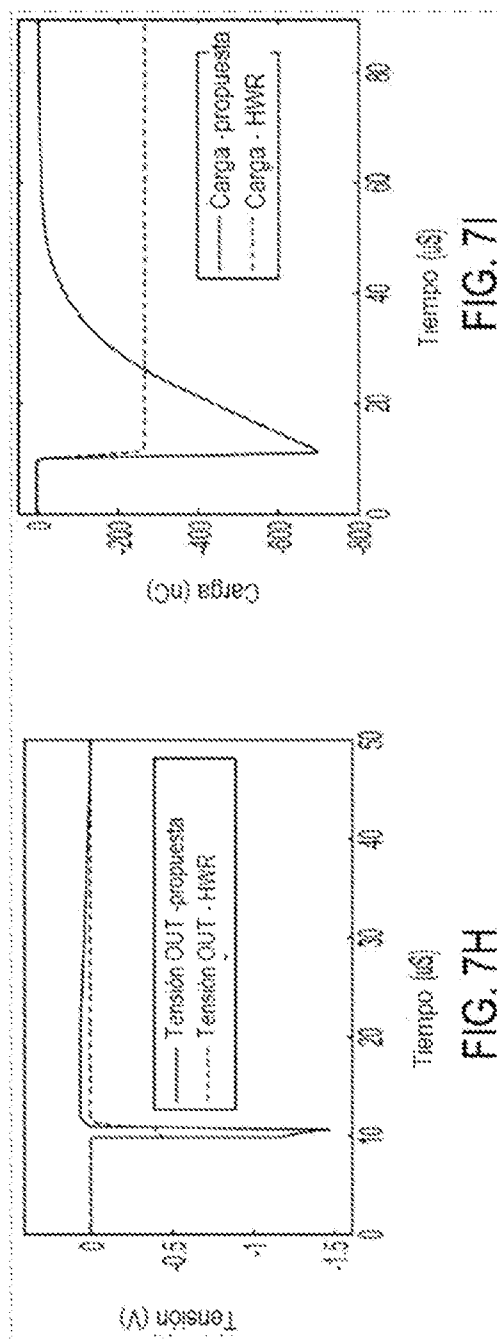
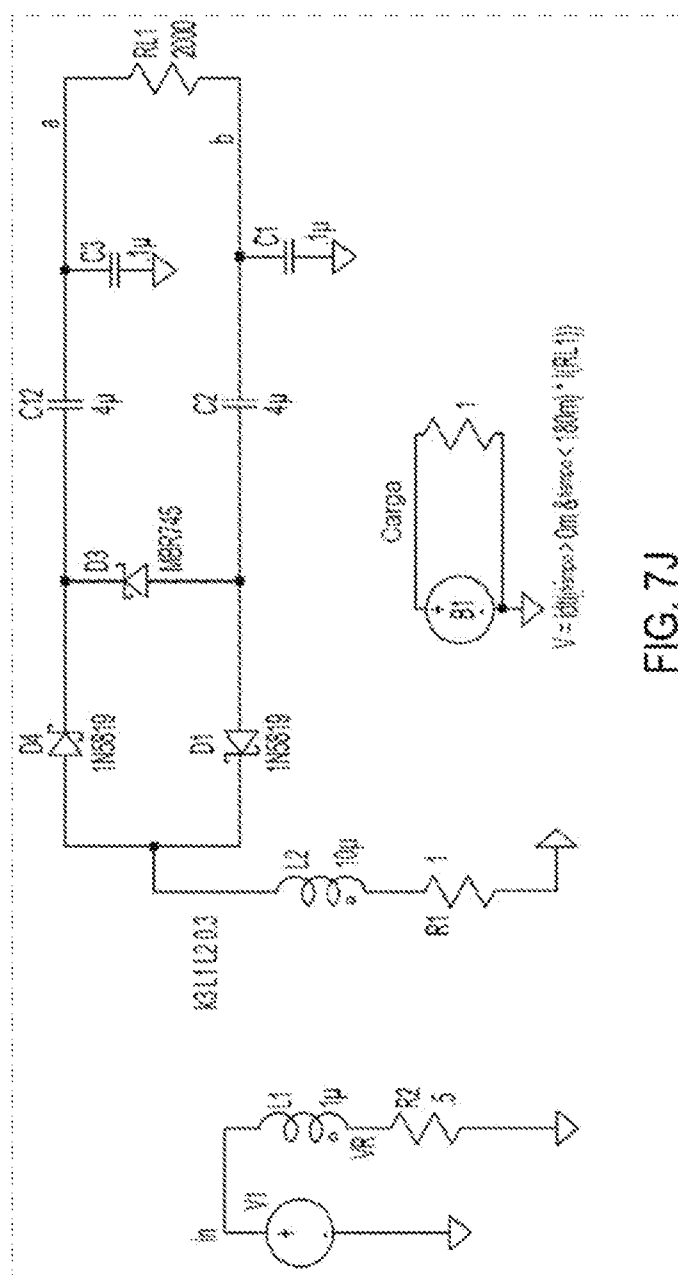
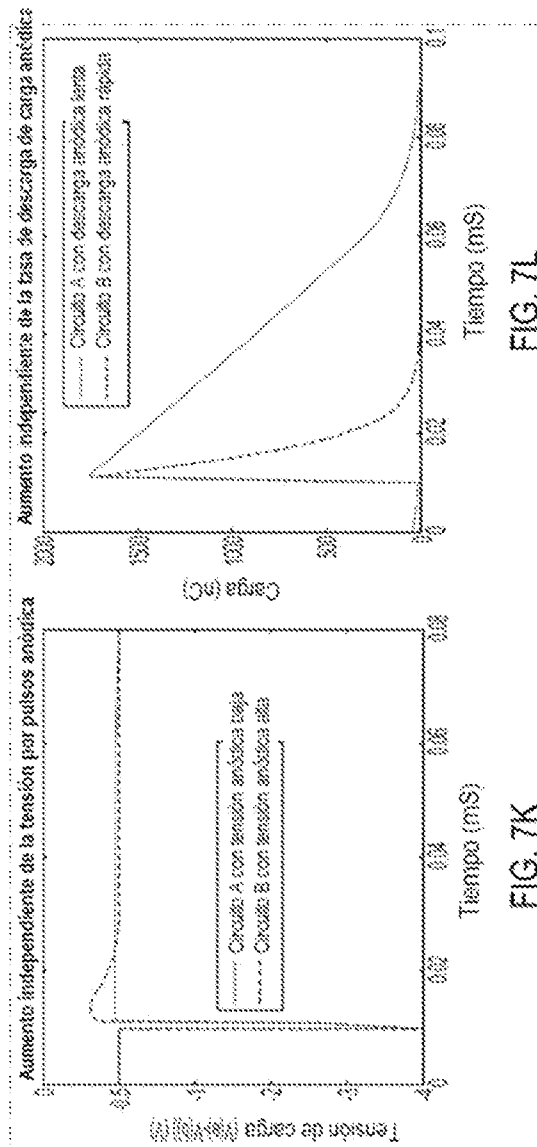


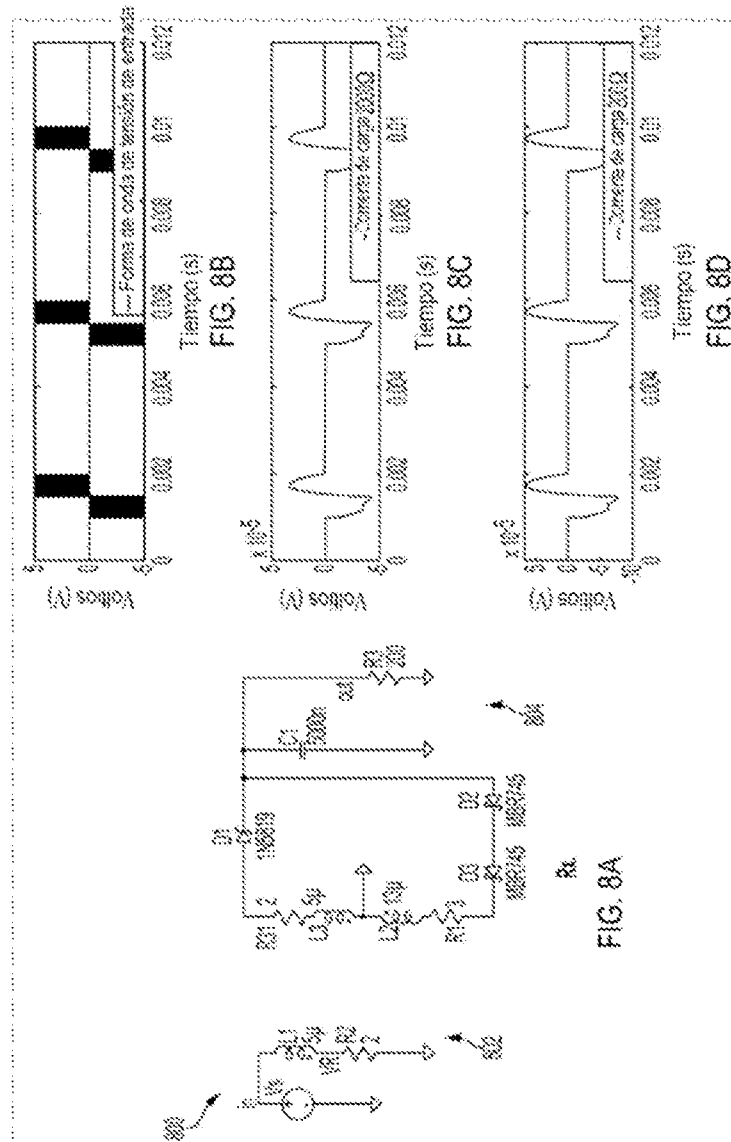
FIG. 7G

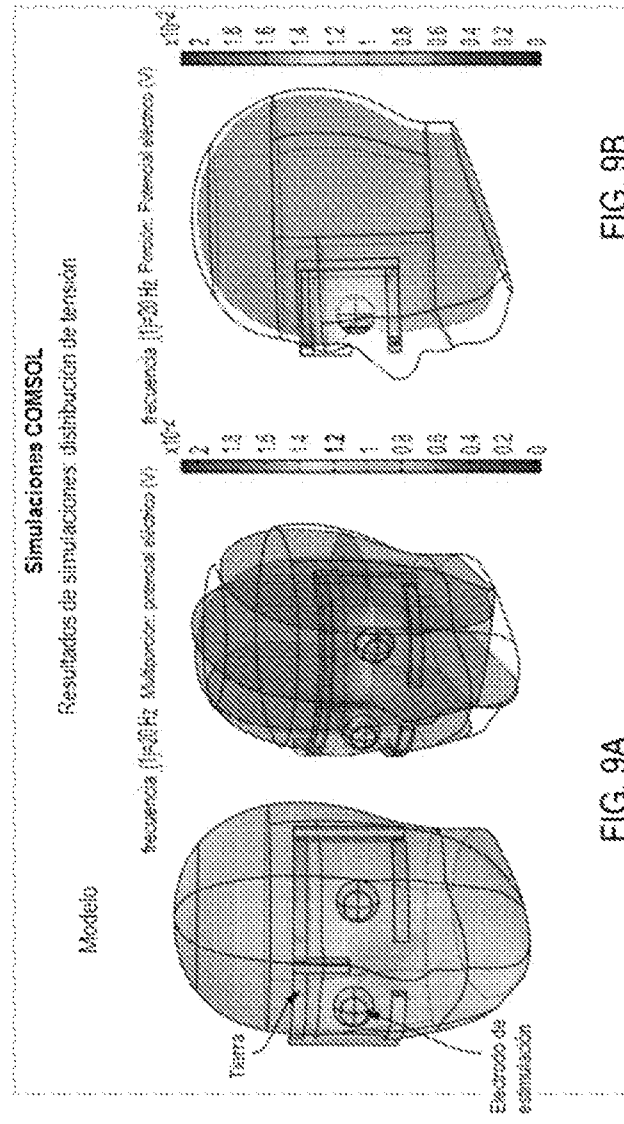


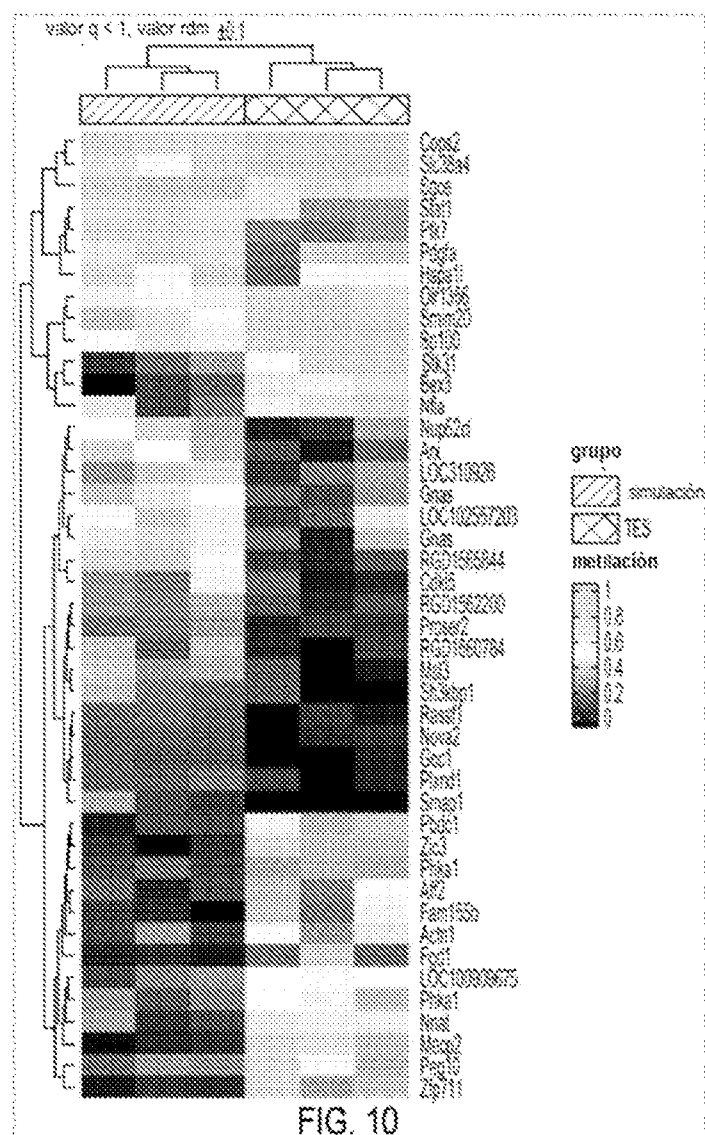


296









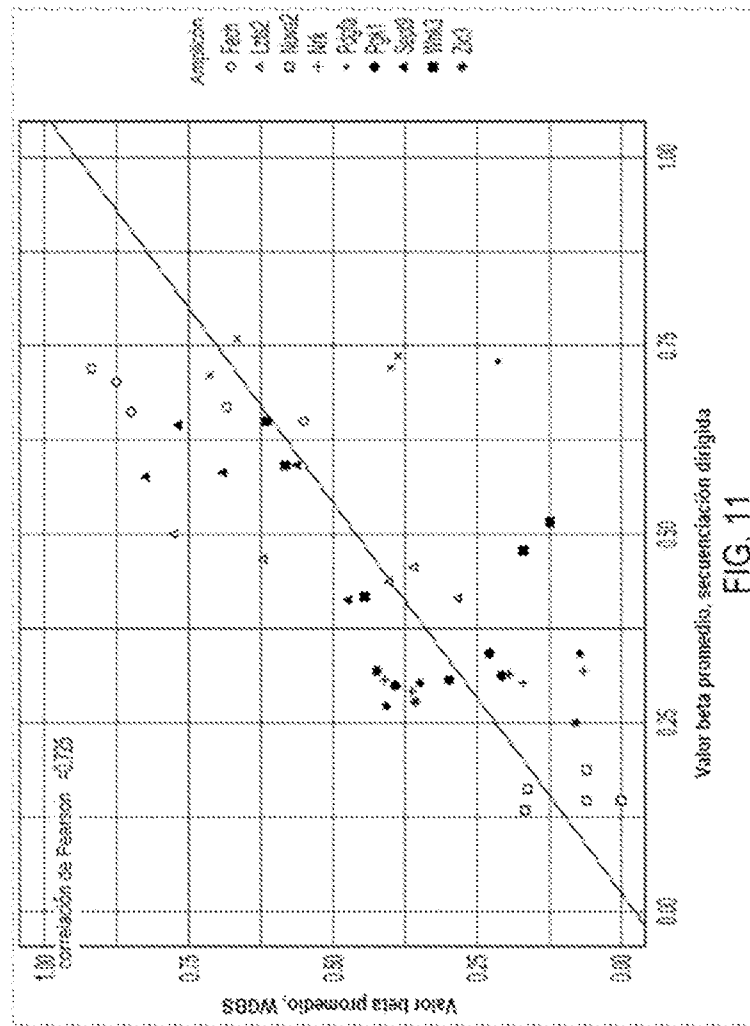
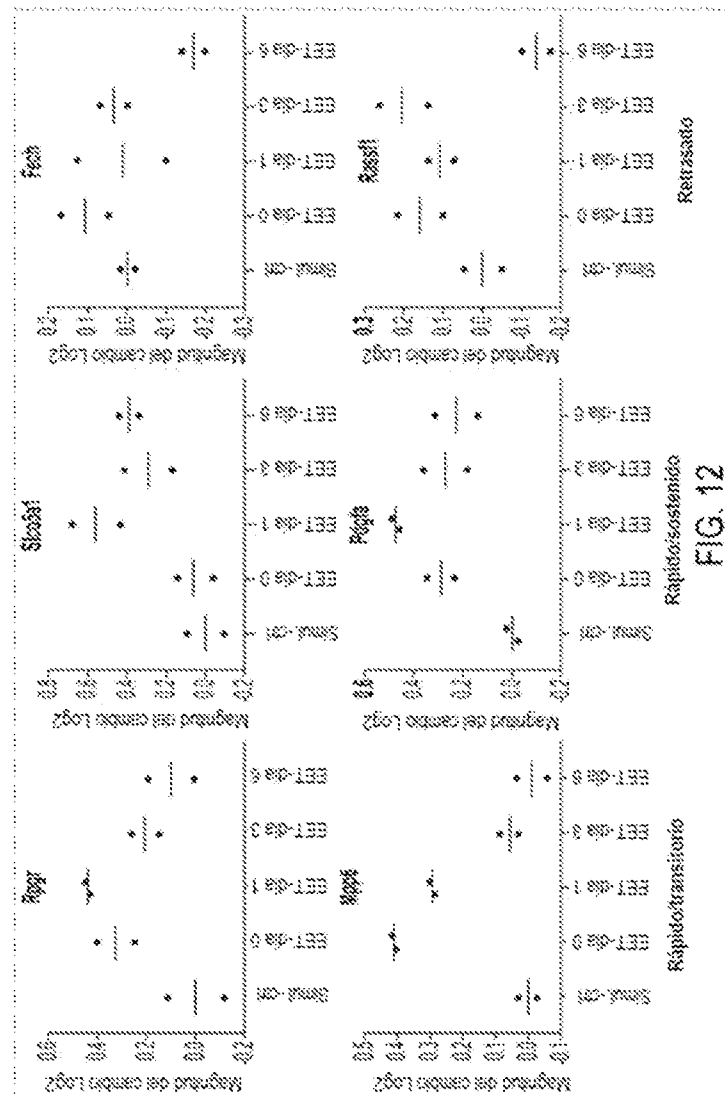


FIG. 11



nombre	sec	origo	by	Archivos	Usuarios	Recursos	version	id	id	id
0002	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0003	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0004	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0005	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0006	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0007	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0008	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0009	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0010	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0011	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0012	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0013	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0014	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0015	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0016	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0017	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0018	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0019	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0020	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0021	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0022	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0023	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0024	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0025	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0026	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0027	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0028	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0029	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0030	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0031	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0032	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0033	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0034	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0035	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0036	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0037	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0038	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0039	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0040	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
0041	1855730	1855730	25	25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.

FIG. 13A

A PG 108-4

[illegible]

FIG. 13B