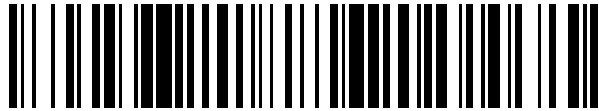


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 904 352**

51 Int. Cl.:

A61L 15/22	(2006.01)
A61F 13/02	(2006.01)
A61L 15/42	(2006.01)
A61L 15/44	(2006.01)
A61L 15/46	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.11.2013 PCT/US2013/068463**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **15.05.2014 WO14074503**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.11.2013 E 13853763 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.10.2021 EP 2916876**

54 Título: **Procedimientos y composiciones para la curación de heridas**

30 Prioridad:

06.11.2012 US 201261723111 P

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

04.04.2022

73 Titular/es:

**IMBED BIOSCIENCES, INC. (100.0%)
5520 Nobel Dr., STE 100
Madison, WI 53711, US**

72 Inventor/es:

**AGARWAL, ANKIT y
ABBOTT, NICHOLAS L.**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 904 352 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

Procedimientos y composiciones para la curación de heridas

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un procedimiento para fabricar una microlámina de matriz polimérica activa a nanoescala para heridas.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El objetivo principal en el tratamiento de las heridas es lograr su cierre. Las heridas cutáneas abiertas representan una de las principales categorías de heridas e incluyen las heridas por quemaduras, las heridas resultantes de quemaduras químicas (especialmente alcalinas), las heridas por traumatismos físicos, las úlceras neuropáticas, las úlceras por presión, las úlceras por estasis venosa y las úlceras diabéticas. Las heridas cutáneas abiertas se curan habitualmente mediante un procedimiento que comprende seis componentes principales: i) inflamación, ii) proliferación de fibroblastos, iii) proliferación de vasos sanguíneos, iv) síntesis de tejido conectivo, v) epitelización y vi) contracción de la herida. La cicatrización de las heridas se ve afectada cuando estos componentes, ya sea individualmente o en su conjunto, no funcionan correctamente. Numerosos factores pueden afectar a la cicatrización de las heridas, entre ellos la desnutrición, la debilidad sistémica debida a diversas causas, la infección de la herida, la falta local de células progenitoras, los agentes farmacológicos locales y/o sistémicos (por ejemplo, numerosos agentes quimioterapéuticos, actinomicina y esteroides), los traumatismos locales repetidos, la diabetes y otras enfermedades endocrinas/metabólicas (por ejemplo, la enfermedad de Cushing), y la edad avanzada (Hunt y Goodson, 1988, Current Surgical Diagnosis & Treatment, Appleton & Lange, pp. 86-98). Además, las heridas de gran tamaño, independientemente de la causa inicial, presentan retos especiales debido a la gran superficie que debe reepitelizarse para restablecer la integridad de la superficie.

El retraso en la cicatrización de las heridas provoca una morbilidad considerable en los sujetos con diabetes. La diabetes mellitus es un trastorno crónico del metabolismo y la homeostasis de la glucosa que daña muchos órganos. Es la octava causa de muerte en los Estados Unidos (Harris et al., 1987, Diabetes 36:523). En las personas con diabetes, las enfermedades vasculares, la neuropatía, las infecciones y los traumatismos recurrentes predisponen a las extremidades, especialmente al pie, a sufrir cambios patológicos. Estos cambios patológicos pueden conducir en última instancia a la ulceración crónica, que puede hacer necesaria la amputación. Las heridas crónicas y las heridas con cicatrización patológica o desregulada representan una importante carga sanitaria y un drenaje de los recursos sanitarios. Las heridas crónicas tienen importantes repercusiones en la salud física y mental, la productividad, la morbilidad, la mortalidad y el coste de la atención a las personas afectadas. Los tipos más comunes de heridas crónicas están causados por enfermedades sistémicas tales como la diabetes, problemas vasculares tales como la hipertensión venosa y por úlceras por presión inducidas por la inmovilidad; representan el 70 % de todas las heridas crónicas. Las estadísticas sobre la prevalencia de las heridas crónicas varían; sin embargo, los estudios informan de que 0,2 % a 1 % de la población sufre úlceras venosas, 0,5 % de úlceras por presión y 5 % a 10 % de las personas con diabetes experimentan úlceras neuropáticas. Se calcula que el impacto económico de las heridas crónicas por estas afecciones sólo en Estados Unidos supera los 15.000 millones de dólares anuales. Con el envejecimiento de la población, aumentarán los casos de diabetes mellitus y la magnitud del problema asociado a las heridas crónicas en estos pacientes.

La cicatrización normal de las heridas es un procedimiento enormemente complejo que implica la interacción coordinada entre los fibroblastos, las células vasculares, la matriz extracelular y las células epiteliales para dar lugar a una progresión sin fisuras a través de una reacción inflamatoria, la reparación de la herida, la contracción y la cobertura por una barrera epitelial. Sin embargo, en muchos pacientes, debido al entorno local de la herida o a una enfermedad sistémica u otros factores, los procedimientos de cicatrización de la herida pueden volverse asíncronos (es decir, pérdida de conectividad con los mecanismos desencadenantes asociados a eventos celulares anteriores) y no pueden progresar hasta el cierre, lo que da lugar a una úlcera crónica.

Las heridas que no cicatrizan fácilmente pueden causar al sujeto una considerable angustia física, emocional y social, así como un gran gasto económico (Richey et al., 1989, Annals of Plastic Surgery 23:159). De hecho, las heridas que no cicatrizan correctamente y se infectan pueden requerir la escisión del tejido afectado. Se han desarrollado varias modalidades de tratamiento a medida que han progresado los conocimientos básicos de los científicos sobre las heridas y sus mecanismos de cicatrización.

La modalidad convencional más utilizada para ayudar a la cicatrización de las heridas implica el uso de apósitos. En la década de 1960 se produjo un gran avance en el cuidado de las heridas cuando se descubrió que la curación de las mismas con apósitos húmedos y oclusivos era, en general, más eficaz que el uso de apósitos secos y no oclusivos (Winter, 1962, Nature 193:293). En la actualidad, se utilizan de forma rutinaria numerosos tipos de apósitos, entre los que se incluyen películas (por ejemplo, películas de poliuretano), hidrocoloides (partículas coloidales hidrofílicas unidas a espuma de poliuretano), hidrogeles (polímeros entrecruzados que contienen al menos un 60 % de agua), espumas

(hidrofílicas o hidrófobas), alginatos de calcio (materiales compuestos no tejidos de fibras de alginato de calcio) y celofán (celulosa con un plastificante) (Kannon y Garrett, 1995, Dermatol. Surg. 21:583 Davies, 1983, Burns 10:94). Desgraciadamente, algunos tipos de heridas (por ejemplo, las úlceras diabéticas, las úlceras por presión) y las heridas de ciertos sujetos (por ejemplo, los receptores de corticosteroides exógenos) no se curan a tiempo (o no se curan en absoluto) con el uso de dichos apósitos.

También se han utilizado varias modalidades farmacéuticas en un intento de mejorar la curación de las heridas. Por ejemplo, algunos profesionales han utilizado regímenes de tratamiento que implican sulfato de zinc. Sin embargo, la eficacia de estos regímenes se ha atribuido principalmente a que revierten los efectos de los niveles séricos de zinc inferiores subnormales (por ejemplo, la disminución de la resistencia del huésped y la alteración de la actividad bactericida intracelular) (Riley, 1981, Am. Fam. Physician 24:107). Aunque otras deficiencias de vitaminas y minerales también se han asociado a una menor cicatrización de las heridas (por ejemplo, las deficiencias de vitaminas A, C y D; y de calcio, magnesio, cobre y hierro), no hay pruebas sólidas de que el aumento de los niveles séricos de estas sustancias por encima de sus niveles normales mejore realmente la cicatrización de las heridas. Así, salvo en circunstancias muy limitadas, la promoción de la cicatrización con estos agentes ha tenido poco éxito.

Los enfoques clínicos actuales utilizados para promover la cicatrización en las heridas desreguladas incluyen la protección del lecho de la herida contra el traumatismo mecánico (por ejemplo, entablillado, vendaje), el control meticuloso de la carga microbiana de la superficie (antibióticos, péptidos antimicrobianos, bacteriófagos, antisépticos y otros compuestos antimicrobianos que inhiben ampliamente los patógenos de la herida (por ejemplo, sulfadiazina de plata) combinados con la aplicación tópica de factores citoactivos solubles (por ejemplo, factores de crecimiento ejemplificados, pero no limitados, al factor de crecimiento epidérmico-EGF, constituyentes exógenos de la matriz extracelular tales como la fibronectina), la escisión quirúrgica del margen de la herida o de todo el lecho y la colocación quirúrgica de colgajos de tejido y/o autoinjertos, aloinjertos y xenoinjertos. Todos estos enfoques se quedan cortos a la hora de promover condiciones óptimas de curación en muchas de las heridas más difíciles. Es probable que uno de los principales factores que contribuyen al fracaso de estos enfoques tradicionales sea el hecho de que no alteran la estructura química/intrínseca del propio lecho de la herida, que en muchos casos se ha demostrado que contribuye significativamente a su persistencia. Además, el uso histórico de un único factor o conjunto de factores para tratar todas las heridas a menudo se queda corto debido a la gran heterogeneidad encontrada en los propios lechos de las heridas y al complejo entorno de la propia herida que contiene una comunidad de moléculas de señalización que frecuentemente modulan la actividad de las moléculas individuales.

De los agentes bactericidas de amplio espectro, la plata se considera particularmente favorable porque se cree que la probabilidad de desarrollar resistencia bacteriana a la plata es muy baja; por lo tanto, puede emplearse como agente bactericida de forma continua. Sin embargo, los procedimientos disponibles actualmente para aplicar la plata como agente bactericida para el tratamiento de heridas son inadecuados. Por ejemplo, la solución de nitrato de plata al 0,5 % es un agente estándar y popular para la terapia tópica de las heridas por quemaduras, que proporciona un efecto beneficioso en la disminución de la inflamación de la superficie de la herida. Sin embargo, aunque estas formulaciones tienen una alta concentración de plata, no hay actividad residual, lo que requiere aplicaciones frecuentes (por ejemplo, hasta 12 veces al día), lo que supone una grave carga logística en los entornos clínicos. Los iones de plata liberados mediante el uso de una solución de nitrato de plata al 0,5 % se vuelven rápidamente inactivos mediante la formación de complejos químicos por el cloruro en un plazo de 2 horas. Los apósitos frecuentes también resultan en un gran exceso de plata en la herida, causando una decoloración de la herida y efectos tóxicos (Dunn et al., 2004, Burns 30(supplement 1):S1). Además, el nitrato es tóxico para las heridas y para las células de los mamíferos. La reducción del nitrato a nitrito provoca además un daño inducido por los oxidantes a las células, lo que se cita como la razón más probable del deterioro de la reepitelización con el uso de la solución de nitrato de plata en las quemaduras de espesor parcial o en las zonas donantes.

Los compuestos de plata tales como la sulfadiazina de plata en formulaciones de crema (por ejemplo, Flammazine®, silvadene®) también se han utilizado para el tratamiento de heridas. Sin embargo, estas formulaciones también tienen una actividad residual limitada y tienen que aplicarse dos veces al día. La resistencia bacteriana se desarrolla a estas formulaciones, y también se ha observado un deterioro de la reepitelización. Se ha observado toxicidad en la médula ósea con la sulfadiazina de plata, principalmente debido a su componente de propilenglicol.

Además, en algunos procedimientos, la plata misma se incorpora al apósito en lugar de aplicarse como una formulación separada. La liberación controlada y prolongada de plata en la herida permite cambiar los apósitos con menos frecuencia. Sin embargo, los apósitos tienen que estar impregnados con gran cantidad de plata, lo que provoca citotoxicidad en las células de los mamíferos. La plata liberada desde un apósito comercial (Acticoat™) que contiene plata nanocristalina (Dunn et al., 2004, Burns 30(supplement 1):S1) es tóxica para los cultivos celulares *in vitro* de queratinocitos y fibroblastos (Poon et al., 2004, Burns 30:140 Trop et al., 2006, J. Trauma 60:648).

La naturaleza compleja de las heridas patológicas, y la falta de progreso clínico significativo con base en las terapias actuales, indica la necesidad urgente de enfoques nuevos y no convencionales. Lo que se necesita son medios seguros, eficaces e interactivos para mejorar la curación de las heridas crónicas y graves. Los procedimientos deben

ser adaptables sin tener en cuenta el tipo de herida, o la naturaleza de la población de pacientes, a la que pertenece el sujeto.

El documento US 2011/0189287 A1 divulga procedimientos y composiciones para la cicatrización de heridas que utilizan moléculas de modificación covalente de entrecruzamiento para fijar y suministrar agentes activos a una herida.

5

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un procedimiento para fabricar una microlámina de matriz polimérica activa a nanoescala para heridas como se reivindica en las reivindicaciones adjuntas. Los agentes activos para heridas divulgados para su uso en el procedimiento descrito en el presente documento son altamente bactericidas pero que soportan el crecimiento y la viabilidad de las células de mamíferos (por ejemplo, queratinocitos, neuronas, células endoteliales vasculares y células de fibroblastos). En las realizaciones preferidas, el agente activo de la herida es la plata, incluyendo, pero no limitándose a las nanopartículas de plata. En realizaciones particularmente preferidas, la carga de plata de algunas realizaciones de la presente invención está entre 0,35 y 0,4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Las microláminas multicapa de polielectrolito producidas de acuerdo con la presente invención que comprenden plata (por ejemplo, nanopartículas de plata) encuentran su uso en el tratamiento de heridas y la prevención de infecciones, incluyendo, pero no limitándose a , como recubrimiento en dispositivos que entran parcial, directa, indirecta o completamente en contacto con el cuerpo de un sujeto (por ejemplo, un paciente humano).

En algunas realizaciones, el al menos un agente activo para la herida incluye, pero no se limita a, factores tróficos (incluyendo factores de crecimiento polipéptidos, neuropéptidos, neurotrofinas), matrices extracelulares y sus constituyentes nativos individuales (ejemplificados por, pero no limitados a, laminina, fibronectina, vitronectina, colágenos), también secuencias de aminoácidos seleccionadas que se encuentran en estas proteínas y que se sabe que promueven comportamientos celulares favorables a la cicatrización de la herida, por ejemplo, secuencias de unión a integrinas ejemplificadas por, pero no limitadas a, RGD, EILDV, VCAM-1 y sus análogos recombinados o sintéticos, enzimas, inhibidores de enzimas, polipéptidos, péptidos antimicrobianos (ejemplificados por, pero no limitados a, defensinas, magaininas, catelicidinas, bactenicina) agentes antiinfecciosos, incluyendo compuestos que contienen plata (por ejemplo, plata iónica, plata elemental, nanopartículas de plata y sus formulaciones), agentes tampón, vitaminas y minerales, compuestos que promueven la generación/estabilización del óxido nítrico, fuentes de energía para las células, analgésicos, anticoagulantes, factores de coagulación, agentes antiinflamatorios, vasoconstrictores, vasodilatadores, diuréticos y agentes anticancerígenos. En otras realizaciones, los kits incluyen pequeños ARN de interferencia (ARNsi, también denominados micro ARN) que son capaces de promover comportamientos celulares que favorecen el procedimiento de cicatrización de las heridas. En otras realizaciones, los kits incluyen compuestos que promueven/estabilizan un pH favorable, entorno osmótico, energía superficial, carga superficial, funcionalidades superficiales que potencian los efectos galvánicos y magneto positivos en la cicatrización de heridas, o equilibrio de la actividad de las MMP/otras peptidasas/proteasas.

La presente invención proporciona procedimientos para la fabricación de una microlámina de matriz polimérica a nanoescala que comprenden: a) formar una capa polimérica a nanoescala de aproximadamente 0,5 nm a 1000 nm de espesor sobre un sustrato; b) introducir un agente bioactivo en la capa polimérica a nanoescala para proporcionar una capa polimérica a nanoescala activa para heridas, en la que el agente bioactivo es un agente activo para heridas; c) formar una capa polimérica de sacrificio de 0,1 μm de espesor a 100 μm de espesor sobre la capa polimérica a nanoescala activa para heridas, en la que la capa polimérica de sacrificio es disoluble.

En algunas realizaciones, la matriz polimérica a nanoescala es una multicapa polimérica. En algunas realizaciones, la matriz polimérica a nanoescala está formada por capas alternas de al menos un electrolito cargado positivamente y al menos un polielectrolito cargado negativamente. En algunas realizaciones, el al menos un polielectrolito cargado positivamente se selecciona del grupo que consiste en poli(clorhidrato de alilamina) (PAH), polilisisina (PLL), poli(imina de etileno) (PEI) poli(histidina), poli(N,N-dimetil aminoacrilato), poli(cloruro de N,N,N-trimetilaminoacrilato), poli(cloruro de metiacrilamidopropiltrimetilamonio) y polisacáridos naturales o sintéticos tales como quitosano. En algunas realizaciones, el al menos un polielectrolito cargado negativamente se selecciona del grupo que consiste en poli(ácido acrílico) (PAA), poli(estirenosulfonato) (PSS), alginato, ácido hialurónico, heparina, heparán sulfato, condroitín sulfato, dextrán sulfato, poli(ácido metacrílico), celulosa oxidada, carboximetilcelulosa, ácido poliaspártico y ácido poliglutámico. En algunas realizaciones, la multicapa polimérica se forma aplicando el al menos un electrolito cargado positivamente y el al menos un polielectrolito cargado negativamente mediante un procedimiento seleccionado del grupo que consiste en asperjar soluciones poliméricas sobre el sustrato, recubrir por inmersión el sustrato en soluciones poliméricas, o recubrir por rotación soluciones poliméricas sobre el sustrato. En algunas realizaciones, el al menos un electrolito con carga positiva y el al menos un polielectrolito con carga negativa son polielectrolitos sintéticos.

En algunas realizaciones, el agente activo de la herida se incorpora a la capa polimérica a nanoescala de manera que el agente activo de la herida se intercala dentro de la estructura tridimensional de la capa polimérica a nanoescala. En algunas realizaciones, el agente activo para heridas se incorpora a la multicapa polimérica a nanoescala, de modo que el agente activo para heridas se intercala dentro de las capas de la multicapa polimérica. En algunas realizaciones, el agente activo para la herida se selecciona del grupo que consiste en un agente antimicrobiano, un agente

65

antibiopelícula, un factor de crecimiento, un agente hemostático, un péptido activo para heridas, un polipéptido activo para heridas, un analgésico, un anticoagulante, un agente antiinflamatorio y una molécula de fármaco o un compuesto de fármaco. En algunas realizaciones, el agente antimicrobiano se selecciona de los grupos que consisten en agentes antimicrobianos de moléculas pequeñas cargadas, polipéptidos antimicrobianos, partículas metálicas y agentes antimicrobianos de iones metálicos. En algunas realizaciones, el agente antimicrobiano de iones metálicos es un ion metálico, una sal de ion metálico o una nanopartícula de ion metálico. En algunas realizaciones, la nanopartícula de iones metálicos es una nanopartícula de plata. En algunas realizaciones, el agente antimicrobiano de molécula pequeña cargada se selecciona del grupo que consiste en clorhexidina, antibióticos, biguanida de polihexametileno (PHMB), yodo, yodo cadexómero, yodo povidona (PVI), peróxido de hidrógeno y vinagre (ácido acético). En algunas realizaciones, el agente antibiopelícula de iones metálicos es un ion metálico, una sal de ion metálico o una nanopartícula de ion metálico. En algunas realizaciones, el agente antibiopelícula de iones metálicos es una sal de galio, nanopartícula de galio, aleación de galio o una aleación de galio y plata. En algunas realizaciones, el agente bioactivo se introduce en la capa polimérica a nanoescala durante la formación de la capa polimérica a nanoescala. En algunas realizaciones, el agente bioactivo se introduce en la capa polimérica a nanoescala después de la formación de la capa polimérica a nanoescala. En algunas realizaciones, la introducción de un agente bioactivo en la capa polimérica a nanoescala para proporcionar una multicapa polimérica a nanoescala bioactiva comprende la introducción de iones de plata en la multicapa polimérica a nanoescala y la reducción de los iones de plata *in situ* para proporcionar nanopartículas de plata. En algunas realizaciones, la introducción de un agente bioactivo en la capa polimérica a nanoescala para proporcionar una multicapa polimérica a nanoescala bioactiva comprende la introducción de un agente antimicrobiano de molécula pequeña cargado entre las capas de polielectrolito que tienen una carga diferente. En algunas realizaciones, el procedimiento comprende de 1 a 20 repeticiones del paso de introducción, por ejemplo, para controlar y/o aumentar la cantidad de agente bioactivo introducido en la capa polimérica a nanoescala. En algunas realizaciones, el procedimiento comprende el control de la cantidad del agente bioactivo en la microlámina de matriz polimérica a nanoescala mediante el control del número de capas poliméricas a nanoescala, mediante el control del pH de formación de la capa polimérica a nanoescala, y/o mediante el control del número de ciclos de introducción.

La capa polimérica de sacrificio tiene un espesor de aproximadamente 0,1 μm y 100 μm . La capa polimérica de sacrificio comprende un polímero soluble en agua. En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio soluble en agua está hecha de y/o comprende alcohol polivinílico (PVA). En algunas realizaciones, el polímero soluble tiene un peso molecular mayor que 22 kDa. En algunas realizaciones, el polímero soluble en agua se puede eliminar por filtración renal.

En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio soluble en agua está hecha de ácido poliacrílico (PAA). En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio que comprende un polímero soluble en agua se disuelve cuando se expone a la humedad en una superficie para que la multicapa polimérica nanoactiva se deposite en la superficie. En algunas realizaciones, los procedimientos comprenden además la introducción de un agente bioactivo en la capa polimérica de sacrificio. En algunas realizaciones, los procedimientos comprenden además la introducción de micropartículas o nanopartículas en la capa polimérica de sacrificio. En algunas realizaciones, las micropartículas o nanopartículas de la capa polimérica de sacrificio están cargadas con agentes bioactivos. En algunas realizaciones, los procedimientos comprenden además la introducción de micropartículas o nanopartículas magnéticas en la capa polimérica de sacrificio. En algunas realizaciones, el agente bioactivo se selecciona del grupo que consiste en un agente antimicrobiano, un factor de crecimiento, un agente hemostático, un péptido bioactivo, un polipéptido bioactivo, un analgésico, un anticoagulante, un agente antiinflamatorio y una molécula de fármaco o un compuesto de fármaco. En algunas realizaciones, el agente antimicrobiano se selecciona de los grupos que consisten en agentes antimicrobianos de moléculas pequeñas cargadas, polipéptidos antimicrobianos, partículas metálicas y agentes antimicrobianos de iones metálicos. En algunas realizaciones, el reactivo antimicrobiano de iones metálicos es un ion metálico, una sal de ion metálico o una nanopartícula de ion metálico. En algunas realizaciones, la nanopartícula de iones metálicos es una nanopartícula de plata. En algunas realizaciones, el agente antimicrobiano de molécula pequeña se selecciona del grupo que consiste en clorhexidina, antibióticos, biguanida de polihexametileno (PHMB), yodo, yodo cadexómero, yodo povidona (PVI), peróxido de hidrógeno, vinagre (ácido acético). En algunas realizaciones, el sustrato se selecciona del grupo que consiste en un sustrato de polidimetilsiloxano (PDMS), un sustrato de vidrio, un sustrato de plástico, un sustrato de metal y un sustrato de teflón. En algunas realizaciones, el sustrato está funcionalizado para proporcionar una superficie de baja energía. En algunas realizaciones, el sustrato se funcionaliza con octadeciltriflorosilano.

En algunas realizaciones, los procedimientos comprenden además el paso de retirar del sustrato la microlámina de matriz de capa polimérica a nanoescala que comprende la capa polimérica a nanoescala activa para heridas y la capa polimérica de sacrificio asociada. En algunas realizaciones, se retira de dicho sustrato más del 90 %, más del 95 %, más del 97 %, más del 98 % o más del 99 % de la microlámina de matriz polimérica a nanoescala que comprende la capa polimérica a nanoescala activa para heridas y la capa polimérica de sacrificio asociada. En algunas realizaciones, los procedimientos comprenden además la incorporación de partículas o perlas a nanoescala o microescala en la capa polimérica a nanoescala. En algunas realizaciones, los procedimientos comprenden además la incorporación de nanopartículas o micropartículas magnéticas en la capa polimérica a nanoescala.

En algunas realizaciones, la capa polimérica a nanoescala comprende un polímero seleccionado del grupo que consiste en polielectrolitos, lípidos, proteínas, colágeno, ácido hialurónico, quitosano, queratina, fibronectina,

5 vitronectina, laminina, polisacáridos, polianhídridos, poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), poli(ácido 1-láctico) (PLLA), y combinaciones de los mismos o fragmentos de los mismos. En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio se aplica a la capa polimérica a nanoescala mediante recubrimiento por rotación, recubrimiento por inmersión o recubrimiento por aspersión. En algunas realizaciones, la microlámina de matriz polimérica a nanoescala tiene un módulo de Young de aproximadamente 0,1 GPa a aproximadamente 10 GPa después de ser retirada del sustrato. En algunas realizaciones, la formación de la capa polimérica a nanoescala comprende el depósito de un electrolito cargado positivamente y un polielectrolito cargado negativamente para formar una bicapa. En algunas realizaciones, los procedimientos comprenden de 2 a 50 pasos de depósito. En algunas realizaciones, la formación de la capa polimérica a nanoescala comprende un paso de proporcionar condiciones de solución que comprenden un pH de 1,5 a 2,5, un pH de 6,5 a 8,5, y/o un pH de 4,5 a 6,5. En algunas realizaciones, los procedimientos comprenden además el secado de la microlámina de matriz polimérica a nanoescala. En algunas realizaciones, el procedimiento comprende además la introducción de un segundo o más agentes bioactivos en la capa polimérica a nanoescala.

15 Con el procedimiento de la invención, se fabrica una microlámina que comprende: una capa polimérica a nanoescala activa para heridas de un espesor de aproximadamente 0,5 nm y 1.000 nm, la capa polimérica a nanoescala activa para heridas que tiene un agente activo para heridas incorporado allí; y una capa polimérica de sacrificio adyacente a la capa polimérica a nanoescala activa para heridas, teniendo la capa polimérica de sacrificio un espesor de 0,1 µm a 100 µm sobre dicha capa polimérica a nanoescala activa para heridas y siendo soluble cuando se expone a una superficie húmeda. En algunas realizaciones, la capa polimérica a nanoescala es una multicapa polimérica. En algunas realizaciones, la multicapa polimérica a nanoescala está formada por capas alternas de al menos un electrolito cargado positivamente y al menos un polielectrolito cargado negativamente. En algunas realizaciones, el al menos un polielectrolito cargado positivamente se selecciona del grupo que consiste en poli(clorhidrato de alilamina) (PAH), polilisina (PLL), poli(imina de etileno) (PEI) poli(histidina), poli(N,N-dimetil aminoacrilato), poli(cloruro de N,N,N-trimetilaminoacrilato), poli(cloruro de metiacrilamidopropiltrimetilamonio) y polisacáridos naturales o sintéticos tales como quitosano. En algunas realizaciones, el al menos un polielectrolito cargado negativamente se selecciona del grupo que consiste en poli(ácido acrílico) (PAA), poli(estirenosulfonato) (PSS), alginato, ácido hialurónico, heparina, heparán sulfato, condroitín sulfato, sulfato de dextrano, ácido poli(met)acrílico, celulosa oxidada, carboximetilcelulosa, ácido poliaspártico y ácido poliglutámico. En algunas realizaciones, el al menos un electrolito con carga positiva y el al menos un polielectrolito con carga negativa son polielectrolitos sintéticos. En algunas realizaciones, el agente activo para heridas se incorpora a la capa polimérica a nanoescala de modo que el agente activo para heridas se intercala dentro de la estructura tridimensional de la capa polimérica a nanoescala. En algunas realizaciones, el agente activo para heridas se incorpora a la multicapa polimérica a nanoescala, de modo que el agente activo para heridas se intercala dentro de las capas de la multicapa polimérica a nanoescala.

35 En algunas realizaciones, el agente activo para heridas se selecciona del grupo que consiste en un agente antimicrobiano, un factor de crecimiento, un agente hemostático, un péptido bioactivo, un polipéptido bioactivo, un analgésico, un anticoagulante, un agente antiinflamatorio y una molécula de fármaco o un compuesto de fármaco. En algunas realizaciones, el agente antimicrobiano se selecciona de los grupos que consisten en agentes antimicrobianos de moléculas pequeñas, agentes antimicrobianos de moléculas pequeñas cargadas, polipéptidos antimicrobianos, partículas metálicas y agentes antimicrobianos de iones metálicos. En algunas realizaciones, el reactivo antimicrobiano de iones metálicos es un ion metálico, una sal de ion metálico o una nanopartícula de ion metálico. En algunas realizaciones, la nanopartícula de iones metálicos es una nanopartícula de plata. En algunas realizaciones, los agentes antimicrobianos de molécula pequeña cargados o el agente antimicrobiano de molécula pequeña se selecciona del grupo que consiste en clorhexidina, antibióticos, biguanida de polihexametileno (PHMB), yodo, yodo cadexómero, yodo povidona (PVI), peróxido de hidrógeno, vinagre (ácido acético). La capa polimérica de sacrificio tiene un espesor de aproximadamente 0,1 µm a aproximadamente 100 µm. En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio tiene un espesor de aproximadamente 0,1 µm a un espesor de aproximadamente 50 µm. En algunas realizaciones, en las que la capa polimérica de sacrificio tiene un espesor de aproximadamente 1 µm a un espesor de aproximadamente 20 µm. En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio tiene un espesor de aproximadamente 1 µm a un espesor de aproximadamente 10 µm. En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio comprende un polímero soluble en agua. En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio comprende un agente activo para heridas. En algunas realizaciones, el agente activo para heridas se selecciona del grupo que consiste en un agente antimicrobiano, un factor de crecimiento, un agente hemostático, un péptido bioactivo, un polipéptido bioactivo, un analgésico, un anticoagulante, un agente antiinflamatorio y una molécula de fármaco o un compuesto de fármaco. En algunas realizaciones, el agente antimicrobiano se selecciona de los grupos que consisten en agentes antimicrobianos de moléculas pequeñas, polipéptidos antimicrobianos, partículas metálicas y agentes antimicrobianos de iones metálicos. En algunas realizaciones, el reactivo antimicrobiano de iones metálicos es un ion metálico, una sal de ion metálico o una nanopartícula de ion metálico. En algunas realizaciones, la nanopartícula de iones metálicos es una nanopartícula de plata. En algunas realizaciones, el agente antimicrobiano de molécula pequeña se selecciona del grupo que consiste en clorhexidina, antibióticos, biguanida de polihexametileno (PHMB), yodo, yodo cadexómero, yodo povidona (PVI), peróxido de hidrógeno y vinagre (ácido acético).

60 En algunas realizaciones, las microláminas comprenden además partículas a nanoescala o a microescala incorporadas a la capa polimérica a nanoescala.

5 En algunas realizaciones, la capa polimérica a nanoescala comprende un polímero seleccionado del grupo que consiste en polielectrolitos, lípidos, proteínas, colágeno, ácido hialurónico, quitosano, queratina, fibronectina, vitronectina, laminina, polisacáridos, polianhídridos, poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), poli(ácido 1-láctico) (PLLA), y combinaciones de los mismos o fragmentos de los mismos.

10 En algunas realizaciones, la microlámina comprende el agente activo para heridas en una concentración de aproximadamente 0,01 a 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. En algunas realizaciones, el agente bioactivo se proporciona en una cantidad tal que el agente activo de la herida se libera a una tasa de aproximadamente 0,01 a 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ por día. En algunas realizaciones, la microlámina tiene un área de aproximadamente 0,2 a 600 cm^2 .

15 En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio tiene un espesor uniforme con una variación menor que 500, 400, 300, 200, 100, 50, 20 o 10 % del espesor promedio cuando se mide en sección transversal. En algunas realizaciones, la microlámina tiene un módulo de Young de aproximadamente 0,1 GPa a aproximadamente 10 GPa, por ejemplo, después de retirarla de un sustrato.

20 En algunas realizaciones, cuando el artículo se aplica a una superficie, la capa polimérica de sacrificio se disuelve cuando se expone a la humedad para dejar la capa polimérica a nanoescala en la superficie. En algunas realizaciones, la capa polimérica a nanoescala forma una barrera contra los patógenos exógenos cuando se aplica a una superficie húmeda. En algunas realizaciones, la microlámina comprende además un segundo o más agentes activos para heridas. En algunas realizaciones, la microlámina es translúcida y/o transparente.

25 La microlámina producida con el procedimiento de la invención puede utilizarse en un dispositivo médico que comprende la microlámina producida como se ha descrito anteriormente, en la que el dispositivo médico puede seleccionarse del grupo que consiste en un apósito para heridas, un dispositivo médico que se puede implantar, un dispositivo médico que entra en contacto con la piel, un catéter, una malla extensible, una membrana, un lente de contacto, y una malla quirúrgica, en la que además el apósito para heridas puede ser un apósito biológico para heridas, un apósito abiológico para heridas, un material absorbente, una espuma, una película fina transparente, un hidrogel, hidrofibras, hidrocoloides, fibras de alginato, gel de sílice, poliacrilato de sodio, poliacrilamidas de potasio, y combinaciones de los mismos.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

35 La Figura 1 muestra un esquema de un lecho para heridas modificado con una multicapa de polielectrolitos. La Figura 2 muestra un esquema de un lecho para heridas modificado con agentes modificadores covalentes. La Figura 3 ejemplifica la inmovilización covalente de proteínas para modelar superficies de vidrio tratadas terminadas en amina.

40 La Figura 4 muestra los resultados *ex vivo* de la deposición multicapa de polielectrolitos de sulfonato de poliestireno (PSS) y de poli(clorhidrato de alilamina) marcado con FITC (FITC-PAH).

45 La Figura 5 demuestra la diferencia en la cicatrización de las heridas cutáneas de espesor total en los ratones diabéticos (db/db) en comparación con los ratones de control (tipo silvestre).

La Figura 6 es un ejemplo del uso de perlas para la curación de un lecho de la herida. En este ejemplo, las perlas terminadas en ácido carboxílico se activan fuera del lecho de la herida utilizando NHS y EDC. Las perlas activadas se introducen en el lecho de la herida y se inmovilizan en el mismo mediante la reacción de las superficies activadas de las perlas con los grupos de amina presentes en el lecho de la herida. Los factores de crecimiento se introducen en el lecho de la herida y se inmovilizan mediante la reacción con las superficies expuestas de las perlas activadas.

50 La Figura 7 proporciona una lista de polipéptidos antimicrobianos, identificados por su nombre y número de identificación de la base de datos AMSDb.

La Figura 8 muestra la viabilidad de los fibroblastos de ratón NIH-3T3 tras 24 horas de incubación en medios de crecimiento sobre multicapas de polielectrolitos (PEM) cargadas de plata (Ejemplo 13).

55 La Figura 9 muestra las bacterias viables detectadas en las PEM cargados de plata 8 horas después de la incubación con 10^8 cfu/ml de *S. epidermidis* en tampón. Se prepararon las PEM con distintas cargas de plata incubándolas con diluciones decimales en serie de la solución de Ag^+ a granel. Las PEM incubados con una solución de Ag^+ (nitrato de plata) de 5 mM, como se indica en esta figura, contenían $\sim 0,38 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ (donde no se observó citotoxicidad hacia las células NIH-3T3 en la Figura 8), mientras que la carga de plata en el resto de las PEM estaba por debajo del límite de detección del espectrómetro de análisis elemental.

60 La Figura 10 muestra las células NIH 3T3 después de 24 horas de incubación en superficies de vidrio recubiertas con las PEM (10,5 bicapas de $\text{PAH}_{7,5}/\text{PAA}_x$) sin plata (a,c,e) o con nanopartículas de plata a concentraciones (b) 0,62, (d) 0,48, o (f) 0,39 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Las PEM se prepararon con una solución de PAA de pH 5,5 (a, b), o 6,5 (c, d) o 7,5 (e, f).

La Figura 11 proporciona una representación esquemática de una realización de multicapas poliméricas con perlas a microescala.

La Figura 12 muestra un gráfico que representa la transferencia de una multicapa polimérica que contiene perlas a microescala a una superficie blanda en comparación con la transferencia de una multicapa polimérica sin perlas a microescala.

La Figura 13 proporciona la fabricación de microláminas compuestas por una nanopelícula de polímero y un fundido de sacrificio.

La Figura 14 proporciona una ilustración de la aplicación de las microláminas como apósito para heridas de micropelícula. El fundido de sacrificio del apósito de micropelícula se disuelve rápidamente en las heridas húmedas e inmoviliza la nanopelícula de polímero en la superficie de la herida.

La Figura 15 muestra imágenes de microláminas compuestas por un fundido hidrosoluble de sacrificio de PVA y una nanopelícula hecha con las PEM que contiene nanopartículas de plata. (a) Microlámina (1"x1") colocada en un plato de cristal. (b) Nanopelícula de polímero (1"x1") flotando en una superficie de agua tras la disolución del fundido de sacrificio de la microlámina en la solución.

La Figura 16 proporcionan diagramas de ensamblaje de nanopelículas poliméricas depositadas como PEM de PAH y PAA sobre un sustrato. Las PEM se impregnan con iones de plata (Ag⁺) y nanopartículas de plata (AgNP).

La Figura 17 proporciona un diagrama del ensamblaje de nanopelículas poliméricas depositadas sobre un sustrato como PEM de PAA y PAH con acetato de clorhexidina.

La Figura 18 proporciona un gráfico que muestra la liberación sostenida de iones de plata en PBS a partir de nanopelículas poliméricas ensambladas como las PEM de PAH y PAA que contienen 11±2,1 ug/cm² de nanopartículas de plata.

La Figura 19 muestra un gráfico de la liberación sostenida de clorhexidina (CX) en PBS a partir de nanopelículas poliméricas fabricadas como las PEM que contienen moléculas de acetato de clorhexidina.

La Figura 20A y B muestran imágenes de la aplicación de un apósito para heridas con micropelícula de plata en heridas por escisión en ratones. (A) Una herida de espesor total entablillada de 6 mm de diámetro en el flanco de un ratón. (b) Cobertura de la herida con un apósito para heridas de micropelícula impregnado de plata. El fundido de sacrificio se disolvió en la herida húmeda para inmovilizar la nanopelícula de plata en la superficie de la herida.

La Figura 21 proporciona un gráfico que muestra la reducción de la colonización bacteriana de las heridas por escisión en ratones en el día 3 del postoperatorio mediante un apósito para heridas con micropelícula de plata que contiene nanopartículas de plata. Todas las heridas se inocularon con *S. aureus* el día 0 y se cubrieron con el apósito para heridas Integra, o se cubrieron con el apósito para heridas con micropelícula de plata junto con el apósito Integra.

La Figura 22 muestra que el apósito para heridas con micropelícula de plata previene la infección y acelera el cierre de las heridas contaminadas en ratones. Dos heridas quirúrgicas (de 6 mm de diámetro) creadas en los flancos de cada ratón balb/c se inocularon con 2×10⁵ UFC de *S. aureus* y (A) se cubrieron con un apósito biosintético -Biobrane en un grupo- o (B) se cubrieron con un apósito para heridas con micropelícula de plata antes de colocar Biobrane en las heridas. La figura muestra imágenes representativas de las heridas del grupo A y del grupo B en el día 9 posoperatorio. La Figura 22C muestra el área (promedio ± SEM) de las heridas (como porcentaje del tamaño original de la herida) en el día 9 después de la cirugía en las heridas de los ratones que fueron tratadas sólo con el apósito de Biobrane, o con el apósito para heridas con micropelícula de plata y Biobrane. (n=10 ratones/grupo; p<0,05). La Figura 22D muestra la carga microbiana (promedio ± SEM) de *S. aureus* en las biopsias de las heridas recogidas el día 9 posoperatorio en los dos grupos de ratones. La colonización microbiana de las heridas fue significativamente menor en el grupo tratado con el apósito de micropelícula de plata (n=10 ratones/grupo; p<0,05; prueba U de Mann-Whitney). La Figura 22E muestra el porcentaje de cierre de la herida (media ± SEM) (como porcentaje del tamaño original de la herida) en el día 9 posoperatorio. El cierre de las heridas fue significativamente mayor en el grupo tratado con el apósito con micropelícula de plata (n=10 ratones/grupo; p<0,05; prueba U de Mann-Whitney).

La Figura 23 es un diagrama de aplicación de las microláminas para la modificación de la superficie de un dispositivo médico, tal como una malla quirúrgica, un lente de contacto o un apósito para heridas. El fundido de sacrificio de la microlámina se disuelve rápidamente en la superficie húmeda e inmoviliza la nanopelícula de polímero en ella.

La Figura 24 proporciona imágenes que muestran la inmovilización de nanopelículas de polímero por una microlámina en la superficie de la matriz de colágeno húmeda del apósito para heridas Integra. (A) Micrografía de la superficie de la matriz de colágeno del apósito para heridas Integra. (B) Micrografía de la nanopelícula polimérica fluorescente inmovilizada en la matriz de colágeno del apósito para heridas Integra tras la disolución del fundido de sacrificio de una microlámina. Barra de escala= 200 um.

La Figura 25 proporciona imágenes que muestran la inmovilización de una nanopelícula de polímero que contiene microesferas mediante una microlámina en la matriz de colágeno húmeda del apósito para heridas Integra. (A) Micrografía de una microlámina con una nanopelícula de polímero que contiene microesferas fluorescentes de 2 um, ensambladas en una lámina elastomérica. (B) Micrografía de la nanopelícula de polímero (con microesferas fluorescentes) inmovilizada en la matriz de colágeno húmeda del apósito Integra tras la disolución del fundido de sacrificio de la microlámina. Barra de escala= 20 um.

La Figura 26 proporciona un gráfico que muestra la reducción de la colonización bacteriana en soluciones incubadas en la superficie del apósito para heridas Integra modificado por nanopelículas de plata (AgNP)

utilizando microláminas con fundidos de sacrificio solubles en agua de PVA. Las soluciones sobre los apósitos de prueba se inocularon repetidamente con 10^7 UFC/ml de *S. aureus* cada 24 horas.

La Figura 27 proporciona una curva de tensión-deformación que muestra la resistencia mecánica de una microlámina de plata.

La Figura 28 muestra un diagrama esquemático de acuerdo con una realización de la tecnología descrita en el presente documento. La Figura 28a muestra los polielectrolitos empleados para el ensamblaje capa a capa de las PEM de espesor nanométrico. La Figura 28b es una ilustración esquemática del procedimiento utilizado para fabricar micropelículas de PEM/PVA y aplicarlas a lechos de las heridas: (1) Las PEM se ensamblan en láminas de PDMS, (2) después de la fabricación, las PEM se impregnan con iones de plata que posteriormente se reducen a nanopartículas de plata, (3) la solución de PVA se recubre por rotación sobre las PEM cargados de plata, (4) la micropelícula de PEM/PVA se despegar de la lámina de PDMS y (5) se coloca en un lecho húmedo. 6) La disolución de la capa de PVA en la herida húmeda conduce a (7) la inmovilización de las PEM en el lecho de la herida.

La Figura 29 es un gráfico que muestra el grosor elipsométrico de las PEM de (FITC-PAH/PAA) con el aumento del número de bicapas, n , ensambladas en obleas de silicio. Los datos se presentan como media \pm SEM con $n = 12$. Como se muestra en la figura, las PEM ensamblados con solución de PAA a pH = 2,5 son más gruesos que los fabricados con solución de PAA a pH = 5,5. A un pH más bajo de la PAA, hay menos grupos carboxílicos ionizados disponibles para la unión electrostática con los policationes cargados. Por lo tanto, esta interacción electrostática más débil entre los segmentos del polímero requiere una mayor deposición de polianiones para compensar la carga de los policationes, y da lugar a multicapas más gruesas. Las multicapas poliméricas con PAA pH 2,5 muestran una tendencia de crecimiento lineal (espesor promedio de ~ 1200 Å para 10,5 bicapas), mientras que la de PAA pH 5,5 muestra una tendencia de crecimiento exponencial (espesor promedio de ~ 800 Å para 10,5 bicapas).

La Figura 30 es una serie de imágenes de microscopía de fluorescencia que muestran que las micropelículas de las PEM/PVA se desprenden uniformemente de las láminas de PDMS sobre las que se fabrican y conservan sus cargas de plata. La Figura 30a, Figura 30b y Figura 30c muestran micrografías fluorescentes representativas de una micropelícula PEM/PVA de 6 mm de diámetro con las PEM de (FITC-PAH/PAA_{5,5})_{1,5}. La Figura 30a muestra el PEM sobre una lámina de PDMS antes de ser desprendido; la Figura 30b muestra el PDMS después de ser desprendido; y la Figura 30c muestra el PEM colocado sobre un portaobjetos de vidrio para la obtención de imágenes.

La Figura 31 es una serie de micrografías de fluorescencia que muestran que las PEM de AF-PAH/PAA_{5,5})_{10,5} (ensamblados usando PAH marcado con Alexa Fluor 560) no pueden desprenderse como micropelícula de PEM/PVA a partir de obleas de silicio no funcionalizadas con OTS (Figura 31a, Figura 31b y Figura 31c), pero pueden desprenderse uniformemente a partir de obleas de silicio funcionalizadas con OTS (Figura 31d, Figura 31e y Figura 31f). La Figura 31a y la Figura 31d muestran los AF-PEM fabricados en sustratos de oblea de Si no funcionalizados y funcionalizados con OTS, respectivamente; la Figura 31b y la Figura 31e muestran el PEM que queda en la oblea de Si no funcionalizada y funcionalizada con OTS, respectivamente, después de desprenderse como una micropelícula de PEM/PVA; la Figura 31c y la Figura 31f muestran una micropelícula de PEM/PVA desprendida de los sustratos de oblea de Si no funcionalizados y funcionalizados con OTS, respectivamente, y colocada en un portaobjetos de vidrio para obtener imágenes. La Figura 32 es un gráfico que muestra la carga de plata de las micropelículas de las PEM/PVA antes y después de desprender las PEM de las láminas de PDMS, ilustrado usando las PEM con diferentes cargas de plata. Los datos se presentan como media \pm SEM con $n \geq 4$.

La Figura 33 es un gráfico que muestra que la carga de plata en las PEM almacenados durante 3 meses a temperatura ambiente no es significativamente diferente de las PEM recién ensamblados. Los datos se presentan como media \pm SEM ($n \geq 3$).

La Figura 34 es una serie de imágenes de microscopía de fluorescencia y un gráfico que muestra la caracterización de las PEM inmovilizados a partir de micropelículas de PEM/PVA sobre la dermis de la piel de un cadáver humano (GammaGraft). La Figura 34a muestra una micropelícula con las PEM (FITC-PAH/PAA_{2,5})_{40,5} sobre una lámina de PDMS; la Figura 34b muestra una micropelícula de PEM/PVA colocada sobre la dermis de la piel con las PEM orientados hacia la superficie del tejido; la Figura 34c muestra las PEM inmovilizados en la dermis de la piel después de repetidos enjuagues con 1 M de PBS; y la Figura 34d muestra las PEM retenidos en la dermis de la piel humana después de 3 días de incubación continua en exceso de PBS en placas agitadoras. El gráfico de la Figura 34e muestra la liberación sostenida de iones de plata en PBS desde la dermis de la piel modificada con las PEM impregnados con un intervalo de cargas de plata. Los datos se presentan como media \pm SEM con $n \geq 4$.

La Figura 35 es un gráfico que muestra que el PVA fundido en la micropelícula de PEM/PVA se disuelve completamente en soluciones acuosas en 10 minutos. El gráfico presenta la intensidad de la absorbencia de un colorante verde de malaquita incorporado al fundido de PVA y liberado en 3 ml de tampón PBS junto con la disolución del fundido de PVA en diferentes puntos de tiempo. La intensidad de la absorbencia del colorante verde de malaquita en PBS se midió en un espectrofotómetro UV-vis a una longitud de onda de 595 nm. Los datos se presentan como media \pm SEM ($n \geq 5$).

La Figura 36 es una serie de micrografías de fluorescencia que muestran la persistencia de los FITC-PEM, por ejemplo, (FITC-PAH/PAA_{2,5})_{40,5}, inmovilizados en la dermis de la piel frente a la presión mecánica y la abrasión. La Figura 36a muestra las FITC-PEM inmovilizadas en la dermis de la piel; la figura 36b muestra

las FITC-PEM intactas en la dermis de la piel después de una presión mecánica aplicada verticalmente de ~8 kPa; la Figura 36c muestra las FITC-PEM retenidas en la dermis de la piel después de una abrasión lateral con apósitos Telfa (1 mm/s) tras el tratamiento de presión mecánica descrito en la Figura 36b.

La Figura 37 es una serie de micrografías de fluorescencia que muestran la formación de grietas en las PEM de (PAH/PAA_{2,5}) con bicapas de 40,5. La Figura 37a es una micrografía fluorescente de una PEM de (FITC-PAH/PAA_{2,5}) con 5,5 bicapas fabricadas sobre una lámina de PDMS elastomérico. La Figura 37b es una micrografía fluorescente de un PEM de (FITC-PAH/PAA_{2,5}) que tiene 10,5 bicapas fabricadas sobre una lámina de PDMS elastomérico. La Figura 37c es una micrografía fluorescente de un PEM de (FITC-PAH/PAA_{2,5}) que tiene 40,5 bicapas fabricadas sobre una lámina de PDMS elastomérico.

La Figura 38 es un gráfico que muestra la actividad antibacteriana en suspensiones de *S. aureus* incubadas durante 24 horas o 48 horas sobre la piel-dermis modificada con micropelículas de PEM/PVA con un intervalo de cargas de plata. La piel-dermis modificada se incubó en placas de 96 pocillos con 10⁷ CFU de *S. aureus* en 100 ml de tampón HBSS en placas con agitación (150 rpm) a 37 °C. Los datos se presentan como media ± SEM con n ≥ 4.

La Figura 39 es un gráfico que muestra la actividad antibacteriana en suspensiones de *Ps. aeruginosa* incubadas durante 24 horas sobre la piel-dermis modificada con plata/PEM (con cargas de plata de 2,9 ± 0,1 µg cm⁻²) utilizando micropelícula PEM/PVA. La dermis de la piel modificada se colocó en placas de 96 pocillos y se incubó con 10⁷ CFU de *Ps. aeruginosa* en 100 ml de tampón PBS durante 24 horas con agitación (150 rpm) a 37 °C. Tras la incubación, se enjuagaron las bacterias y se recogieron de los pocillos de ensayo, y sus diluciones seriadas se sembraron en placas de agar sangre. Los datos se presentan como media ± SEM con n ≥ 4.

La Figura 40 es una serie de imágenes que muestran la modificación de la herida de espesor total entablillada en ratones con una plata/PEM utilizando un micropelícula. La Fotografía de la Figura 40a muestra heridas entablilladas en ratones con micropelícula de PEM/PVA sujetado con pinzas; la Figura 40b muestra las PEM adheridas en heridas de ratones. La Figura 40c, la Figura 40d y la Figura 40e muestran la persistencia de las PEM marcados con fluorescencia e inmovilizados en la superficie de la escisión de espesor total. La Figura 40c es una micrografía fluorescente que muestra una micropelícula de PEM/PVA que comprende una PEM de (FITC-PAH/PAA_{2,5})_{40,5} sobre una lámina de PDMS antes de la transferencia; la Figura 40d es una micrografía fluorescente que muestra la micropelícula de PEM/PVA que comprende una PEM de (FITC-PAH/PAA_{2,5})_{40,5} en el lecho de la herida cosechada de los ratones después de 1 hora; y la Figura 40e es una micrografía fluorescente que muestra la micropelícula PEM/PVA que comprende una PEM de (FITC-PAH/ en el lecho de la herida cosechada de los ratones después de 3 días postoperatorio.

La Figura 41 es un gráfico que muestra la carga de plata en las PEM de ((PAH/PAA_{2,5})_{10,5}) adaptadas hasta 16,8 ± 0,5 µg cm⁻² mediante la repetición de tres ciclos de intercambio de iones de plata y su reducción in situ en nanopartículas de plata. Los datos se presentan como media ± SEM (n ≥ 4).

La Figura 42 es un gráfico que muestra la liberación sostenida de iones de plata en PBS a partir de las PEM de (PAH/PAA_{2,5})_{10,5} con cargas de plata de 16,8 ± 0,5 µg cm⁻². La carga de plata en las PEM se consiguió repitiendo tres ciclos de intercambio y reducción de iones de plata. Esta construcción de las PEM se utilizó para tratar heridas contaminadas en ratones. Los datos se presentan como media ± SEM con n = 3.

La Figura 43 es un gráfico que muestra la inhibición de la colonización microbiana en heridas murinas contaminadas tratadas con micropelículas PEM/PVA (con una carga de plata de 16,8 ± 0,5 µg cm⁻²). Las heridas de escisión de 6 mm de diámetro entablilladas e inoculadas tópicamente con 3,0 × 10⁶ CFU/cm de *S. aureus* fueron tratadas con la micropelícula de PEM/PVA y cubiertas con un apósito biosintético para heridas Biobrane®. El gráfico muestra los recuentos bacterianos recuperados de las heridas cosechadas y homogeneizadas (junto con Biobrane®) después de 3 días después de la cirugía (*, P > 0.05, **, P < 0.001, ***, P < 0.03). Los datos representan la media ± SEM con n = 8 ratones (=16 heridas) para cada grupo.

La Figura 44 es un gráfico que muestra la inhibición de la colonización microbiana en heridas murinas contaminadas tratadas con micropelículas PEM/PVA (con una carga de plata de 17,63 ± 3,13 µg cm⁻²). Las heridas de escisión de 6 mm de diámetro entablilladas e inoculadas tópicamente con 2,71 × 10⁶ CFU/cm de *S. aureus* fueron tratadas con la micropelícula de PEM/PVA y cubiertas con un apósito biosintético para heridas Biobrane®. El gráfico muestra los recuentos bacterianos recuperados de las heridas cosechadas y homogeneizadas (junto con Biobrane®) después de 3 días después de la cirugía. Los datos representan la media ± SEM con n=10 ratones (=20 heridas) para cada grupo (P < 0,001).

La Figura 45 es una serie de imágenes y un gráfico que muestra que las micropelículas de PEM/PVA promueven la cicatrización normal de las heridas por escisión entablilladas en ratones. La Figura 45a, la Figura 45b y la Figura 45c muestran imágenes macroscópicas de heridas en los días postoperatorios 0, 7 y 14, respectivamente, que fueron modificadas en el postoperatorio con plata/PEM (con una carga de plata de 16,8 ± 0,5 µg cm⁻²). Cada línea de la escala representa 1 mm. La Figura 45d muestra el porcentaje del tamaño original de la herida en los días postoperatorios 3, 5, 7, 10 y 14 en las heridas que no recibieron las PEM y en las que se modificaron con las PEM que no contenían plata o que contenían PEM con 16,8 ± 0,5 µg cm⁻² de plata. Cada punto de datos presenta la media ± SEM del tamaño relativo de la herida. Los tamaños de las muestras (n) para los días 3, 5 y 7 fueron n = 8, 16 y 16, respectivamente, para cada grupo. El día 7, se recogieron algunas heridas para su histopatología. Los tamaños de las muestras para los tres grupos en los días 10 y 14 fueron n = 4, 6 y 6, respectivamente.

La Figura 46 es una serie de imágenes que muestran que las micropelículas de PEM/PVA promueven la cicatrización normal de las heridas por escisión entablilladas en ratones. Las micrografías de la Figura 46a, la Figura 46b y la Figura 46c, respectivamente, muestran imágenes brutas de heridas sin las PEM y las micrografías de la Figura 46d, la Figura 46e y la Figura 46f muestran imágenes brutas de heridas modificadas con las PEM que no contienen plata. La Figura 46a y la Figura 46d son imágenes del día postoperatorio 0; la Figura 46b y la Figura 46e son imágenes del postoperatorio 7; y la Figura 46c y la Figura 46f son imágenes del postoperatorio 14. Cada línea de la escala representa 1 mm.

La Figura 47 es una serie de imágenes y un gráfico que muestra que la micropelícula de PEM/PVA (con $16,8 \pm 0,5 \mu\text{g cm}^{-2}$ de plata) promueve una epitelización similar a la de la herida no tratada en las heridas por escisión entablilladas en ratones, tal como determina la histopatología. La Figura 47a y la Figura 47b muestran secciones representativas teñidas con H&E de heridas postoperatorias de los días 7 y 14, respectivamente, en heridas modificadas con plata/PEM. Se marcan el borde original de la herida (flecha), la lengua epitelial migratoria (cabeza de flecha), el tejido de granulación (G) y la matriz de la herida (W). La Figura 47c muestra el porcentaje del tamaño original de la herida en los días postoperatorios 7 y 14 en las heridas que no recibieron las PEM y en las que se modificaron con las PEM que no contenían plata o que contenían plata. Cada punto de datos presenta la media \pm SEM del tamaño relativo de la herida. Los tamaños de las muestras (n) para el día 7 para los grupos sin PEM, con PEM/PVA sin Ag, y con PEM/PVA con Ag, fueron $n = 4, 9$ y 7 , respectivamente. Para el día 14, $n = 3$ para cada grupo.

La Figura 48 muestra que la micropelícula de PEM/PVA promueve una epitelización similar a la de la herida no tratada en las heridas por escisión entablillada en ratones, tal y como determina la histopatología. La Figura 48a y la Figura 48b son micrografías que muestran secciones teñidas con H&E de heridas sin PEM postoperatorias en los días 7 y 14, respectivamente. La Figura 48c y la Figura 48d son micrografías que muestran secciones teñidas con H&E de heridas inmovilizadas con PEM que no contenían plata en el postoperatorio a los 7 y 14 días, respectivamente. Se marcan el borde original de la herida (flecha), la lengua epitelial migratoria (cabeza de flecha), el tejido de granulación (G) y la matriz de la herida (W).

La Figura 49 es un dibujo en el que se compara la cobertura de una herida mediante apósitos convencionales y las realizaciones de los apósitos con micropelícula de plata proporcionados en el presente documento. La Figura 49A muestra una herida cubierta con un apósito convencional y la Figura 49B muestra una herida cubierta con un apósito de micropelícula tal como se explica en el presente documento.

La Figura 50 muestra micrografías de heridas teñidas con hematoxilina y eosina (H&E) en el día 12 del postoperatorio que se crearon en los flancos de ratones balb/c y se inocularon con 2×10^5 CFU de *S. aureus*. La Figura 50A muestra una herida que fue cubierta con un apósito biosintético de Biobrane. La Figura 50B muestra una herida cubierta con un apósito para heridas con micropelícula de plata antes de la colocación de Biobrane en las heridas. En la Figura 50, la escala = 0,5 mm.

La Figura 51 es un gráfico que muestra la inhibición de las biopelículas de *P. aeruginosa* en el fondo de las placas de 48 pocillos en medio TSB con $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$. Los datos se presentan como la absorbencia de las biopelículas teñidas con violeta de cristal ($n = 4$, media \pm desviación estándar).

La Figura 52 es un dibujo que muestra un apósito de micropelícula que comprende un yeso polimérico soluble en agua (con Ga antibiopelícula) que se adhiere a una nanopelícula de polímero multicapa (PEM) que contiene nanopartículas de plata en el lecho de la herida.

La Figura 53 es un gráfico que muestra la liberación sostenida de Ga^{3+} en PBS a partir de las PEM de $(\text{PAA/PAH})_{10}$ que contienen $16,1 \pm 0,8 \mu\text{g/cm}^2$ de galio.

La Figura 54 es un dibujo que muestra la transferencia secuencial de nanorecubrimientos de PEM que contienen galio (Ga) o nanopartículas de plata (AgNP) por estampación sobre un apósito de película de silicona. La Figura 54A muestra la deposición secuencial de nanorecubrimientos sobre la película de silicona y la Figura 54B muestra la retirada de un sello para dejar el nanorecubrimiento sobre la película de silicona.

DEFINICIONES

Para facilitar la comprensión de la invención expuesta en la divulgación que sigue, se definen a continuación una serie de términos.

El término "herida" se refiere en términos generales a las lesiones de la piel y el tejido subcutáneo iniciadas de diferentes maneras (por ejemplo, las úlceras por presión debidas a un reposo prolongado en cama y las heridas inducidas por un traumatismo) y con características diversas. Los procedimientos y composiciones descritos en el presente documento son útiles para el tratamiento de todo tipo de heridas, incluyendo las de tejidos internos y externos. Las heridas pueden clasificarse en una de las cuatro calidades en función de la profundidad de la herida: i) Calidad I: heridas limitadas al epitelio; ii) Calidad II: heridas que se extienden a la dermis; iii) Calidad III: heridas que se extienden al tejido subcutáneo; y iv) Calidad IV (o heridas de espesor total): heridas en las que los huesos están expuestos (por ejemplo, un punto de presión óseo tal como el trocánter mayor o el sacro).

El término "herida de espesor parcial" se refiere a las heridas que abarcan las Calidades I-III; los ejemplos de heridas de espesor parcial incluyen las heridas por quemaduras, las úlceras por presión, las úlceras por estasis venosa y las úlceras diabéticas. El término "herida profunda" incluye tanto las heridas de Calidad III como las de Calidad IV. La

presente invención contempla el tratamiento de todo tipo de heridas, incluyendo las heridas profundas y las heridas crónicas.

5 El término "herida crónica" se refiere a una herida que no ha sanado en 30 días.

Las frases "promover la cicatrización", "mejorar la cicatrización" y similares se refieren a la inducción de la formación de tejido de granulación de la contracción de la herida y/o la inducción de la epitelización (es decir, la generación de nuevas células en el epitelio). La cicatrización de las heridas se mide convenientemente por la disminución del área de la herida.

10 El término "agente activo para heridas" se refiere a compuestos químicos conocidos o potenciales que inducen un efecto farmacológico y fisiológico deseado, útil para el tratamiento y la curación de una herida, en el que el efecto puede ser profiláctico o terapéutico. Los términos también abarcan derivados farmacológicamente aceptables de aquellos agentes activos específicamente mencionados en el presente documento, incluyendo, pero sin limitarse a, factores tróficos, matrices extracelulares, enzimas, inhibidores de enzimas, defensinas, polipéptidos, agentes antiinfecciosos (incluyendo pero no limitándose a la plata iónica, plata elemental y nanopartículas de plata), agentes amortiguadores, vitaminas y minerales, analgésicos, anticoagulantes, factores de coagulación, agentes antiinflamatorios, vasoconstrictores, vasodilatadores, diuréticos y agentes anticancerígenos.

20 El término "multicapa polimérica" se refiere a la composición formada por la aplicación secuencial y repetida de polímeros para formar una estructura multicapa. Por ejemplo, las multicapas de polielectrolitos son multicapas de polímeros que se forman mediante la adición alternada de polielectrolitos aniónicos y catiónicos a una herida o soporte. El término "multicapa polimérica" también se refiere a la composición formada por la aplicación secuencial y repetida de polímeros a una herida o a un soporte sólido. Además, el término "capa polimérica" puede referirse a una única capa compuesta por moléculas poliméricas, tal como moléculas de polielectrolito aniónico o catiónico, que existe ya sea como una capa dentro de múltiples capas, o como una única capa de un solo tipo de moléculas de polielectrolito sobre una herida o soporte. Si bien la entrega de los polímeros al lecho de la herida o al soporte es secuencial en las realizaciones preferidas, el uso del término "multicapas poliméricas" no es limitante en cuanto a la estructura resultante del recubrimiento. Los expertos en la técnica saben que la interdifusión de polímeros, tales como los polielectrolitos, puede dar lugar a estructuras que pueden estar bien mezcladas en cuanto a la distribución de los polielectrolitos aniónicos y catiónicos. También se entiende que el término polielectrolito incluye especies poliméricas, así como especies nanoparticuladas, y que no es limitante en su alcance más que para indicar que la especie posee múltiples grupos cargados o parcialmente cargados. Los expertos en la técnica saben también que las estructuras multicapa pueden formarse mediante diversas interacciones, incluyendo las electrostáticas y otras tales como los enlaces de hidrógeno. Por lo tanto, el uso del término "polielectrolito" no es limitante en términos de las interacciones que conducen a la formación de las construcciones del lecho de la herida.

40 El término "entrecruzado" se refiere en el presente documento a una composición que contiene enlaces cruzados intermoleculares y, opcionalmente, también enlaces cruzados intramoleculares, que surgen de la formación de enlaces covalentes. El enlace covalente entre dos componentes que se pueden entrecruzar puede ser directo, en cuyo caso un átomo de un componente se une directamente a un átomo del otro componente, o puede ser indirecto, a través de un grupo de enlace. Una estructura entrecruzada puede incluir, además de enlaces covalentes, enlaces intermoleculares y/o intramoleculares no covalentes, tales como enlaces de hidrógeno y enlaces electrostáticos (iónicos).

45 El término "agente de modificación covalente" se refiere a cualquier molécula que une covalentemente moléculas entre sí. Los agentes de modificación covalente incluyen agentes de entrecruzamiento homobifuncionales y heterobifuncionales, así como agentes de entrecruzamiento fotoactivables.

50 El término "agentes de entrecruzamiento homobifuncional" se refiere a una molécula utilizada para unir covalentemente moléculas idénticas o similares entre sí. Los agentes de entrecruzamiento homobifuncionales tienen dos grupos reactivos idénticos; por tanto, un agente de entrecruzamiento homobifuncional sólo puede unir moléculas del mismo tipo entre sí. Por el contrario, un "agente de entrecruzamiento heterobifuncional" se refiere a una molécula utilizada para unir covalentemente moléculas distintas entre sí, porque tiene dos o más grupos reactivos diferentes que pueden interactuar con diversas moléculas de distinto tipo. Los agentes de entrecruzamiento hetero y homomultifuncionales se refieren a agentes de entrecruzamiento multivalentes con funcionalidades de entrecruzamiento tanto hetero como homo. Los dendrímeros activados son un ejemplo de agentes de entrecruzamiento multifuncionales.

60 El término "sujeto" se refiere a cualquier animal (por ejemplo, un mamífero), incluyendo, pero sin limitarse a, humanos, primates no humanos, roedores, perros, gatos y similares, que va a ser el receptor de un tratamiento particular. Típicamente, los términos "sujeto" y "paciente" se utilizan indistintamente en el presente documento.

El término "tensoactivo" se refiere a un material anfílico que modifica las propiedades de la superficie y la interfaz de los líquidos o los sólidos. Los tensoactivos pueden reducir la tensión superficial entre dos líquidos. Los detergentes,

los agentes humectantes, los agentes emulsionantes, los agentes de dispersión y los inhibidores de espuma son todos tensioactivos.

5 El término "copolímero en bloque" se refiere a un polímero que consiste en al menos dos monómeros. En un copolímero en bloque, los bloques adyacentes son constitucionalmente diferentes, es decir, los bloques adyacentes comprenden unidades constitucionales derivadas de diferentes especies de monómero o de la misma especie de monómero, pero con una composición o distribución de secuencia de unidades constitucionales diferente. Un copolímero en bloque puede considerarse como dos homopolímeros unidos por los extremos.

10 El término "disolvente" se refiere a un líquido que puede disolver una sustancia. El término "disolvente orgánico" se refiere a un disolvente derivado de un producto con base en petróleo.

El término "polielectrolito" se refiere a una sustancia polimérica macromolecular soluble en agua que contiene muchas unidades constitutivas iónicas repetidas, incluyendo cationes y aniones.

15 El término "amina primaria" se refiere a un derivado del amoníaco en el que un hidrógeno ha sido sustituido por una unidad de hidrocarburo. Las aminas primarias tienen la fórmula general RNH_2 y los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, anilina, metilamina y 1-propilamina.

20 El término "agente de entrega de ADN" se refiere a cualquier molécula que pueda poner el ADN en contacto con un objetivo identificado. En algunos casos, un agente de administración de ADN provoca la captación de ADN en célula o células, *in vitro* o *in vivo*. Los agentes de entrega de ADN pueden ser virus, incluyendo, pero no se limita, los adenovirus y los retrovirus. Los agentes de entrega de ADN también pueden ser agentes no virales, incluyendo, pero no limitándose a, plásmidos, lípidos, liposomas, polímeros y péptidos.

25 El término "exponible" se refiere a cualquier cosa que pueda ser expuesta. Una superficie o molécula expuesta es aquella que está disponible para la interacción con otras superficies o moléculas. Por ejemplo, en el contexto de la presente invención, un agente de modificación covalente es exponible a un agente activo de la herida; así, los dos agentes pueden interactuar entre sí y formar enlaces covalentes.

30 El término "funcionalizado" se refiere a una modificación de un segmento molecular existente para generar o introducir un nuevo grupo funcional reactivo (por ejemplo, un grupo maleimido o succinimidilo) que es capaz de sufrir una reacción con otro grupo funcional (por ejemplo, un grupo sulfhidrilo) para formar un enlace covalente. Por ejemplo, un componente que contenga grupos de ácido carboxílico ($-COOH$) puede funcionalizarse por reacción con N-hidroxisuccinimida o N-hidroxisulfosuccinimida utilizando procedimientos conocidos, para formar un nuevo grupo funcional reactivo en forma de carboxilato activado (que es un grupo electrófilo reactivo), es decir, un éster de N-hidroxisuccinimida o un éster de N-hidroxisulfosuccinimida, respectivamente. En otro ejemplo, los grupos de ácido carboxílico pueden ser funcionalizados por reacción con un haluro de acilo, por ejemplo, un cloruro de acilo, de nuevo utilizando procedimientos conocidos, para proporcionar un nuevo grupo funcional reactivo en forma de anhídrido.

40 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "solución acuosa" incluye soluciones, suspensiones, dispersiones, coloides y similares que contienen agua.

45 Tal y como se utiliza en el presente documento, el término "química de clic" se refiere al uso de bloques de construcción químicos con un contenido de alta energía incorporado para impulsar una reacción de enlace espontánea e irreversible con sitios complementarios apropiados en otros bloques. Estas reacciones químicas (por ejemplo, incluyendo, pero sin limitarse a, las que se encuentran entre los grupos azida y acetileno que se combinan fácilmente entre sí) son específicas y dan lugar a un enlace covalente entre las dos moléculas.

50 El término "ligadura química nativa" se refiere a una reacción quimioselectiva de dos segmentos peptídicos no protegidos. La reacción da lugar a una especie inicial ligada a un tioéster, luego se produce un reordenamiento espontáneo de este intermedio transitorio, dando lugar a un producto de longitud completa con un enlace peptídico nativo en el sitio de ligación.

55 El término "unión específica de proteínas" se refiere a una interacción entre dos o más proteínas que tienen alta afinidad y especificidad entre sí. Las proteínas deben unirse a otras proteínas específicas *in vivo* para poder funcionar. Se requiere que las proteínas se unan a sólo una o unas pocas proteínas de los pocos miles de proteínas típicamente presentes *in vivo*; estas interacciones se emplean *in vitro* en la presente invención para adherir agentes activos pare heridas a la herida. En el contexto de la presente invención, las interacciones específicas de unión a proteínas incluyen, pero no se limitan a, aquellas entre biotina y avidina, neutravidina o estreptavidina; glutatión-S-transferasa y glutatión; y ácido níquel-nitilotriacético y polihistidina.

60 El término "dispositivo" se refiere a un objeto que entra en contacto con el cuerpo o el fluido corporal de un sujeto con fines terapéuticos o profilácticos. Algunos dispositivos pueden estar parcial o indirectamente en contacto con el cuerpo o el fluido corporal de un sujeto (por ejemplo, catéter, tubo de diálisis, sensores de diagnóstico, dispositivos de administración de fármacos), mientras que otros dispositivos están completamente incrustados en o abarcados por el

65

cuerpo de un sujeto (por ejemplo, malla extensible, marcapasos, desfibrilador implantado internamente, balón de angioplastia, dispositivo ortopédico, jaula espinal, bomba de fármacos implantable, disco artificial, disco auditivo).

El término "toxicidad selectiva" se refiere a la propiedad de los efectos tóxicos diferenciales en las células de mamíferos frente a las microbianas. Por ejemplo, un agente selectivamente tóxico puede matar eficazmente a las células bacterianas al tiempo que permite el crecimiento y la viabilidad de las células de mamíferos.

El término "tóxico" se refiere a cualquier efecto perjudicial o dañino en un sujeto, una célula o un tejido en comparación con la misma célula o tejido antes de la administración del agente tóxico.

Tal y como se utilizan en el presente documento, los términos "nanopartícula" y "partículas a nanoescala" se utilizan indistintamente y se refieren a una partícula a nanoescala con un tamaño que se mide en nanómetros, por ejemplo, una partícula nanoscópica que tiene al menos una dimensión menor que aproximadamente 1.000, 500 o 100 nm. Algunos ejemplos de nanopartículas son nanopérlas, nanofibras, las nanohombriñas, nano-iones, nanorods y los nanoropos.

Tal como se utiliza en el presente documento, los términos "micropartícula" y "partículas a microescala" se utilizan indistintamente y se refieren a una partícula a microescala con un tamaño que se mide en micrómetros, por ejemplo, una partícula a microescala que tiene al menos una dimensión de menos de aproximadamente 10 micrómetros, 5 micrómetros o 2 micrómetros.

El término "apósito para heridas" se refiere a los materiales colocados cerca de una herida que tienen propiedades absorbentes, adhesivas, protectoras, osmorreguladoras, reguladoras del pH o inductoras de presión. Los apósitos pueden estar en contacto directo o indirecto con la herida. Los apósitos para heridas no están limitados por el tamaño o la forma. De hecho, muchos materiales de apósitos pueden cortarse o configurarse para ajustarse a las dimensiones de una herida. Ejemplos de materiales para apósitos incluyen, pero no se limitan a, gasas, cinta adhesiva, vendas y apósitos disponibles en comercialmente, incluyendo, pero no limitándose a, vendas y almohadillas adhesivas de la línea de apósitos Band-Aid® para heridas, vendas y almohadillas adhesivas de la línea de apósitos Nexcare® para heridas, vendas adhesivas y almohadillas no adhesivas de la línea de apósitos Tefla® de Kendall Curity para heridas, vendas y almohadillas adhesivas de la línea de apósitos Tegaderm® para heridas, vendas y almohadillas adhesivas de la línea de apósitos Steri-Strip® para heridas, la línea de apósitos COMFEEL® para heridas, vendas y almohadillas adhesivas, la línea de apósitos Duoderm® para heridas, vendas y almohadillas adhesivas, la línea de apósitos TEGADERM™ para heridas, vendas y almohadillas adhesivas, la línea de apósitos OPSITE® para heridas, vendas y almohadillas adhesivas, y apósitos biológicos para heridas. Un "apósito biológico para heridas" es un tipo de apósito para heridas que comprende, por ejemplo, está recubierto o incorpora, células y/o una o más biomoléculas o fragmentos de biomoléculas que pueden ponerse en contacto con la superficie de la herida. Las biomoléculas pueden proporcionarse en forma de matriz de tejido artificial. Ejemplos de tales biomoléculas incluyen, pero no se limitan, al colágeno, ácido hialurónico, glicosaminoglicanos, laminina, vitronectina, fibronectina, queratina, polipéptidos antimicrobianos y combinaciones de los mismos. Ejemplos de apósitos para heridas biológicos adecuados incluyendo, pero no se limitan a, BIOBRANE™, Integra™, Apligraf®, Dermagraft®, Oasis®, Transcyte®, Cryoskin® y My skin®.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "composición de plata antimicrobiana" se refiere a una composición que comprende plata como agente antimicrobiano activo. Ejemplos de "composiciones de plata antimicrobiana" incluyen, pero no se limitan a nanopartículas de plata, plata elemental, plata cero valente, los iones de plata multivalente transportados por fosfato de circonio (ZP-Ag) (Véase, por ejemplo, Wound Repair and Regeneration, 16: 800-804), y compuestos que contienen plata, tales como sulfadiazina de plata y compuestos relacionados. El término "composición de plata antimicrobiana liberable" se refiere a una composición de plata antimicrobiana que puede liberarse de un material, por ejemplo, un soporte sólido multicapa polimérica, de modo que pueda observarse la actividad antimicrobiana. La liberación de la composición de plata antimicrobiana puede definirse como una cantidad de la composición liberada desde un área o volumen definido del material.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La naturaleza compleja de las heridas, y la falta de progresos clínicos significativos con base en las terapias actuales, indican la necesidad urgente de enfoques nuevos y no convencionales. El microambiente del lecho de la herida patológica/crónica está desregulado con alteraciones en los componentes de la matriz extracelular, las enzimas degradativas, el factor de crecimiento y la actividad de otros factores citoactivos. La presente invención proporciona un procedimiento para fabricar una microlámina de matriz polimérica activa para heridas, tal como se reivindica en las reivindicaciones adjuntas.

En la cicatrización normal de las heridas, la interacción coordinada entre los fibroblastos, las células vasculares, los componentes de la matriz extracelular y las células epiteliales da lugar a una progresión sin fisuras a través de una reacción inflamatoria, reparación de la herida, contracción y cobertura por una barrera epitelial. Sin embargo, en muchos sujetos con un microambiente de la herida desregulado, una enfermedad sistémica u otras circunstancias confusas, los procedimientos de cicatrización de la herida se vuelven asincronos dando lugar a una úlcera indolente

(Pierce, 2001, Am. J. Pathol. 159:399). En otros sujetos, la pérdida o la falta de respuestas reguladoras para modular adecuadamente los comportamientos celulares durante la cicatrización provoca una respuesta proliferativa exuberante que en sí misma es un problema para el sujeto. Esto es especialmente cierto en los pacientes propensos a la formación de queloides o en los pacientes con quemaduras, donde la excesiva proliferación fibroblástica y la producción de colágeno dan lugar a la formación de cicatrices desfigurantes e incapacitantes.

Está claro que en todo el espectro de heridas que no cicatrizan hay una variedad de mecanismos incitadores y microambientes de la herida. Estas heridas presentan patología en muchos momentos de la progresión hacia el cierre. Los déficits en la angiogénesis, las respuestas fibroblásticas y la reepitelización desempeñan un papel en las heridas crónicas. Por lo tanto, no es probable que un enfoque de tratamiento de un solo factor para las heridas crónicas sea fructífero en la dispar gama de heridas que se presentan en el entorno clínico. En un entorno tan heterogéneo, una estrategia más prometedora implica la identificación de compuestos capaces de modular aspectos específicos de la respuesta y el comportamiento celular en el entorno de la herida, proporcionando la posibilidad de elaborar una respuesta de curación personalizada y adaptada a la herida y al paciente.

Debido al espectro heterogéneo de los entornos de las heridas, se contempla que la estimulación de una respuesta de curación "deseable" se logra mejor mediante una modulación diferencial de las respuestas celulares dentro de la herida.

Por el contrario, en algunas quemaduras, tal como las profundas de segundo grado donde persisten elementos epiteliales dérmicos y del tallo piloso para reemplazar los tejidos perdidos, se necesita una respuesta angiogénica y epitelial rica, pero es deseable mitigar la reacción fibroblástica para reducir la hipertrofia de la cicatriz, la contractura y la desfiguración. Una mitigación similar es deseable en los sujetos de curación propensos a la formación de queloides, donde la respuesta fibroblástica proliferativa en estas heridas debe ser suprimida. También es ventajoso en las heridas cercanas a las articulaciones u orificios para poder promover una rápida cicatrización y cobertura con epitelio, pero modulando la respuesta fibroblástica para que se conserve una mayor flexibilidad del tejido. La modulación de la respuesta fibroblástica de esta manera tiene el potencial de proporcionar resultados clínicos superiores y reducir la necesidad de procedimientos reconstructivos posteriores dirigidos a la recuperación de las extremidades u otras funciones corporales críticas. La viabilidad de este enfoque se ha demostrado anteriormente, como en el informe de Muehlberger y sus colegas sobre los efectos de la tretinoína en las heridas incisionales (Muehlberger et al., 2005, J. Am. Acad. Derm. 52:583). En ese estudio, la aplicación de tretinoína resultó en un aumento de la proliferación fibroblástica, pero la producción de colágeno disminuyó.

La modificación de las superficies se ha convertido en la última década en un importante reto para aplicaciones en materiales de implantes, prótesis y órganos artificiales, lo que permite amplias aplicaciones médicas para la ingeniería de implantes y tejidos (Langer y Vacanti, 1993, Science 260:920) Peppas y Langer, 1994, Science 263:1715 Angelova y Hunkeler, 1999, Trends Biotechnol. 17:409). Para mejorar la eficacia de la integración de los implantes, se han investigado varios enfoques, que implican la alteración de las propiedades fisicoquímicas, morfológicas y bioquímicas de las superficies de los dispositivos, en un esfuerzo por obtener una interfaz hueso-implante adecuada. Las monocapas autoensambladas (SAM) o las técnicas de Langmuir-Blodgett se han empleado habitualmente para producir nuevas interfaces (Mrksich, 1997, Curr. Opin. Colloid Interface Sci. 2:83 Lösche, 1997, Curr. Opin. Solid State Mater. Sci. 2:546).

Más recientemente, se ha desarrollado un nuevo procedimiento versátil de arquitecturas autoensambladas con base en la deposición alternativa de polianiones y policationes para la construcción de películas de polielectrolitos multicapa (Decher, 1997, Science 277:1232). Además de variar el espesor, la rugosidad y la porosidad de la película, también es posible incorporar en la arquitectura de la película macromoléculas funcionalizadas (Caruso et al., 1997, Langmuir 13:3427 Cassier et al., 1998, Supramol. Sci. 5:309). También se ha demostrado que el procedimiento de deposición por capas no se limita a los polielectrolitos, sino que puede aplicarse a virus, nanopartículas, polímeros no iónicos, proteínas y otras formas de materia microscópica y nanoscópica. Una revisión reciente proporciona información sobre una amplia gama de especies y estructuras interfaciales que pueden formarse mediante el procedimiento de deposición capa a capa. El alcance de la invención descrita en el presente documento no se limita a los polielectrolitos, sino que se aplica a todas las especies que se ha demostrado que se incorporan a las estructuras interfaciales mediante el procedimiento de deposición capa a capa.

En algunas realizaciones de la presente invención, el agente activo para heridas es plata o una forma de plata. La plata es un agente biocida inespecífico ampliamente utilizado que actúa contra un espectro muy amplio de especies bacterianas (Yin et al., 1999, J. Burn Care Rehabil. 20:195), especies de levadura, especies de hongos (Wright et al., 1999, Am. J. Infect. Control 27:344), y los virus (Hussain et al., 1991, Biochem. Biophys. Res. Com. 189:1444), incluyendo varias cepas resistentes a los antibióticos (Wright et al., 1998, Am. J. Infect. Control 26:572). Sin embargo, los agentes tópicos de plata sufren una rápida inactivación en las heridas debido a la naturaleza altamente reactiva de los iones de plata. Las curas frecuentes de las heridas dan lugar a un gran exceso de plata en la herida, lo que provoca efectos tóxicos por sobredosis. Los estudios *in vitro* han demostrado los efectos citotóxicos de los iones de plata en los fibroblastos (Poon et al., 2004, Burns 30:140 Hildago et al., Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol. 11:140), los

queratinocitos (Poon et al., 2004, Burns 30:140), hepatocitos (Baldi et al., 1988, Toxicol. Lett. 41:261), y los linfocitos (Hussain et al., 1991, Biochem. Biophys. Res. Com. 189:1444).

La naturaleza altamente reactiva de los iones de plata complica su entrega al lecho de la herida. Los iones de plata liberados se vuelven rápidamente inactivos, ya que se unen fácilmente a las proteínas y al cloruro dentro del complejo líquido de la herida (Mooney et al., 2006, Plastic and Reconstr. Surg. 117:666), lo que provoca una adsorción no deseada de iones de plata en las células de la epidermis y las glándulas sudoríparas (Klasen, 2000, Burns 26:117). Las soluciones tópicas con base en plata, como el nitrato de plata al 0,5 % , o los ungentosos como la crema de sulfadiazina de plata al 1 %, que se utilizan actualmente en las clínicas para la cicatrización de heridas, liberan plata en concentraciones de hasta 3.200 ppm, pero la mayor parte se inactiva rápidamente mediante la formación de complejos químicos en la herida (Dunn et al., Burns, 2004, 30(supplement 1):S1), lo que requiere aplicaciones frecuentes, hasta 12 veces al día en el caso de las soluciones de nitrato de plata y al menos dos veces al día con las cremas de sulfadiazina de plata. Los apósitos frecuentes provocan un gran exceso de plata en la herida, lo que provoca efectos tóxicos y decoloración por sobredosis (Atiyeh et al., 2007, Burns 33:139 Trop et al., 2006, J. Trauma 60:648). Recientemente se han introducido apósitos con plata incorporada en el propio apósito. Proporcionan una liberación prolongada de plata en la herida, lo que permite cambiar los apósitos con menos frecuencia. Sin embargo, estos apósitos de depósito tienen que ser impregnados con una gran cantidad de plata, lo que provoca citotoxicidad. La plata liberada por un apósito para heridas comercial líder Acticoat™, que contiene plata nanocristalina (Dunn et al., Burns, 2004, 30(supplement 1):S1), ha demostrado ser tóxico para los cultivos celulares *in vitro* de queratinocitos y fibroblastos (Poon et al., 2004, Burns 30:140 Trop et al., 2006, J. Trauma 60:648). Así, los retos de los actuales antimicrobianos tópicos de plata residen en sus bajos niveles de liberación de plata, la falta de penetración, el rápido consumo de iones de plata y la presencia de nitrato de plata o bases de crema que son proinflamatorias, afectando negativamente a la curación de las heridas. También existen problemas como las manchas en la herida, el desequilibrio electrolítico y la incomodidad del paciente.

En los experimentos realizados durante el curso del desarrollo de ciertas realizaciones de la presente invención (Ejemplo 13), se ensamblaron películas poliméricas de espesor nanométrico que se impregnaron con nanopartículas de plata a niveles que resultaron en la eliminación eficiente de las bacterias, pero sin efectos citotóxicos sobre la adherencia y el crecimiento de células de fibroblastos de ratón en las películas. En algunas realizaciones, las películas poliméricas se impregnan con una composición de plata antimicrobiana incubando la película en una composición de plata antimicrobiana como se describe en el Ejemplo 13. En otras realizaciones, la composición de plata antimicrobiana se incorpora directamente a la multicapa polimérica durante la síntesis de la multicapa. Véase, por ejemplo, Langmuir. 2005 Dic 6;21(25): 11915-21.

Las películas producidas con el procedimiento de acuerdo con la invención pueden aplicarse directamente sobre el lecho de la herida expuesta, permitiendo que liberen los iones de plata localmente en la herida. Esto reduce la cantidad de plata bactericida necesaria para impregnar la película en varios órdenes en comparación con los agentes de administración de plata tópica, lo que reduce significativamente la toxicidad con base en plata. Aunque la presente invención no se limita a ningún mecanismo en particular, y no es necesario comprender el mecanismo para poner en práctica la presente invención, se contempla que mientras los apósitos y pomadas impregnados de plata tienen que suministrar altos niveles de plata en el lecho de la herida para superar el rápido consumo de iones de plata en el fluido de la herida que limita la penetración de la plata liberada, la liberación localizada de plata justo en la matriz de la herida por algunas realizaciones de película fina polimérica presentadas en el presente documento elude el uso de grandes cargas de plata.

Algunas realizaciones de películas compuestas molecularmente delgadas de la presente invención pueden ser ajustadas para contener tan poco como 0,4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de plata soluble y liberar un total de menos de 1 ppm de iones de plata en tampones. Dichas películas presentan una eficacia del 99,9999 % en la eliminación de bacterias sin ninguna citotoxicidad medible para las células de mamíferos. Además, las películas que contienen estos niveles de plata permiten la adhesión y el crecimiento de células de mamíferos (por ejemplo, fibroblastos de ratón NIH-3T3). En algunas realizaciones, la composición de plata antimicrobiana liberable se carga en una cantidad de 1 o 10 a aproximadamente 50, 100, 200, 300, 400, 500 o 1.000 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de la multicapa polimérica y/o liberable en una cantidad de aproximadamente 0,01 y 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de la multicapa polimérica por día. En algunas realizaciones, la composición de plata antimicrobiana liberable es liberable en una cantidad de aproximadamente 0,05 y 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de la multicapa polimérica. En algunas realizaciones, la composición de plata antimicrobiana liberable es liberable en una cantidad de aproximadamente 0,05 y 20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de la multicapa polimérica. En algunas realizaciones, la composición de plata antimicrobiana liberable es liberable en una cantidad de aproximadamente 0,05 y 5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de la multicapa polimérica. En algunas realizaciones, la composición de plata antimicrobiana liberable es liberable en una cantidad de aproximadamente 0,05 y 2 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de la multicapa polimérica. En algunas realizaciones, la composición de plata antimicrobiana liberable es liberable en una cantidad de aproximadamente 0,05 y 1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de la multicapa polimérica. En algunas realizaciones, la composición de plata antimicrobiana liberable es liberable en una cantidad de aproximadamente 0,1 a 0,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de la multicapa polimérica.

Los experimentos llevados a cabo en el curso del desarrollo de algunas realizaciones de la presente invención permitieron la variación sistemática de la concentración de plata en las películas y demostraron que su citotoxicidad y

eficacia antibacteriana dependen de la carga de plata. En comparación, la cantidad de plata soluble en el apósito para heridas comercial Acticoat™ es de ~100 µg/cm² (Dunn et al., 2004, Burns 30(supplement 1):S1). Acticoat™ libera un total de más de 120 ppm de plata al disolverse en agua durante 24 horas (Taylor et al., 2005, Biomaterials 26:7221), y se ha demostrado que es citotóxico para los queratinocitos y los fibroblastos (Poon et al., 2005, Burns 30:140 Trop et al., 2006, J. Trauma 60:648).

Existen varios informes sobre películas de material compuesto de polielectrolitos que incorporan plata y muestran actividad antibacteriana al liberar plata en la solución (Lee et al., 2005, Langmuir 21:9651 Li et al., 2006, Langmuir 22:9820 Grunlan et al., 2005, Biomacromolecules 6:1149 Yu et al., 2007, Bioconj. Chem. 18:1521 Shi et al., 2006, J. Biomed. Mat. Res. Parte A 76A:826). Sin embargo, todos estos estudios se han centrado en controlar la fracción de volumen y la concentración de plata en las películas. Sólo las películas que contienen altas cargas de plata (-5,5 µg/cm² o más) han demostrado tener actividad antibacteriana (Wang et al., 2002, Langmuir 18:3370 Logar et al., 2007, Nanotechnol. 18:325601). Dichas películas de polielectrolito, cuando se cargan con esos niveles de plata, muestran una fuerte citotoxicidad y matan el 100 % de las células NIH-3T3 sembradas en ellas (por ejemplo, Ejemplo 13 de referencia).

En los experimentos realizados durante el curso del desarrollo del procedimiento de la presente invención (por ejemplo, el Ejemplo 13 de referencia), se identificaron y lograron niveles de carga de plata en las PEM que conducen a películas molecularmente delgadas impregnadas de plata que permiten la adhesión de células de mamíferos sin exhibir citotoxicidad. Las películas se utilizan para la administración localizada de plata bactericida en las heridas, reduciendo los riesgos de toxicidad por sobredosis de plata observados con otros agentes de administración tópica. Los dispositivos médicos que se pueden implantar pueden recubrirse con estas finas películas impregnadas de plata para eliminar las bacterias justo durante su fijación inicial a estas superficies y evitar la colonización bacteriana, una de las principales causas de fracaso de los implantes.

Por lo tanto, las películas de material compuesto molecularmente finas que liberan plata, tal como se fabrican mediante el procedimiento de la presente invención, tienen ventajas sobre: 1) otros agentes de administración tópica de plata que se utilizan actualmente en las clínicas; 2) apósitos para heridas que contienen grandes cantidades de plata; y 3) otras películas finas de material compuesto bactericidas que contienen grandes cantidades de plata, que son citotóxicas para las células de los mamíferos y no permiten que éstas se adhieran y crezcan sobre ellas.

El uso de películas molecularmente finas de nanopartículas de plata para la administración localizada de plata bactericida en las heridas puede superar la toxicidad relacionada con la plata encontrada con los agentes tópicos de administración de plata para la curación de heridas (Poon et al., 2004, Burns 30:140 Baldi et al., 1988, Toxicol. Lett. 41:261 Atiyeh et al., 2007, Burns 33:139 Coombs et al., 1992, Burns 18:179). Además, estas multicapas de polielectrolitos (PEM) son películas nanocompuestas uniformes y altamente interpenetradas, que suelen tener un espesor mucho menor que 1 µm (Decher, 1997, Science 277:1232 Hammond, 1999, Curr. Opin. Colloid Interface Sci. 4:430). Su arquitectura porosa y supramolecular permite incorporar una gran variedad de moléculas, incluyendo ADN, enzimas, virus, dendrímeros, coloides, partículas inorgánicas y colorantes (Decher, 1997, Science 277:1232). Por lo tanto, junto con la entrega de plata bactericida, se pueden utilizar para la entrega simultánea localizada de otros agentes bioactivos en la matriz de la herida (por ejemplo, factores de crecimiento de reclutamiento celular, plásmidos de ADN que codifican dichos factores de crecimiento). Dado que las PEM pueden recubrir conformemente sustratos de cualquier tipo, tamaño o forma, incluyendo los polímeros naturales y sintéticos (Hammond, 1999, Curr. Opin. Colloid Interface Sci. 4:430), se pueden construir en cualquier lecho de la herida o dispositivo médico implantable.

La Figura 1 proporciona un diagrama 100 esquemático de un lecho 110 de herida sobre el que se ha depositado una multicapa 130 de polielectrolitos. El diagrama 100 representa que el lecho 110 de herida comprende una superficie heterogénea representada por formas 120 que representan diferentes motivos químicos. La multicapa 130 de polielectrolitos proporciona una superficie homogénea a la que se pueden unir grupos funcionales 140 para formar una superficie 150 homogénea funcionalizada. En la realización representada, los grupos funcionales son uniformes, sin embargo, en algunas realizaciones preferidas, se utilizan diferentes grupos funcionales. Una gran variedad de agentes activos puede entonces unirse a la superficie a través de los grupos 140 funcionales. En otras realizaciones, el lecho de la herida se modifica covalentemente con agentes de modificación covalente. Los agentes de modificación covalente incluyen, pero no se limitan a, agentes de entrecruzamiento homobifuncionales y heterobifuncionales, así como agentes de entrecruzamiento fotoactivables. La Figura 2 muestra un diagrama 200 esquemático de un lecho 210 de herida que comprende una superficie heterogénea representada por formas 220 que representan diferentes motivos químicos. El lecho de la herida se modifica covalentemente mediante la reacción de los agentes 230 de modificación covalente con las diferentes moléculas químicas para proporcionar una superficie 250 funcionalizada relativamente homogénea. En realizaciones preferidas, los agentes 230 de modificación covalente presentan grupos 240 funcionales. En la realización representada, los grupos funcionales son uniformes, sin embargo, en algunas realizaciones preferidas, se utilizan diferentes grupos funcionales. Una gran variedad de agentes activos puede entonces unirse a la superficie a través de los grupos 140 funcionales. Estas realizaciones se analizan con más detalle a continuación.

A. Deposición multicapa en el lecho de herida

Con el procedimiento de la presente invención, se puede fabricar una microlámina de matriz polimérica activa a nanoescala para heridas como se reivindica en la reivindicación 1, en la que la capa polimérica activa a nanoescala es una multicapa polimérica. En algunas realizaciones, las estructuras multicapa comprenden capas poliméricas que forman polielectrolitos, mientras que, en otras realizaciones, las multicapas comprenden polímeros que no tienen carga (es decir, polímeros no iónicos) o una combinación de capas de polímeros cargados y no cargados. En algunas realizaciones, se contempla que las películas de polielectrolitos construidas mediante la adsorción alternada de capas de polielectrolitos catiónicos y aniónicos constituyen una técnica novedosa y prometedoras para modificar las superficies de las heridas de forma controlada (Decher et al., 1992, Thin Solid Films 210/211:831 Decher, 1997, Science 277:1232). Una de las propiedades más importantes de estas multicapas es que presentan un exceso de cargas alternativas positivas y negativas (Caruso et al., 1999, J Am Chem Soc 121:6039 Ladam et al., 2000, Langmuir 16:1249). Esto no sólo puede constituir el motor de su acumulación (Joanny, 1999, Eur. Física. J. Biol. 9:117), pero permite, por simple contacto, adsorber una gran variedad de compuestos tales como colorantes, partículas (Cassagneau et al., 1998, J. Am. Chem. Soc. 120:7848 Caruso et al., 1999, Langmuir 15:8276 Lvov et al., 1997, Langmuir 13:6195), microláminas de arcilla (Ariga et al., 1999, Appl. Clay Sci. 15:137) y proteínas (Keller et al., 1994, J. Am. Chem. Soc. 116:8817 Lvov et al., 1995, J. Am. Chem. Soc. 117:6117 Caruso et al., 1997, Langmuir 13:3427).

En algunas realizaciones, las multicapas poliméricas, tal como las multicapas de polielectrolitos, tienen una dimensión a nanoescala. Por consiguiente, en algunas realizaciones, las multicapas poliméricas tienen un espesor de aproximadamente 1 nm a 1000 nm, espesor de aproximadamente 1 nm a espesor de aproximadamente 500 nm, espesor de aproximadamente 1 nm a 100 nm, espesor de aproximadamente 1 nm a aproximadamente 25 nm, espesor de aproximadamente 1 nm a aproximadamente 10 nm, o espesor de menos de aproximadamente 500 nm, 100 nm, 25 nm o 10 nm. Se contempla que la dimensión a nanoescala de las multicapas de polímero (es decir, el espesor a nanoescala) permite la carga de una cantidad total menor de un agente activo, al tiempo que permite la entrega de una cantidad efectiva (es decir, una cantidad de agente activo que acelera la cicatrización en comparación con los controles) del agente activo en comparación con las estructuras de matriz con mayor espesor. Se contempla que los niveles de carga total más bajos resultan en una toxicidad reducida en el entorno de la herida, especialmente cuando los compuestos antimicrobianos se incorporan a la multicapa polimérica.

En algunas realizaciones, la conformidad de las multicapas poliméricas se ajusta para facilitar la migración celular en la herida. En algunas realizaciones, las multicapas poliméricas presentan una conformidad, medida en kilopascales (kPa), de aproximadamente 3 a aproximadamente 500 kPa, de aproximadamente 7 a aproximadamente 250 kPa, de aproximadamente 10 a aproximadamente 250 kPa o de aproximadamente 10 a aproximadamente 200 kPa.

1. Formación de capas de polielectrolitos

El polielectrolito catiónico poli(L-lisina) (PLL) interactúa con sitios aniónicos en las superficies celulares y en la matriz extracelular (Elbert y Hubbell, 1998, J. Biomed. Mater. Res. 42:55).

Las capas de polielectrolitos se forman mediante aplicaciones alternas de polielectrolitos aniónicos y polielectrolitos catiónicos a las superficies para formar una capa de polielectrolitos. Las capas pueden utilizarse para administrar un agente activo en una herida. Preferentemente, se utilizan al menos cuatro capas y, más preferentemente, al menos seis capas para formar la multicapa de polielectrolitos. En algunas realizaciones, se utilizan más de seis capas, por ejemplo, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 o más capas. En algunas realizaciones preferidas, una multicapa de polielectrolitos comprende 10,5 capas (por ejemplo, comprende 10 bicapas de los dos componentes y una capa adicional de uno de los dos componentes).

En algunas realizaciones, el polielectrolito catiónico utilizado es PLL y el polielectrolito aniónico utilizado es el poli(ácido L-glutámico) (PGA). De hecho, se contempla el uso de una variedad de polielectrolitos, incluyendo, pero sin limitarse a, poli(imina de etileno) (PEI), poli(clorhidrato de alilamina) (PAH), poli(4-estirenosulfonato de sodio) (PSS), poli(ácido acrílico) (PAC), poli(ácido maleico-co-propileno) (PMA-P), poli(ácido acrílico) (PAA) y poli(sulfato de vinilo) (PVS). También es posible utilizar polielectrolitos naturales, incluyendo ácido hialurónico y condroitín sulfato.

En otras realizaciones, el polímero es un dendrímero, un polímero injertado o un polímero de arquitectura en estrella. En otras realizaciones, la multicapa responde o se organiza en presencia de un campo eléctrico, por ejemplo, un campo eléctrico formado por la colocación de electrodos a ambos lados de una herida.

Refiriéndose a la Figura 1, la multicapa 130 polimérica puede estar compuesta por sulfonato de poliestireno, un polielectrolito anfifílico con afinidad por las regiones hidrófobas del lecho de herida, y un polímero anfotérico. La multicapa polimérica se funcionaliza preferentemente con uno o más agentes de entrecruzamiento que presentan un alquino, de modo que se presenta una superficie uniforme (por ejemplo, 140 en la Figura 1, donde x representa un grupo alquino). A partir de este punto, se pueden utilizar productos químicos de clic ampliamente disponibles para añadir los agentes activos deseados a la superficie modificada de la herida. En algunas realizaciones, el agente modificador de la herida es un conjugado de azida o comprende de otro modo un grupo azida y se hace reaccionar con los grupos alquinos expuestos en el lecho de la herida en una cicloadición de Huisgen.

Otros procedimientos adecuados para preparar multicapas de polielectrolitos incluyen los descritos, por ejemplo, en Cho y Char, Langmuir 20:4011-4016, 2004 Okamura et al., Adv. Mater. 21, 4388-92 (2009), Cho et al., Adv. Mat. 13(14):1076-1078 (2001); y Pat. de EE.UU. Publ. 2010/0062258. Los procedimientos adecuados incluyen la deposición capa a capa, la formación sobre las SAs y el ensamblaje asistido por recubrimiento por rotación.

5 2. Polímeros catiónicos

Los polímeros catiónicos útiles en la presente invención pueden ser cualquier polímero policationico soluble en agua biocompatible, por ejemplo, cualquier polímero que tenga heterociclos protonados unidos como grupos colgantes. Tal y como se utiliza en el presente documento, "soluble en agua" significa que todo el polímero debe ser soluble en soluciones acuosas, tal como la solución salina tamponada o la solución salina tamponada con pequeñas cantidades de disolventes orgánicos añadidos como codisolventes, a una temperatura entre 20 y 37 °C. En algunas realizaciones, el material no será suficientemente soluble (definido aquí como soluble en la medida de al menos un gramo por litro) en soluciones acuosas per se, pero puede ponerse en solución injertando el polímero policationico con materiales polioniónicos solubles en agua, tales como el polietilenglicol.

Los polímeros catiónicos representativos incluyen los poliaminoácidos naturales y no naturales que tienen carga positiva neta a pH neutro, los polisacáridos cargados positivamente y los polímeros sintéticos cargados positivamente. Entre los ejemplos de materiales policationicos adecuados se incluyen las poliaminas que tienen grupos aminos en la columna vertebral del polímero o en las cadenas laterales del mismo, tales como poli-L-lisina (PLL) y otros poliaminoácidos cargados positivamente de aminoácidos naturales o sintéticos o mezclas de aminoácidos, incluyendo, pero sin limitarse, poli(D-lisina), poli(ornitina), poli(arginina) y poli(histidina), y poliaminas no peptídicas tales como poli(aminoestireno), poli(aminoacrilato), poli (N-metil aminoacrilato) poli(N-etilaminoacrilato), poli(N,N-dimetil aminoacrilato), poli(N,N-dietilaminoacrilato), poli(aminometacrilato), poli(N-metil amino metacrilato), poli(N-etil amino metacrilato), poli(N,N-dimetil amino metacrilato), poli(N,N-dietil amino metacrilato), poli(etilenimina), polímeros de aminas cuaternarias, tales como poli(cloruro de N,N,N-trimetilaminoacrilato), poli(cloruro de metiacrilamidopropiltrimetilamonio), y polisacáridos naturales o sintéticos tales como quitosano. En algunas realizaciones, el PLL es un material preferido. En algunas realizaciones preferidas, el polímero catiónico es poli(hidrocloruro de alilamina) (PAH).

En general, los polímeros deben incluir al menos cinco cargas, y el peso molecular del material policationico debe ser suficiente para producir el grado deseado de unión a un tejido u otra superficie, teniendo un peso molecular de al menos 1.000 g/mol.

35 3. Polímeros aniónicos

Los materiales polianiónicos útiles en la presente invención pueden ser cualquier polímero polianiónico soluble en agua biocompatible, por ejemplo, cualquier polímero que tenga grupos de ácido carboxílico unidos como grupos colgantes. Los materiales adecuados incluyen alginato, carragenina, furcellar, pectina, xantano, ácido hialurónico, heparina, heparán sulfato, condroitín sulfato, dermatán sulfato, el dextrán sulfato, ácido poli(met)acrílico, celulosa oxidada, carboximetilcelulosa y cromarmelosa, polímeros sintéticos y copolímeros que contienen grupos carboxílicos colgantes, tales como los que contienen ácido maleico o ácido fumárico en la columna vertebral. También son adecuados poliaminoácidos de carga predominantemente negativa. Algunos ejemplos de estos materiales son, ácido poliaspártico, ácido poliglutámico y copolímeros de los mismos con otros aminoácidos naturales y no naturales. Los materiales polifenólicos, tales como taninos y ligninas, pueden utilizarse si son suficientemente biocompatibles. Los materiales preferidos son alginato, pectina, carboximetilcelulosa, la heparina y ácido hialurónico. En algunas realizaciones preferidas, el polímero aniónico es poli(ácido acrílico) (PAA).

4. Polímeros no iónicos

En algunas realizaciones, las estructuras multicapa están formadas por polímeros no cargados o por una combinación de polímeros cargados y no cargados. Los ejemplos de polímeros no cargados incluyen, pero no se limitan a, dextrano, sulfato de dextrano, dietilaminoetil (DEAE)-dextrano, hidroxietilcelulosa, etil(hidroxietil) celulosa, acrilamida, óxido de polietileno, óxido de polipropileno, copolímeros de óxido de polietileno - óxido de polipropileno, PAAN_a, Ficoll, polivinilpirrolidina y ácido poliacrílico.

55 5. Polímeros anfóteros

En algunas realizaciones, las estructuras multicapa están formadas por uno o más polímeros anfóteros, solos o en combinación con los otros polímeros descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, los polímeros anfotéricos comprenden uno o más de ácido acrílico (AA), DMAEMA (metacrilato de dimetilaminoetilo), APA (acrilato de 2-aminopropilo), MorphEMA (metacrilato de morfolinoetilo), DEAEMA (metacrilato de dietilaminoetilo), t-ButilAEMA (metacrilato de t-butilaminoetilo), PipEMA (metacrilato de piperidinoetilo), AEMA (metacrilato de aminoetilo), HEMA (metacrilato de 2-hidroxietilo), MA (acrilato de metilo), MAA (ácido metacrílico) APMA (metacrilato de 2-aminopropilo), AEA (acrilato de aminoetilo). En algunas realizaciones, el polímero anfotérico comprende (a) un ácido carboxílico, (b)

una amina primaria y (c) una amina secundaria y/o terciaria. Los polímeros anfóteros tienen un punto isoeléctrico de 4 a 8, preferentemente de 5 a 7 y tienen un peso molecular promedio nominal en el intervalo de 10.000 a 150.000.

6. Aplicación de las multicapas

En algunas realizaciones, se produce una multicapa polimérica sobre un sustrato de soporte (por ejemplo, PDMS), se retira del sustrato de soporte y se coloca sobre una herida. En algunas realizaciones, se produce una multicapa polimérica sobre un sustrato de soporte (por ejemplo, PDMS), superpuesto con una capa de soporte de sacrificio soluble, por ejemplo, que comprende un polímero biocompatible (por ejemplo, alcohol polivinílico (PVA)). La capa de soporte de sacrificio facilita la retirada de la multicapa polimérica del sustrato de soporte, facilita la manipulación manual de la multicapa polimérica, y/o facilita la aplicación de la multicapa polimérica en una herida. A continuación, tras su colocación, la capa de soporte se disuelve y favorece así la adherencia de la multicapa polimérica a la microtopografía y nanotopografía de la herida.

II. Agentes Activos para Heridas

Los agentes activos para heridas pueden administrarse a un lecho de la herida o incorporarse a un lecho de herida utilizando los sistemas descritos anteriormente que han sido fabricados con el procedimiento de la invención. En algunas realizaciones, el agente activo de la herida se une de forma covalente o no covalente con la capa de polielectrolito. La presente invención no se limita a un mecanismo particular por el cual el agente activo de herida se une a la capa de polielectrolito.

La capa de polielectrolitos puede funcionar como un andamio de administración de fármacos para suministrar uno o más agentes activos para heridas. Los agentes activos para heridas que puede ser conveniente administrar incluyen, pero no se limitan a, factores tróficos, matrices extracelulares (MEC), fragmentos de MEC o construcciones sintéticas, enzimas, inhibidores de enzimas, defensinas, polipéptidos, agentes antiinfecciosos (incluyendo antimicrobianos, antivirales y antifúngicos), agentes tampón, vitaminas y minerales, analgésicos, anticoagulantes, factores de coagulación, agentes antiinflamatorios, vasoconstrictores, vasodilatadores, diuréticos y agentes anticancerígenos. Además, entre los agentes activos se encuentran clorhexidina, antimicrobianos con base en yodo, tales como PVP-yodo; antimicrobianos con base en selenio, tales como 7-azabenzisotiazol-3(2H)-onas, disulfuro de selenio y seleniuros; y antimicrobianos con base en plata (por ejemplo, sulfadiazina de plata, plata iónica, plata elemental y nanopartículas de plata). Con respecto a los seleniuros, con el uso de estándares y variaciones de las químicas típicas de fijación de proteínas y carbohidratos, los seleniuros que contienen carboxilo y amino pueden fijarse rutinariamente a muchos polímeros, péptidos, anticuerpos, esteroides y fármacos. Los polímeros y otras moléculas con seleniuros unidos generan superóxido de forma dependiente de la dosis en soluciones biológicas, en células o unidos a matrices insolubles tales como siliconas.

Se puede incorporar una amplia variedad de agentes activos para heridas en la capa de polielectrolito, en la que los agentes activos para heridas se liberan de la capa de polielectrolito en la herida.

Una amplia variedad de agentes activos de la herida pueden ser factores tróficos, incluyendo, pero no limitado a, agrin, anfiregulina, artemin, cardiotrofina-1, factores de crecimiento epidérmico incluyendo EGF; factores de crecimiento de fibroblastos (por ejemplo, FGF-1, FGF-2, FGF-3, FGF-4, FGF-5, FGF-6 y FGF-7); LIF, CSF-1, CSF-2, CSF-3, eritropoyetina, factores de crecimiento de las células endoteliales, incluyendo ECGF; factores de crecimiento relacionados con FGF y el ECGF (por ejemplo factor de angiogénesis estimulante de las células endoteliales, factor de angiogénesis tumoral, factor de crecimiento derivado de la retina (RDGF), factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), factores de crecimiento derivados del cerebro (BDGF-A y B), factores de crecimiento astrogial (AGF 1 y 2), factor de crecimiento derivado del epiplón, factor estimulante de los fibroblastos (FSF) y factor de crecimiento derivado del carcinoma embrionario (ECDGF)); factores de crecimiento neurotróficos (por ejemplo, factores de crecimiento nervioso (NGF), neurtrina, factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), neurotrofina-3, neurotrofina-4 y factor neurotrófico ciliar (CNTF)); factores de crecimiento glial (por ejemplo, GGF-I, GGF-II, GGF-III, factor de maduración de la glía (GMF) y factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF)); factores de crecimiento hepático (por ejemplo, hepatopoyetina A, hepatopoyetina B y factores de crecimiento de los hepatocitos, incluyendo HGF); factores de crecimiento de la próstata, incluyendo los factores de crecimiento derivados de la próstata (PGF); factores de crecimiento mamario, incluyendo factor de crecimiento derivado de la próstata 1 (MDGF-1) y factor derivado del tumor mamario (MTGF); factores de crecimiento cardíaco, incluyendo factor de crecimiento no derivado de miocitos (NMDGF); factores de crecimiento de los melanocitos, incluyendo la hormona estimulante de los melanocitos (MSH) y la actividad estimulante del crecimiento del melanoma (MGSa); factores angiogénicos (por ejemplo, angiogenina, angiotropina, ECGF derivado de las plaquetas, VEGF y pleiotrofina); factores de crecimiento transformadores, incluyendo TGF- α y TGF- β ; factores de crecimiento similares a TGF (por ejemplo, TGF-beta₁, TGF-beta₂, TGF-beta₃, GDF-1, CDGF, factores similares al TGF derivados de los tumores, ND-TGF y factor transformador epitelial humano); péptidos reguladores con propiedades similares a las de los factores de crecimiento (por ejemplo, bombesina y péptidos similares a la bombesina, ranatensina y litorina, angiotensina, endotelina, factor natriurético auricular, péptido intestinal vasoactivo y bradiquinina); factores de crecimiento derivados de las plaquetas, incluyendo PDGF-A, PDGF-B y PDGF-AB; neuropéptidos (por ejemplo, sustancia P, péptido regulado por el gen de la calcitonina (CGRP) y

neuropéptido Y); neurotransmisores y sus análogos, tales como norepinefrina, acetilcolina y carbacol; erizo, heregulina/neuregulina, IL-1, factor activador de osteoclastos (OAF), factor activador de linfocitos (LAF), factor estimulador de hepatocitos (HSF), factor activador de células B (BAF), factor inhibidor de tumores 2 (TIF-2), factor de crecimiento de células T derivado de los queratinocitos (KD-TCGF), IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, citoquina derivada de células estromales (SCDC), IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, insulina, factores de crecimiento similares a la insulina, incluidos IGF-1, IGF-2 y IGF-BP interferones, incluyendo INF-alfa, INF-beta e INF-gama; leptina, midkina, factores de necrosis tumoral (TNF-alfa y beta), netrinas, saposinas, semaforinas, somatrem, somatropina, factor de células madre, VVGF, proteínas morfogenéticas óseas (BMP), moléculas de adhesión, otras citocinas, factores de crecimiento ligados a heparina y ligandos de receptores de tirosina quinasa. En algunas realizaciones, el agente activo de la herida es un péptido tal como AcEEED, que es el péptido N terminal de la actina del músculo liso alfa y se ha demostrado que inhibe las propiedades contráctiles de los miofibroblastos.

En algunas realizaciones, los agentes activos para heridas son secuencias de unión a integrinas ejemplificadas por, pero no limitadas a, RGD, EILDV, VCAM-1 y sus análogos recombinados o sintéticos, enzimas, inhibidores de enzimas y polipéptidos.

En algunas realizaciones, las enzimas incluyen exopeptidasas y endopeptidasas (también conocidas como proteasas y proteinasas), incluyendo pero no limitándose a las proteinasas de serina quimotripsina, tripsina, elastasa y calicreína, enzimas bacterianas, proteasas de cisteína papaína, actinina, bromelina, catepsinas, calpains citosólicas, proteasas parasitarias, proteinasas aspárticas, proteasas de la familia de la pepsina y quimosina, catepsinas lisosomales D, renina, proteasas fúngicas, proteasas virales, retropepsina del virus del SIDA, y metaloproteinasa (MMP), colagenasas, enzima Maggott, MMP1, MMP2, MMP8, MMP13, gelatinasas, las MMP2, MMP9, MMP3, MMP7, MMP10, MMP11 y MMP12.

En algunas realizaciones, los inhibidores enzimáticos incluyen captopril, tiorfán, fosforamidón, teprotida, inhibidores de proteasas y proteinasas, inhibidores de metaloproteinasa e inhibidores de exopeptidasas.

En algunas realizaciones, se utilizan defensinas, incluyendo, pero sin limitarse a, alfa-defensinas HNP 1, 2, 3 y 4, y beta-defensinas HBD-1 y HBD-2, o polipéptidos tales como fibronectina, serotonina PAF, PDEGF, TNFa, IL1, IL6, IGF, IGF-1, IGF-2, IL-1, PDGF, FGF, KGF, VEGF, bradiquina, protimosina-alfa, y timosina-alfa1, o antimicrobianos, incluyendo, pero sin limitarse a, magainina (por ejemplo, magainina I, magainina II, xenopsin, fragmento precursor de xenopsin, fragmento precursor de caerulein), análogos de magainina I y II (por ejemplo, PGLa, magainina A, magainina G, pexigainina, Z-12, acetato de pexigainina, D35, MSI-78A, MG0 (K10E, K11E, F12W-magainina 2), MG2+ (K10E, F12W-magainina-2), MG4+ (F12W-magainina 2), MG6+ (f12W, E19Q-magainina 2 amida), MSI-238, análogos invertidos de magainina II (por ejemplo, 53D, 87-ISM y A87-ISM), Ala-amida de magainina II, amida de magainina II), cecropina P1, cecropina A, cecropina B, indolicidina, nisina, ranalexina, lactoferrina B, poli-L-lisina, cecropina A (1-8)-magainina II (1-12), cecropina A (1-8)-melitina (1-12), CA(1-13)-MA(1-13), CA(1-13)-ME(1-13), gramicidina, gramicidina A, gramicidina D, gramicidina S, alameticina, protegrina, histatina, dermaseptina, péptido anfipático de lentivirus o análogo, parasina I, licotoxina I o II, globomicina, gramicidina S, surfactina, ralinomicina, valinomicina, polimixina B, PM2 ((+/-) 1-(4-aminobutil)-6-bencilindano), PM2c ((+/-)-6-bencil-1-(3-carboxipropil)indano), PM3 ((+/-) 1-bencil-6-(4-aminobutil)indano), taquipesina, buforina I o II, misgurina, melitina, PR-39, PR-26, 9-fenilnonilamina, (KLAKKLA)_n, (KLAKLAK)_n, donde n = 1, 2 o 3, (KALKALK)₃, KLGKLG)_n y KAAKAA)_n, donde N = 1, 2 o 3, paradaxina, Bac 5, Bac 7, ceratoxina, mdelin 1 y 5, péptidos similares a la bombina, PGQ, catelicidina, HD-5, Oabac5alfa, ChBac5, SMAP-29, Bac7.5, lactoferrina, granulisina, tionina, heveína y péptidos similares a la knotina, MPG1, 1bAMP, snakina, proteínas de transferencia de lípidos y defensinas vegetales. En la Tabla 1 se proporcionan secuencias ejemplares para los compuestos anteriores. En algunas realizaciones, los péptidos antimicrobianos se sintetizan a partir de L-aminoácidos, mientras que, en otras realizaciones, los péptidos se sintetizan a partir de, o comprenden, D-aminoácidos. En la Figura 7 se enumeran otros polipéptidos antimicrobianos que pueden utilizarse en la presente invención.

TABLA 1

Péptidos antimicrobianos			
SEQ ID NO:	Nombre	Organismo	Secuencia
1	precursor del péptido antimicrobiano (Magainina) lingual	<i>Bos taurus</i>	mrllhllllallflvlsagsftqgvrnssqsrnkngicvp ircpasmrjgtclgaqvkcrrk
2	péptido antimicrobiano PGQ	<i>Xenopus laevis</i>	gvlsnvglylkkltgalnavlkq
3	Xenopsin	<i>Xenopus laevis</i>	mykgiflcvllavicanslatpssdadendeveryrvrgw askigtqlgkiakvlgkeliqpkreamlrsaeaqgkrpwl

(continuación)

Péptidos antimicrobianos			
SEQ ID NO:	Nombre	Organismo	Secuencia
4	precursor de la maginina	<i>Xenopus laevis</i>	mflgflficsliavicanalpqppeasadedmderevrigik flhsagkfgkafvgeimkskrdaevgpeafadedldere vrigikflhsakkfgkafvgeimnskrdaevgpeafade lderevrigikflhsakkfgkafvgeimnskrdaevgp eafadedlderevrigikflhsakkfgkafvgeimnskrd aevgpeafadedfderevrigikflhsakkfgkafvgei mnskrdaevgpeafadedlderevrigikflhsakkfgk afvgeimnskrdaevdrrrwe
5	taquiplesina I	<i>Tachypleus gigas</i>	kwcfrcyrgicyrrcr
6	taquipesina II	<i>Tachypleus gigas</i>	rwcfrcyrgicyrkr
7	buforina I	<i>Bufo gagarizans</i>	msgrgkqggkvrakaktrssraglqfpvgrvhrllrkny aqrvgagapvyalaavleyletailelagnaardnktrii prhlqlavrndeelnklggvtiaqggvlpniqavllpkt esskpaksk
8	buforina II	<i>Bufo gagarizans</i>	trssraglqfpvgrvhrllrk
9	cecropina A	<i>Bombyx mori</i>	mnfvriisfvfalvialgavsaapeprwklfkkiekvgrn vrdglikagpaiaavigqakslgk
10	cecropina B	<i>Bombyx mori</i>	mnfakilsfvfalvialsmtsaapeprwkifkkiekmgrn irdgivkagpaievlgsakaigk
11	cecropina C	<i>Drosophila melanogaster</i>	mnfykifvfvallaisigqseagwkklgkrierigqht rdatiqglgiaqqaanvaatarg
12	cecropina PI	<i>Sus scrofa</i>	swlsktakklensakkrisegiaiaiqggpr
13	indolicidina	<i>Bos taurus</i>	ilpwkwpwwpwr
14	nisina	<i>Lactococcus lactis</i>	itsislctpgcktgalmgcnmktatchcsihvsk
15	ranalexina	<i>Rana catesbeiana</i>	flgglivpamicavtkkc
16	lactoferricina B	<i>Bos taurus</i>	fkrrwqwrnkklgapsitcvrraf
17	protegrina -1	<i>Sus scrofa</i>	rggrlcycrrrfcvcvgrx
18	protegrina-2	<i>Sus scrofa</i>	ggrlcycrrrfcicvg
19	precursor de la histatina	<i>Homo sapiens</i>	mkffvfvallalmsmtgadshakrhhgykrkfhkhhsh rgyrsnylydn
20	histatina 1	<i>Macaca fascicularis</i>	dsheerhghrghhkygrkthekhhshrgyrsnylydn

(continuación)

Péptidos antimicrobianos			
SEQ ID NO:	Nombre	Organismo	Secuencia
21	dermaseptina	<i>Phyllomedusa sauvagei</i>	alwktmlkklgtmalhagkaalgaaadtsiqq
22	dermaseptina 2	<i>Phyllomedusa sauvagei</i>	alwftmlkklgtmalhagkaalgaaantisqgtq
23	dermaseptina 3	<i>Phyllomedusa sauvagei</i>	alwknmlkgiglagkaalgavkklvgaes
24	misgurina	<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	rqrveelskfskkgaaarrk
25	melitina	<i>Apis mellifera</i>	gigavlkvlttgpaliswisrkrqq
26	pardaxina-1	<i>Pardachirus pavoninus</i>	gffalipkiisspifkllsavgsalsssgeqe
27	pardaxina-2	<i>Pardachirus pavoninus</i>	gffalipkiisspifkllsavgsalsssgeqe
28	precursor de la bactenecina 5	<i>Bos taurus</i>	
29	precursor de la bactenecina	<i>Bos taurus</i>	
30	ceratotoxina A	<i>Ceratitis capitata</i>	sigsalkkalpvakkigkialpiakaalp
31	ceratotoxina B	<i>Ceratitis capitata</i>	sigsafkkalpvakkigkaalpiakaalp
32	péptido antimicrobiano catelucidina	<i>Homo sapiens</i>	mktqrnghslgrwslvllllglvmpaiiaqvlsykeavl raidginqrssdanlyrlldprptmdgdpdkpvsft vketvcprttqqspedcdfkkgdlvkrcmgtvlnqargs fdiscdkdnkrfallgdffrkskekigkfkriqvrikdf lmlvprtes
33	catelucidina meloide 3	<i>Equus caballus</i>	metqrntrelgrwspllllglvippattqalsykeavlr avdglqrssdenlyrlldplpkgdksdtpkpvsmv ketvcprimkqtpeqcdfkenglvkqcvgtvildpvkdyf dascdepqrvkrfhsvgsliqrhqqmirdkseathgiri itrpklilas
34	péptido antimicrobiano meloide BMAP-28	<i>Bos taurus</i>	metqraslslgrwslvllllglalpsasaqalsyreaavl avdqlnksseanlyrlldppkeddenpnipkpvsmv vketvcprtsqqspeqcdfkengllkecvgtvildqvgsn fditcavpqsvggllrslgrkilrawkkygpiivpiirig
35	catelucidina meloide 1	<i>Equus caballus</i>	metqrntrelgrwspllllglvippattqalsykeavlr avdglqrssdenlyrlldplpkgdksdtpkpvsmv ketvcprimkqtpeqcdfkenglvkqcvgtvildpvkdhf dvscgepqrvkrfgrlaksflmrillprkillas

(continuación)

Péptidos antimicrobianos			
SEQ ID NO:	Nombre	Organismo	Secuencia
36	SMAP 29	<i>Ovis aries</i>	metqralslgrcslwllllglalpsasaqvlisyreavlr aadqlneksseanlyrllldpppkqddensnipkpvsvfr vketvcprtsqqpaeqcdfkengllkecvgtvldqvrnn fditcaepqsvrglrrlgrkiahgvkkygptvlriiriag
37	BNP-1	<i>Bos taurus</i>	rlcrivvirvcr
38	HNP-1	<i>Homo sapiens</i>	acycripaciagerrygtciyqgrlwafcc
39	HNP-2	<i>Homo sapiens</i>	cycripaciagerrygtciyqgrlwafcc
40	HNP-3	<i>Homo sapiens</i>	dcycripaciagerrygtciyqgrlwafcc
41	HNP-4	<i>Homo sapiens</i>	vcscrivfcrrelvgncliggvsftycctrv
42	NP-1	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	vvcacrralclprerragfcrirgrihplccrr
43	NP-2	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	vvcacrralclplerragfcrirgrihplccrr
44	NP-3A	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	gicacrrrfcpnserfsgyrcvngaryvrccsrr
45	NP-3B	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	grcvcrkqlcs yrerrigdckirgvffccpr
46	NP-4	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	vsctcrfscgfgerasgsctvnggvrhtlccrr
47	NP-5	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	vfctcrgflcgsgerasgsctingvrhtlccrr
48	RatNP-1	<i>Rattus norvegicus</i>	vtcyrtrrcgfrerlsgacgyrgriyrlccr
49	Rat-NP-3	<i>Rattus norvegicus</i>	cscrysscrfgerllsgacrlngriyrlcc
50	Rat-NP-4	<i>Rattus norvegicus</i>	actcrigacvsgerltgacglngriyrlccr
51	GPNP	Conejillo de Indias	rrcicttrcrfpyrrlgtcifqnrvytfcc
52	beta defensina-3	Homo sapiens	
53	defensina-1 theta	Macaca mulatta	rcictrgfcrlcrrgvc
54	defensina CUA1	Helianthus annuus	mkssmkmfaaallvmmcllanemggplyvveartcesqshk fkgclsdtncanvchserfsggkergfrrrcfetthe
55	defensina SD2	Helianthus annuus	mkssmkmfaaallvmmcllanemggplyvveartcesqshk fkgclsdtncanvchserfsggkergfrrrcfetthe
56	defensina 2 de los neutrófilos	Macaca mulatta	acycripaclagerrygtcfymgrvwafcc
57	4 KDA defensina	Androctonus australis hector	gfgcfnqgachrhcrsirrrggycaglftqtctcyr

(continuación)

Péptidos antimicrobianos			
SEQ ID NO:	Nombre	Organismo	Secuencia
58	defensina	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	gfgcpnnyqchrhcksipgrcggycgghrlrctcyrc
59	defensina AMP1	Heuchera sanguinea	dgvklcdvpsgtwshgcsksskcsqqckdrehfayggach yqfsvkcfckrqc
60	defensina AMP1	Clitoria ternatea	nlcerasltwtgncgntghcdtqcrnwesakhgachkrgn wkfcyfn
61	homólogo de la criptidina-1 rica en cisteína	<i>Mus musculus</i>	mkkllvllfalvllafqvqadsiqntdeetkteeqpegkdq avsvsfgdpqgsalqdaalgwrrcpqpcpcspcprc prcprckcnpk
62	beta-defensina-9	<i>Bos taurus</i>	qgvrnfvtrnrgfcvpircpghrrqigtclgpqikccr
63	beta-defensina-7	<i>Bos taurus</i>	qgvrnfvtrnrgfcvpircpghrrqigtclgprikccr
64	beta-defensina-6	<i>Bos taurus</i>	qgvrnhvtriyggfcvpircpgrtrqtcfgprvkccrrw
65	beta-defensina-5	<i>Bos taurus</i>	qvvrnpqscrwnmgvcipiscpgnmrqtctfgprvpccr
66	beta-defensina-4	<i>Bos taurus</i>	qvrnpqscrwnmgvcipfrcvgrmrqtctfgprvpccr
67	beta-defensina-3	<i>Bos taurus</i>	qgvrnhvtrnrgfcvpircpgrtrqtcfgprikccrsw
68	beta-defensina-10	<i>Bos taurus</i>	qgvrsylscwngngicllnrcpgrmrqtctclaprccr
69	beta-defensina-13	<i>Bos taurus</i>	sgisgplscgrnggvpciprcvpmrqtctfgprvkccrsw
70	beta-defensina-1	<i>Bos taurus</i>	dfaschtnggiclpnrpghmiqigicfrprvkccrsw
71	coleopterina	<i>Zophobas atratus</i>	slqggapnfpqpsqqnggwqvspdlgrddkgntrgqieiq nkgkdhdnagwgvirgpnkakptwhvggtyrr
72	beta defensina-3	<i>Homo sapiens</i>	mrihyllfallflvpvphggiintlqkyycrvrggrc avlsclpkeeqigkctrgrkccrrkk
73	defensina C	<i>Aedes aegypti</i>	atcdllsgfvgdsacaahciargnrggycnskvvccrn
74	defensina B	<i>Mytilus edulis</i>	gfgcpndypchrhcksipgryggycggghrlrctc
75	sapocina C	<i>Sarcophaga peregrina</i>	atcdllsgigvqhsacalhcvfrnrggyctgkigvcrn
76	péptido antibiótico de los macrófagos MCP-1	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	mrtlalaaillvalqaqaehevsvsidevvdqppqaedq dvaivykehessalealgvkvagvvcacrralclprerrag ferirgrihplecrr
77	criptidina-2	<i>Mus musculus</i>	mklplvllsalvllsfqvqadpiqntdeetkteeqsgedq avsvsfgdregaslqeeslrdlvcyctrgeckrrermngt crkghlmytlcc

(continuación)

Péptidos antimicrobianos			
SEQ ID NO:	Nombre	Organismo	Secuencia
78	criptidina-5	<i>Mus musculus</i>	mktfvllsalvllafqvqadpihktdeetnteeqggedq avsisfggqgsalheelskklieycringckrrervfgt cmlfltfvfccs
79	criptidina 12	<i>Mus musculus</i>	lrdlvcycrargckgrermngtcrkghllymlccr
80	defensina	<i>Pyrrhocoris apterus</i>	atcdilsfqsqwvtpnhagcalhcvikgykkgqckitvchcrr
81	defensina R-5	<i>Rattus norvegicus</i>	vtcyrstrcgrfrerlsgacgyrgriyrllccr
82	defensina R-2	<i>Rattus norvegicus</i>	vtcscrtsscrfgerlsgacrlngriyrllcc
83	defensina NP-6	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	gicacrrrfclnfeqfsgycrvngaryvrccsrr
84	beta-defensina-2	<i>Pan troglodytes</i>	mrsvlyllfsflfilmplpgvfggisdpvtclksaichp vfcprrykqigtgclpgtkcckkp
85	beta-defensina-2	<i>Homo sapiens</i>	mrsvlyllfsflfilmplpgvfggigdpvtclksaichp vfcprrykqigtgclpgtkcckkp
86	beta-defensina-1	<i>Homo sapiens</i>	mrtsvlllfdcllsemasggnflglghrsdhyncvss ggqclysacpiftkiqgtcyrgkakckk
87	beta-defensina-1	<i>Capra hircus</i>	mrllhlllvfflvsagsgftqgirsrschrnkgyval trcprnmrqigtcfppvkccrkk
88	beta defensina-2	<i>Capra hircus</i>	mrllhlllalfvlvsagsgftqgiinhrscyrnkgyvcp areprnmrqigtchppvkccrkk
89	defensina-3	<i>Macaca mulatta</i>	mrtlvilaailvalqaqaepqlartdeataaqeiptdn pevvvslawdeslapkdsvpglrknmacycrripaclager rygtcfyrrrvwafcc
90	defensina -1	<i>Macaca mulatta</i>	mrtlvilaailvalqaqaepqlartdeataaqeiptdn pevvvslawdeslapkdsvpglrknmacycrripaclager rygtcfylgrvwafcc
91	defensina 1 de los neutrófilos	<i>Mesocricetus auratus</i>	vtcfrrrgcasrerhigycrfngtiyrllccrr
92	defensina 1 de los neutrófilos	<i>Mesocricetus auratus</i>	cfckrpvcdsgetqigycrlngtffyrllccrq
93	Gallinacina 1-alfa	<i>Gallus gallus</i>	grksdcfrkngfcaflkcpyltlisgkcsrfhlccrkw

(continuación)

Péptidos antimicrobianos			
SEQ ID NO:	Nombre	Organismo	Secuencia
94	defensina	<i>Allomyrina dichotoma</i>	vtcdllsfeakgfaanhslcaahclaignrggscergvcicrr
95	péptido catiónico de neutrófilo 1	<i>Cavia porcellus</i>	rrcicttrcrfpyrrlgtcifrnrvtfc

5 En algunas realizaciones, los antimicrobianos incluyen loracarbef, cefalexina, cefadroxil, cefixima, ceftibuten, cefprozil, cefpodoxima, cefradina, cefuroxima, cefaclor neomicina/polimixina/bacitracina, dicloxacilina, nitrofurantoína, nitrofurantoína macrocristal, nitrofurantoína/nitrofurano mac, diritromicina, gemifloxacina, ampicilina, gatifloxacina, penicilina V potásica, ciprofloxacina, enoxacina, amoxicilina, amoxicilina/clavulanato potásico, claritromicina, levofloxacina, moxifloxacina, azitromicina, esparfloxacina, cefdinir, ofloxacina, trovafloxacina, lomefloxacina, metenamina, eritromicina, norfloxacina, clindamicina/peróxido de benzoilo, quinupristina/dalfopristina, doxiciclina, sulfato de amikacina, vancomicina, kanamicina, netilmicina, estreptomina, sulfato de tobramicina, sulfato de gentamicina, tetraciclinas, framacetina, minociclina, ácido nalidixico, demeclociclina, trimetoprim, miconazol, colistimetato, piperacilina sódica/tazobactam sódico, paromomicina, colistina/neomicina/hidrocortisona, amebicidas, sulfisoxazol, pentamidina, sulfadiazina, fosfato de clindamicina, metronidazol, oxacilina sódica, nafcilina sódica, clorhidrato de vancomicina, clindamicina, cefotaxima sódica, cotrimoxazol, ticarcilina disódica, piperacilina sódica, ticarcilina disódica/clavulanato potásico, neomicina, daptomicina, cefazolina sódica, cefoxitina sódica, ceftizoxima sódica, penicilina G potásica y sódica, ceftriaxona sódica, ceftazidima, imipenem/cilastatina sódica, aztreonam, cinoxacina, eritromicina/sulfisoxazol, cefotetan disódico, ampicilina sódica/sulbactam sódico, cefoperazona sódica, cefamandole nafate, gentamicina, sulfisoxazol/fenazopiridina, tobramicina, lincomicina, neomicina/polimixina B/gramicidina, clorhidrato de clindamicina, lansoprazol/claritromicina/amoxicilina, alatrofloxacina, linezolid, subsalicilato de bismuto/metronidazol/tetraciclina, eritromicina/peróxido de benzoilo, mupirocina, fosfomicina, isetionato de pentamidina, imipenem/cilastatina, troleandomicina, gatifloxacina, cloranfenicol, cicloserina, neomicina/polimixina B/hidrocortisona, ertapenem, meropenem, cefalosporinas, fluconazol, cefepima, sulfametoxazol, sulfametoxazol/trimetoprima, neomicina/polimixina B, penicilinas, rifampicina/isoniazida, estolato de eritromicina, etilsuccinato de eritromicina, estearato de eritromicina, trihidrato de ampicilina, ampicilina/probenecid, sulfasalazina, sulfanilamida, sulfacetamida sódica, dapsona, hclato de doxiciclina, trimentoprima/sulfa, mandelato de metenamina, plasmodicidas, pirimetamina, hidroxicloquina, fosfato de cloroquina, tricomonocidas, antihelmínticos, atovaquona, bacitracina, bacitracina/polimixina b, gentamicina, neomicina/polimixina/dexameth, neomicina sulf/dexameth, sulfacetamida/prednisolona, sulfacetamida/fenilefrina, sulfato de tobramicina/dexameth, tribromofenato de bismuto, compuestos de iones de plata, nanopartículas de plata, plata cerivalente, plata multivalente, plata elemental y compuestos que contienen plata, como la sulfadiazina de plata y compuestos relacionados.

35 En algunas realizaciones, los antivirales incluyen amantadina, aciclovir, foscarnet, indinavir, ribavirina, enfuvirtida, emtricitabina, lamivudina, sulfato de abacavir, fomivirsén valaciclovir, tenofovir, cidofovir, atazanavir, amprenavir, mesilato de delavirdina, famciclovir, adefovir, didanosina, efavirenz, trifluridina, inidnavir, lamivudina, vidarabina, lopinavir/ritonavir, ganciclovir, zanamivir, abacavir/lamivudina/zidovudina, lamivudina/zidovudina, nelfinavir, mesilato de nelfinavir, nevirapina, ritonavir, saquinavir, saquinavir mesilato, rimantadina, estavudina, docosanol, zalcitabina, idoxuridina, zidovudina, zidovudina/didanosina, valganciclovir, penciclovir, lamivudina y oseltamivir.

40 En algunas realizaciones, los antifúngicos incluyen anfotericina B, nistatina, nistatina/triamcinolona, itraconazol, ketoconazol, miconazol, sulconazol, clotrimazol clotrimazol/betametasona, enilconazol, econazol, oxiconazol, tioconazol, terconazol, butoconazol, tiabendazol, flucitosina, butenafina, ciclopirox, haloprogina, naftifina, tolnaftato, natamicina, ácido undecilénico, mafenida, dapsona, clioquinol, clioquinol/hidrocortisona, yoduro de potasio, sulfadiazina de plata, violeta de genciana, carbol-fucsina, cilofungina, sertaconazol, voriconazol, fluconazol, terbinafina, caspofungina, otros azoles tópicos y griseofulvina.

45 En algunas realizaciones, los agentes de tampón incluyen el ácido maleico, ácido fosfórico, glicina, ácido cloroacético, ácido fórmico, ácido benzoico, ácido acético, piridina, piperazina, MES, bis-tris, carbonato, ACES, ADA MOPSO, PIPES, Ácido fosfórico, BES, MOPS, TES, HEPES, DIPSO, TAPSO, Trietanolamina, HEPESO, Tris, Tricina, Bicina, TAPS, Borato, Amoníaco, CHES, Etanolamina, CAPSO, Glicina, Carbonato, CAPS, Metilamina, Piperidina y Ácido fosfórico.

55 En algunas realizaciones, las vitaminas y los minerales incluyen vitamina A, carotenoides, vitamina D, vitamina E, vitamina K, vitamina C/ácido ascórbico, B1/tiamina, B2/riboflavina, B3/niacina, B5/ácido pantoténico, B6/piridoxina, B12/cobalamina, biotina, calcio, magnesio, fósforo, sodio, cloruro, potasio, boro, cromo, cobre, yodo, hierro, manganeso, selenio y zinc.

En algunas realizaciones, los analgésicos incluyen acetaminofén, anileridina, ácido acetilsalicílico, buprenorfina, butorfanol, fentanilo, citrato de fentanilo, codeína, rofecoxib, hidrocodona, hidromorfona, clorhidrato de hidromorfona, levorfanol, clorhidrato de alfentanilo, meperidina, clorhidrato de meperidina, metadona, morfina, nalbufina, opio, levometadilo, hialuronato sódico, citrato de sufentanilo, capsaicina, tramadol, leflunomida, oxicodona, oximorfona, celecoxib, pentazocina, propoxifeno, benzocaína, lidocaína, dezocina, clonidina, butalbital, fenobarbital, tetracaína, fenazopiridina, sulfametoxazol/fenazopiridina y sulfisoxazol/fenazopiridina.

En algunas realizaciones, los anticoagulantes incluyen cumarinas, 1,3-indandiona, anisindiona, I fondaparinux, heparina, lepirudina, antitrombina, warfarina, enoxaparina, dipiridamol, dalteparina, laardeparina, la nadroparina y tinzaparina.

En algunas realizaciones, los factores de coagulación incluyen Factor I (fibrinógeno), Factor II (protrombina), I Factor III (tromboplastina, factor tisular), Factor IV (calcio), Factor V (factor lábil), Factor VII (factor estable), Factor VIII (globulina antihemofílica, globulina antihemofílica, factor A antihemofílico), Factor IX (componente de tromboplastina plasmática, Factor de Navidad, factor antihemofílico B), Factor X (factor Stuart, factor Prower, factor Stuart-Prower), Factor XI (antecedente de tromboplastina plasmática, factor C antihemofílico), Factor XII (factor Hageman, factor de superficie, factor de contacto) y Factor XIII (factor estabilizador de la fibrina, enzima estabilizadora de la fibrina, fibrinasa).

En algunas realizaciones, los agentes antiinflamatorios incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID) incluyendo diclofenaco (también conocido como Voltaren, Abitren, Allvoran, Almira, Alonpin, Anfenax, Artrites, Betaren, Blesin, Bolabomin, Cataflam, Clofec, Clofen, Cordralan, Curinfram, Diclomax, Diclosian, Dicsnal, Difenac, Ecofenac, Hizemin, Inflamac, Inflanac, Klotaren, Lidonin, Monoflam, Naboal, Oritaren, Remethan, Savismín, Silino, Staren, Tsudohmin, Voltarol, Voren, Voveran y Vurdon), diflunisal (también conocido como Dolobid, Adomal, Diflonid, Diflunil, Dolisal, Dolobis, Dolocid, Donobid, Dopanone, Dorbid, Dugodol, Flovacil, Fluniget, Fluodonil, Flustar, Ilacen, Noaldol, Reuflos y Unisal), etodolac (también conocido como Lodine), fenoprofeno (también conocido como Nalfon, Fenoprex, Fenopron, Fepron, Nalgescic y Progesic), flurbiprofeno (también conocido como Ansaid y Ocuflur), ibuprofeno (también conocido como Rufen, Motrin, Aches-N-Pain, Advil, Nuprin, Dolgesic, Genpril, Haltran, Ibifon, Ibrén, Ibumed, Ibuprin, Ibupro-600, Ibuprohm, Ibu-Tab, Ibutex, Ifen, Medipren, Midol 200, Motrin-IB, Cramp End, Profen, Ro-Profen, Trendar, Alaxan, Brofen, Alfam, Brufen, Algofen, Brufort, Amersol, Bruzon, Andran, Buburone, Anflagen, Butacortelone, Apsifen, Deflem, Artofen, Dolgit, Artril, Dolocyl, Bloom, Donjust, Bluton, Easifon, Ebufac, Emflam, Emodin, Fenbid, Fenspan, Focus, Ibosure, Ibufen, Ibufug, Ibugen, Ibumetin, Ibupirac, Imbun, Inabrin, Inflam, Irfen, Librofen, Limidon, Lopane, Mynosedin, Napacetin, Nobafon, Nobgen, Novogent, Novoprofen, Nurofen, Optifen, Paduden, Paxofen, Perofen, Proartinal, Prontalgín, Q-Profen, Relcofen, Remofen, Roidenin, Seclodin, Tarein y Zofen), indometacina (también conocida como Indameth, Indocin, Amuno, Antalgin, Areumatin, Argilex, Artherexin, Arthrexin, Artrinovo, Babilon, Bonidon, Boutycin, Chrono-Indocid, Cidalgon, Confortid, Confortind, Domecid, Durametacin, Elemetacin, Idicin, Imbrilon, Inacid, Indacin, Indecin, Indocap, Indocen, Indocid, Indoflex, Indolag, Indolar, Indomed, Indomee, Indometacinum, Indometicina, Indometin, Indovis, Indox, Indozu, Indrenin, Indylon, Inflazon, Inpan, Lauzit, Liometace, Metacen, Metindon, Metocid, Mezolin, Mobilan, Novomethacin, Peralgon, Reflox, Rheumacid, Rheumacin, Salinac, Servindomet, Toshisan y Vonum), ketoprofeno (también conocido como Orudis, Alrheumat, Alrheumun, Alrhumat, Aneol, Arcental, Dexal, Epatec, Fastum, Keduril, Kefenid, Keprofen, Ketofen, Ketonal, Ketosolan, Kevadon, Mero, Naxal, Oruvail, Profenid, Salient, Tofen y Treosin), ketorolaco (también conocido como Toradol), meclofenamato (también conocido como Meclofen, Meclomen y Movens), ácido mefenámico (también conocido como Ponstel, Alpain, Aprostal, Benostan, Bonabol, Coslan, Dysman, Dyspen, Ecopan, Lysalgo, Manic, Mefac, Mefic, Mefix, Parkemed, Pondex, Ponsfen, Ponstan, Ponstyl, Pontal, Ralgec y Youfenam), nabumetona (también conocida como Relafen), naproxeno (también conocido como Naprosyn, Anaprox, Aleve, Apranax, Apronax, Arthritisil, Artrixen, Artroxen, Bonyl, Congex, Danaprox, Diocodal, Dysmenalgít, Femex, Flanax, Flexipen, Floginax, Gibixen, Headlon, Laraflex, Laser, Leniartil, Nafasol, Naixan, Nalyxan, Napoton, Napren, Naprelan, Naprium, Naprius, Naprontag, Naprux, Napxen, Narma, Naxen, Naxid, Novonaprox, Nycopren, Patxen, Prexan, Prodexin, Rahsen, Roxen, Saritilron, Sinartrin, Sinton, Sutony, Synflex, Tohexen, Veradol, Vinsen y Xenar), oxaprozín (también conocido como Daypro), piroxicam (también conocido como Feldene, Algidol, Antiflog, Arpyrox, Atidem, Bestocam, Butacinon, Desinflam, Dixonal, Doblextan, Dolonex, Feline, Felrox, Fuldin, Indene, Infeld, Inflamene, Lampoflex, Larapam, Medoptil, Novopirocam, Osteral, PiloX, Pirdalene, Píram, Pirax, Piricam, Pirocam, Pirocaps, Piroxan, Piroxedol, Piroxim, Piton, Posidene, Pyroxy, Reucam, Rexcám, Riacen, Rosic, Sinalgico, Sotilen, Stopen y Zunden), sulindac (también conocido como Clinoril, Afloadac, Algocetil, Antribid, Arthridex, Arthrocine, Biflax, Citireuma, Clisundac, Imbaral, Lindak, Lyndak, Mobilin, Reumofil, Sudac, Sulene, Sulic, Sulindal, Suloril y Sulreuma), tolmetina (también conocida como Tolectin, Donison, Midocil, Reutol y Safitex), celecoxib (también conocido como Celebrex), meloxicam (también conocido como Mobic), rofecoxib (también conocido como Vioxx), valdecoxib (también conocido como Bextra), aspirina (también conocida como Anacin, Ascriptin, Bayer, Bufferin, Ecotrin y Excedrin) y antiinflamatorios esteroideos como la cortisona, la prednisona y la dexametasona.

En algunas realizaciones, los vasoconstrictores incluyen epinefrina (adrenalina, susfrina), clorhidrato de fenilefrina (neosinefrina), clorhidrato de oximetazolina (Afrin), norepinefrina (Levophed) y cafeína.

En algunas realizaciones, los vasodilatadores incluyen bosentan (Tracleer), epoprostenol (Flolan), treprostínil

(Remodulin), sitaxsentan, nifedipina (Adalat, Procardia), nicardipina (Cardene), verapamilo (Calan, Covera-HS, Isoptin, Verelan), diltiazem (Dilacor XR, Diltia XT, Tiamate, Tiazac, Cardizem), isradipino (DynaCirc), nimodipino (Nimotop), amlodipino (Norvasc), felodipino (Plendil), nisoldipino (Sular), bepridil (Vascor), hidralazina (Apresoline), minoxidil (Loniten), dinitrato de isosorbida (Dilatrate-SR, Iso-Bid, Isonate, Isorbid, Isordil, Isotrate, Sorbitrate), mononitrato de isorbida (IMDUR), prazosina (Minipress), cilostazol (Pletal), treprostínil (Remodulin), ciclandelato, isoxsuprina (Vasodilan), nilidrina (Arlidin), nitratos (Deponit, Minitran, Nitro-Bid, Nitrodisc, Nitro-Dur, Nitrol, Transderm-Nitro), benazepril (Lotensin), benazepril e hidrocloreotiazida (Lotensin HCT), captopril (Capoten), captopril e hidrocloreotiazida (Capozide), enalapril (Vasotec), enalapril e hidrocloreotiazida (Vaseretic), fosinopril (Monopril), lisinopril (Prinivil, Zestril), lisinopril e hidrocloreotiazida (Prinzide, Zestoretic), moexipril (Univasc), moexipril e hidrocloreotiazida (Uniretic), perindopril (Aceon), quinapril (Accupril), quinapril e hidrocloreotiazida (Accuretic), ramipril (Altace), trandolapril (Mavik), papaverina (Cerespan, Genabid, Pavabid, Pavabid HP, Pavacels, Pavacot, Pavagen, Pavarine, Pavased, Pavatine, Pavatym, Paverolan).

En algunas realizaciones, los diuréticos incluyen acetazolamida (Diamox), diclorfenamida (Daranide), metazolamida (Neptazane), bendroflumetiazida (Naturetin), benzotiazida (Exna), clorotiazida (Diuril), clortalidona (Hygroton), hidrocloreotiazida (Esidrix, HydroDiuril, Microzide), hidroflumetiazida (Diucardin), indapamida (Lozol), metacloreotiazida (Enduron), metolazona (Zaroxolyn, Mykrox), politiazida (Renese), quinethazona (Hydromox), triclormetiazida (Naqua), bumetanida (Bumex), ácido etacrínico (Edecrin), furosemida (Lasix), torsemida (Demadex), amilorida (Midamor), amilorida e hidrocloreotiazida (Moduretic), espironolactona (Aldactone), espironolactona e hidrocloreotiazida (Aldactazide), triamtereno (Dyrenium), triamtereno e hidrocloreotiazida (Dyazide, Maxzide).

En algunas realizaciones, los agentes anticancerosos incluyen aldesleukina, alemtuzumab, alitretinoína, alopurinol, altretamina, amifostina, anagrelida, anastrozol, trióxido de arsénico, asparaginasa bexaroteno, bicalutamida, bleomicina, busulfán, calusterona, capecitabina, carboplatino, carmustina, celecoxib, clorambucil, cisplatino, cladribina, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, darbeopetina alfa, daunorubicina, daunomicina, dexrazoxano, docetaxel, doxorubicina, epoetina alfa, estramustina, etopósido, fosfato de etopósido, exemestano, filgrastim, floxuridina, fludarabina, flutamida, fulvestrant, gemcitabina, gemtuzumab ozogamicina, acetato de goserelina, hidroxiurea, ibritumomab tiuxetan, idarubicina, ifosfamida, mesilato de imatinib, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, irinotecán, leflunomida, letrozol, leucovorina, levamisol, lomustina, mecloretamina (mostaza nitrogenada), acetato de megestrol, melfalán, mercaptopurina, mesna, metotrexato, metoxsaleno, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, micofenolato mofetilo, fenpropionato de nandrolona, nilutamida, nofetumomab, oprelvekin, oxaliplatino, paclitaxel, pamidronato, pegademas, pegaspargasa, pegfilgrastim, pentostatina, pipobroman, plicamicina, porfimer sódico, procarbazona, quinacrina, rasburicase rituximab, sargramostim, estreptozocina, tacrolimus, tamoxifeno, temozolomida, teniposida, testolactona, tioguanina, tiotepa, topotecán, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, tretinoína, mostaza uracilo, valrubicina, vinblastina, vincristina, vinorelbina y zoledronato.

En otras realizaciones, el agente activo de la herida es un ARNsi. Las construcciones de ARNi de la presente invención son genes que expresan ARNs que se emparejan en base para formar una región de ARNd. Los ARN pueden formar parte de la misma molécula o de moléculas diferentes. En realizaciones preferidas, la construcción de ARNi comprende un promotor operablemente unido a una secuencia de ácido nucleico que codifica dos secuencias complementarias separadas por una secuencia de bucle. Las regiones complementarias corresponden a una secuencia de ARN objetivo separada por una secuencia de bucle. Cuando se expresa la construcción de ARNi, las regiones complementarias de la molécula de ARN resultante se emparejan entre sí para formar una región de ARN de doble cadena. La presente invención no se limita a secuencias de bucles de una longitud determinada. En algunas realizaciones preferidas, las secuencias de bucle oscilan desde aproximadamente 4 a aproximadamente 20 nucleótidos de longitud. En realizaciones más preferidas, las secuencias de bucle tienen desde aproximadamente 6 a aproximadamente 12 nucleótidos de longitud. En otras realizaciones preferidas, las regiones de ARNd tienen una longitud desde aproximadamente 19 y a aproximadamente 23.

En otras realizaciones, el ARNd se forma a partir del ARN transcrito de un vector como dos soportes separados. En otras realizaciones, las dos cadenas de ADN utilizadas para formar el ARNd pueden pertenecer al mismo o a dos dúplex diferentes en los que cada uno se forma con una hebra de ADN de secuencia al menos parcialmente complementaria. Cuando el ARNd se produce de esta manera, la secuencia de ADN que se va a transcribir está flanqueada por dos promotores, uno que controla la transcripción de una de las cadenas y el otro la de la cadena complementaria. Estos dos promotores pueden ser idénticos o diferentes. En algunas realizaciones, un dúplex de ADN provisto en cada extremo de una secuencia promotora puede generar directamente ARN de longitud definida, y que puede unirse en pares para formar un ARNd. Véase, por ejemplo Pat. de EE.UU. No. 5.795.715. La formación del dúplex de ARN puede iniciarse dentro o fuera de la célula.

Se reconocerá que después del procesamiento, el ARNsi resultante puede comprender dos extremos romos, un extremo romo y un extremo con un saliente, o dos extremos con salientes. En algunas realizaciones, el extremo o extremos con salientes comprenden un saliente de uno o dos nucleótidos. Como ejemplo no limitativo, un ARNsi de 23 nucleótidos de longitud comprende dos 19meros con un voladizo de dos nucleótidos en cada extremo. Como otro ejemplo no limitante, un ARNsi de 21 nucleótidos de longitud comprende dos 19meros con un solo nucleótido en

voladizo en cada extremo. Como otro ejemplo no limitante, un ARNsi de 22 nucleótidos de longitud comprende dos 22meros sin salientes en ninguno de los extremos.

5 La inhibición es específica de la secuencia en el sentido de que las secuencias de nucleótidos correspondientes a la región dúplex del ARN son el objetivo de la inhibición genética. Para la inhibición se prefieren moléculas de ARN que contengan una secuencia de nucleótidos idéntica a una porción del gen objetivo. También se ha comprobado que las secuencias de ARN con inserciones, deleciones y mutaciones puntuales con respecto a la secuencia objetivo son eficaces para la inhibición. Así, la identidad de la secuencia puede optimizarse mediante algoritmos de comparación y alineación de secuencias conocidos en la técnica (véase Gribskov y Devereux, Sequence Analysis Primer, Stockton Press, 1991 y las referencias allí citadas) y calculando la diferencia porcentual entre las secuencias de nucleótidos mediante, por ejemplo, el algoritmo de Smith-Waterman, tal y como se implementa en el programa informático BESTFIT utilizando los parámetros por defecto (por ejemplo, University of Wisconsin Genetic Computing Group). Se prefiere una identidad de secuencia mayor que 90 %, o incluso 100 %, entre el ARN inhibidor y la porción del gen objetivo. Alternativamente, la región dúplex del ARN puede definirse funcionalmente como una secuencia de nucleótidos capaz de hibridarse con una porción del transcrito del gen objetivo.

20 No hay un límite superior en la longitud del ARNs que se puede utilizar. Por ejemplo, el ARNs puede ir desde aproximadamente 21 pares de bases (pb) del gen hasta la longitud completa del mismo o más. En una realización, el ARNs utilizado en los procedimientos de la presente invención tiene una longitud de aproximadamente 1.000 pb. En otra realización, el ARNs tiene una longitud de aproximadamente 500 pb. En aun otra realización, el ARNs tiene una longitud de aproximadamente 22 pb. En algunas realizaciones preferidas, las secuencias que median el ARNi son de aproximadamente 21 a aproximadamente 23 nucleótidos. Los ARNi aislados de la presente invención median la degradación del ARN objetivo.

25 El ARN de doble cadena de la presente invención sólo tiene que ser lo suficientemente similar al ARN natural para que tenga la capacidad de mediar el ARNi para el ARN objetivo. En una realización, la presente invención se refiere a moléculas de ARN de longitudes variables que dirigen la escisión del ARNm específico al que corresponde su secuencia. No es necesario que haya una correspondencia perfecta de las secuencias, pero la correspondencia debe ser suficiente para permitir que el ARN dirija la escisión del ARNm objetivo. En una realización particular, las moléculas de ARN de la presente invención comprenden un grupo hidroxilo 3'.

III. Composiciones de matriz polimérica a nanoescala

35 En algunas realizaciones, con el procedimiento de la presente invención tal como se reivindica en las reivindicaciones adjuntas, se proporcionan microláminas que comprenden una matriz polimérica a nanoescala que puede aplicarse a una herida, un tejido biológico, una córnea, una lente, un hueso, un tendón, una malla quirúrgica, un apósito para heridas, un dispositivo biomédico, un dispositivo utilizado para la atención sanitaria u otra superficie. En algunas realizaciones, la matriz polimérica a nanoescala está funcionalizada. En algunas realizaciones, la matriz polimérica a nanoescala no está funcionalizada. En algunas realizaciones, la matriz polimérica a nanoescala comprende uno o más polímeros, preferentemente biocompatibles, o está formada por una o más proteínas, o es una combinación de polímeros y proteínas. En algunas realizaciones, la capa polimérica a nanoescala está formada por polímeros sintéticos tales como los polielectrolitos sintéticos. En otras realizaciones, la capa polimérica a nanoescala se forma a partir de polímeros de origen natural, tales como los polisacáridos. En algunas realizaciones, la matriz polimérica a nanoescala está funcionalizada para permitir la interacción covalente y/o la unión a la superficie del tejido o al lecho de la herida, o para permitir la aplicación de -agentes bioactivos a la matriz polimérica a nanoescala-. En algunas realizaciones, se incorpora a la matriz polimérica a nanoescala un -agente bioactivo, que es un agente activo para la herida, por ejemplo, un agente antimicrobiano tal como plata, biguanida de polihexametileno (PHMB),- clorhexidina, o un compuesto de yodo, o un antibiótico. El -agente bioactivo está preferentemente impregnado, incorporado o intercalado en toda la estructura tridimensional de la matriz polimérica a nanoescala. Por ejemplo, si la matriz polimérica a nanoescala es multicapa polielectrolítica (PEM), el -agente bioactivo se incorpora preferentemente entre o dentro de las capas de la multicapa polimérica-.

55 En algunas realizaciones, se fabrica una matriz polimérica (por ejemplo, una matriz polimérica a nanoescala y/o una capa polimérica de sacrificio) que comprende un agente antibiopelícula. La tecnología no está limitada en el agente antibiopelícula que se utiliza en las realizaciones del dispositivo y el procedimiento asociado, el kit y el procedimiento de las realizaciones de tratamiento. Por ejemplo, en algunas realizaciones el agente antibiopelícula es un agente antibiopelícula de molécula pequeña, un agente antibiopelícula de molécula pequeña cargada, un polipéptido antibiopelícula, una enzima antibiopelícula (por ejemplo, Dispersina B), una partícula metálica o un agente antibiopelícula de iones metálicos (por ejemplo, un ion metálico, una sal de ion metálico o una nanopartícula de ion metálico). Además, en algunas realizaciones, el agente antibiopelícula de iones metálicos es un ion de galio, una sal de ion de galio, una nanopartícula de ion de galio, una aleación de galio o una aleación de galio y plata.

65 En algunas realizaciones, las matrices poliméricas a nanoescala, tales como las multicapas poliméricas, tienen una dimensión de nanoescala a microescala. Por consiguiente, en algunas realizaciones, las matrices poliméricas a nanoescala tienen un espesor de aproximadamente 1 nm a 1.000 nm, espesor de aproximadamente 1 nm a 500 nm,

espesor de aproximadamente 1 nm a aproximadamente 100 nm, espesor de aproximadamente 1 nm a aproximadamente 25 nm, espesor de aproximadamente 1 nm a aproximadamente 10 nm, o un espesor de menos aproximadamente de 500 nm, 100 nm, 25 nm o 10 nm. Se contempla que la dimensión a nanoescala de las matrices (es decir, el espesor a nanoescala) permite la carga de una cantidad total menor de un agente activo, al tiempo que permite la entrega de una cantidad efectiva (es decir, una cantidad de agente activo que acelera la curación de la herida en comparación con los controles) del agente activo en comparación con las estructuras de matriz con mayor espesor. Se contempla que los niveles de carga total más bajos resultan en una toxicidad reducida en el entorno de la herida, especialmente cuando los compuestos antimicrobianos se incorporan a la multicapa polimérica.

En algunas realizaciones, la conformidad de las matrices poliméricas a nanoescala, tal como multicapas poliméricas, se ajusta para facilitar la migración celular en la herida. En algunas realizaciones, las matrices tienen una conformidad, medida en kilopascales (kPa), de aproximadamente 100 Pa a aproximadamente 500 kPa, de aproximadamente 7 a aproximadamente 250 kPa, de aproximadamente 10 a aproximadamente 250 kPa o de aproximadamente 10 a aproximadamente 200 kPa. En algunas realizaciones, las matrices, por ejemplo, las multicapas poliméricas, tienen una conformidad de aproximadamente 3 kPa a 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,1 y 0,05 GPa (gigapascales).

De acuerdo con el procedimiento de la invención, la matriz polimérica a nanoescala se soporta en una capa polimérica de sacrificio, formada por un material de soporte degradable o soluble, tal como un polímero soluble. De acuerdo con el procedimiento de la invención, la matriz polimérica a nanoescala se forma primero sobre un soporte sólido y luego se forma una capa polimérica de sacrificio sobre la matriz polimérica a nanoescala, por ejemplo, mediante recubrimiento por rotación, aspersión o la fundición del material de la capa polimérica de sacrificio sobre la matriz polimérica a nanoescala. El material de la capa polimérica de sacrificio es soluble en entornos acuosos o en entornos en los que hay humedad, tal como superficies húmedas como lechos de las heridas, superficies internas del cuerpo, superficies epiteliales y similares. En las realizaciones preferidas, el material de la capa polimérica de sacrificio es soluble en soluciones acuosas tras la aplicación de la matriz polimérica a nanoescala en la superficie. Así, el presente procedimiento proporciona un artículo de microlámina que comprende dos capas, una primera capa de matriz polimérica a nanoescala adyacente a una capa polimérica de sacrificio. La capa polimérica de sacrificio se disuelve cuando se aplica a una superficie húmeda, de modo que la matriz polimérica a nanoescala queda en contacto con la superficie húmeda. La matriz polimérica a nanoescala puede ser transferida a una herida o tejido utilizando una capa polimérica de sacrificio que se encuentra por encima de la matriz polimérica a nanoescala después de la transferencia a la herida o tejido, o la matriz polimérica a nanoescala se transfiere a una herida o tejido utilizando una capa polimérica de sacrificio que se encuentra por debajo de la matriz polimérica a nanoescala después de la transferencia a la herida o tejido. Una matriz polimérica a nanoescala hecha con las PEM de acuerdo con un procedimiento de la invención y un fundido de sacrificio soluble pueden ser transferidos a una herida o superficie de tejido de tal manera que el fundido de sacrificio se disuelve completamente en la herida y las PEM están en contacto directo con el tejido de la herida y una herida primaria/secundaria puede ser colocada sobre la herida.

La matriz polimérica a nanoescala que contiene uno o más agentes bioactivos puede transferirse a una herida o tejido utilizando una capa polimérica de sacrificio que se sitúa sobre la matriz polimérica a nanoescala después de la transferencia a la herida o tejido. Se puede colocar un apósito para heridas sobre la capa polimérica de sacrificio antes o después de que ésta se disuelva.

En algunas realizaciones, la matriz polimérica a nanoescala es una multicapa polielectrolítica (PEM).

En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio de una microlámina contiene agentes bioactivos, agentes antimicrobianos, agentes antibiopelícula, micropartículas, nanopartículas, partículas magnéticas. En algunas realizaciones, las micropartículas o nanopartículas de la capa polimérica de sacrificio contienen agentes bioactivos o antimicrobianos.

En algunas realizaciones, la capa de sacrificio comprende un agente antibiopelícula. La tecnología no está limitada en el agente antibiopelícula que se utiliza en las realizaciones del dispositivo y el procedimiento asociado, el kit y el procedimiento de las realizaciones de tratamiento. Por ejemplo, en algunas realizaciones el agente antibiopelícula es un agente antibiopelícula de molécula pequeña, un agente antibiopelícula de molécula pequeña cargada, un polipéptido antibiopelícula, una enzima antibiopelícula (por ejemplo, Dispersina B), una partícula metálica o un agente antibiopelícula de iones metálicos (por ejemplo, un ion metálico, una sal de ion metálico o una nanopartícula de ion metálico). Además, en algunas realizaciones, el agente antibiopelícula de iones metálicos es un ion de galio, una sal de ion de galio, una nanopartícula de ion de galio, una aleación de galio o una aleación de galio y plata.

La capa polimérica de sacrificio de una microlámina es soluble en agua. En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio está hecha de polímero no tóxico, y en algunas realizaciones la capa polimérica de sacrificio es de alcohol polivinílico (PVA). En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio está hecha de ácido poliacrílico (PAA).

A. Materiales de matriz polimérica

En algunas realizaciones del procedimiento de la invención, la matriz es una multicapa polimérica. En algunas realizaciones, las estructuras multicapa comprenden capas de polielectrolitos (es decir, formando una multicapa de polielectrolitos), mientras que, en otras realizaciones, las multicapas comprenden polímeros que no tienen carga (es decir, polímeros no iónicos) o una combinación de capas de polímeros cargados y no cargados. En algunas realizaciones, se contempla que las películas de polielectrolitos construidas mediante la adsorción alternada de capas de polielectrolitos catiónicos y aniónicos constituyen una técnica novedosa y prometedora para modificar las superficies de las heridas de forma controlada (Decher et al., 1992, Thin Solid Films 210/211:831 Decher, 1997, Science 277:1232). Una de las propiedades más importantes de estas multicapas es que presentan un exceso de cargas alternativas positivas y negativas (Caruso et al., 1999, J Am Chem Soc 121:6039; Ladam et al., 2000, Langmuir 16:1249). Esto no sólo puede constituir el motor de su acumulación (Joanny, 1999, Eur. Física. J. Biol. 9:117), pero permite, por simple contacto, adsorber una gran variedad de compuestos tales como colorantes, partículas (Cassagneau et al., 1998, J. Am. Chem. Soc. 120:7848 Caruso et al., 1999, Langmuir 15:8276 Lvov et al., 1997, Langmuir 13:6195), microláminas de arcilla (Ariga et al., 1999, Appl. Clay Sci. 15:137) y proteínas (Keller et al., 1994, J. Am. Chem. Soc. 116:8817 Lvov et al., 1995, J. Am. Chem. Soc. 117:6117 Caruso et al., 1997, Langmuir 13:3427).

Las capas de polielectrolitos se forman mediante aplicaciones alternas de polielectrolitos aniónicos y polielectrolitos catiónicos a las superficies para formar una multicapa de polielectrolitos. En algunas realizaciones, uno o más agentes activos para heridas, tales como los descritos anteriormente, se incorporan a la multicapa. Preferentemente, se utilizan al menos cuatro capas y, más preferentemente, al menos seis capas para formar la multicapa de polielectrolitos.

Los polielectrolitos catiónicos útiles en la presente invención pueden ser cualquier polímero biocompatible soluble en agua, por ejemplo, cualquier polímero que tenga heterociclos protonados unidos como grupos colgantes. Tal como se utiliza en el presente documento, "soluble en agua" significa que todo el polímero debe ser soluble en soluciones acuosas, tal como la solución salina tamponada o la solución salina tamponada con pequeñas cantidades de disolventes orgánicos añadidos como codisolventes, a una temperatura entre 20 y 37 centígrados. En algunas realizaciones, el material no será suficientemente soluble (definido en el presente documento como soluble en la medida de al menos un gramo por litro) en soluciones acuosas per se, pero puede ponerse en solución injertando el polímero policationico con materiales polioniónicos solubles en agua, tal como el polietilenglicol.

Los polielectrolitos catiónicos representativos incluyen los poliaminoácidos naturales y no naturales que tienen una carga positiva neta a pH neutro, los polisacáridos cargados positivamente y los polímeros sintéticos cargados positivamente. Entre los ejemplos de materiales policationicos adecuados se incluyen las poliaminas que tienen grupos aminos en la columna vertebral del polímero o en las cadenas laterales del mismo, tales como poli-L-lisina (PLL) y otros poliaminoácidos cargados positivamente de aminoácidos naturales o sintéticos o mezclas de aminoácidos, incluyendo, pero sin limitarse, poli(D-lisina), poli(ornitina), poli(arginina) y poli(histidina), y poliaminas no peptídicas tales como poli(aminoestireno), poli(aminoacrilato), poli(N-metil aminoacrilato) poli(N-etilaminoacrilato), poli(N,N-dimetil aminoacrilato), poli(N,N-dietilaminoacrilato), poli(aminometacrilato), poli(N-metil amino metacrilato), poli(N-etil amino metacrilato), poli(N,N-dimetil amino metacrilato), poli(N,N-dietil amino metacrilato), poli(etilénimina), polímeros de aminas cuaternarias, tales como poli(cloruro de N,N,N-trimetilaminoacrilato), poli(cloruro de metiacrilamidopropiltrimetilamonio), y polisacáridos naturales o sintéticos tales como quitosano.

En general, los polímeros deben incluir al menos cinco cargas, y el peso molecular del material policationico debe ser suficiente para producir el grado deseado de unión a un tejido u otra superficie, teniendo un peso molecular de al menos 1.000 g/mole.

Los materiales polianiónicos útiles en la presente invención pueden ser cualquier polímero polianiónico soluble en agua biocompatible, por ejemplo, cualquier polímero que tenga grupos de ácido carboxílico unidos como grupos colgantes. Materiales adecuados incluyen alginato, carragenina, furcelar, pectina, xantano, ácido hialurónico, heparina, heparán sulfato, condroitín sulfato, ácido poliacrílico (PAA), dermatán sulfato, dextrán sulfato ácido poli(met)acrílico, celulosa oxidada, carboximetilcelulosa y cromarmelosa, polímeros y copolímeros sintéticos que contienen grupos carboxílicos colgantes, tales como los que contienen ácido maleico o ácido fumárico en la columna vertebral. También son adecuados poliaminoácidos de carga predominantemente negativa. Algunos ejemplos de estos materiales son, ácido poliaspártico, ácido poliglutámico y copolímeros de los mismos con otros aminoácidos naturales y no naturales. Los materiales polifenólicos, tales como taninos y ligninas, pueden utilizarse si son suficientemente biocompatibles. Los materiales preferidos son alginato, pectina, carboximetilcelulosa, la heparina y ácido hialurónico.

En algunas realizaciones, el polielectrolito catiónico utilizado es PLL y el polielectrolito aniónico utilizado es el poli(ácido L-glutámico) (PGA). De hecho, se contempla el uso de una variedad de polielectrolitos, incluyendo, pero sin limitarse a, poli(imina de etileno) (PEI), poli(clorhidrato de alilamina) (PAH), poli(4-estirenosulfonato de sodio) (PSS), poli(ácido acrílico) (PAC), poli(ácido maleico-co-propileno) (PMA-P), y poli(sulfato de vinilo) (PVS). También es posible utilizar polielectrolitos naturales, incluyendo ácido hialurónico y condroitín sulfato. En otras realizaciones, el polímero es un dendrímero, un polímero injertado o un polímero de arquitectura en estrella.

En algunas realizaciones, las estructuras multicapa están formadas por polímeros no cargados o por una combinación de polímeros cargados y no cargados. Los ejemplos de polímeros no cargados incluyen, pero no se limitan a, dextrano, sulfato de dextrano, dietilaminoetil (DEAE)-dextrano, hidroxietilcelulosa, etil(hidroxietil) celulosa, acrilamida, óxido de polietileno, óxido de polipropileno, copolímeros de óxido de polietileno - óxido de polipropileno, PAAN_a, Ficoll, polivinilpirolidina y ácido poliacrílico.

En algunas realizaciones, las estructuras multicapa están formadas por uno o más polímeros anfóteros, solos o en combinación con los otros polímeros descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, los polímeros anfotéricos comprenden uno o más de ácido acrílico (AA), DMAEMA (metacrilato de dimetilaminoetil), APA (acrilato de 2-aminopropilo), MorphEMA (metacrilato de morfolinoetil), DEAEMA (metacrilato de dietilaminoetil), t-ButilAEMA (metacrilato de t-butilaminoetil), PipEMA (metacrilato de piperidinoetil), AEMA (metacrilato de aminoetil), HEMA (metacrilato de 2-hidroxietilo), MA (acrilato de metilo), MAA (ácido metacrílico) APMA (metacrilato de 2-aminopropilo), AEA (acrilato de aminoetil). En algunas realizaciones, el polímero anfotérico comprende (a) un ácido carboxílico, (b) una amina primaria y (c) una amina secundaria y/o terciaria. Los polímeros anfóteros tienen un punto isoeléctrico de 4 a 8, preferentemente de 5 a 7 y tienen un peso molecular promedio nominal en el intervalo de 10.000 a 150.000.

Las capas poliméricas pueden formarse por una variedad de procedimientos. Las capas poliméricas se forman sobre soportes sólidos como se describe en detalle a continuación. En algunas realizaciones, se contempla que el polímero o la multicapa polimérica se forme mediante la aplicación secuencial de polímeros utilizando una bomba (incluyendo jeringas, impresoras de chorro de tinta y electro chorro) o un aerosol, tal como un aerosol de aspersión, o por recubrimiento por inmersión. En otras realizaciones, se utiliza el bombardeo de partículas. En otras realizaciones, se contempla el uso de un cepillo que incluye un cepillo de aire. En una realización del procedimiento de la invención, la matriz polimérica a nanoescala se forma sobre un soporte sólido, se forma una capa polimérica de sacrificio sobre la matriz polimérica a nanoescala, y la microlámina resultante se desprende del soporte sólido.

En algunas realizaciones, la matriz comprende una o más proteínas. En las realizaciones preferidas, las proteínas forman un hidrogel. En algunas realizaciones preferidas, la matriz comprende una o más proteínas de la matriz extracelular. En algunas realizaciones, la matriz comprende al menos uno de los siguientes elementos: colágeno, laminina, vitronectina, fibronectina, queratina y combinaciones de los mismos. Como se ha descrito anteriormente, la matriz proteica puede formarse preferentemente mediante diversos procedimientos. En algunas realizaciones, la matriz proteica se forma sobre soportes sólidos como se describe en detalle a continuación. En algunas realizaciones, se contempla que la matriz proteica se forme mediante la aplicación de proteínas o soluciones o geles de proteínas utilizando una bomba (incluyendo jeringas, impresoras de chorro de tinta y electro chorros) o un aerosol, tal como un aerosol de chorro. En otras realizaciones, se contempla el uso de un cepillo que incluye un cepillo de aire. En otras realizaciones, se utiliza una esponja. En otras realizaciones se utiliza un soporte sólido o un sello, tal como un material elastomérico, por ejemplo, PDMS (polidimetilsiloxano), silicona, hidrogel o látex, para soportar la matriz proteica y transferir mecánicamente la matriz proteica al lecho de la herida o sobre lecho de la herida.

En algunas realizaciones, la matriz se modifica aún más para incluir células, incluyendo, pero sin limitarse a, células madre, queratinocitos, construcciones de piel en 3-D, células epiteliales de la córnea, células conjuntivales, células madre del limbo de la córnea, células madre embrionarias humanas, células madre pluripotenciales, células madre inducidas en adultos, células madre hematopoyéticas, hepatocitos, células pancreáticas y similares. En algunas realizaciones, las composiciones y los procedimientos descritos en el presente documento se utilizan para funcionalizar tejidos animales y humanos cosechados y procesados (congelados, liofilizados, fijados y almacenados en seco o en húmedo, tejidos frescos para trasplante directo) (válvula aórtica porcina/humana, membrana amniótica humana cosechada, piel humana de cadáver, esclerótica y córnea cosechadas, hueso de cadáver cosechado, vasos sanguíneos cosechados y similares. En algunas realizaciones, las composiciones y los procedimientos descritos en el presente documento se utilizan para funcionalizar construcciones de piel, incluyendo, pero sin limitarse a ello, piel de autoinjerto (es decir, la piel se extrae de un paciente, se funcionaliza como se describe en el presente documento y se devuelve al paciente), equivalentes de piel humana cultivada orgánicamente y otros productos de queratinocitos tales como Dermagraft™.

C. Microláminas que comprenden una matriz polimérica a nanoescala y una capa polimérica de sacrificio

Como se ha detallado anteriormente, la presente invención proporciona un procedimiento para fabricar microláminas que comprenden al menos dos capas, siendo la primera capa una matriz polimérica a nanoescala y la segunda capa una capa polimérica de sacrificio. En las Figuras 13, 16 y 17 se presentan las microláminas y los procedimientos para fabricarlas. Refiriéndose a la Figura 13, se forma una matriz polimérica a nanoescala sobre un soporte sólido tal como PDMS. La matriz polimérica a nanoescala puede comprender cualquiera de los polímeros descritos en detalle anteriormente. A continuación, se describen con más detalle los materiales de soporte adicionales. En algunas realizaciones, un agente activo para la herida se incorpora a la matriz polimérica a nanoescala durante la formación de la matriz. También puede impregnarse en la matriz tras la formación de la misma para proporcionar una matriz polimérica bioactiva a nanoescala. Como se ha descrito anteriormente, el agente activo de la herida está preferentemente incorporado o intercalado dentro de la estructura tridimensional de la matriz. La Figura 16 muestra una representación en la que los iones de plata y las nanopartículas se intercalan dentro de la estructura tridimensional

de una matriz multicapa de polielectrolitos (PEM) a nanoescala de PAH/PAA. En las realizaciones preferidas, la matriz polimérica a nanoescala se impregna con una solución de nitrato de plata para impregnar los iones de plata; a continuación, la matriz se incuba en una solución de un agente reductor para formar nanopartículas de plata dentro de la matriz. La Figura 17 muestra una representación en la que la clorhexidina, un agente antimicrobiano cargados positivamente, está intercalada entre capas de polielectrolitos (PAA) cargados negativamente en una matriz multicapa de polielectrolitos (PEM) a nanoescala.

Refiriéndose de nuevo a la Figura 13, en algunas realizaciones, una capa polimérica de sacrificio es entonces fundida sobre la matriz polimérica a nanoescala. La capa polimérica de sacrificio comprende preferentemente un material degradable o disoluble como el descrito anteriormente. En algunas realizaciones preferidas, la capa polimérica de sacrificio comprende alcohol polivinílico (PVA). En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio está hecha de ácido poliacrílico (PAA). En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio se funde preferentemente por recubrimiento por inmersión, recubrimiento por rotación o aspersión. Se contempla que el recubrimiento por inmersión, el recubrimiento por rotación o la pulverización proporcionan una capa polimérica de sacrificio de espesor uniforme. En algunas realizaciones preferidas, la microlámina es de aproximadamente 0,2 cm² a aproximadamente 600 cm². En algunas realizaciones, la capa polimérica de sacrificio tiene una variación de espesor en toda la microlámina menor que 500, 400, 300, 200, 100, 50, 20 o 10 % del espesor medio cuando se mide en sección transversal. Siguiendo con la Figura 13, la microlámina puede desprenderse del soporte sólido para proporcionar una microlámina libre que puede aplicarse a una superficie tal como un dispositivo o un tejido de herida, como se representa en las Figuras 13 y 14, respectivamente. Las microláminas de la presente invención tienen una excelente resistencia mecánica a pesar de ser microscópicamente finas y pueden ser manipuladas a mano o con máquinas. En algunas realizaciones, las microláminas tienen un módulo de Young de aproximadamente 0,1 GPa a aproximadamente 10 GPa. Como puede verse en las Figuras 13 y 14, la matriz polimérica a nanoescala expuesta se pone en contacto directo con la superficie del dispositivo o con una superficie de la herida. En presencia de humedad, la capa polimérica de sacrificio se disuelve dejando la matriz polimérica a nanoescala expuesta o adherida a la superficie.

D. Agentes de funcionalización

En algunas realizaciones, las matrices descritas anteriormente están funcionalizadas. En realizaciones preferidas, las matrices están funcionalizadas con uno o más agentes de modificación covalente. En algunas realizaciones preferidas, los agentes de entrecruzamiento comprenden un grupo azida o un grupo alquino, de modo que se pueden utilizar químicas de clic adecuadas. En algunas realizaciones, el al menos un agente de modificación covalente es un agente de entrecruzamiento homobifuncional. En otras realizaciones, el al menos un agente de modificación covalente es un agente de entrecruzamiento heterobifuncional. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agente de entrecruzamiento homobifuncional es un éster de N-hidroxisuccinimidilo (por ejemplo, incluyendo, pero no limitado a, éster de disuccinimidilo, ditiobis(succinimidilpropionato), 3,3'-ditiobis(sulfosuccinimidilpropionato), suberato de disuccinimidilo, bis(sulfosuccinimidilo)suberato, tartarato de disuccinimidilo, tartarato de disulfosuccinimidilo, bis[2-(succinimidiloxicarbonil) etil]sulfona, bis[2-(sulfosuccinimidiloxicarbonil) etil]sulfona, etilenglicolbis(succinimidilsuccinato), etilenglicolbis(sulfosuccinimidilsuccinato), glutarato de disuccinimidilo y N,N'-disuccinimidilcarbonato). En algunas realizaciones, el agente de entrecruzamiento homobifuncional está en una concentración entre 1 nanomolar y 10 milimolar. En algunas realizaciones preferidas, el agente de entrecruzamiento homobifuncional está en una concentración entre 10 micromolar y 1 milimolar. En otras realizaciones, el al menos un agente de modificación covalente es un agente de entrecruzamiento heterobifuncional (por ejemplo incluyendo, pero no limitado a, N-succinimidil 3-(2-piridilditio)propionato, succinimidil 6-(3-[2-piriditio]-propionamido)hexanoato, sulfosuccinimidil 6-(3'-[2-piriditio]-propionamido)hexanoato, succinimidiloxicarbonil- α -metil- α -(2-piriditio)tolueno, sulfosuccinimidil-6-[α -metil- α -(2-piridilditio) toluamido]hexanoato, succinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato, sulfosuccinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato, éster de m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida, éster de m-maleimidobenzoil-N-hidroxi-sulfosuccinimida, N-succinimidil(4-iodoacetil)aminobenzoato, sulfo-succinimidil(4-iodoacetil)aminobenzoato, succinimidil-4-(p-maleimidofenil)butirato, sulfosuccinimidil-4-(p-maleimidofenil)butirato, éster de N-(γ -maleimidobutiloxi)succinimida, éster de N-(γ -maleimidobutiloxi)sulfosuccinimida, hexanoato de succinimidilo 6-((yodoacetilo)amino)hexanoato, hexanoato de succinimidilo 6-((4-yodoacetilo)amino)hexanoil)amino, succinimidil 4 - (((yodoacetil)amino)metil) ciclohexano-1-carboxilato, succinimidil 6-(((4-yodoacetil)amino)metil) ciclohexano-1-carbonil)amino)-hexanoato y p-nitrofenil yodoacetato). En algunas realizaciones, el agente de entrecruzamiento heterobifuncional se modifica con grupos funcionales, haciéndolo soluble en disolventes acuosos para su administración como solución acuosa. Además, en algunas realizaciones, la solución acuosa contiene aditivos (por ejemplo, incluyendo, pero sin limitarse a, tensioactivos y copolímeros en bloque). En otras realizaciones, una multiplicidad de agentes de entrecruzamiento heterobifuncionales puede unirse a una molécula, polímero o partícula para servir como agente de entrecruzamiento. En otras realizaciones, el agente de entrecruzamiento heterobifuncional se disuelve en un disolvente orgánico (por ejemplo, incluyendo, pero sin limitarse a, dimetilsulfóxido).

En algunas realizaciones, el modificador covalente es un agente de entrecruzamiento fotoactivable. Los agentes de entrecruzamiento fotoactivables adecuados incluyen, pero no se limitan a, azida de arilo N-((2-piridilditio)etilo)-4-azidosalicilamida, ácido 4-azido-2,3,5,6-tetrafluorobenzoico, éster de succinimidilo, ácido 4-azido-2,3,5,6-tetrafluorobenzoico, éster de STP maleimida de benzofenona, éster succinimidílico del ácido 4-benzoilbenzoico, N-5-

azido-2-nitrobenzoiloxisuccinimida, N-hidroxisulfo succinimidil-4- azidobenzo ate, ácido N-hidroxisuccinimidil-4-azidosalicílico y (4-[p-azidosalicylamido]butilamina).

5 El agente de modificación covalente puede aplicarse a la matriz mediante cualquier procedimiento adecuado. En algunas realizaciones, se contempla que el agente de modificación covalente se aplique utilizando una bomba (incluyendo jeringas, impresoras de chorro de tinta y electrorros) o un aerosol, tal como un aerosol de chorro. En otras realizaciones, se contempla el uso de un cepillo que incluye un cepillo de aire. En otras realizaciones, se utiliza una esponja.

10 Tras la aplicación del agente de modificación covalente a la matriz, se forma una matriz funcionalizada. En algunas realizaciones, la matriz funcionalizada presenta uno o más grupos reactivos, por ejemplo, fracciones azida, fracciones succinimidilo, fracciones alquino o cualquiera de los otros grupos reactivos de los compuestos descritos anteriormente.

15 En algunas realizaciones, la matriz se modifica por PEGilación con polietilenglicol. Se contempla que la PEGilación puede utilizarse para controlar la interacción de la matriz con el lecho de la herida y para evitar la adsorción inespecífica según se desee. La PEGilación también puede utilizarse para controlar la entrega del agente activo de la herida desde la matriz.

20 E. Agentes activos para las heridas

Las matrices comprenden uno o más agentes activos para heridas como se ha descrito en detalle anteriormente. En algunas realizaciones, el agente o agentes activos de la herida se incorporan de forma no covalente a la matriz. En algunas realizaciones preferidas, los antimicrobianos que contienen plata se incorporan a la matriz funcionalizada, por ejemplo, una multicapa de polielectrolitos como se ha descrito anteriormente. En algunas realizaciones, el agente o agentes activos para heridas se inmovilizan covalentemente en la matriz, por ejemplo, mediante un agente de modificación covalente.

En algunas realizaciones, el uno o más agentes activos de la herida se aplican para formar un gradiente con respecto al agente modificador para heridas. En general, los gradientes presentan una mayor concentración del agente activo de la herida en una o más primeras localizaciones deseadas en la herida tras la aplicación del agente modificador para heridas a la herida y una menor concentración del agente activo para heridas en una o segunda ubicación de la misma tras la aplicación de la matriz a la herida. Por ejemplo, las concentraciones de los agentes activos para heridas se estratifican en un lecho de la herida en un gradiente tal que entre más altas son las concentraciones de una composición particular mayor será la parte proximal al lecho de la herida que la parte distal al lecho de la herida de forma vertical. También se contempla el caso contrario, en el que las concentraciones de las composiciones son mayores en la parte distal del lecho de la herida que en la parte proximal. También se contempla la concentración de las composiciones en un lecho de la herida en el que se deposita un gradiente horizontal. También se contemplan los gradientes topográficos, en los que las composiciones se depositan de manera que las concentraciones de las mismas en un lecho de la herida o en una partícula biocompatible siguen la topografía del sustrato, por ejemplo, se deposita una mayor concentración de composiciones en los valles de las ondulaciones de un sustrato ejemplar en comparación con los picos de las ondulaciones.

En algunas realizaciones, el gradiente comprende una concentración más alta del agente activo para heridas en el centro de la matriz que transita a una concentración más baja del agente activo para heridas lejos del centro de la matriz. Por consiguiente, cuando la matriz se aplica a una herida, el gradiente da lugar a una mayor concentración de agente activo para heridas en el centro de la herida y a una menor concentración de agente activo para heridas a medida que se avanza hacia la periferia de la herida. En algunas realizaciones, el gradiente comprende una concentración más baja del agente activo para heridas en el centro de la matriz, que pasa a una concentración más alta del agente activo para heridas lejos del centro de la matriz. En consecuencia, el gradiente da lugar a una menor concentración de agente activo para heridas en el centro de la herida y a una mayor concentración de agente activo para heridas a medida que se avanza hacia la periferia de la herida. Si se utilizan dos o más agentes activos para la herida, pueden presentarse como gradientes similares o los gradientes pueden variarse para que las concentraciones de los dos o más agentes activos para la herida varíen a lo largo de la misma. Los gradientes de alta o baja concentración pueden tener cualquier forma, como circular, cuadrada, rectangular, ovalada, oblonga, etc., de modo que la matriz y el gradiente pueden ajustarse a una variedad de formas de heridas. Por ejemplo, para una herida larga, de tipo incisión, el gradiente puede estar centrado en un eje longitudinal que se extiende a lo largo de la herida y puede estar centrado en la herida. Como otro ejemplo, el gradiente puede tener forma circular u ovalada para su aplicación en heridas de tipo abierto, quemaduras, llagas y úlceras que son aproximadamente circulares u ovaladas. En otras realizaciones, los gradientes comprenden una serie de características dispuestas en un patrón. Por ejemplo, los gradientes pueden formar una serie de franjas o concentraciones altas y bajas de uno o más agentes activos de la herida a lo largo de un eje longitudinal de la matriz. Alternativamente, los gradientes pueden formar un patrón de tablero de ajedrez, matriz, círculos concéntricos, círculos superpuestos u ovalados, etc.

F. Materiales de soporte

Las matrices se forman sobre un material de soporte. Los materiales de soporte adecuados incluyen, pero no se limitan a, soportes sólidos formados por materiales poliméricos, materiales elastoméricos como PDMS, nailon, Teflon®, Gortex®, seda, poliuretano y silicio, preferentemente silicio de calidad médica, PVDF, óxido de polietileno y materiales y polímeros solubles en agua tales como alcohol polivinílico. En algunas realizaciones, los polímeros utilizados para formar la multicapa polimérica son diferentes a los polímeros que forman el soporte. En algunas realizaciones, se dispone una capa adicional de material, como un material o polímero soluble en agua, entre la multicapa polimérica y el soporte. En algunas realizaciones, el soporte sólido es un apósito para heridas o un apósito biológico para heridas que es compatible con la funcionalización mediante la adición de un material matriz. Entre los ejemplos de apósitos para heridas disponibles en el mercado que pueden modificarse mediante la adición de una matriz, tal como se describe a continuación, incluyen, pero no se limitan a, Biobrane™, gasa, cinta adhesiva, vendas como Band-Aids® y otros apósitos para heridas disponibles comercialmente, incluyendo, pero sin limitarse a COMPEEL®, DUODERM™, TAGADERM™ y OPSITE®. En algunas realizaciones, el soporte es una oblea de silicio, superficies, tales como obleas de vidrio o de silicio, que están recubiertas con monocapas hidrófobas autoensambladas, tejidos, tales como tejidos de nailon, material absorbente, espuma, una película fina transparente, un hidrogel, fibras de hidro, hidrocoloides, fibras de alginato, gel de sílice, poliacrilato de sodio, poliacrilamidas de potasio y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, los soportes comprenden (por ejemplo, están recubiertos o muestran) una molécula biológica seleccionada del grupo que consiste en colágeno, ácido hialurónico, glicosaminoglicanos, queratina, fibronectina, vitronectina, laminina y combinaciones o fragmentos de los mismos.

Hay varios procedimientos diferentes que pueden utilizarse para depositar multicapas de polímeros sobre un soporte. En algunas realizaciones, las multicapas poliméricas se depositan sobre un soporte por adsorción desde la solución, aspersión o recubrimiento por rotación. Como se ha descrito anteriormente, las matrices son preferentemente multicapas de polímeros, por ejemplo, multicapas de polielectrolitos. En algunas realizaciones, las matrices comprenden preferentemente uno más agentes activos de la herida como se ha descrito anteriormente y/o o perlas a nanoescala o microescala como se ha descrito anteriormente. En algunas realizaciones preferidas, el agente activo de la herida es una o más de las nanopartículas de plata, plata elemental y compuestos que contienen plata, tales como sulfadiazina de plata y compuestos relacionados, preferentemente incluidos en los intervalos de concentración descritos anteriormente.

Las microláminas fabricadas por el procedimiento de la presente invención pueden aplicarse a todo tipo de heridas. Además, un agente modificador para heridas con uno o más agentes activos para heridas puede aplicarse a la piel, a las membranas mucosas, a las cavidades corporales y a las superficies internas de huesos, tejidos, etc. que han sido dañados. Un agente modificador de heridas con uno o más agentes activos para heridas puede utilizarse en heridas como cortes, abrasiones, úlceras, sitios de incisión quirúrgica, quemaduras y para tratar otros tipos de daños en los tejidos. Las microláminas fabricadas mediante el procedimiento de la presente invención descrito anteriormente mejoran la cicatrización.

Como se discute en el presente documento y se soporta en los ejemplos experimentales, las realizaciones de la tecnología proporcionan la modificación de los lechos de heridas utilizando micropelículas que comprenden las PEM cargadas con nanopartículas de plata y una capa soluble de PVA. Tras la disolución de PVA, el contacto conformado de las PEM con el lecho de la herida proporciona la administración localizada de plata en las heridas (véase, por ejemplo, la Figura 49). Los apósitos de plata convencionales descansan sobre la herida y tienen que liberar grandes concentraciones de iones de plata para difundirse a través del exudado de la herida y eliminar los microbios del lecho de la herida (véase, por ejemplo, la Figura 49A). La mayoría de los iones de plata liberados se inactivan en el exudado de herida. Por el contrario, los apósitos de plata de micropelícula se ajustan a los microcontornos de la herida, proporcionando un contacto íntimo de los iones de plata activos con el lecho de la herida, requiriendo hasta 100 veces menos plata que los apósitos convencionales para eliminar los microbios en el lecho de la herida (véase, por ejemplo, la Figura 49B). De este modo, los apósitos de micropelícula reducen la pérdida de iones de plata en el exudado de herida, reduciendo la citotoxicidad de la plata y la tinción de los tejidos.

Esta tecnología mejorada redujo la pérdida de plata en el exudado de herida y, por lo tanto, minimizó la necesidad de altas cargas de plata dentro de las nanopelículas (A. Agarwal, T. L. Weis, M. J. Schurr, N. G. Faith, C. J. Czuprynski, J. F. McNulty, C. J. Murphy, N. L. Abbott, *Biomaterials* 2010, 31, 680). Los experimentos realizados durante el desarrollo de las formas de la tecnología indican que las PEM liberan hasta 100 veces menos plata que los apósitos de plata convencionales (por ejemplo, los apósitos Acticoat® con plata nanocristalina liberan $\sim 100 \mu\text{g cm}^{-2}$ al día) (P. L. Taylor, a L. Ussher, R. E. Burrell, *Biomaterials* 2005, 26, 7221) redujeron eficazmente la colonización microbiana en heridas murinas contaminadas. Mientras que los apósitos de plata convencionales (incluyendo Acticoat®) inhiben significativamente la reepitelización de las heridas por escisión en ratones, (A. Burd, C. H. Kwok, S. C. Hung, H. S. Chan, H. Gu, W. K. Lam, L. Huang, *Wound Repair. Regen.* 2007, 15, 94) de la tecnología descrita en el presente documento que comprende plata no inhibió la reepitelización de la herida en un modelo de herida murino similar y no causó una inflamación excesiva. En consecuencia, las micropelículas de las PEM/PVA encuentran su uso, por ejemplo, como aplicación proactiva sobre heridas quirúrgicas limpias para prevenir infecciones microbianas. Por el contrario, no se recomienda el uso de apósitos de plata convencionales hasta que se establezca una "colonización crítica" (M. H. Hermans, *Am. J. Nurs.* 2006, 106, 69).

Las construcciones de micropelícula PEM/PVA utilizadas en el presente documento para la gestión microbiana de las heridas poseen una serie de atributos mejorados y/o novedosos que son útiles en contextos clínicos. (1) Las construcciones de micropelículas son mecánicamente fuertes y translúcidas, lo que permite a los médicos manipular las películas y ver a través de ellas, facilitando así su colocación en el lecho de herida. En cambio, las vendas de plata convencionales son opacas y suelen quitarse para examinar las heridas. En consecuencia, las realizaciones de las micropelículas PEM/PVA descritas en el presente documento reducen el dolor del paciente, el tiempo de enfermería y los costes asociados a los cambios de apósitos. (2) Como se ha descrito anteriormente, los apósitos de plata convencionales están diseñados para liberar grandes concentraciones de plata con el fin de reponer los iones de plata perdidos por las proteínas del líquido de la herida (M. Trop, M. Novak, S. Rodl, B. Hellbom, W. Kroell, W. Goessler, J. Trauma 2006, 60, 648; E. K. Mooney, C. Lippitt, J. Friedman, Plast. Reconstr. Surg. 2006, 117, 666). Esto da lugar a una acumulación excesiva de agregados de plata en el epitelio, lo que provoca la tinción del tejido e irritación (B. S. Atiyeh, M. Costagliola, S. N. Hayek, S. A. Dibo, Burns 2007, 33, 139), y perjudicando la reepitelización (A. Burd, C. H. Kwok, S. C. Hung, H. S. Chan, H. Gu, W. K. Lam, L. Huang, Wound Repair. Regen. 2007, 15, 94). Por el contrario, las bajas tasas de liberación de plata de las realizaciones de las nanopelículas de polímero descritas en el presente documento reducen significativamente la acumulación de plata en la herida, reduciendo el potencial de tinción e irritación de los tejidos. (3) Como se ha demostrado anteriormente, las PEM pueden impregnarse con una serie de agentes bioactivos o antimicrobianos (T. Boudou, T. Crouzier, K. Ren, G. Blin, C. Picart, Adv. Mater. 2010, 22, 441 J. a. Lichter, K. J. Van Vliet, M. F. Rubner, Macromolecules 2009, 42, 8573). Las realizaciones de la tecnología proporcionada en el presente documento son prácticas para su uso en un entorno clínico sin pérdida de eficacia del componente de nanopelícula de la construcción. En consecuencia, el enfoque es generalizable, proporcionando así realizaciones aplicables a una variedad heterogénea de heridas y, en algunas realizaciones, a la liberación simultánea de múltiples agentes bioactivos en los lechos de las heridas para soportar diferentes fases de la curación de las mismas. La tecnología contempla la modificación de los lechos de las heridas con las PEM que comprenden múltiples agentes bioactivos.

La tecnología proporciona mejoras significativas sobre las tecnologías convencionales en varios aspectos. Por ejemplo, algunas tecnologías convencionales utilizan capas poliméricas de sacrificio para la transferencia de nanopelículas poliméricas a las heridas (R. Vendamme, S.-Y. Onoue, A. Nakao, T. Kunitake, Nat. Mater. 2006, 5, 494 W. Cheng, M. J. Campolongo, S. J. Tan, D. Luo, Nano Today 2009, 4, 482). En particular, algunas tecnologías convencionales utilizan las PEM compuestas por quitosano y alginato de sodio, y la transferencia de las PEM a las heridas. En algunos enfoques convencionales, se incluye un antibiótico para gestionar la carga microbiana. En particular, las tecnologías convencionales utilizan un procedimiento de fabricación que comprende (i) la formación de una PEM sobre un sustrato y el recubrimiento de la PEM con una película de PVA; (ii) retirada mecánica de la PEM/PVA, inversión de la construcción y fijación de sustitución de las construcciones de PEM/PVA en un sustrato con la superficie de la PEM expuesta, (iii) deposición de antibiótico (tetraciclina, TC) de acetona en la superficie de la PEM y encapsulación de la capa depositada de acetona por una capa de polivinilacetato hidrofóbico. La liberación de TC del constructo se produjo a lo largo de 6 horas de una manera que dependía del espesor de la capa de polivinilacetato (se informó de que las capas de polivinilacetato de más de 200 nm se desprendían durante los experimentos).

Por el contrario, las realizaciones de la tecnología proporcionada en el presente documento proporcionan un procedimiento de fabricación para preparar las PEM capaces de entregar agentes bioactivos que es novedoso y proporciona una mejora significativa sobre las tecnologías convencionales (T. Fujie, A. Saito, M. Kinoshita, H. Miyazaki, S. Ohtsubo, D. Saitoh, S. Takeoka, Biomaterials 2010, 31, 6269; A. Saito, H. Miyazaki, T. Fujie, S. Ohtsubo, M. Kinoshita, D. Saitoh, S. Takeoka, Acta Biomater. 2012, 8, 2932). Específicamente, las realizaciones del procedimiento ocurren en una sola superficie, y no requieren el retiro mecánico y el reemplazo de la construcción durante la fabricación. Además, las realizaciones de la tecnología proporcionan la liberación controlada de agentes bioactivos durante 30 días, un periodo de tiempo que abarca el tiempo típico implicado en la cicatrización. En algunas realizaciones, se proporcionan ventajas en el uso de agentes antimicrobianos de amplio espectro (por ejemplo, la plata) para la gestión rutinaria de la carga microbiana en lugar de antibióticos tales como TC debido a la creciente preocupación de las bacterias resistentes a los antibióticos específicos. En algunas realizaciones, las PEM cargadas de plata proporcionadas en el presente documento son más eficaces en la reducción de la colonización bacteriana tanto *in vitro* (reducción bacteriana de 5,8 y 2,7 log₁₀ CFU para la plata y TC, respectivamente) como *in vivo* (reducción bacteriana de 2,4 y 1 log₁₀ CFU para la plata y el TC, respectivamente) en comparación con las PEM convencionales.

Los experimentos llevados a cabo durante el desarrollo de las realizaciones de la tecnología descrita en el presente documento indicaron la eficacia de las nanopelículas de plata antimicrobianas en heridas contaminadas con el apósito Biobrane®. En los experimentos, se utilizó Biobrane como un ejemplo de apósito biosintético con una alta incidencia de tasas de infección de heridas en pacientes (K. Nichols, Z. Moaveni, A. Alkadhi, W. Mcewan, ANZ J. Surg. 2009, 79, A7). Dado que Biobrane es un ejemplo de apósito primario con altas tasas de infección, los datos recogidos indican que el tratamiento de heridas con nanopelículas de plata es ampliamente útil para el manejo de la carga microbiana en combinación con una serie de apósitos húmedos para heridas, tales como películas de silicona, andamios de colágeno, láminas de hidrogel, hidrofibras e hidrocoloides. La tecnología contempla el uso de nanopelículas de plata en combinación con estos apósitos para heridas primarios para reducir la carga microbiana en heridas contaminadas para proporcionar, por ejemplo, una reducción de la colonización microbiana en heridas contaminadas para acelerar el cierre de la herida en comparación con heridas no modificadas.

EXPERIMENTAL

Los ejemplos siguientes sirven para ilustrar mejor la invención.

5 **Ejemplo 13 de Referencia. Películas poliméricas impregnadas de plata de grosor nanométrico que muestran una toxicidad selectiva hacia el crecimiento bacteriano y que soportan el crecimiento de células de mamíferos.**

Las multicapas de polielectrolitos ensambladas electrostáticamente de forma alternativa a partir de dichos poliácidos débiles como poli (clorhidrato de alilamina) (PAH) y poli (ácido acrílico) (PAA) se ajustaron para impregnarlas después del ensamblaje con nanopartículas de plata a niveles en los que matan las bacterias de forma efectiva y, sin embargo, permiten la adhesión de células de mamíferos en las películas sin citotoxicidad medible. Los iones de plata (Ag^+) se incorporaron a las películas incubándolas con una solución a granel de una sal de plata (por ejemplo, nitrato de plata). Si bien la presente invención no se limita a ningún mecanismo en particular, y no es necesario comprender el mecanismo para poner en práctica la presente invención, se contempla que los iones Ag^+ se unan a los grupos de ácido carboxílico libres de la PAA en las películas por intercambio iónico con los protones ácidos. Después de la unión, la Ag^+ en las películas se redujo a nanopartículas de Ag cerivalentes utilizando una solución acuosa de un agente reductor. Modificando el pH de las soluciones de ensamblaje de los polielectrolitos, se controló eficazmente el número de grupos de ácido carboxílico no ionizados (y, por lo tanto, la cantidad de plata incorporada) en las PEM tras el ensamblaje. Estas películas de nanómetros de espesor impregnadas en plata se investigaron luego para determinar sus interacciones con las células NIH-3T3, una línea celular de fibroblastos murinos altamente adhesivos, y con *Staphylococcus epidermidis*, una bacteria grampositiva que se encuentra frecuentemente en la piel y en las membranas mucosas.

La carga de plata en las PEM podía variar de $-24,2 \mu g/cm^2$ a $04 \mu g/cm^2$. La citotoxicidad para las células NIH-3T3 sembradas en estas películas se correlacionó con la concentración de plata soluble en las PEM, con una toxicidad aumentada a mayores concentraciones de plata, como se muestra en la Figura 8. Las PEM preparadas con PAA relativamente más ionizada atraparon menores cantidades de plata y demostraron una menor citotoxicidad. Además, su arquitectura fuertemente entrecruzada iónicamente permitía una mejor fijación y propagación de los fibroblastos que las PEM preparadas con PAA débilmente ionizada, como se muestra en la Figura 10. La eficacia de las PEM para matar bacterias está correlacionada con la cantidad de plata atrapada en las películas (Figura 9), y las PEM que contienen tan sólo $-0,4 \mu g/cm^2$ de plata proporcionan hasta 99,9999 % de eliminación en un ensayo con agua. Además, las PEM con esta carga de plata no mostraron citotoxicidad medible para las células NIH-3T3.

35 **Ejemplo 14 de Referencia. Transferir a una superficie blanda con perlas a microescala.**

La introducción de microesferas rígidas en las multicapas de polímeros facilita su transferencia a la capa de la dermis de un injerto de piel humana disponible en el mercado: GammaGraft®. Se estamparon en injertos de piel una multicapa de PAH(PAA/PAH)₁₀, con PAH fluorescente y una multicapa de PAH(PAA/PAH)₅(microesferas de PS)(PAH/PAA)₅, con microesferas de PS fluorescentes. Se accedió a la porción de las multicapas que se adhirieron a los injertos mediante microscopía de fluorescencia y obtención de imágenes. Los resultados (Figura 12) mostraron que las multicapas de polímero con perlas a microescala mostraron una transferencia mucho mejor al injerto de piel que la multicapa polimérica sin perlas a microescala.

45 **Ejemplo 15. Síntesis y uso de matrices poliméricas a nanoescala con una capa polimérica de sacrificio adjunta (microlámina).**

Como se ilustra en la Figura 13, las matrices poliméricas se ensamblan como nanopelículas de polímero multicapa sobre láminas de polidimetilsiloxano (PDMS); tras el ensamblaje, se funde una capa polimérica de sacrificio de polivinilalcohol (PVA) soluble en agua sobre las nanopelículas; las microláminas se desprenden de las láminas de PDMS; el fundido de sacrificio de las microláminas se disuelve rápidamente en gotas de agua cuando se coloca sobre una superficie del dispositivo; la nanopelícula de polímero se inmoviliza en la superficie del dispositivo. Las nanopelículas de polímero sintetizadas de esta manera y cargadas con nanopartículas de plata o clorhexidina se probaron *in vitro* y en un modelo de curación de heridas *in vivo*.

55 **Materiales y procedimientos**

Síntesis de las PEM con Nanopartículas de Plata:

Las multicapas de polielectrolitos (PEM) de los polielectrolitos de carga opuesta poli(clorhidrato de alilamina) (PAH) (MW 70 kDa; Sigma Aldrich St. Louis, MO) y poli(ácido acrílico) (PAA) (MW 60 kDa; Polysciences, Warrington, PA) se ensamblaron sobre láminas de poli(dimetilsiloxano) (PDMS) elastomérico (Dow Chemical, Midland, MI), o sobre obleas de silicio limpiadas con plasma, mediante deposición "capa a capa", como se describe detalladamente en otro lugar. Brevemente, se ensamblaron las PEM con el número deseado de multicapas sobre láminas de PDMS utilizando un Robot StratoSequence (nanoStrata Inc, Tallahassee, FL), mediante incubación secuencial en soluciones (0,01 M por unidad de repetición) de PAA (entre pH 2,5 y pH 7,5) y PAH (pH 7,5) durante 10 minutos cada una. La formación de

las PEM sobre el PDMS se inició con la adsorción de PAH. Las láminas de PDMS se enjuagaron con agua desionizada 3 veces durante 1 minuto cada una después de la inmersión en cada solución de polielectrolito. Tras el ensamblaje, las PEM se secaron al vacío a 60 °C durante 1 hora. El número de bicapas (n) fabricadas se indica como (PAH/PAA)_n. Las PEM marcadas con fluorescencia se ensamblaron utilizando PAH marcado con fluoresceína-5-isotiocianato (FITC) (Ext/Em-492/518). Las PEM tenían un espesor nanométrico (10-200 nm). Su arquitectura porosa y supramolecular permite impregnarlas con una serie de agentes bioactivos después del ensamblaje o durante el mismo.

La síntesis de las nanopartículas de plata dentro de las PEM se inició mediante la incubación de las PEM preensambladas sobre PDMS en una solución acuosa de AgNO₃ (10mM) durante 1 hora, seguida de un enjuague con agua. Los iones de plata (Ag⁺) se difunden en las PEM y se intercambian con los protones carboxílicos de la PAA. Los iones de plata unidos a carboxilatos (Ag⁺) dentro de las PEM se redujeron posteriormente para formar nanopartículas de Ag(0) incubando las PEM en una solución acuosa de NaBH₄ (2 mM) (pH 7,0) durante 10 minutos y enjuagando de nuevo con agua. Además de formar las AgNPs, esta condición reductora regenera los grupos de ácido carboxílico dentro de las PEM. Por lo tanto, se podría cargar Ag⁺ adicional en las PEM. Este procedimiento de intercambio y reducción de iones de plata en las PEM se repitió para obtener PEM con la carga de plata deseada. La carga de plata en las PEM se determinó extrayendo los iones de plata de las PEM en ácido nítrico al 2 % durante 24 horas. La concentración de Ag⁺ extraída de las PEM se midió mediante análisis elemental utilizando un espectrómetro de emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP) (Perkin Elmer Optima 3000 DV) a la longitud de onda de 328,068 nm.

En algunas PEM, se impregnaron micropartículas o nanopartículas durante la fabricación. Las microesferas de poliestireno (PS) modificadas con carboxilato, cargadas negativamente y fluorescentes carmesí (Ext/Em- 625/645 nm), de 2 µm de diámetro (cat# F8816, Invitrogen, Carlsbad, CA), se incorporaron a las PEM como se describe en otra parte. Brevemente, las multicapas de PAH(PAA/PAH)₁₀ depositadas sobre láminas de PDMS y que terminan en una capa de PAH cargada positivamente se incubaron con una suspensión de microesferas al 1 % en peso durante 2 horas, y luego se lavaron 3 veces con agua. Posteriormente, se depositó otro conjunto de multicapas de (PAH/PSS)₂ sobre las microesferas (PSS= poli(estirenosulfonato), MW 70 kDa, Sigma). A continuación, se depositó una capa de nanopartículas de plata recubiertas de poli(vinilpirrolidona) (PVP) de 20 nm de diámetro con carga positiva (NanoAmor Inc, Houston, TX)²²⁻²⁴. Brevemente, se sonicó una suspensión de 0,2 % en peso de nanopartículas en una solución acuosa, ajustada a pH 2,0 mediante ácido nítrico diluido, y se agitó en vórtex durante 30 minutos varias veces para conseguir una suspensión homogénea. A continuación, la suspensión se incubó sobre las PEM terminadas con PSS cargado negativamente durante 2 minutos, y luego se enjuagó con agua 3 veces. Para aumentar la carga de plata en las PEM, se depositó otra multicapa de PSS(PAH/PSS)₂ sobre la primera capa de nanopartículas de plata, seguida de la deposición de la segunda capa de nanopartículas de plata. Por último, las PEM se cubrieron con un conjunto de multicapas de (PAA/PAA)₂.

La estructura final de las PEM se denominó PAH(PAA/PAH)₁₀(microesferas de PS) (PAH/PSS)₂(Ag-NP)PSS(PAH/PSS)₂(Ag-NP)(PAA/PAH)₂.

40 Síntesis de PEM con Clorhexidina:

PAA (MW 60 kDa) se obtuvo de Polysciences (Warrington, PA). PAH (MW 70 kDa), diacetato de clorhexidina (CX) (MW 625 Da) y todos los demás reactivos se obtuvieron de Sigma Aldrich (St. Louis, MO). Las PEM con el número deseado de multicapas se ensamblaron en láminas de poli(dimetilsiloxano) (PDMS), o en obleas de silicio limpiadas con plasma, utilizando un robot StratoSequence (nanoStrata Inc, Tallahassee, FL), mediante la incubación secuencial en soluciones de PAA y PAH (0,01 M por unidad de repetición) y/o diacetato de clorhexidina (0,1 mM) durante 10 minutos cada una. Las soluciones de polielectrolitos se ajustaron al pH deseado utilizando HCL 1 M o NaOH 1 M; por ejemplo, PAH (ajustado a pH 7,5), PAA (ajustado a pH 5,5) y CX (pH de -8,0). La formación de las PEM sobre el PDMS se inició con la adsorción de PAH. Los sellos se enjuagaron con agua desionizada 3 veces durante 1 minuto cada una después de la inmersión en cada solución de polielectrolito. Tras el ensamblaje, las PEM se secaron al vacío a 60 °C durante 1 hora.

Las PEM con CX se ensamblaron en diferentes arquitecturas, incluyendo la arquitectura (PAH/PAA)₅(CX/PAA)_n con deposiciones sucesivas de CX y PAA, y una estructura de "tetracapa" de (PAH/PAA/CX/PAA)_n con incorporación de moléculas de clorhexidina catiónica entre bicapas alternas de PAH y PAA.

Se utilizó PAH marcado con fluoresceína-5-isotiocianato (FITC) (Ext/Em- 488/510) (cat# F1906, Invitrogen, Carlsbad, CA) para preparar películas fluorescentes. Se utilizaron microesferas de poliestireno (PS) modificadas con carboxilato, fluorescentes carmesí (Ext/Em- 625/645), de 2 µm de diámetro (cat# F8816, Invitrogen), o microesferas de látex carboxiladas no fluorescentes, de 2 µm de diámetro (cat# C37274, Invitrogen) para preparar las PEM que contenían microesferas. Las microesferas se lavaron tres veces con agua desionizada en tubos Eppendorf centrifugando durante 5 minutos a 9.000 g, y se volvieron a suspender en agua desionizada fresca mediante sonicación y vortex antes de su uso. Para depositar una monocapa de microesferas en las PEM, se incubaron multicapas de PAH/PAA que terminaban en una capa de PAH catiónico con una suspensión de microesferas cargadas negativamente durante 2 horas, y luego

se lavaron 3 veces con agua. Posteriormente, se ensamblaron capas adicionales de polielectrolitos sobre las microesferas.

5 Para determinar el perfil de liberación de clorhexidina en solución a partir de las PEM, se tallaron sustratos que contenían PEM en trozos de 2 cm de diámetro y se incubaron con 2 ml de tampón PBS (pH 7,4) en una placa de poliestireno de 12 pocillos (sin tratamiento de cultivo de tejidos). En puntos de tiempo definidos, se recogió toda la solución de los pocillos de la placa y se sustituyó por tampón fresco. Las muestras se almacenaron a 4 °C hasta su caracterización. Los datos brutos en µg/ml de la concentración de clorhexidina en la solución eludida se multiplicaron por el volumen total de elución y se normalizaron por el área de superficie del sustrato para ser informados como fármaco liberado por unidad de superficie (µg/cm²). La concentración de clorhexidina en las soluciones acuosas se cuantificó midiendo su absorbancia UV a 255 nm de longitud de onda en un espectrofotómetro UV-Vis (Beckman Coulter, Fullerton, CA). Se prepararon curvas de calibración estándar frescas de las concentraciones de CX en solución para cada experimento, utilizando 0,1 µg/ml de CX como concentración estándar mínima.

15 **Microlámina con PEM y una capa polimérica de sacrificio**

Para fabricar una microlámina con PEM, se depositó sobre las PEM una película de sacrificio soluble en agua de polímero no tóxico- alcohol polivinílico (PVA) (Mw= 22 kDa). Brevemente, una solución de PVA (2,5 % en peso - 25 % en peso) fue recubierta por centrifugación (2.000 rpm; aceleración=27) durante 10 seg. La microlámina de las PEM/PVA se secó en el horno durante 5-10 minutos a 70 °C. Después de la cocción, la microlámina de PVA/PEM, con la película de PEM y PVA, se desprendió de las láminas de PDMS de soporte utilizando unas pinzas. Las microláminas independientes eran mecánicamente robustas y podían manipularse y colocarse sobre un dispositivo secundario o una superficie de tejido. El fundido hidrosoluble se disuelve rápidamente en una solución acuosa, o en la humedad de la superficie de un dispositivo, o en el tejido húmedo de la herida, dejando las nanopelículas de polímero flotando en una solución o adheridas a la superficie del dispositivo/tejido.

Ensayo antibacteriano *in vitro*

30 La cepa de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 25923 se obtuvo de The American Type Culture Collection (Manassas, VA). Las bacterias se cultivaron en caldo de soja triptica con extracto de levadura (BD, Franklin Lakes, NJ) durante una noche a 37 °C con agitación (200 rpm) hasta alcanzar una densidad celular de aproximadamente 4×10⁹ CFU/ml, de acuerdo con la densidad óptica (600 nm) medida en un espectrómetro UV-vis (Beckman Coulter, Fullerton, CA). Las suspensiones bacterianas se centrifugaron a 2.700 rpm durante 10 minutos y la pella se lavó y resuspendió en PBS. En los ensayos antibacterianos, los sustratos de prueba se colocaron en los pocillos de placas de 96 pocillos y se incubaron con 100 µl de HBSS (solución salina tamponada de Hank) (pH 7,4) que contenían 10⁷ CFU de *S. aureus*. Las placas se incubaron con agitación (200 rpm) a 37 °C durante 24 horas. Tras la incubación, se recogió el líquido de cada pocillo, se enjuagaron los pocillos dos veces con 200 µl de PBS helado y se juntaron el fluido y los lavados de cada pocillo y se llevaron a 1 ml en PBS. Se extendieron diluciones seriadas de las soluciones en PBS en placas de agar sangre de soja triptica (#221261, BD, Franklin Lakes, NJ) y se incubaron a 37 °C. Se contaron las colonias bacterianas viables en las placas de agar después de 24 horas de incubación. Todos los ensayos se llevaron a cabo en al menos tres días diferentes, con 3-6 réplicas de cada muestra de ensayo en cada experimento.

Cicatrización de heridas por escisión en ratones:

45 Todos los protocolos experimentales fueron aprobados por el Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) de la University of Wisconsin-Madison. Se utilizaron ratones macho fenotípicamente normales (heterocigotos para *Leprd*, Jackson Laboratories, Inc.) de entre 8 y 12 semanas de edad. Los ratones fueron alojados en grupos durante un periodo de aclimatación de una semana antes del estudio y alojados individualmente después. Durante todo el periodo de estudio, los ratones se mantuvieron en una instalación con temperatura controlada y un ciclo estándar de luz y oscuridad. A todos los ratones se les proporcionó enriquecimiento ambiental y comida y agua *ad libitum*. Los ratones fueron asignados aleatoriamente a los grupos de control o experimental el día de la cirugía. Para las heridas, los ratones fueron anestesiados con isoflurano inhalado, administrado mediante una cámara de inducción. Los ratones fueron inyectados por vía subcutánea con buprenorfina (0,1 mg/kg) para controlar el dolor y la región toracodorsal craneal fue rasurada y preparada asépticamente para la cirugía. Las heridas se entablillaron para evitar la contracción de la herida y promover el cierre de la misma por epitelización. Se aplicaron juntas tóricas de silicona (McMaster-Carr®, con un diámetro interior de 11 mm y un diámetro exterior de 15 mm) en la piel, a 4 mm de la base de las orejas, a cada lado de la línea media dorsal, y se fijaron con pegamento tisular (Tissuend II) y seis suturas de nailon interrumpidas de 5-0. Las heridas se centraron en la piel circunscrita por la junta tórica. Se utilizó un punzón de biopsia de 6 mm para crear dos heridas simétricas. A continuación, se cubrió cada herida con un disco de 8 mm de apósito de prueba (por ejemplo, Biobrane™) que había sido esterilizado con luz UV durante 30 minutos. Se colocó un acolchado estéril no adherente en la parte superior de la Biobrane, y toda la construcción se cubrió con Tegaderm™, asegurada con pegamento de tejido. Los ratones se recuperaron de la anestesia en una almohadilla de calentamiento. Se fotografiaron las heridas con una cámara digital y se registraron los pesos corporales de los ratones en el día postoperatorio 1, y cada 2-3 días a partir de entonces hasta el final del estudio. Al finalizar el estudio, los ratones fueron

sacrificados mediante una inyección intraperitoneal de una solución de Beuthanasia®-D (Schering-Plough) (0,5 ml/ratón) tras la inducción de la anestesia.

5 Durante la duración de los estudios, los entablillados y las suturas fueron monitorizados diariamente. Cualquier pérdida de contacto entre la férula y la piel se reparó con pegamento. Las suturas rotas o perdidas se sustituyeron bajo anestesia como se ha descrito anteriormente, y se administró una dosis de buprenorfina por vía subcutánea (0,1 mg/kg) para controlar el dolor. Las heridas se eliminaron del análisis si se rompían o faltaban dos o más suturas en un periodo de 24 horas. Se trazaron digitalmente las heridas en las fotografías y se calculó el área con el software NIH ImageJ. El cierre de la herida se calculó en cada momento como el porcentaje del área original de la herida.

10 Para los estudios de carga microbiana, se aplicó tópicamente a la herida una suspensión bacteriana de 10^6 CFU de *S. aureus* en 10 μ l de PBS y se dejó absorber durante 15 minutos antes de aplicar un apósito para heridas (por ejemplo, Biobrane). Al final del estudio, se practicó la eutanasia a todos los ratones y se extirparon asépticamente las heridas con la biobrane adherida con un punzón de biopsia de 6 mm. Las heridas y la biobrane se homogeneizaron durante 15 minutos en 1 ml de PBS. Los homogeneizados se diluyeron en serie en PBS y se sembraron en agar sangre. La cuantificación bacteriana se realizó para cada herida y se informó como CFU por cm^2 de la superficie de la herida. Si una herida no presentaba colonias bacterianas, se le asignaba un valor de 1,0 UFC por cm^2 a efectos del análisis estadístico. Se promediaron los recuentos bacterianos de las dos heridas de cada ratón y se utilizaron para el análisis estadístico en cada grupo experimental. El análisis estadístico se realizó con el software SigmaPlot® (Systat Software, Inc.). Todos los datos con distribución normal se analizaron mediante la prueba t de Student. Todos los datos con distribución no normal se analizaron mediante la prueba U de Mann-Whitney. La significancia se fijó en $p < 0,05$.

Resultados

25 La síntesis de nanopelículas poliméricas en forma de microláminas con una capa de soporte sacrificada fue eficiente y produjo nanoláminas con una excelente bioactividad. En la Figura 15 se muestran imágenes de microláminas compuestas por un fundido hidrosoluble de sacrificio de PVA y una nanopelícula hecha con las PEM que contiene nanopartículas de plata. El panel A ofrece una imagen de una microlámina (1" x 1") colocada en un plato de cristal. El panel B proporciona una imagen de una matriz de nanopelícula de polímero (1" x 1") flotando en una superficie de agua tras la disolución del fundido de sacrificio de la microlámina en solución.

30 La liberación sostenida de agentes bioactivos desde las nanopelículas de polímero se ensayó *in vitro*. La Figura 18 demuestra la liberación sostenida de iones de plata en PBS a partir de nanopelículas poliméricas ensambladas como las PEM de PAH y PAA que contienen $11 \pm 2,1$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de nanopartículas de plata. La Figura 19 demuestra la liberación sostenida de clorhexidina (CX) en PBS a partir de nanopelículas poliméricas fabricados como las PEM que contienen moléculas de acetato de clorhexidina.

35 El uso de las nanopelículas de polímero bioactivo se evaluó *in vivo* en un modelo de herida de ratón. En la Figura 20 se muestran imágenes de la aplicación de una microlámina como apósito para heridas con micropelícula de plata en heridas por escisión en ratones. (A) Una herida entablillada de 6 mm de diámetro en el flanco de un ratón. (B) Cobertura de la herida con un apósito para heridas con micropelícula impregnada de plata. El fundido de sacrificio se disolvió en la herida húmeda para inmovilizar la matriz polimérica de plata-nanopelícula en la superficie de la herida. La Figura 21 proporciona datos que muestran la reducción de la colonización bacteriana de las heridas por escisión en ratones en el día 3 del postoperatorio mediante una microlámina utilizada como apósito para heridas con micropelícula de plata que contiene nanopartículas de plata. Todas las heridas se inocularon con *S. aureus* el día 0 y se cubrieron con el apósito bicapa Integra™ para heridas, o se cubrieron con el apósito de plata para heridas (micropelícula) junto con el apósito Integra™. Las nanopelículas de polímero bioactivo aceleraron el cierre de la herida *in vivo*.

40 La Figura 22 proporciona datos que demuestran que el apósito para heridas con micropelícula de plata (microlámina) previene la infección y acelera el cierre de heridas contaminadas en ratones. Las heridas se inocularon con *S. aureus* y se cubrieron con un apósito biosintético (Biobrane™) en un grupo (véase la Figura 22A) o se cubrieron con un apósito para heridas con micropelícula de plata (microlámina) antes de colocar Biobrane™ en las heridas (véase la Figura 22B). La Figura 22A y la Figura 22B muestran imágenes representativas de las heridas en el grupo A y del grupo B en el día 9 postoperatorio. En la Figura 22C, el gráfico muestra el área (promedio \pm SEM) de las heridas (como porcentaje del tamaño original de la herida) en el día 9 postoperatorio en las heridas de los ratones que se trataron sólo con el apósito de Biobrane o con el apósito de micropelícula de plata y Biobrane ($n = 10$ ratones/grupo; $p < 0,05$). En la Figura 22D, el gráfico muestra la carga microbiana (promedio \pm SEM) de *S. aureus* en las biopsias de las heridas recogidas el día 9 después de la cirugía en los dos grupos de ratones. La colonización microbiana de las heridas fue significativamente menor en el grupo tratado con el apósito de micropelícula de plata ($n=10$ ratones/grupo; $p<0,05$; prueba U de Mann-Whitney). En la Figura 22E, el gráfico muestra el porcentaje de cierre de la herida (promedio \pm SEM) (como porcentaje del tamaño original de la herida) el día 9 postoperatorio. En resumen, estos datos indicaron que el cierre de la herida fue significativamente mejor (por ejemplo, más rápido) y la infección significativamente menor en el grupo tratado con el apósito de micropelícula de plata ($n=10$ ratones/grupo; $p<0,05$; prueba U de Mann-Whitney).

65 También se evaluó el uso de las microláminas para modificar superficies médicas en dispositivos médicos, como se

ilustra en la Figura 23. La Figura 24 muestra la inmovilización de nanopelículas de polímero mediante una microlámina en la superficie de la matriz de colágeno húmeda del apósito para heridas bicapa Integra™. (A) Micrografía de la superficie de la matriz de colágeno del apósito para heridas Integra™. (B) Micrografía de la nanopelícula de polímero fluorescente inmovilizada en la matriz de colágeno del apósito para heridas Integra™ tras la disolución del fundido de sacrificio de una microlámina. Barra de escala= 200 μm . La Figura 25 muestra la inmovilización de una nanopelícula de polímero que contiene microesferas mediante una microlámina sobre la matriz de colágeno húmeda del apósito para heridas Integra™. (A) Micrografía de una microlámina con una nanopelícula de polímero que contiene microesferas fluorescentes de 2 μm de tamaño, ensamblada en una lámina elastomérica. (B) Micrografía de la nanopelícula de polímero (con microesferas fluorescentes) inmovilizada en la matriz de colágeno húmeda del apósito Integra tras la disolución del fundido de sacrificio de la microlámina. Barra de escala= 20 μm .

La modificación de los dispositivos médicos, tal como los apósitos para heridas, con las capas de polímero bioactivo a nanoescala proporciona una reducción de la colonización bacteriana tras el uso del dispositivo modificado. La Figura 26 muestra la reducción de la colonización bacteriana en las soluciones incubadas en la superficie del apósito para heridas Integra™ Bilayer modificado por nanopelículas de plata (AgNP) utilizando microláminas con fundidos de sacrificio solubles en agua de PVA. Las soluciones sobre los apósitos de prueba se inocularon repetidamente con 10^7 CFU/ml de *S. aureus* cada 24 h. De forma similar, la Figura 26 muestra la reducción de la colonización bacteriana de las heridas por escisión en ratones en el día 3 del postoperatorio mediante el apósito para heridas Integra™ Bilayer en el que la superficie de la matriz de colágeno se modificó con microláminas de plata que contenían nanopartículas de plata (AgNP). Todas las heridas se inocularon con *S. aureus* el día 0 y se cubrieron con el apósito para heridas Integra™ o con la superficie del apósito Integra™ modificada con microláminas de plata.

Ejemplo 16 de Referencia. Fabricación de una matriz polimérica a nanoescala mediante recubrimiento por aspersión.

En algunos ejemplos, las PEM de PAA y PAH se ensamblaron en láminas de PDMS, sustratos de vidrio y obleas de silicio, mediante el recubrimiento por aspersión de polielectrolitos utilizando un robot de aspersión multibrazo. Se empleó un sistema de recubrimiento automatizado SPALAS™ (Spray Assisted Layer-by-layer Assembly).

Las soluciones de polielectrolito, el agua de enjuague y el aire se suministraron a través de cuatro boquillas de aspersión diferentes sobre el sustrato. Con este procedimiento se recubrieron sustratos de hasta 6" x 10" con las PEM. La fabricación de las PEM sobre una lámina de PDMS se inició asperjando primero PAH. A continuación, se asperjó una solución de polielectrolito cargada negativamente (PAA) y una solución de polielectrolito cargada positivamente (PAH) en ciclos alternativos con ciclos intermitentes de enjuague y secado con agua. En un ejemplo se fabricaron las PEM con bicapas de (PAH/PAA)₂₀. A continuación, se impregnaron las PEM con iones de plata; que posteriormente se redujeron a nanopartículas de plata *in situ*. La carga de plata en las PEM se caracterizó mediante espectroscopia de emisión de plasma acoplado inductivamente (ICPES) y osciló entre 1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ y 21 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. El espesor de las nanopelículas de (PAH/PAA)₂₀, fabricadas mediante recubrimiento por aspersión sobre obleas de silicio y caracterizadas mediante elipsometría, estaba en el intervalo de 100-200 nm.

Ejemplo 17. Resistencia mecánica de las microláminas.

La Figura 27 proporciona una curva de tensión-deformación que muestra la resistencia mecánica de una microlámina de plata a 25°C en una prueba de barrido de deformación dinámica a una frecuencia de 0,1 Hz, medida con una herramienta de película y fibra en un analizador mecánico dinámico (DMA). El módulo de almacenamiento elástico de Young (E') era de $\sim 10^9$ Pa y el módulo de pérdida elástica (E'') era de $\sim 10^8$ Pa. La microlámina estaba formada por un fundido de PVA sobre nanopelículas (PEM) de (PAH/PAA)₂₀ impregnados con nanopartículas de plata. Para esta prueba de tracción se utilizaron tiras rectangulares de microláminas de 3 mm de ancho. La microlámina se sujetó en la pinza de tensión de forma que se obtuvieran 10 mm de longitud de la muestra.

Ejemplo 18. Las nanopelículas multicapa poliméricas con nanopartículas de plata reducen la carga microbiana en heridas contaminadas

A. Resumen

Durante el desarrollo de determinadas realizaciones de la tecnología proporcionada en el presente documento, se recopilaron datos que indicaban que las nanopelículas poliméricas multicapa que comprenden agentes antimicrobianos, cuando se inmovilizan en el lecho de herida mediante el uso de una construcción de entrega de micropelícula de material compuesto independiente, proporcionan un contacto sostenido e íntimo de los antimicrobianos con el lecho de herida. Este enfoque proporcionó una actividad terapéutica con cargas antimicrobianas significativamente menores que en los apósitos convencionales (reduciendo así el potencial de toxicidad de tejido y los costes del tratamiento). En concreto, se ensamblaron multicapas de polielectrolitos (PEM) de espesor nanométrico mediante la deposición secuencial de poli(clorhidrato de alilamina) y poli(ácido acrílico) por inmersión en láminas de polidimetilsiloxano (PDMS). Tras la fabricación, las nanopelículas se impregnaron con iones de plata que posteriormente se redujeron *in situ* a nanopartículas de plata. En algunas realizaciones, un fundido soluble de

poli(alcohol vinílico) PVA fue recubierto por rotación sobre la PEM para crear un compuesto de PEM/PVA que se desprende del soporte subyacente para crear una micropelícula de fácil manejo.

5 Cuando se colocó en una herida húmeda, el fundido de PVA de la micropelícula de material compuesto se disolvió, dejando las PEM inmovilizados en el lecho de la herida (Figura 28). *In vitro*, las PEM (que liberan 1-2 $\mu\text{g cm}^{-2} \text{ día}^{-1}$ de iones de plata durante un máximo de 30 días) inmovilizados por las micropelículas en la piel-dermis de cadáveres humanos mataron 5 \log_{10} CFU de bacterias patógenas *S. aureus* en 24 horas. En ratones BALB/c, las heridas de espesor total entablilladas, inoculadas tópicamente con 10^5 CFU de *S. aureus* y cubiertas con un apósito de colágeno (Biobrane®), presentaron hasta 3 \log_{10} CFU menos de carga bacteriana cuando fueron tratadas con 10 plata/micropelículas durante 3 días, en comparación con las heridas no modificadas. En las heridas no contaminadas, las micropelículas de plata permitieron el cierre normal y completo de la herida por reepitelización. Estos resultados indican que la modificación de los lechos de las heridas con las PEM que contienen nanopartículas de plata y que se administran mediante un constructo de micropelícula soluble no perjudica la cicatrización de la herida, sino que reduce eficazmente la colonización microbiana bajo apósitos primarios que utilizan cargas bajas de agente antimicrobiano. A continuación, se detallan estos experimentos:

B. Materiales y procedimientos

20 **Materiales:** PAH (Mw = 65 kDa), borohidruro de sodio y PVA (Mw = 13-23 kDa, 98 % hidrolizado) se obtuvieron de Sigma Aldrich (St. Louis, MO), nitrato de plata de Alfa Aesar (Ward Hill, MA) y PAA (Mw = 50 kDa) de Polysciences (Warrington, PA). Para el estudio de fluorescencia, PAH se marcó con fluoresceína-5-isotiocianato (FITC) (longitudes de onda de excitación y emisión de 492 nm y 518 nm, respectivamente) (Sigma Aldrich) utilizando procedimientos descritos en otro lugar (J. K. Gupta, E. Tjpto, A. N. Zelikin, F. Caruso, N. L. Abbott, Langmuir 2008, 24, 5534). Las obleas de silicio pulido se compraron a Silicon Sense (Nashua, NH). El aloinjerto de piel humana de cadáver irradiada con rayos gamma, GammaGraft®, se obtuvo de Promethean LifeSciences Inc, Pittsburgh, PA. Todo el trabajo con GammaGraft se realizó bajo condiciones estériles en una campana de flujo de aire.

30 **Limpieza de obleas de silicio o portaobjetos de vidrio:** Los portaobjetos de vidrio y las obleas de silicio se limpiaron secuencialmente en una solución ácida de piraña (70:30 (% v/v) H_2SO_4 : H_2O_2) y solución alcalina de piraña (70:30 (% v/v) KOH: H_2O_2) durante 1 hora a 80 °C, de acuerdo con los procedimientos publicados (J. J. Skaife, N. L. Abbott, Chem. Mater. 1999, 11, 612). Cuando fue necesario, los portaobjetos de vidrio limpios y las obleas de silicio se recubrieron con octadeciltriclorosilano (OTS) (utilizando los procedimientos descritos en otro lugar; véase, por ejemplo, J.A. J. M. Brake, N. L. Abbott, Langmuir 2002, 18, 6101) para generar una superficie de baja energía.

35 **Preparación de las PEM:** Las láminas de poli(dimetilsiloxano) (PDMS) se fabricaron curando Sylgard 184 (10:1 de base a catalizador; Dow Chemical, Midland, MI) sobre obleas de silicio funcionalizadas con OTS o portaobjetos de vidrio a 60 °C durante 24 horas. Después de 24 horas, el PDMS fue liberado de las obleas de silicio/portaobjetos de vidrio y las PEM se montaron en el lado del PDMS que previamente estaba en contacto con la oblea de silicio/portaobjetos de vidrio recubiertos con OTS. La oblea de silicio recubierta con OTS se utilizó para garantizar la 40 formación de una superficie lisa en cada lámina de PDMS. Las soluciones acuosas de polielectrolitos se ajustaron al pH deseado utilizando HCl 1 M o NaOH 1 M para el ensamblaje capa a capa. Las PEM se ensamblaron sobre una lámina de PDMS utilizando una StratoSequence IV, una máquina de inmersión robótica, de nanoStrata Inc, Tallahassee, FL. Las láminas de PDMS se sumergieron primero en una solución de PAH (0,01 M) durante 10 minutos, seguida de tres enjuagues de 1 minuto con agua desionizada (Millipore, 18,2 M Ω). A continuación, los sustratos se sumergieron en una solución de PAA (0,01 M) durante 10 minutos, seguida de los pasos de enjuague descritos 45 anteriormente. Los pasos de adsorción y enjuague se repitieron hasta que se depositó el número deseado de multicapas, como se describe en otro lugar (A. Agarwal, K. M. Guthrie, C. J. Czuprynski, M. J. Schurr, J. F. McAnulty, C. J. Murphy, N. L. Abbott, Adv. Funct. Mater. 2011, 21, 1863). Una vez fabricados, las PEM se secaron al vacío a 60 °C durante 1 hora y luego se almacenaron en condiciones ambientales.

50 **Caracterización de las PEM:** Se utilizó un microscopio invertido Olympus IX70 equipado con cubos de filtro de fluorescencia de Chroma Technology Corp. (Rockingham, VT) para obtener imágenes de la fluorescencia de PAH fluorescentes. Las imágenes se capturaron y analizaron utilizando el paquete de software Metavue versión 7.1.2.0 (Molecular Devices, Toronto, Canadá). Se utilizó un elipsómetro Gaertner LSE ($\lambda = 632,8 \text{ nm}$, $\psi = 70^\circ$) para medir el espesor de las PEM preparadas sobre obleas de silicio. Los parámetros efectivos del sustrato ($n_s = 3,85$, $k_s = -0,02$) se obtuvieron promediando doce mediciones en las obleas de silicio. Se asumió que el índice de refracción de las PEM era de 1,55 (N. a. Lockwood, K. D. Cadwell, F. Caruso, N. L. Abbott, Adv. Mater. 2006, 18, 850).

60 **Carga de nanopartículas de plata en las PEM y cuantificación de la liberación de plata de las PEM:** La síntesis de las nanopartículas de plata (AgNPs) dentro de las PEM se inició mediante la incubación de las PEM pre-ensambladas sobre PDMS en una solución acuosa de AgNO_3 (10 mM) durante 1 hora, seguido de un enjuague en agua. Como se describe en informes anteriores (T. C. Wang, M. F. Rubner, R. E. Cohen, Langmuir 2002, 18, 3370; S. Joly, R. Kane, L. Radzilowski, T. Wang, A. Wu, R. E. Cohen, E. L. Thomas, M. F. Rubner, Langmuir 2000, 16, 1354), los iones Ag^+ se difunden en las PEM y se intercambian con los protones carboxílicos de la PAA. Los iones Ag^+ unidos a carboxilatos dentro de las PEM se redujeron posteriormente para formar nanopartículas de Ag(0) incubando las PEM en una 65

solución acuosa de NaBH_4 (2 mM) durante 1 minuto y enjuagando de nuevo con agua (M. Logar, B. Jancar, D. Suvorov, R. Kostanjšek, *Nanotechnology* 2007, 18, 325601). Además de formar las AgNPs, las condiciones de las soluciones ácidas regeneran los grupos de ácido carboxílico dentro de las PEM. Esto permite cargar más Ag^+ en las PEM. La incubación repetida en soluciones de Ag^+ seguidas de soluciones de agentes reductores puede utilizarse para aumentar la carga de plata en las PEM.

La carga de plata incorporada en las PEM se determinó extrayendo la plata de las PEM (que fueron perforadas en círculos de 6 mm de diámetro usando un punzón de biopsia) en 5 ml de ácido nítrico al 2 % por incubación durante 24 horas. La concentración de Ag^+ extraída de las PEM se midió por análisis elemental utilizando un espectrómetro de emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP) (Perkin Elmer Optima 3000 DV) a la longitud de onda de 328,068 nm (Z. Shi, K. G. Neoh, S. P. Zhong, L. Y. L. Yung, E. T. Kang, W. Wang, *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2006, 76, 826). El límite de detección del instrumento se especificó en -0,1 ppb. Los detalles sobre el procedimiento analítico se pueden encontrar en otro lugar (A. Agarwal, T. L. Weis, M. J. Schurr, N. G. Faith, C. J. Czuprynski, J. F. McNulty, C. J. Murphy, N. L. Abbott, *Biomaterials* 2010, 31, 680).

Del mismo modo, se cuantificó por ICP la liberación de plata de las PEM en una solución acuosa. Los sustratos de las muestras se colocaron individualmente en tubos de centrifuga de 15 ml, se sumergieron en 3 ml de tampón PBS y se incubaron sin agitación. Los sustratos se retiraron diariamente y se colocaron en nuevos viales que contenían 3 ml de PBS fresco para simular las condiciones del fregadero, con al menos 3 muestras preparadas por grupo experimental. Para el análisis ICP, se combinó 1 ml de solución de cada vial con 2 ml de ácido nítrico al 3 % .

Actividad antibacteriana in vitro: *S. aureus* (ATCC 6538) y *P. aeruginosa* (ATCC 27853) se obtuvieron de ATCC (Manassas, VA). Las bacterias se cultivaron en extracto de levadura de caldo de soja triptica (TSBYE) (BD, Franklin Lakes, NJ) durante una noche a 37 °C con agitación a 200 rpm hasta alcanzar una densidad celular de aproximadamente 4×10^9 CFU/ml. La densidad celular se calculó a partir de una curva estándar de densidad óptica (600 nm) de suspensiones bacterianas preparada con un espectrómetro UV-Vis (Beckman Coulter, Fullerton, CA). Las suspensiones bacterianas se centrifugaron a 4.000 rpm durante 10 minutos y la pella se lavó y resuspendió en el tampón Hank's Balance Salt Solutions (HBSS). Para los ensayos antibacterianos, las muestras de prueba: 1) GammaGraft sin PEM, 2) las PEM sin plata sobre GammaGraft, y 3) las PEM con plata sobre GammaGraft, se colocaron en el fondo de los pocillos de placas de 96 pocillos y se incubaron con 100 μl de tampón PBS (pH 7,4) que contenía 10^7 CFU de bacterias. Las placas se incubaron con agitación (150 rpm) a 37 °C durante 24 a 48 horas. Tras el periodo de incubación, la solución de cada pocillo se recogió en tubos Eppendorf precargados con 900 μl de PBS helado para hacer una suspensión de bacterias de 1 ml. Para garantizar la recogida de la mayor parte de las bacterias presentes en el pozo, cada pozo se enjuagó dos veces con 200 μl de solución bacteriana diluida recogida previamente. Las células bacterianas viables en los lavados se determinaron por el procedimiento de la placa de superficie (B. Herigstad, M. Hamilton, J. Heersink, *J. Microbiol. procedimientos* 2001, 44, 121). Se prepararon diluciones de las muestras en PBS y se extendieron 100 μl de cada muestra diluida en placas de agar sangre de soja triptica (#221261, BD, Franklin Lakes, NJ). Tras la incubación a 37 °C durante 24 horas, se contaron las colonias bacterianas y se utilizaron para calcular la media de unidades formadoras de colonias (UFC) por ml. Todos los ensayos se llevaron a cabo en al menos tres días diferentes, con al menos tres réplicas de cada muestra de prueba realizadas en cada día.

Estudio antibacteriano y de cicatrización de heridas in vivo en un modelo de herida de espesor total en ratones: Todos los protocolos experimentales fueron aprobados por el Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) de la School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin-Madison. En este estudio se utilizaron ratones macho fenotípicamente normales (heterocigotos para *Lepr^{db}*, Jackson Laboratories, Inc.) o ratones BALB/c, de 8 a 12 semanas de edad. Para evitar que otros ratones perturbaran las heridas, los ratones se alojaron individualmente en jaulas ventiladas. Todos los ratones fueron aclimatados durante un mínimo de una semana antes de la cirugía. Durante todo el período de estudio, los ratones se mantuvieron en una instalación con temperatura controlada y un ciclo estándar de luz y oscuridad. A todos los ratones se les proporcionó enriquecimiento ambiental y comida y agua *ad libitum*. Los ratones fueron asignados aleatoriamente a los grupos de control o experimental el día de la cirugía. Para las heridas, los ratones fueron anestesiados con isoflurano inhalado, administrado mediante una cámara de inducción. Tras la administración de buprenorfina (0,001 mg) a los ratones (utilizada para el control del dolor), se eliminó el pelo del tórax izquierdo y derecho, inmediatamente detrás del hombro, con una maquinilla eléctrica. La zona se frotó con un exfoliante quirúrgico de gluconato de clorhexidina al 4 % alternado con solución salina estéril al 0,9 % (3 veces cada uno). Posteriormente, se aplicaron juntas tóricas de silicona (McMaster-Carr, diámetro interior de 11 mm, diámetro exterior de 15 mm) a la piel a 4 mm de la base de las orejas a cada lado de la línea media dorsal y se fijaron con pegamento tisular (Tissumend II) y seis suturas de nailon interrumpidas de 5-0. Se crearon dos heridas de escisión de espesor total de 6 mm de diámetro en el lomo de cada ratón utilizando un punzón de biopsia. Las heridas se centraron en la piel circunscrita por la junta tórica. Se utilizó la aplicación de una férula tórica para disminuir la contracción de los márgenes de la herida en el transcurso del estudio (R. D. Galiano, J. Michaels, M. Dobryansky, J. P. Levine, G. C. Gurtner, *Wound Repair. Regen.* 2004, 12, 485). Tras la formación de la herida, se colocaron micropelículas de material compuesto PEM/PVA de 8 mm de diámetro (sujetados con pinzas) en los lechos de las heridas. Las heridas se cubrieron con apósitos secundarios, como se describe en el texto. Los ratones se recuperaron de la anestesia en una almohadilla de calentamiento. Se fotografiaron las heridas con una cámara digital y se registraron los pesos corporales de los ratones en el día postoperatorio 1, y cada 2-3 días a partir de entonces hasta

el final del estudio. Al finalizar el estudio, los ratones fueron eutanasiados mediante una inyección intraperitoneal de una solución de Beuthanasia®-D (Schering-Plough) (0,5 ml/ratón) tras la inducción de la anestesia.

5 Para el estudio de cicatrización de heridas, las férulas y las suturas fueron monitorizadas diariamente durante la duración del estudio. Al igual que en el anterior estudio con animales (K. M. Guthrie, A. Agarwal, D. S. Tackes, K. W. Johnson, N. L. Abbott, C. J. Murphy, C. J. Czuprynski, P. R. Kierski, M. J. Schurr, J. F. McAnulty, Ann. Surg. 2012, 256, 371), cualquier pérdida de contacto entre el entablillado y la piel se reparó con pegamento. Las suturas rotas o perdidas se sustituyeron bajo anestesia como se ha descrito anteriormente, y se administró una dosis de buprenorfina por vía subcutánea para controlar el dolor. Las heridas se eliminaron del análisis si se rompían o faltaban dos o más suturas en un periodo de 24 horas. Se trazaron digitalmente las heridas en las fotografías y se calculó el área con el software NIH ImageJ. El cierre de la herida se calculó en cada momento como el porcentaje del área original de la herida.

15 Para evaluar la eficacia antibacteriana, se inoculó cada herida con 10 µl de una suspensión bacteriana que contenía ~10⁶ UFC de *S. aureus*. Después de incubar la suspensión bacteriana en la herida durante 15 minutos, se aplicaron las micropelículas de PEM/PVA (8 mm de diámetro) en la zona quirúrgica y se cubrieron con un disco de 8 mm de Biobrane® (UDL Labs). Las micropelículas de PEM/PVA (con y sin plata) y el Biobrane se esterilizaron con luz UV durante 30 minutos antes de su aplicación en las heridas. Se colocó un acolchado estéril no adherente (Telfa) sobre el Biobrane, y toda la construcción del apósito se cubrió con Tegaderm (3M). Estas cubiertas se utilizaron para proteger la herida del roce y para crear un entorno húmedo que favoreciera el crecimiento bacteriano. Los ratones se recuperaron de la anestesia en una almohadilla de calentamiento. Después de tres días, los ratones fueron eutanasiados. Las heridas (incluyendo la cubierta de Biobrane) se recogieron con un punzón de biopsia de 6 mm, se colocaron en un tubo Eppendorf con 1 ml de PBS estéril y se homogeneizaron con una batidora de bala durante 15 minutos. Las células bacterianas viables en el homogeneizado se determinaron mediante un procedimiento de placa de dispersión superficial, como se describe en el ensayo *in vitro*.

30 *Exámenes histológicos:* En el día 7 postoperatorio, se sacrificaron 2, 5 y 5 ratones del grupo sin micropelículas, del grupo con micropelículas sin plata y del grupo con micropelículas con plata, respectivamente. En el día 14, después de la operación, 2, 3 y 3 ratones de cada grupo, respectivamente, fueron eutanasiados. Para el estudio histopatológico, se extirpó toda la herida con la piel normal adyacente y se fijó en formol tamponado al 10 %. La muestra incluía la epidermis, la dermis y el tejido subcutáneo. Las zonas de la herida extirpadas y fijadas en formol se procesaron y se incrustaron en parafina, y las secciones de la herida se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E). Bajo microscopía óptica, se fotografiaron las secciones de H&E utilizando una cámara digital montada (Olympus DP72, Melville, NY) y se analizaron las imágenes utilizando un software de análisis de imágenes (CellSence Dimension 1.4, Olympus, Melville, NY) para determinar la duración de la reepitelización, la brecha epitelial, la cantidad de proliferación fibrovascular en la dermis y la respuesta inflamatoria.

40 *Análisis estadístico:* Los datos se presentan como medias con el error estándar de la media (SEM) como barras de error, calculadas para tres o más puntos de datos. Las diferencias significativas entre dos grupos se evaluaron mediante la prueba t de Student y entre más de dos grupos mediante el análisis de varianza ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Tukey. El nivel de significancia se fijó en $p < 0,05$.

C. Resultados

45 *Fabricación de micropelículas PEM/PVA libres:* Durante el desarrollo de las realizaciones de la tecnología descrita en el presente documento, se utilizó la deposición capa a capa para fabricar las PEM que consistían en PAH (pH 7,5) y PAA (pH 2,5 y 5,5), comenzando con la deposición de una capa de PAH sobre una lámina de poli(dimetilsiloxano) (PDMS) (para más detalles, véase Materiales y Procedimientos en la Sección B). A continuación, las PEM se identifican utilizando la notación (Poly1_{pH1}/Poly2_{pH2})_n, donde Poly1 y Poly2 son los polímeros utilizados y pH1 y pH2 son las respectivas condiciones de solución a las que se adsorbieron dichos polímeros; n es el número de bicapas, donde una bicapa comprende o consiste en una capa adsorbida de Poly1 y una capa adsorbida de Poly2. Aquí se entiende que en algunas realizaciones las capas de tales "bicapas" están sustancialmente entremezcladas en las PEM. El crecimiento de las multicapas (PAH_{7,5}/PAA_{2,5 y 5,5})_{10,5} (secadas al vacío después de su fabricación) sobre obleas de silicio limpiadas con piraña se confirmó realizando mediciones de espesores elipsométricos (Figura 29).

55 PVA es un polímero biodegradable no tóxico ampliamente utilizado en la fabricación de biomateriales, incluyendo los hidrogeles (C. R. Nuttelman, S. M. Henry, K. S. Anseth, Biomaterials 2002, 23, 3617 R. H. Schmedlen, K. S. Masters, J. L. West, Biomaterials 2002, 23, 4325). En estos estudios se empleó PVA con MW = 22 kDa para que cualquier polímero absorbido sistémicamente fuera eliminado por filtración renal (Y. Jiang, A. Schädlich, E. Amado, C. Weis, E. Odermatt, K. Mäder, J. Kressler, J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater. 2010, 93, 275). Para ensamblar las micropelículas, se pipetearon 25-50 µl de solución de PVA al 2,5 % en peso sobre las PEM soportadas en láminas de PDMS (6-8 mm de diámetro), mojando toda su superficie. Posteriormente, el disco de PDMS se hizo girar a 1.500 rpm (ac = 27) durante 10 segundos para facilitar la deposición de una micropelícula de PVA de espesor uniforme sobre la PEM. A continuación, la construcción de micropelícula se secó en un horno durante 5 minutos a 70 °C. Tras el secado, la construcción de material compuesto de PEM/PVA se desprendió de la superficie de PDMS, por ejemplo, utilizando

unas pinzas. El espesor de la micropelícula de PVA se midió de 20 a 40 μm con un micrómetro digital eléctrico (Marathon Watch Co., Richmond Hill, Ontario, Canadá). Se midió que la micropelícula final de PEM/PVA tenía un módulo de Young elástico (E') de 1 GPa (Figura 27). Las micropelículas eran lo suficientemente robustas como para poder manipularlas fácilmente, por ejemplo, con la mano o con pinzas, y colocarlas en las superficies de las heridas o en los injertos de piel.

Se cuantificó la eficacia de la eliminación de las PEM de las láminas de PDMS utilizando nanopelículas de (PAH/PAA_{5,5})_{10,5} que se ensamblaron con PAH marcado con fluoresceína-5-isotiocianato (FITC) (Ext/Em-492/518). Se adquirieron micrografías fluorescentes de montaje de una micropelícula de PEM/PVA antes y después de desprenderla del sustrato de PDMS (Figura 30a, Figura 30b y Figura 30c). Las micrografías fluorescentes (obtenidas con un objetivo de 4 \times) se unieron utilizando MosaicJ, un complemento disponible en el software Fiji, para crear una imagen de material compuesto de la película de polímero en un área grande (~6 mm de diámetro). Los resultados demuestran que 99,3 \pm 1,1 % de la PEM se desprendió de la lámina de PDMS (cuantificada mediante el área fluorescente medida a partir de micrografías utilizando el software Fiji, con un promedio de 23 muestras).

Estos resultados fueron altamente reproducibles y se obtuvieron utilizando múltiples lotes de PEM y PVA. Además, las PEM fabricadas sobre vidrio desnudo y recubiertas con PVA no pudieron desprenderse de los sustratos de vidrio desnudo. Así, en algunas realizaciones los sustratos de vidrio se funcionalizan con octadeciltriclorosilano (OTS) antes de la deposición de las PEM. Utilizando el vidrio funcionalizado con OTS, fue posible desprender la micropelícula de PEM/PVA del sustrato rígido (Figura 31). Sin estar atado a la teoría (y aunque no se requiere una comprensión del mecanismo para practicar la tecnología que se ofrece en el presente documento), este resultado es consistente con el tratamiento OTS del vidrio que conduce a una superficie de baja energía que sólo se adhiere débilmente a las PEM (A. D. Stroock, R. S. Kane, M. Weck, S. J. Metallo, G. M. Whitesides, Langmuir 2003, 19, 2466 T. Fujie, N. Matsutani, M. Kinoshita, Y. Okamura, A. Saito, S. Takeoka, Adv. Funct. Mater. 2009, 19, 2560).

Después de la fabricación, las PEM fueron impregnadas con plata por el intercambio de iones de plata con protones de los grupos carboxílicos del PAA en las PEM. Los iones de plata en las PEM se redujeron posteriormente *in situ* para formar nanopartículas de plata (para más detalles, véase Materiales y procedimientos en la Sección B). La carga de plata en cada PEM se adaptó controlando: (i) el número de bicapas en la PEM, (ii) el pH de la solución de ensamblaje del polielectrolito débil PAA (pH = 5,5 o pH = 2,5), y (iii) el número de ciclos de intercambio y reducción de iones de plata. Para los estudios *in vitro*, se probaron las PEM con un solo ciclo de intercambio y reducción de iones de plata y se caracterizaron para los perfiles de liberación de plata a corto plazo (de 1 a 4 días) y la eficacia antibacteriana. Los constructos identificados a partir de los estudios *in vitro* se impregnaron con mayores cargas de plata mediante el uso de múltiples ciclos de intercambio y reducción de iones de plata para proporcionar una liberación a largo plazo (> 10 días) de plata antibacteriana en heridas murinas. Como se muestra en la Figura 32, la carga de plata en las PEM de (PAH/PAA)_{10,5} pudo variarse sistemáticamente de 0,04 \pm <0,01 a 2,9 \pm 0,1 $\mu\text{g cm}^{-2}$ cambiando el pH de la solución de montaje de PAA de pH 5,5 a pH 2,5. Las PEM fabricadas con (PAH/PAA_{2,5})_{5,5} proporcionaron cargas intermedias de plata (1,3 \pm 0,01 $\mu\text{g cm}^{-2}$). Estas PEM con 3 cargas diferentes de plata fueron elegidas para realizar más pruebas antibacterianas *in vitro*. Cabe señalar que la carga de 0,04 \pm <0,01 $\mu\text{g cm}^{-2}$ se eligió como control porque las PEM se sometieron a las mismas condiciones de procesamiento que las otras dos cargas y, sin embargo, contienen un agente activo mínimo. La Figura 33 muestra que las cargas de plata dentro de las PEM se midieron de forma invariable durante tres meses de almacenamiento.

También se realizaron experimentos para cuantificar la cantidad de plata que quedaba en las láminas de PDMS después de desprender las micropelículas de material compuesto PEM/PVA del PDMS (segunda columna de la Figura 32). Para todas las cargas de plata utilizadas en este estudio, se determinó que sólo quedaban trazas de plata en el PDMS (<0,01, 0,05 \pm <0,01 y 0,07 \pm <0,01 $\mu\text{g cm}^{-2}$, respectivamente, para las tres cargas descritas anteriormente). Se determinó que las cargas de plata en las micropelículas compuestas de PEM/PVA libres eran de 0,04 \pm <0,01, 1,2 \pm 0,04 y 2,7 \pm 0,2 $\mu\text{g cm}^{-2}$, respectivamente (tercera columna de la Figura 32). Estos resultados indican que la mayor parte (93 \pm 3 %, 95 \pm 4 % y 94 \pm 8 %, respectivamente) de la plata presente dentro de las PEM sobre el soporte PDMS fue retenida en las micropelículas PEM/PVA libres.

Transferencia de las PEM a Injertos de Piel: Durante el desarrollo de las realizaciones de la tecnología descrita en el presente documento, se llevaron a cabo experimentos para simular las características mecánicas y la topografía de la superficie de una herida de espesor parcial, y se realizaron experimentos para evaluar la transferencia de las PEM a la cara dérmica de injertos de piel de cadáver humano irradiados de forma terminal (GammaGraft®, Promethean Lifesciences). Para ello, se desprendieron de las láminas de PDMS las micropelículas de PEM/PVA de 6 mm de diámetro y se colocaron sobre la dermis húmeda de la piel (6 u 8 mm de diámetro) con las PEM orientadas hacia la superficie del tejido. La dermis de la piel se mantuvo húmeda antes de la colocación del micropelícula PEM/PVA libre utilizando PBS, imitando las heridas húmedas. Las micropelículas de PEM/PVA se sujetaron con unas pinzas (con el lado de PEM orientado hacia la dermis de la piel) y se pusieron en contacto con la dermis colocando primero un borde de la micropelícula en contacto con la dermis de la piel y liberando después la micropelícula de las pinzas para permitir que el resto de la micropelícula se adhiriera a la dermis de la piel. Se observó que el fundido de PVA de cada micropelícula se disolvía gradualmente durante 10 minutos sobre la dermis húmeda y que las PEM se adherían a la dermis.

La eficiencia de la transferencia de las PEM desde el soporte de PDMS a la dermis de la piel se evaluó mediante microscopía fluorescente. Para visualizar las PEM fluorescentes sobre la autofluorescencia de fondo del injerto de piel, se montaron PEM con 40,5 multicapas de FITC-PAH. Las imágenes fluorescentes se realizaron inmediatamente después de que las PEM se transfirieran a la dermis de la piel. La cuantificación de la eficacia de la transferencia se llevó a cabo mediante el software Fiji, comparando el área fluorescente proyectada de las PEM en las láminas de PDMS (Figura 34a) con la de las PEM tras la transferencia a la dermis de la piel (Figura 34b), promediada en 13 muestras. La repetición de los experimentos confirmó que el $99,7 \pm 0,5$ % del área fluorescente proyectada por las PEM en las láminas de PDMS se transfirió a la dermis de la piel. Los experimentos se llevaron a cabo en varios días diferentes utilizando distintos lotes de micropelículas.

Se estudió la tasa de disolución del PVA colado dentro de un micropelícula de material compuesto en exceso de PBS utilizando un colorante espectroscópico verde de malaquita (0,01 % en peso de colorante) mezclado en la solución de PVA utilizada para la fundición. Las micropelículas de material compuesto de 8 mm de diámetro se incubaron en una placa de múltiples pocillos en 3 ml de PBS, y la concentración acumulada de verde de malaquita que se liberó en el PBS se determinó en diferentes puntos de tiempo midiendo la absorbancia de la solución a una longitud de onda de 595 nm, como se muestra en la Figura 35. A partir de estas mediciones, se concluyó que -98 % del fundido de PVA se disuelve en 10 minutos de contacto con el PBS.

La persistencia de las PEM inmovilizadas en la piel-dermis tras la disolución del PVA se evaluó mediante microscopía fluorescente. Se observó que las PEM fluorescentes permanecían adheridas a la piel-dermis después de pipetear repetidamente 1 ml de PBS (20 μ l cada uno) sobre las PEM (Figura 34c). Posteriormente, la piel-dermis modificada se incubó en placas multipocillo durante 1 a 3 días en una solución de PBS en exceso en placas agitadoras. Las micrografías fluorescentes ($n = 21$) mostraron que $98,4 \pm 1,4$ % de las PEM permanecían adheridas a la dermis de la piel (Figura 34d). Además, se probó la adherencia de las PEM en la dermis de la piel frente a una presión externa aplicada verticalmente (~ 8 kPa) y la abrasión lateral generada por el movimiento del apósito Telfa (un apósito no adherente de uso común) a ~ 1 mm/s (Figura 36). En todos los tratamientos, >95 % del área fluorescente de las PEM permaneció intacta en la dermis de la piel, indicando una buena adherencia de las PEM a la dermis de la piel. Sin estar limitado por la teoría, la fuerte adherencia de las nanopelículas sobre el tejido blando se atribuye a fuertes interacciones físicas, tal como por ejemplo a través de las interacciones de Van der Waals entre la PEM y la superficie del tejido (T. Fujie, N. Matsutani, M. Kinoshita, Y. Okamura, A. Saito, S. Takeoka, Adv. Funct. Mater. 2009, 19, 2560). Sin embargo, no es necesario comprender el mecanismo para practicar la tecnología. Se observaron algunas grietas en las PEM con 40,5 bicapas de (PAH/PAA_{2,5}) (véase la figura 37). Sin embargo, estas grietas no se observaron en las PEM con sólo 10,5 bicapas de (PAH/PAA_{2,5}). Sin embargo, la presencia de las grietas en las PEM gruesas no impidió su transferencia eficaz a la dermis de la piel por parte de las micropelículas de material compuesto.

El perfil de liberación de iones de plata en PBS desde la dermis de la piel modificada se presenta en la Figura 34e. La cantidad de plata liberada en 24 horas fue de $0,04 \pm <0,01$, $0,20 \pm 0,01$ y $0,44 \pm 0,04$ μ g cm^{-2} de la dermis modificada con las tres construcciones de PEM descritas anteriormente, respectivamente. Posteriormente, la dermis no liberó nada, $0,07 \pm 0,01$ o $0,18 \pm 0,03$ μ g $\text{cm}^{-2}/\text{día}$ de plata, respectivamente, durante los dos días siguientes. La cantidad total de plata liberada, en saturación, durante 6 días fue de $0,04 \pm <0,01$, $0,41 \pm 0,01$ y $0,80 \pm 0,03$ μ g cm^{-2} , respectivamente. Estos resultados indican que, (i) la tasa de liberación de iones de plata de la dermis modificada depende de las cargas de plata dentro de las PEM, y (ii) la cantidad total de plata liberada de la dermis fue menor que la carga total de plata en las PEM determinada antes de su transferencia a la dermis.

Actividad antibacteriana de la dermis de la piel modificada con micropelículas de PEM/PVA de material compuesto: Durante el desarrollo de las realizaciones de la tecnología proporcionada en el presente documento, se realizaron experimentos utilizando la dermis de la piel (GammaGraft) modificada con micropelículas de PEM/PVA para probar la actividad antimicrobiana contra suspensiones de bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) o bacterias Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*). Brevemente, los punzones de biopsia (6 mm de diámetro) de la dermis colocados en el fondo de los pocillos de una placa de 96 pocillos se incubaron con 100 μ L de HBSS que contenían $\sim 10^7$ CFU de bacterias en una placa agitadora (150 rpm) en una incubadora humidificada a 37 °C. Los controles negativos de cada experimento fueron: dermis sin piel, dermis sin modificar y dermis modificada con PEM sin plata. Los recuentos de bacterias viables que permanecen en las suspensiones se determinaron mediante chapado y se indican como unidades formadoras de colonias (CFU).

Los recuentos bacterianos en suspensión después de 24 y 48 horas de incubación se resumen en la Figura 38. La dermis modificada por las PE sin plata o PEM con $0,04 \pm <0,01$ μ g cm^{-2} de plata dio lugar a recuentos bacterianos en suspensiones que fueron similares a los de la dermis de la piel no modificada (como se muestra en las dos primeras columnas de la Figura 38). Las PEM que contenían $1,3 \pm 0,01$ μ g cm^{-2} de plata provocaron una disminución de 3 \log_{10} y 5 \log_{10} CFU en las suspensiones en 24 y 48 horas, respectivamente. Por último, las PEM que contenían $2,9 \pm 0,1$ μ g cm^{-2} de plata provocaron una disminución de más de 5 \log_{10} de CFU en 24 horas de incubación. Las PEM con esta última carga de plata también mediaron una disminución de 5 \log_{10} CFU en los recuentos bacterianos en suspensiones de *P. aeruginosa* (Figura 39). Los experimentos indicaron que la dermis modificada con las PEM que contenían $2,9 \pm 0,1$ μ g cm^{-2} de plata sólo liberaba $0,44 \pm 0,04$ μ g cm^{-2} de plata en PBS en 24 horas (véase la Figura 34). Esta cantidad de plata ($-0,4$ μ g cm^{-2}) es suficiente para tener un potente efecto antibacteriano y permitir al mismo

tiempo el crecimiento y la proliferación normales de las células de fibroblastos de ratón NIH 3T3 (A. Agarwal, T. L. Weis, M. J. Schurr, N. G. Faith, C. J. Czuprynski, J. F. McNulty, C. J. Murphy, N. L. Abbott, *Biomaterials* 2010, 31, 680).

5 En resumen, los experimentos *in vitro* descritos anteriormente demuestran que las micropelículas de PEM/PVA que se adhieren a la superficie de la dermis de los cadáveres humanos liberan suficiente plata en 24 horas y 48 horas para causar una disminución de $>5 \log_{10}$ CFU en los recuentos bacterianos en suspensiones de *S. aureus* y *P. aeruginosa*. Estas construcciones de (PAH/PAA_{2,5})_{10,5} se prepararon posteriormente con una gama de cargas de plata (incluyendo cargas más altas logradas por ciclos repetidos de intercambio y reducción de iones de plata, véase más arriba) para proporcionar una liberación sostenida de plata antibacteriana de los lechos de las heridas murinas contaminadas que se describen a continuación.

15 *Modificación de las heridas por escisión en ratones utilizando micropelículas de PEM/PVA:* Durante el desarrollo de las realizaciones de la tecnología proporcionada en el presente documento, se llevaron a cabo experimentos para probar la modificación de las heridas de escisión en ratones utilizando micropelículas de PEM/PVA. Todos los experimentos *in vivo* se llevaron a cabo en un modelo de herida de espesor total por escisión en ratones, como se describe en la Sección B de Materiales y Procedimientos. Brevemente, se crearon quirúrgicamente heridas (de 6 a 8 mm de diámetro) en los flancos izquierdo y derecho de los ratones y se entablillaron, como se ha descrito previamente (R. D. Galiano, J. Michaels, M. Dobryansky, J. P. Levine, G. C. Gurtner, *Wound Repair. Regen.* 2004, 12, 485) y se muestra en la Figura 40a. Las heridas se "entablillaron" para minimizar el cierre de la herida por contracción y, así, permitir el cierre de la herida principalmente por epitelización como en la curación dérmica humana (R. D. Galiano, J. Michaels, M. Dobryansky, J. P. Levine, G. C. Gurtner, *Wound Repair. Regen.* 2004, 12, 485). Los primeros estudios *in vivo* determinaron la transferencia y la persistencia de las PEM en el lecho de la herida. Se dejó que las heridas quirúrgicas recién preparadas (de 6 mm de diámetro) exudaran el exceso de líquido durante 5 minutos y luego se cubrieron con las micropelículas de PEM/PVA, con las PEM orientadas hacia el lecho de la herida, como se muestra en la Figura 40a. Brevemente, se sujetó el borde de la micropelícula de material compuesto con unas pinzas y se puso un borde en contacto con el lecho de la herida. La liberación de la micropelícula de las pinzas dio lugar a la adhesión del resto de la película al lecho de la herida. Se observó que el fundido de PVA de cada micropelícula comenzó a disolverse inmediatamente después del contacto con el entorno húmedo de la herida. Se comprobó que las PEM se adhieren conformemente al lecho de la herida a los 10 minutos de la disolución del fundido de PVA de las micropelículas de material compuesto, como se muestra en la Figura 40b.

Se cuantificó la transferencia de las PEM sobre el lecho de la herida utilizando la micropelícula de PEM/PVA mediante microscopía de fluorescencia y se ensamblaron las PEM utilizando PAH marcados con FITC (como en los estudios con la dermis de la piel descritos anteriormente). Las micrografías fluorescentes de las FITC-PEM de la Figura 40c, la Figura 40d y la Figura 40e muestran la transferencia y la persistencia de las PEM en las heridas murinas hasta 3 días después de la cirugía. Para cuantificar la cantidad de PEM adherida inicialmente al lecho de la herida, se recogieron las heridas a los 30 minutos del tratamiento y se tomaron imágenes para medir el área fluorescente ($n = 4$). Estas mediciones revelaron que el área de la herida cubierta por el PEM fue 107 ± 5 % del área del micropelícula PEM/PVA antes de la transferencia a la herida (mostrados en la Figura 40c y la Figura 40d). Este resultado indica que puede producirse un pequeño estiramiento de las PEM en la superficie del tejido elástico durante la recolección y la preparación de la muestra. Sin embargo, las PEM permanecieron firmemente adheridos al lecho de la herida.

45 En un conjunto de ratones, las heridas entablilladas modificadas con las PEM fluorescentes se dejaron curar durante 3 días y luego se cosecharon para obtener imágenes fluorescentes. Después de depositar estas PEM, se cubrieron las heridas con un cubreobjetos de plástico, de manera que el cubreobjetos no tocara el lecho de la herida, pero impidiera que se produjeran alteraciones externas en el lecho de la herida (como el rascado por parte de los ratones). Además, se pegó una lámina de aluminio sobre los cubreobjetos para limitar la exposición a la luz. A continuación, se cubrió toda la construcción con Tegaderm®. Como se muestra en la Figura 40e, aproximadamente 90 ± 2 % ($n = 4$) del lecho de la herida estaba cubierto por PEM fluorescentes después de 3 días después de la inmovilización. Se encontró que aproximadamente 10 % de la PEM fluorescente se perdió o se desprendió de la superficie del tejido. Sin estar limitado por la teoría, se plantea la hipótesis de que las PEM se desprenden de la superficie del tejido y se dispersan como fragmentos microscópicos a medida que el tejido se regenera. Sin embargo, no es necesario comprender el mecanismo para practicar la tecnología.

55 *Reducción de la colonización microbiana en heridas contaminadas modificadas con plata/PEM utilizando micropelículas:* Durante el desarrollo de las formas de realización de la tecnología proporcionada en el presente documento, se llevaron a cabo experimentos para probar la reducción de la colonización microbiana en heridas contaminadas modificadas con plata/PEM utilizando micropelículas. Las heridas entablilladas en ratones se inocularon tópicamente con $\sim 10^6$ CFU de *S. aureus* en 10 μ l de PBS. Tras la inoculación bacteriana, las heridas se trataron con las micropelículas de PEM/PVA (8 mm de diámetro) y luego se cubrieron con el apósito biosintético para heridas Biobrane® (8 mm de diámetro). Se colocó un acolchado estéril no adherente (Telfa) encima de la Biobrane, y toda la construcción se aseguró con Tegaderm (3M). Cabe señalar aquí que Biobrane® es un apósito biosintético transparente ampliamente utilizado en los hospitales para el tratamiento de las heridas por quemaduras (I. S. Whitaker, S. Prowse, T. S. Potokar, *Ann. Plast. Surg.* 2008, 60, 333; E. M. Lang, C. a. Eiberg, M. Brandis, G. B. Stark, *Ann. Plast.*

Surg. 2005, 55, 485). Se compone de una membrana de silicona con fibras de nailon recubiertas de péptidos de colágeno. Biobrane® sella las heridas y favorece el crecimiento de los tejidos. Una de las principales ventajas de Biobrane es que se integra en las heridas y evita así los dolorosos cambios de apósitos (R. L. Klein, B. F. Rothmann, R. Marshall, J. Pediatr. Surg. 1984, 19, 846; M. Tavis, J. Thornto, R. Bartlett, J. Roth, E. Woodroof, Burns 1980, 7, 123). Sin embargo, también se sella en la periferia y/o en las bacterias endógenas, lo que provoca la colonización bacteriana y el fracaso de la terapia en hasta 20 % de las aplicaciones del apósito (K. Nichols, Z. Moaveni, A. Alkadhi, W. Mcewan, ANZ J. Surg. 2009, 79, A7). El cuidado estándar es tratar las heridas con soluciones tópicas de agentes antimicrobianos antes de usar Biobrane, o cubrir Biobrane con apósitos de plata que suministran la plata al lecho de la herida por difusión a través de Biobrane. En consecuencia, se realizaron experimentos para evaluar si los lechos de las heridas modificados con plata/PEM prevenían y/o reducían la colonización bacteriana en las heridas bajo Biobrane. Se emplearon tres grupos de $n = 8$ ratones cada uno (es decir, un total de 16 heridas/grupo): heridas no modificadas, heridas modificadas con PEM sin plata y heridas modificadas con PEM que contenían nanopartículas de plata.

Extrapolando los estudios *in vitro*, se utilizaron las PEM de (PAH/PAA_{2,5})₁₀ en experimentos con ratones. Para garantizar una liberación prolongada de plata antimicrobiana en las heridas murinas durante 14 días (el tiempo promedio que se necesita para el cierre completo de heridas de 6 mm de diámetro), la carga de plata en el (PAH/PAA_{2,5})_{10,5} se aumentó a $16,8 \pm 0,5 \mu\text{g cm}^{-2}$ utilizando tres ciclos de intercambio y reducción de iones de plata, como se muestra en la Figura 41. Los ciclos de carga de plata terminaron con un intercambio final de iones de plata, de manera que las PEM proporcionaron una liberación inicial de iones de plata (unidos a los grupos carboxílicos de la PAA) que fue seguida por una liberación sostenida de iones de plata a través de la disolución de las nanopartículas de plata atrapadas en las PEM. En la Figura 42 se presenta un perfil típico de liberación de plata para estas PEM (desde las láminas de PDMS en PBS) Como se muestra, las PEM proporcionaron una liberación inicial de $3,1 \pm 0,1 \mu\text{g cm}^{-2}$ de plata en las primeras 24 horas, seguida de una liberación de $\sim 1,5 \mu\text{g cm}^{-2}$ de plata/día durante 4 días, y una tasa de liberación de $-0,4 \mu\text{g cm}^{-2}/\text{día}$ a partir de entonces. La liberación acumulada de plata durante el periodo de 30 días se midió en $17,2 \pm 0,6 \mu\text{g cm}^{-2}$.

Varios estudios clínicos han documentado que Biobrane tarda entre 48 y 72 horas en integrarse en el lecho de la herida (R. L. Klein, B. F. Rothmann, R. Marshall, J. Pediatr. Surg. 1984, 19, 846; M. Tavis, J. Thornto, R. Bartlett, J. Roth, E. Woodroof, Burns 1980, 7, 123). Si las heridas se infectan durante este periodo, forman bolsas de exudado bajo el Biobrane donde el apósito no se integra en el lecho de la herida (J. E. Greenwood, J. Clausen, S. Kavanagh, Eplasty 2009, 9, 243). Por lo tanto, se realizaron experimentos y se recopilaron datos que demuestran que la modificación de las heridas contaminadas con micropelículas de PEM/PVA reduce la colonización de *S. aureus* bajo Biobrane en los primeros 3 días del postoperatorio y asegura el cierre normal de la herida a partir de entonces. Para ello, se practicó la eutanasia a todos los ratones el día 3 después de la cirugía y se recogieron las heridas, junto con el Biobrane, y se homogeneizaron para la cuantificación bacteriana. También se tomaron imágenes de las heridas el día 0 y el día 3 antes de aplicar la eutanasia a los ratones. La Figura 43 muestra que se recuperó una media de $1,8 \times 10^6 \text{ CFU/cm}^2$ de *S. aureus* de las heridas no modificadas el día 3 después de la cirugía. Del mismo modo, se recuperaron $3,1 \times 10^5 \text{ CFU/cm}^2$ de *S. aureus* en las heridas modificadas con PEM sin plata. La carga bacteriana de las heridas en esos dos grupos no fue significativamente diferente ($p > 0,05$). Por el contrario, las heridas modificadas con plata/PEM utilizando las micropelículas de material compuesto de PEM/PVA tenían un promedio de sólo $6,1 \times 10^3 \text{ CFU/cm}^2$ de *S. aureus*, es decir, una media de $2,4 \log_{10}$ de reducción de la carga bacteriana de las heridas con Biobrane en comparación con las heridas no modificadas. Una repetición del experimento con un lote diferente de plata/PEM y un tamaño mayor de $n = 10$ ratones/grupo proporcionó pruebas de una reducción similar de la carga microbiana de las heridas bajo Biobrane (Figura 44). En general, estos resultados indican que la modificación de los lechos de las heridas con plata/PEM es eficaz para reducir la colonización bacteriana de las heridas contaminadas con Biobrane.

Promoción de la cicatrización normal en heridas de ratones modificadas con plata/PEM: Durante el desarrollo de las formas de realización de la tecnología, se realizaron experimentos para demostrar que la modificación de los lechos de las heridas con plata/PEM que contienen $16,8 \pm 0,5 \mu\text{g cm}^{-2}$ de plata (por ejemplo, una carga que reduce la colonización bacteriana de las heridas contaminadas, véase más arriba) no perjudica la cicatrización normal en las heridas quirúrgicas limpias. En particular, se llevaron a cabo experimentos en los que se monitorizó la cicatrización de la herida hasta su cierre completo por reepitelización (observada en 14 días en todos los grupos de prueba). Para estos experimentos, los ratones se dividieron en tres grupos: un grupo de control con heridas no modificadas ($n = 4$ ratones), otro grupo de control con heridas modificadas por PEM sin plata ($n = 8$ ratones), y un grupo de prueba con heridas modificadas con plata/PEM ($n = 8$ ratones). Las heridas se cubrieron con un cubreobjetos de plástico colocado sobre los entablillados y toda la construcción se cubrió con Tegaderm®. Los ratones fueron monitorizados diariamente y las heridas fueron fotografiadas en el día 0, 3, 7, 10 y 14 después de la cirugía. La mitad de los ratones de cada grupo fueron eutanasiados el día 7 para cosechar las heridas para el análisis histopatológico.

Las imágenes de las heridas representativas tratadas con plata/PEM se muestran en la Figura 45a, Figura 45b y Figura 45c para los días 0, 7 y 14 postoperatorios. En la Figura 46 se muestran imágenes representativas similares para los grupos de control. Estas imágenes muestran, cualitativamente, que las heridas modificadas con plata/PEM mostraron tasas de cicatrización similares a las de los controles. La cobertura epitelial de las heridas se evaluó a partir de

imágenes digitales de las heridas, y se presenta en la Figura 45d como el porcentaje del tamaño original de la herida en los días 3, 7, 10 y 14 postoperatorios. Los resultados documentan que la tasa de cierre de la herida en todos los grupos de tratamiento no fue significativamente diferente en ningún día particular de observación ($p > 0,05$, prueba de ANOVA Tukey).

Las secciones histopatológicas representativas de las heridas modificadas con plata/PEM se presentan en la Figura 47a y la Figura 47b para el día 7 y 14 postoperatorio, respectivamente. En la Figura 48 se presentan imágenes histopatológicas representativas similares para las heridas de control. Las imágenes del séptimo día después de la cirugía muestran claramente una capa celular de reepitelización migratoria en el borde de la herida. Además, las heridas modificadas con plata/PEM mostraron una reepitelización similar a la de las heridas de control. El cierre completo por reepitelización se observó en las imágenes del día 14. Se comprobó que la calidad del tejido de granulación y el grado de inflamación en todas las secciones de tejido no eran significativamente diferentes entre los tres grupos de prueba, lo que indica un progreso normal de la cicatrización de la herida. La brecha epitelial en las heridas, medida a partir de imágenes histopatológicas en los días 7 y 14 del postoperatorio, se presenta en la Figura 47c como porcentaje del tamaño inicial de la herida. Estos datos indican que la tasa de reepitelización no fue significativamente diferente entre los tres grupos de tratamiento ($p > 0,05$, prueba t de Student). En general, estos resultados indican que la modificación del lecho de la herida mediante micropelículas de PEM/PVA cargadas con plata (que contienen $16,8 \pm 0,5 \mu\text{g cm}^{-2}$ de plata) no causa una inflamación excesiva del tejido y no perjudica la cicatrización normal de la herida mediante la reepitelización.

Además, en experimentos adicionales, se crearon heridas quirúrgicas (de 6 mm de diámetro) en los flancos de ratones balb/c y se inocularon con 2×10^5 CFU de *S. aureus*. La herida se cubrió con un apósito biosintético de Biobrane en un grupo de ratones (Figura 50A), y se cubrió con un apósito de micropelícula de plata antes de la colocación de Biobrane en las heridas en otro grupo (Figura 50B). Las micrografías de las heridas teñidas con hematoxilina y eosina (H&E) en el día 12 postoperatorio mostraron que una herida tratada sólo con Biobrane tenía una brecha de epitelización de aproximadamente 2,1 mm (véase, por ejemplo, la Figura 50A, entre las flechas). Por el contrario, las micrografías con tinción H&E de los ratones tratados con un apósito de micropelícula de plata mostraron que las heridas tratadas con el apósito de micropelícula de plata y con Biobrane tenían una epitelización completa (véase, por ejemplo, la Figura 50B, escala=0,5 mm). La Tabla 2 resume las observaciones histopatológicas (realizadas por un patólogo certificado) de los dos grupos de heridas en el día 12 del postoperatorio. Las heridas tratadas con un apósito de micropelícula de plata presentaban una brecha epitelial significativamente menor, más colágeno y menos inflamación ($p < 0,05$, $n=10$; prueba U de Mann Whitney).

Tabla 2. Histopatología de las heridas en el día 12.		
†Valores significativamente diferentes ($n=10$, $p < 0,05$)		
	<i>Biobrane</i>	<i>Micropelícula de biobrane/plata</i>
Brecha epitelial (mm)	0,55 \pm 0,79	0,03 \pm 0,09†
Reepitelización (mm)	3,04 \pm 1,08	3,55 \pm 1,10
Colágeno (% de área)	11,98 \pm 6,55	19,30 \pm 5,38†
Puntuación de la inflamación (0-4)	2,15 \pm 0,99	1,65 \pm 0,75†
Puntuación de la granulación (0-4)	2,65 \pm 0,67	2,70 \pm 0,66

Ejemplo 19 de Referencia. Uso de galio de metales de transición como agente antibiopelícula en apósitos para heridas

A. Resumen

Los antimicrobianos y antibióticos convencionales son ineficaces contra los microorganismos en las biopelículas. En particular, la colonización bacteriana de las heridas puede dar lugar a infecciones crónicas en las que las bacterias viven en biopelículas, que son comunidades bacterianas asociadas a la superficie y encerradas en una matriz polimérica extracelular (Rhoads et al. Biofilms in wounds: management strategies. Journal of Wound Care. 2008;17:502-8). Los cambios fisiológicos inherentes al crecimiento de las biopelículas hacen que éstas sean aproximadamente 1.000 veces más resistentes a la eliminación con antibióticos y/o antimicrobianos que las bacterias planctónicas (de vida libre) (Stewart et al. Resistencia a los antibióticos de las bacterias en las biopelículas. The Lancet. 2001;358:135-8). Las biopelículas pueden provocar el fracaso del tratamiento, la pérdida de miembros (por ejemplo, en las úlceras del pie diabético) o la muerte, y las biopelículas suelen tener que ser desbridadas quirúrgicamente en los regímenes de tratamiento convencionales para permitir que progrese la cicatrización normal (Wolcott et al. Regular debridement is the main tool for maintaining a healthy wound bed in most chronic wounds. Journal of Wound Care. 2009;18:54-6). El procedimiento que conduce a la infección y al establecimiento de biopelículas comienza en el momento de la formación de la herida y debe prevenirse al inicio del tratamiento de la herida (Kennedy et al. Burns, biofilm and a new appraisal of burn wound sepsis. Burns. 2010;36:49-56). En consecuencia, existe una necesidad

urgente de mejorar los apósitos y las formulaciones que impiden la formación de biopelículas en las infecciones agudas y sensibilizan a las bacterias de las biopelículas en las heridas crónicas a los antimicrobianos.

5 El metal de transición galio (Ga) inhibe el crecimiento bacteriano, impide la formación de biopelículas, y dispersa las biopelículas establecidas (Kaneko et al. The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity The Journal of Clinical Investigation. 2007;117:877-88 Zhu et al. Pre-treatment with EDTA-gallium prevents the formation of biofilms on surfaces. Experimental and therapeutic medicine. 2013;5:1001-4 Valappil et al. Effect of novel antibacterial gallium-carboxymethyl cellulose on *Pseudomonas aeruginosa*. Dalton Transactions. 2013;42:1778-86 Halwani et al. Co-encapsulation of gallium with gentamicin in liposomes enhances antimicrobial activity of gentamicin against *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2008;62:1291-7). El Ga interrumpe el metabolismo del hierro (Fe) de las bacterias que es esencial para el funcionamiento de las enzimas clave necesarias para el crecimiento bacteriano (Kaneko et al. The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity The Journal of Clinical Investigation. 2007;117:877-88). Los niveles de Fe libre ya son extremadamente bajos en las zonas de las heridas debido a las múltiples defensas del huésped que sequestran el Fe para impedir las infecciones microbianas. El Ga captado por las bacterias disminuye aún más la captación de Fe por parte de las bacterias al reprimir los reguladores transcritores que responden al Fe (Kaneko et al. The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity The Journal of Clinical Investigation. 2007;117:877-88). El Ga³⁺ tiene un radio iónico casi idéntico al del Fe³⁺, y muchos sistemas biológicos son incapaces de distinguir el Ga³⁺ del Fe³⁺ (Chitambar et al. Targeting iron-dependent DNA synthesis with gallium and transferrin-gallium. Pathobiology : journal of immunopathology, molecular and cellular biology. 1991;59:3-10). La sustitución del Fe por el Ga interrumpe los procedimientos dependientes del Fe porque, a diferencia del Fe³⁺, el Ga³⁺ no puede reducirse en condiciones fisiológicas. De este modo, los pasos secuenciales de oxidación y reducción críticos para muchas funciones biológicas mediadas por el Fe son inhibidos por el Ga³⁺, lo que provoca la muerte de las células bacterianas (Chitambar et al. Targeting iron-dependent DNA synthesis with gallium and transferrin-gallium. Pathobiology : Journal of Immunopathology, Molecular and Cellular Biology. 1991;59:3-10). Además, los estudios han demostrado que el Ga es particularmente captado por las células carentes de nutrientes (y, por lo tanto, de Fe) en el centro de las biopelículas a las que los antimicrobianos y antibióticos convencionales son menos eficaces, lo que hace que el Ga sea particularmente ventajoso en la dispersión de las biopelículas (Kaneko et al. The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity The Journal of Clinical Investigation. 2007;117:877-88). Debido a las excelentes propiedades antibiopelícula del Ga, junto con el hecho de que ha sido aprobado por la FDA para inyecciones intravenosas (para tratar la hipercalcemia de origen maligno) (Bernstein. Mechanisms of Therapeutic Activity for Gallium. Revisiones farmacológicas. 1998;50:665-82), se llevaron a cabo experimentos para probar el Ga como componente de apósitos para heridas de micropelícula o nanopelículas poliméricas para sensibilizar a los microbios de las biopelículas a la plata bactericida.

B. Resultados

40 Durante el desarrollo de las realizaciones de la tecnología proporcionada en el presente documento, se llevaron a cabo experimentos para determinar la concentración mínima de Ga (por ejemplo, como Ga(NO₃)₃) para inhibir la formación de la biopelícula. En particular, se añadió Ga a cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* en medios de crecimiento de biopelículas (500 µl de caldo de soja triptica (TSB) al 1 %) para comprobar la inhibición de la formación de biopelículas en el fondo de placas de cultivo de tejidos de 48 pocillos.

45 Se cuantificó el crecimiento de la biopelícula a partir de suspensiones de 10⁶ CFU/ml de *P. aeruginosa* (ATCC 27853) después de 24, 48 y 72 horas mediante la tinción de las biopelículas con violeta de cristal, siguiendo los procedimientos descritos anteriormente (Brandenburg et al. Tryptophan Inhibits Biofilm Formation by *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2013;57:1921-5). Se determinó que 25 µM de Ga³⁺ en solución eran suficientes para inhibir completamente la formación de biopelículas durante 72 horas (Figura 51).

50 No hubo disminución de los recuentos bacterianos libres (planctónicos) en la solución, lo que indica que el Ga³⁺ no es bactericida a esta concentración, pero puede emplearse para sensibilizar a las bacterias en las biopelículas a otros agentes bactericidas tales como la plata. Por ejemplo, otros estudios han demostrado que 100 µM de Ga³⁺ en TSB dispersa las biopelículas establecidas (Kaneko et al. The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity The Journal of Clinical Investigation. 2007;117:877-88), y que concentraciones de hasta 1 mM de Ga³⁺ no son citotóxicas para las células de mamíferos (Chandler et al. Cytotoxicity of Gallium and Indium Ions Compared with Mercuric Ion. Journal of Dental Research. 1994;73:1554-9).

Ejemplo 20. Apósito de micropelícula con galio en el fundido polimérico de sacrificio

60 Durante el desarrollo de las realizaciones de la tecnología proporcionada en el presente documento, se llevaron a cabo experimentos para desarrollar y evaluar apósitos de micropelícula que proporcionan 1) una liberación de ráfaga de un agente antibiopelícula (por ejemplo, galio de metal de transición) en las heridas para inhibir la formación de biopelícula, seguido de 2) una liberación prolongada sostenida de un antimicrobiano de amplio espectro (por ejemplo, plata) que mata las bacterias y previene la colonización microbiana.

65

Se recogieron datos de pruebas de apósitos de micropelícula (por ejemplo, de 100-200 μm de espesor) que comprendían dos capas poliméricas distintas como se describe en el presente documento. La capa superior comprende un fundido polimérico soluble en agua y la capa inferior comprende nanopelículas de polímero multicapa (por ejemplo, de 50-200 nm de espesor) impregnados con agentes bioactivos y/o antimicrobianos. En este ejemplo, los apósitos de micropelícula comprenden nanopartículas de plata en las nanopelículas poliméricas y el metal de transición antibiopelícula galio en el fundido polimérico soluble (véase, por ejemplo, la Figura 52).

Sin estar limitado por la teoría (de hecho, no se requiere una comprensión de la teoría para practicar la tecnología), se contempló que una liberación de ráfaga inicial de galio en las heridas con la disolución del fundido polimérico del apósito de micropelícula dispersaría las biopelículas y haría que los microbios fueran incapaces de formar biopelículas. Posteriormente, las nanopelículas poliméricas que contienen nanopartículas de plata, inmovilizadas en el lecho de la herida, proporcionarían una liberación sostenida a largo plazo de iones de plata antimicrobianos, evitando la colonización microbiana y reduciendo la necesidad de cambios de apósitos dolorosos. Además, se contempló que la sensibilización de los microbios en las biopelículas por la liberación inicial de un agente antibiopelícula (por ejemplo, el galio) requeriría concentraciones significativamente bajas de agente bactericida (por ejemplo, la plata) para prevenir o eliminar las infecciones de las heridas.

En consecuencia, se ensamblaron las PEM de (PAH/PAA)₂₀ sobre láminas de PDMS mediante recubrimiento por aspersión, como se describe en el presente documento. Después de la fabricación, las PEM se impregnaron con nanopartículas de plata mediante múltiples ciclos de intercambio de iones de plata y de reducción de iones de plata *in situ*, como se describe en el presente documento. Posteriormente, se aplicó una película de alcohol polivinílico (PVA, MW 22 kDa) sobre las PEM mediante un recubrimiento por centrifugado (a 1.500 rpm durante 10 segundos) de una solución de PVA al 5 % p/v (MW 22 kDa) que contenía nitrato de galio.

Con base en los datos recogidos anteriormente en el Ejemplo 19 (véase la Figura 51), la carga de Ga^{3+} en el PVA fundido sobre las PEM se controló entre 1 a 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ajustando la concentración de nitrato de galio en la solución de fundición de PVA al 5 % en agua. La carga de Ga^{3+} en los fundidos de PVA se determinó por disolución en ácido nítrico al 2% y posterior análisis elemental por espectroscopia de emisión de plasma acoplado inductivamente (ICPES) (Valappil et al. Effect of novel antibacterial gallium-carboxymethyl cellulose on *Pseudomonas aeruginosa*. Dalton Transactions. 2013;42:1778-86). Los fundidos de PVA disueltos en 0,5 ml de agua en los pocillos de una placa de 48 pocillos liberan aproximadamente de 28 a 280 μM de $\text{Ga}^{3+}/\text{cm}^2$ en solución.

Ejemplo 21 de Referencia. Las PEM con galio inhiben la formación de biopelículas

Durante el desarrollo de las realizaciones de la tecnología proporcionada en el presente documento, se llevaron a cabo experimentos para probar aún más las PEM que comprenden Ga. Las PEM de (PAH/PAA)₁₀ se ensamblaron sobre láminas de PDMS mediante recubrimiento por aspersión, y se impregnaron después de la fabricación con Ga^{3+} mediante incubación en una solución de $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ de 10 mM durante 1 hora. Los iones Ga^{3+} se intercambiaron con protones en los grupos carboxílicos del PAA en las nanopelículas. Las PEM se enjuagaron posteriormente en agua y se hornearon a 215 °C bajo N_2 durante 2 horas para permitir el entrecruzamiento térmico mediante la formación de enlaces de amida inducidos por el calor entre el PAA y el PAH (Harris et al. Synthesis of Passivating, Nylon-Like Coatings through Cross-Linking of Ultrathin Polyelectrolyte Films. Journal of the American Chemical Society. 1999;121:1978-9). Se recogieron datos que indicaban que el entrecruzamiento de las PEM permitía la liberación sostenida a largo plazo de Ga^{3+} en PBS (Figura 53).

La carga de Ga^{3+} en las PEM se determinó por extracción en ácido nítrico al 2 % y análisis elemental por espectroscopia de emisión de plasma acoplado inductivamente (ICPES) (Valappil et al. Effect of novel antibacterial gallium-carboxymethyl cellulose on *Pseudomonas aeruginosa*. Dalton Transactions. 2013;42:1778-86). En estudios preliminares, las PEM que liberan 1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de Ga^{3+} inhibieron completamente la formación de biopelículas de *P. aeruginosa* de forma similar al efecto de 25 μM de $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ en solución (Ejemplo 19; Figura 51). Estos datos indican que la tecnología descrita en el presente documento permite la incorporación y liberación de Ga^{3+} de las PEM de forma que éstos liberan concentraciones de antibiopelícula en las soluciones.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Imbed Biosciences, Inc.
 Agarwal, Ankit
 Abbott, Nicholas L.
 5
 <120> Methods and Compositions for Wound Healing
 <130> IMBED-33575/WO-1/ORD
 10
 <150> US 61/723,111
 <151>2012-11-06
 <160> 100
 15
 <170> Patent en versión 3.5
 <210> 1
 <211> 64
 <212> PRT
 20
 <213> Bos taurus
 <400>1
 Met Arg Leu His His Leu Leu Leu Ala Leu Leu Phe Leu Val Leu Ser
 1 5 10 15
 Ala Gly Ser Gly Phe Thr Gln Gly Val Arg Asn Ser Gln Ser Cys Arg
 20 25 30
 Arg Asn Lys Gly Ile Cys Val Pro Ile Arg Cys Pro Gly Ser Met Arg
 35 40 45
 Gln Ile Gly Thr Cys Leu Gly Ala Gln Val Lys Cys Cys Arg Arg Lys
 50 55 60
 25
 <210> 2
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Xenopus laevis
 30
 <400>2
 Gly Val Leu Ser Asn Val Ile Gly Tyr Leu Lys Lys Leu Gly Thr Gly
 1 5 10 15
 35
 Ala Leu Asn Ala Val Leu Lys Gln
 20
 <210> 3
 <211> 81
 <212> PRT
 <213> Xenopus laevis
 40
 <400>3
 45
 Met Tyr Lys Gly Ile Phe Leu Cys Val Leu Leu Ala Val Ile Cys Ala

ES 2 904 352 T3

Met Phe Lys Gly Leu Phe Ile Cys Ser Leu Ile Ala Val Ile Cys Ala
 1 5 10 15

Asn Ala Leu Pro Gln Pro Glu Ala Ser Ala Asp Glu Asp Met Asp Glu
 20 25 30

Arg Glu Val Arg Gly Ile Gly Lys Phe Leu His Ser Ala Gly Lys Phe
 35 40 45

Gly Lys Ala Phe Val Gly Glu Ile Met Lys Ser Lys Arg Asp Ala Glu
 50 55 60

Ala Val Gly Pro Glu Ala Phe Ala Asp Glu Asp Leu Asp Glu Arg Glu
 65 70 75 80

Val Arg Gly Ile Gly Lys Phe Leu His Ser Ala Lys Lys Phe Gly Lys
 85 90 95

Ala Phe Val Gly Glu Ile Met Asn Ser Lys Arg Asp Ala Glu Ala Val
 100 105 110

Gly Pro Glu Ala Phe Ala Asp Glu Asp Leu Asp Glu Arg Glu Val Arg
 115 120 125

Gly Ile Gly Lys Phe Leu His Ser Ala Lys Lys Phe Gly Lys Ala Phe

ES 2 904 352 T3

	130		135		140														
	Val	Gly	Glu	Ile	Met	Asn	Ser	Lys	Arg	Asp	Ala	Glu	Ala	Val	Gly	Pro			
	145					150				155					160				
	Glu	Ala	Phe	Ala	Asp	Glu	Asp	Leu	Asp	Glu	Arg	Glu	Val	Arg	Gly	Ile			
					165					170					175				
	Gly	Lys	Phe	Leu	His	Ser	Ala	Lys	Lys	Phe	Gly	Lys	Ala	Phe	Val	Gly			
				180					185					190					
	Glu	Ile	Met	Asn	Ser	Lys	Arg	Asp	Ala	Glu	Ala	Val	Gly	Pro	Glu	Ala			
			195					200					205						
	Phe	Ala	Asp	Glu	Asp	Phe	Asp	Glu	Arg	Glu	Val	Arg	Gly	Ile	Gly	Lys			
		210					215					220							
	Phe	Leu	His	Ser	Ala	Lys	Lys	Phe	Gly	Lys	Ala	Phe	Val	Gly	Glu	Ile			
	225					230					235				240				
	Met	Asn	Ser	Lys	Arg	Asp	Ala	Glu	Ala	Val	Gly	Pro	Glu	Ala	Phe	Ala			
					245					250					255				
	Asp	Glu	Asp	Leu	Asp	Glu	Arg	Glu	Val	Arg	Gly	Ile	Gly	Lys	Phe	Leu			
				260					265					270					
	His	Ser	Ala	Lys	Lys	Phe	Gly	Lys	Ala	Phe	Val	Gly	Glu	Ile	Met	Asn			
			275					280					285						
	Ser	Lys	Arg	Asp	Ala	Glu	Ala	Val	Asp	Asp	Arg	Arg	Trp	Val	Glu				
		290					295					300							

<210> 5
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Tachypleus gigas

5

<400>5

Lys	Trp	Cys	Phe	Arg	Val	Cys	Tyr	Arg	Gly	Ile	Cys	Tyr	Arg	Arg	Cys
1				5					10					15	

10

Arg

<210> 6
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Tachypleus gigas

15

<400>6

Arg	Trp	Cys	Phe	Arg	Val	Cys	Tyr	Arg	Gly	Ile	Cys	Tyr	Arg	Lys	Cys
1				5					10					15	

20

Arg

<210> 7

ES 2 904 352 T3

<211> 129
 <212> PRT
 <213> Bufo gagarizans

5 <400>7

Met Ser Gly Arg Gly Lys Gln Gly Gly Lys Val Arg Ala Lys Ala Lys
 1 5 10 15
 Thr Arg Ser Ser Arg Ala Gly Leu Gln Phe Pro Val Gly Arg Val His
 20 25 30
 Arg Leu Leu Arg Lys Gly Asn Tyr Ala Gln Arg Val Gly Ala Gly Ala
 35 40 45
 Pro Val Tyr Leu Ala Ala Val Leu Glu Tyr Leu Thr Ala Glu Ile Leu
 50 55 60
 Glu Leu Ala Gly Asn Ala Ala Arg Asp Asn Lys Lys Thr Arg Ile Ile
 65 70 75 80
 Pro Arg His Leu Gln Leu Ala Val Arg Asn Asp Glu Glu Leu Asn Lys
 85 90 95
 Leu Leu Gly Gly Val Thr Ile Ala Gln Gly Gly Val Leu Pro Asn Ile
 100 105 110
 Gln Ala Val Leu Leu Pro Lys Thr Glu Ser Ser Lys Pro Ala Lys Ser
 115 120 125
 Lys

10 <210> 8
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Bufo bufo gagarizans

15 <400>8

Thr Arg Ser Ser Arg Ala Gly Leu Gln Phe Pro Val Gly Arg Val His
 1 5 10 15
 Arg Leu Leu Arg Lys
 20

20 <210> 9
 <211> 63
 <212> PRT
 <213> Bombyx mori

25 <400>9

ES 2 904 352 T3

Met Asn Phe Val Arg Ile Leu Ser Phe Val Phe Ala Leu Val Leu Ala
 1 5 10 15

Leu Gly Ala Val Ser Ala Ala Pro Glu Pro Arg Trp Lys Leu Phe Lys
 20 25 30

Lys Ile Glu Lys Val Gly Arg Asn Val Arg Asp Gly Leu Ile Lys Ala
 35 40 45

Gly Pro Ala Ile Ala Val Ile Gly Gln Ala Lys Ser Leu Gly Lys
 50 55 60

5
 <210> 10
 <211> 63
 <212> PRT
 <213> Bombyx mori

10
 <400>10

Met Asn Phe Ala Lys Ile Leu Ser Phe Val Phe Ala Leu Val Leu Ala
 1 5 10 15

Leu Ser Met Thr Ser Ala Ala Pro Glu Pro Arg Trp Lys Ile Phe Lys
 20 25 30

Lys Ile Glu Lys Met Gly Arg Asn Ile Arg Asp Gly Ile Val Lys Ala
 35 40 45

Gly Pro Ala Ile Glu Val Leu Gly Ser Ala Lys Ala Ile Gly Lys
 50 55 60

15
 <210> 11
 <211> 63
 <212> PRT
 <213> Drosophila melanogaster

20
 <400>11

Met Asn Phe Tyr Lys Ile Phe Val Phe Val Ala Leu Ile Leu Ala Ile
 1 5 10 15

Ser Ile Gly Gln Ser Glu Ala Gly Trp Leu Lys Lys Leu Gly Lys Arg
 20 25 30

Ile Glu Arg Ile Gly Gln His Thr Arg Asp Ala Thr Ile Gln Gly Leu
 35 40 45

Gly Ile Ala Gln Gln Ala Ala Asn Val Ala Ala Thr Ala Arg Gly
 50 55 60

25
 <210> 12
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Sus scrofa

<400>12

ES 2 904 352 T3

Ser Trp Leu Ser Lys Thr Ala Lys Lys Leu Glu Asn Ser Ala Lys Lys
 1 5 10 15

Arg Ile Ser Glu Gly Ile Ala Ile Ala Ile Gln Gly Gly Pro Arg
 20 25 30

5 <210> 13
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

10 <400>13

Ile Leu Pro Trp Lys Trp Pro Trp Trp Pro Trp Arg Arg
 1 5 10

15 <210> 14
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Lactococcus lactis

<400>14

Ile Thr Ser Ile Ser Leu Cys Thr Pro Gly Cys Lys Thr Gly Ala Leu
 1 5 10 15

20 Met Gly Cys Asn Met Lys Thr Ala Thr Cys His Cys Ser Ile His Val
 20 25 30

Ser Lys

25 <210> 15
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Rana catesbeiana

30 <400>15

Phe Leu Gly Gly Leu Ile Lys Ile Val Pro Ala Met Ile Cys Ala Val
 1 5 10 15

Thr Lys Lys Cys
 20

35 <210> 16
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400>16

Phe Lys Cys Arg Arg Trp Gln Trp Arg Met Lys Lys Leu Gly Ala Pro
 1 5 10 15

40 Ser Ile Thr Cys Val Arg Arg Ala Phe
 20 25

45 <210> 17
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Sus scrofa

<220>
 <221> características_misc
 <222> (19)..(19)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

5

<400>17

Arg Gly Gly Arg Leu Cys Tyr Cys Arg Arg Arg Phe Cys Val Cys Val
 1 5 10 15
 Gly Arg Xaa

10

<210> 18
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Sus scrofa

15

<400>18

Gly Gly Arg Leu Cys Tyr Cys Arg Arg Arg Phe Cys Ile Cys Val Gly
 1 5 10 15

20

<210> 19
 <211> 51
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25

<400>19

Met Lys Phe Phe Val Phe Ala Leu Ile Leu Ala Leu Met Leu Ser Met
 1 5 10 15
 Thr Gly Ala Asp Ser His Ala Lys Arg His His Gly Tyr Lys Arg Lys
 20 25 30
 Phe His Glu Lys His His Ser His Arg Gly Tyr Arg Ser Asn Tyr Leu
 35 40 45
 Tyr Asp Asn
 50

30

<210> 20
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Macaca fascicularis

35

<400>20

Asp Ser His Glu Glu Arg His His Gly Arg His Gly His His Lys Tyr
 1 5 10 15
 Gly Arg Lys Phe His Glu Lys His His Ser His Arg Gly Tyr Arg Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Leu Tyr Asp Asn
 35

40

<210>21
 <211>33
 <212> PRT
 <213>Phyllomedusa sauvagei

ES 2 904 352 T3

<400>21

Ala Leu Trp Lys Thr Met Leu Lys Lys Leu Gly Thr Met Ala Leu His
1 5 10 15

Ala Gly Lys Ala Ala Leu Gly Ala Ala Ala Asp Thr Ile Ser Gln Thr
20 25 30

5 Gln

<210> 22

<211> 34

<212> PRT

10 <213> Phyllomedusa sauvagei

<400>22

Ala Leu Trp Phe Thr Met Leu Lys Lys Leu Gly Thr Met Ala Leu His
1 5 10 15

15 Ala Gly Lys Ala Ala Leu Gly Ala Ala Ala Asn Thr Ile Ser Gln Gly
20 25 30

Thr Gln

20

<210>23

<211>30

<212> PRT

25 <213>Phyllomedusa sauvagei

<400>23

Ala Leu Trp Lys Asn Met Leu Lys Gly Ile Gly Lys Leu Ala Gly Lys
1 5 10 15

Ala Ala Leu Gly Ala Val Lys Lys Leu Val Gly Ala Glu Ser
20 25 30

30 <210>24

<211>21

<212> PRT

<213>Misgurnus anguillicaudatus

35 <400> 24

Arg Gln Arg Val Glu Glu Leu Ser Lys Phe Ser Lys Lys Gly Ala Ala
1 5 10 15

Ala Arg Arg Arg Lys
20

<210>25

40 <211>27

<212> PRT

<213>Apis mellifera

<400>25

45 Gly Ile Gly Ala Val Leu Lys Val Leu Thr Thr Gly Leu Pro Ala Leu
1 5 10 15

Ile Ser Trp Ile Ser Arg Lys Lys Arg Gln Gln
20 25

ES 2 904 352 T3

<210> 26
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Pardachirus pavoninus

5

<400>26

Gly Phe Phe Ala Leu Ile Pro Lys Ile Ile Ser Ser Pro Leu Phe Lys
 1 5 10 15
 Thr Leu Leu Ser Ala Val Gly Ser Ala Leu Ser Ser Ser Gly Glu Gln
 20 25 30

10

Glu

<210> 27
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Pardachirus pavoninus

15

<400>27

Gly Phe Phe Ala Leu Ile Pro Lys Ile Ile Ser Ser Pro Ile Phe Lys
 1 5 10 15
 Thr Leu Leu Ser Ala Val Gly Ser Ala Leu Ser Ser Ser Gly Gly Gln
 20 25 30

20

Glu

<210> 28
 <211> 176
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

25

<400>28

Met Glu Thr Gln Arg Ala Ser Leu Ser Leu Gly Arg Cys Ser Leu Trp
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Leu Gly Leu Val Leu Pro Ser Ala Ser Ala Gln Ala Leu
 20 25 30
 Ser Tyr Arg Glu Ala Val Leu Arg Ala Val Asp Gln Phe Asn Glu Arg
 35 40 45
 Ser Ser Glu Ala Asn Leu Tyr Arg Leu Leu Glu Leu Asp Pro Thr Pro
 50 55 60
 Asn Asp Asp Leu Asp Pro Gly Thr Arg Lys Pro Val Ser Phe Arg Val
 65 70 75 80
 Lys Glu Thr Asp Cys Pro Arg Thr Ser Gln Gln Pro Leu Glu Gln Cys
 85 90 95
 Asp Phe Lys Glu Asn Gly Leu Val Lys Gln Cys Val Gly Thr Val Thr
 100 105 110

30

ES 2 904 352 T3

Leu Asp Pro Ser Asn Asp Gln Phe Asp Ile Asn Cys Asn Glu Leu Gln
 115 120 125

Ser Val Arg Phe Arg Pro Pro Ile Arg Arg Pro Pro Ile Arg Pro Pro
 130 135 140

Phe Tyr Pro Pro Phe Arg Pro Pro Ile Arg Pro Pro Ile Phe Pro Pro
 145 150 155 160

Ile Arg Pro Pro Phe Arg Pro Pro Leu Gly Pro Phe Pro Gly Arg Arg
 165 170 175

<210> 29
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

5

<400>29

10

Met Glu Thr Pro Arg Ala Ser Leu Ser Leu Gly Arg Trp Ser Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Gly Leu Ala Leu Pro Ser Ala Ser Ala Gln Ala Leu
 20 25 30

Ser Tyr Arg Glu Ala Val Leu Arg Ala Val Asp Gln Leu Asn Glu Gln
 35 40 45

Ser Ser Glu Pro Asn Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Leu Asp Gln Pro Pro
 50 55 60

Gln Asp Asp Glu Asp Pro Asp Ser Pro Lys Arg Val Ser Phe Arg Val
 65 70 75 80

Lys Glu Thr Val Cys Ser Arg Thr Thr Gln Gln Pro Pro Glu Gln Cys
 85 90 95

Asp Phe Lys Glu Asn Gly Leu Leu Lys Arg Cys Glu Gly Thr Val Thr
 100 105 110

Leu Asp Gln Val Arg Gly Asn Phe Asp Ile Thr Cys Asn Asn His Gln
 115 120 125

Ser Ile Arg Ile Thr Lys Gln Pro Trp Ala Pro Pro Gln Ala Ala Arg
 130 135 140

Leu Cys Arg Ile Val Val Ile Arg Val Cys Arg
 145 150 155

<210> 30
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Ceratitidis capitata

15

<400>30

ES 2 904 352 T3

Ser Ile Gly Ser Ala Leu Lys Lys Ala Leu Pro Val Ala Lys Lys Ile
 1 5 10 15

Gly Lys Ile Ala Leu Pro Ile Ala Lys Ala Ala Leu Pro
 20 25

5 <210> 31
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Ceratitis capitata

10 <400>31

Ser Ile Gly Ser Ala Phe Lys Lys Ala Leu Pro Val Ala Lys Lys Ile
 1 5 10 15

Gly Lys Ala Ala Leu Pro Ile Ala Lys Ala Ala Leu Pro
 20 25

15 <210> 32
 <211> 170
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400>32

Met Lys Thr Gln Arg Asn Gly His Ser Leu Gly Arg Trp Ser Leu Val
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Gly Leu Val Met Pro Leu Ala Ile Ile Ala Gln Val
 20 25 30

Leu Ser Tyr Lys Glu Ala Val Leu Arg Ala Ile Asp Gly Ile Asn Gln
 35 40 45

Arg Ser Ser Asp Ala Asn Leu Tyr Arg Leu Leu Asp Leu Asp Pro Arg
 50 55 60

Pro Thr Met Asp Gly Asp Pro Asp Thr Pro Lys Pro Val Ser Phe Thr
 65 70 75 80

Val Lys Glu Thr Val Cys Pro Arg Thr Thr Gln Gln Ser Pro Glu Asp
 85 90 95

20 Cys Asp Phe Lys Lys Asp Gly Leu Val Lys Arg Cys Met Gly Thr Val

ES 2 904 352 T3

100 105 110

Thr Leu Asn Gln Ala Arg Gly Ser Phe Asp Ile Ser Cys Asp Lys Asp
115 120 125

Asn Lys Arg Phe Ala Leu Leu Gly Asp Phe Phe Arg Lys Ser Lys Glu
130 135 140

Lys Ile Gly Lys Glu Phe Lys Arg Ile Val Gln Arg Ile Lys Asp Phe
145 150 155 160

Leu Arg Asn Leu Val Pro Arg Thr Glu Ser
165 170

<210>33
<211>170
<212> PRT
<213>Equus caballus

5

<400>33

10

Met Glu Thr Gln Arg Asn Thr Arg Cys Leu Gly Arg Trp Ser Pro Leu
1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Gly Leu Val Ile Pro Pro Ala Thr Thr Gln Ala Leu
20 25 30

Ser Tyr Lys Glu Ala Val Leu Arg Ala Val Asp Gly Leu Asn Gln Arg
35 40 45

Ser Ser Asp Glu Asn Leu Tyr Arg Leu Leu Glu Leu Asp Pro Leu Pro
50 55 60

Lys Gly Asp Lys Asp Ser Asp Thr Pro Lys Pro Val Ser Phe Met Val
65 70 75 80

Lys Glu Thr Val Cys Pro Arg Ile Met Lys Gln Thr Pro Glu Gln Cys
85 90 95

Asp Phe Lys Glu Asn Gly Leu Val Lys Gln Cys Val Gly Thr Val Ile
100 105 110

Leu Asp Pro Val Lys Asp Tyr Phe Asp Ala Ser Cys Asp Glu Pro Gln
115 120 125

Arg Val Lys Arg Phe His Ser Val Gly Ser Leu Ile Gln Arg His Gln
130 135 140

Gln Met Ile Arg Asp Lys Ser Glu Ala Thr Arg His Gly Ile Arg Ile
145 150 155 160

Ile Thr Arg Pro Lys Leu Leu Leu Ala Ser
165 170

ES 2 904 352 T3

<210> 34
 <211> 159
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

5

<400>34

```

Met Glu Thr Gln Arg Ala Ser Leu Ser Leu Gly Arg Trp Ser Leu Trp
 1                               5                               10                               15

Leu Leu Leu Leu Gly Leu Ala Leu Pro Ser Ala Ser Ala Gln Ala Leu
 20                               25                               30

Ser Tyr Arg Glu Ala Val Leu Arg Ala Val Asp Gln Leu Asn Glu Lys
 35                               40                               45

Ser Ser Glu Ala Asn Leu Tyr Arg Leu Leu Glu Leu Asp Pro Pro Pro
 50                               55                               60

Lys Glu Asp Asp Glu Asn Pro Asn Ile Pro Lys Pro Val Ser Phe Arg
 65                               70                               75                               80

Val Lys Glu Thr Val Cys Pro Arg Thr Ser Gln Gln Ser Pro Glu Gln
 85                               90                               95

Cys Asp Phe Lys Glu Asn Gly Leu Leu Lys Glu Cys Val Gly Thr Val
 100                              105                              110

Thr Leu Asp Gln Val Gly Ser Asn Phe Asp Ile Thr Cys Ala Val Pro
 115                              120

Gln Ser Val Gly Gly Leu Arg Ser Leu Gly Arg Lys Ile Leu Arg Ala
 130                              135                              140

Trp Lys Lys Tyr Gly Pro Ile Ile Val Pro Ile Ile Arg Ile Gly
 145                              150                              155
    
```

10

<210>35
 <211>156
 <212> PRT
 <213>Equus caballus

15

<400>35

```

Met Glu Thr Gln Arg Asn Thr Arg Cys Leu Gly Arg Trp Ser Pro Leu
 1                               5                               10                               15
    
```

ES 2 904 352 T3

Leu Leu Leu Leu Gly Leu Val Ile Pro Pro Ala Thr Thr Gln Ala Leu
 20 25 30

Ser Tyr Lys Glu Ala Val Leu Arg Ala Val Asp Gly Leu Asn Gln Arg
 35 40 45

Ser Ser Asp Glu Asn Leu Tyr Arg Leu Leu Glu Leu Asp Pro Leu Pro
 50 55 60

Lys Gly Asp Lys Asp Ser Asp Thr Pro Lys Pro Val Ser Phe Met Val
 65 70 75 80

Lys Glu Thr Val Cys Pro Arg Ile Met Lys Gln Thr Pro Glu Gln Cys
 85 90 95

Asp Phe Lys Glu Asn Gly Leu Val Lys Gln Cys Val Gly Thr Val Ile
 100 105 110

Leu Gly Pro Val Lys Asp His Phe Asp Val Ser Cys Gly Glu Pro Gln
 115 120 125

Arg Val Lys Arg Phe Gly Arg Leu Ala Lys Ser Phe Leu Arg Met Arg
 130 135 140

Ile Leu Leu Pro Arg Arg Lys Ile Leu Leu Ala Ser
 145 150 155

5 <210> 36
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> Ovis aries

10 <400>36

Met Glu Thr Gln Arg Ala Ser Leu Ser Leu Gly Arg Cys Ser Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Gly Leu Ala Leu Pro Ser Ala Ser Ala Gln Val Leu
 20 25 30

Ser Tyr Arg Glu Ala Val Leu Arg Ala Ala Asp Gln Leu Asn Glu Lys
 35 40 45

Ser Ser Glu Ala Asn Leu Tyr Arg Leu Leu Glu Leu Asp Pro Pro Pro
 50 55 60

Lys Gln Asp Asp Glu Asn Ser Asn Ile Pro Lys Pro Val Ser Phe Arg
 65 70 75 80

ES 2 904 352 T3

Val Lys Glu Thr Val Cys Pro Arg Thr Ser Gln Gln Pro Ala Glu Gln
85 90 95

Cys Asp Phe Lys Glu Asn Gly Leu Leu Lys Glu Cys Val Gly Thr Val
100 105 110

Thr Leu Asp Gln Val Arg Asn Asn Phe Asp Ile Thr Cys Ala Glu Pro
115 120 125

Gln Ser Val Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Ala His Gly
130 135 140

Val Lys Lys Tyr Gly Pro Thr Val Leu Arg Ile Ile Arg Ile Ala Gly
145 150 155 160

<210> 37
<211> 12
<212> PRT
<213> Bos taurus

5

<400>37

Arg Leu Cys Arg Ile Val Val Ile Arg Val Cys Arg
1 5 10

10

<210>38
<211>30
<212> PRT
<213>Homo sapiens

15

<400>38

Ala Cys Tyr Cys Arg Ile Pro Ala Cys Ile Ala Gly Glu Arg Arg Tyr
1 5 10 15

Gly Thr Cys Ile Tyr Gln Gly Arg Leu Trp Ala Phe Cys Cys
20 25 30

20

<210> 39
<211> 29
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25

<400>39

Cys Tyr Cys Arg Ile Pro Ala Cys Ile Ala Gly Glu Arg Arg Tyr Gly
1 5 10 15

Thr Cys Ile Tyr Gln Gly Arg Leu Trp Ala Phe Cys Cys
20 25

30

<210>40
<211>30
<212> PRT
<213>Homo sapiens

35

<400> 40

ES 2 904 352 T3

Asp Cys Tyr Cys Arg Ile Pro Ala Cys Ile Ala Gly Glu Arg Arg Tyr
 1 5 10 15

Gly Thr Cys Ile Tyr Gln Gly Arg Leu Trp Ala Phe Cys Cys
 20 25 30

5 <210>41
 <211>33
 <212> **PRT**
 <213>Homo sapiens

10 <400> 41

Val Cys Ser Cys Arg Leu Val Phe Cys Arg Arg Thr Glu Leu Arg Val
 1 5 10 15

Gly Asn Cys Leu Ile Gly Gly Val Ser Phe Thr Tyr Cys Cys Thr Arg
 20 25 30

Val

15 <210>42
 <211>33
 <212> **PRT**
 <213>Oryctolagus cuniculus

20 <400> 42

Val Val Cys Ala Cys Arg Arg Ala Leu Cys Leu Pro Arg Glu Arg Arg
 1 5 10 15

Ala Gly Phe Cys Arg Ile Arg Gly Arg Ile His Pro Leu Cys Cys Arg
 20 25 30

Arg

25 <210>43
 <211>33
 <212> **PRT**
 <213>Oryctolagus cuniculus

30 <400>43

Val Val Cys Ala Cys Arg Arg Ala Leu Cys Leu Pro Leu Glu Arg Arg
 1 5 10 15

Ala Gly Phe Cys Arg Ile Arg Gly Arg Ile His Pro Leu Cys Cys Arg
 20 25 30

Arg

35 <210> 44
 <211>34
 <212> **PRT**
 <213>Oryctolagus cuniculus

40 <400> 44

Gly Ile Cys Ala Cys Arg Arg Arg Phe Cys Pro Asn Ser Glu Arg Phe
 1 5 10 15

Ser Gly Tyr Cys Arg Val Asn Gly Ala Arg Tyr Val Arg Cys Cys Ser
 20 25 30

45 Arg Arg

<210>45
 <211>34
 <212> **PRT**
 5 <213>Oryctolagus cuniculus

 <400> **45**

 Gly Arg Cys Val Cys Arg Lys Gln Leu Leu Cys Ser Tyr Arg Glu Arg
 1 5 10 15

 Arg Ile Gly Asp Cys Lys Ile Arg Gly Val Arg Phe Pro Phe Cys Cys
 20 25 30
 10
Pro Arg

 <210>46
 <211>34
 15 <212> **PRT**
 <213>Oryctolagus cuniculus

 <400> **46**

 Val Ser Cys Thr Cys Arg Arg Phe Ser Cys Gly Phe Gly Glu Arg Ala
 1 5 10 15

 Ser Gly Ser Cys Thr Val Asn Gly Gly Val Arg His Thr Leu Cys Cys
 20 25 30

 Arg Arg
 20

 <210>47
 <211>33
 <212> **PRT**
 25 <213>Oryctolagus cuniculus

 <400> **47**

 Val Phe Cys Thr Cys Arg Gly Phe Leu Cys Gly Ser Gly Glu Arg Ala
 1 5 10 15

 Ser Gly Ser Cys Thr Ile Asn Gly Val Arg His Thr Leu Cys Cys Arg
 20 25 30
 30
 Arg

 <210> 48
 <211> 32
 35 <212> **PRT**
 <213> Rattus norvegicus
 <400>48

 Val Thr Cys Tyr Cys Arg Arg Thr Arg Cys Gly Phe Arg Glu Arg Leu
 1 5 10 15

 Ser Gly Ala Cys Gly Tyr Arg Gly Arg Ile Tyr Arg Leu Cys Cys Arg
 20 25 30
 40

 <210>49
 <211>30
 <212> **PRT**
 45 <213>Rattus norvegicus

ES 2 904 352 T3

<400> 49

Cys Ser Cys Arg Tyr Ser Ser Cys Arg Phe Gly Glu Arg Leu Leu Ser
1 5 10 15

Gly Ala Cys Arg Leu Asn Gly Arg Ile Tyr Arg Leu Cys Cys
20 25 30

5 <210> 50
<211> 31
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

10 <400>50

Ala Cys Thr Cys Arg Ile Gly Ala Cys Val Ser Gly Glu Arg Leu Thr
1 5 10 15

Gly Ala Cys Gly Leu Asn Gly Arg Ile Tyr Arg Leu Cys Cys Arg
20 25 30

15 <210> 51
<211> 31
<212> PRT
<213> Conejillo de Indias

20 <400>51

Arg Arg Cys Ile Cys Thr Thr Arg Thr Cys Arg Phe Pro Tyr Arg Arg
1 5 10 15

Leu Gly Thr Cys Ile Phe Gln Asn Arg Val Tyr Thr Phe Cys Cys
20 25 30

25 <210> 52
<211> 67
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30 <400>52

Met Arg Ile His Tyr Leu Leu Phe Ala Leu Leu Phe Leu Phe Leu Val
1 5 10 15

Pro Val Pro Gly His Gly Gly Ile Ile Asn Thr Leu Gln Lys Tyr Tyr
20 25 30

Cys Arg Val Arg Gly Gly Arg Cys Ala Val Leu Ser Cys Leu Pro Lys
35 40 45

Glu Glu Gln Ile Gly Lys Cys Ser Thr Arg Gly Arg Lys Cys Cys Arg
50 55 60

Arg Lys Lys
65

35 <210> 53
<211> 18
<212> PRT
<213> Macaca mulatta

<400>53

ES 2 904 352 T3

Arg Cys Ile Cys Thr Arg Gly Phe Cys Arg Cys Leu Cys Arg Arg Gly
 1 5 10 15

Val Cys

5 <210>54
 <211>78
 <212> PRT
 <213>Helianthus annuus

10 <400> 54

Met Lys Ser Ser Met Lys Met Phe Ala Ala Leu Leu Leu Val Val Met
 1 5 10 15

Cys Leu Leu Ala Asn Glu Met Gly Gly Pro Leu Val Val Glu Ala Arg
 20 25 30

Thr Cys Glu Ser Gln Ser His Lys Phe Lys Gly Thr Cys Leu Ser Asp
 35 40 45

Thr Asn Cys Ala Asn Val Cys His Ser Glu Arg Phe Ser Gly Gly Lys
 50 55 60

Cys Arg Gly Phe Arg Arg Arg Cys Phe Cys Thr Thr His Cys
 65 70 75

15 <210> 55
 <211> 78
 <212> PRT
 <213> Helianthus annuus

<400>55

Met Lys Ser Ser Met Lys Met Phe Ala Ala Leu Leu Leu Val Val Met
 1 5 10 15

Cys Leu Leu Ala Asn Glu Met Gly Gly Pro Leu Val Val Glu Ala Arg
 20 25 30

Thr Cys Glu Ser Gln Ser His Lys Phe Lys Gly Thr Cys Leu Ser Asp
 35 40 45

Thr Asn Cys Ala Asn Val Cys His Ser Glu Arg Phe Ser Gly Gly Lys
 50 55 60

Cys Arg Gly Phe Arg Arg Arg Cys Phe Cys Thr Thr His Cys
 65 70 75

20 <210>56
 <211>30
 <212> PRT
 25 <213>Macaca mulatta

<400>56

Ala Cys Tyr Cys Arg Ile Pro Ala Cys Leu Ala Gly Glu Arg Arg Tyr
 1 5 10 15

ES 2 904 352 T3

Gly Thr Cys Phe Tyr Met Gly Arg Val Trp Ala Phe Cys Cys
 20 25 30

5 <210> 57
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Androctonus australis hector

10 <400>57
 Gly Phe Gly Cys Pro Phe Asn Gln Gly Ala Cys His Arg His Cys Arg
 1 5 10 15
 Ser Ile Arg Arg Arg Gly Gly Tyr Cys Ala Gly Leu Phe Lys Gln Thr
 20 25 30
 Cys Thr Cys Tyr Arg
 35

15 <210> 58
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Mytilus galloprovincialis

20 <220>
 <221> características_misc
 <222> (28)..(28)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400>58
 Gly Phe Gly Cys Pro Asn Asn Tyr Gln Cys His Arg His Cys Lys Ser
 1 5 10 15
 Ile Pro Gly Arg Cys Gly Gly Tyr Cys Gly Gly Xaa His Arg Leu Arg
 20 25 30
 Cys Thr Cys Tyr Arg Cys
 35

25 <210>59
 <211>54
 <212> **PRT**
 <213>Heuchera sanguinea

30 <400>59
 Asp Gly Val Lys Leu Cys Asp Val Pro Ser Gly Thr Trp Ser Gly His
 1 5 10 15
 Cys Gly Ser Ser Ser Lys Cys Ser Gln Gln Cys Lys Asp Arg Glu His
 20 25 30
 Phe Ala Tyr Gly Gly Ala Cys His Tyr Gln Phe Pro Ser Val Lys Cys
 35 40 45
 Phe Cys Lys Arg Gln Cys
 50

<210> 60
 <211> 49

ES 2 904 352 T3

<212> PRT
<213> Clitoria ternatea

<400>60

5

Asn Leu Cys Glu Arg Ala Ser Leu Thr Trp Thr Gly Asn Cys Gly Asn
1 5 10 15
Thr Gly His Cys Asp Thr Gln Cys Arg Asn Trp Glu Ser Ala Lys His
20 25 30
Gly Ala Cys His Lys Arg Gly Asn Trp Lys Cys Phe Cys Tyr Phe Asn
35 40 45

Cys

10

<210> 61
<211> 91
<212> PRT
<213> Mus musculus

15

<400>61

Met Lys Lys Leu Val Leu Leu Phe Ala Leu Val Leu Leu Ala Phe Gln
1 5 10 15
Val Gln Ala Asp Ser Ile Gln Asn Thr Asp Glu Glu Thr Lys Thr Glu
20 25 30
Glu Gln Pro Gly Glu Lys Asp Gln Ala Val Ser Val Ser Phe Gly Asp
35 40 45
Pro Gln Gly Ser Ala Leu Gln Asp Ala Ala Leu Gly Trp Gly Arg Arg
50 55 60
Cys Pro Gln Cys Pro Arg Cys Pro Ser Cys Pro Ser Cys Pro Arg Cys
65 70 75 80
Pro Arg Cys Pro Arg Cys Lys Cys Asn Pro Lys
85 90

20

<210> 62
<211> 40
<212> PRT
<213> Bos taurus

<400>62

25

Gln Gly Val Arg Asn Phe Val Thr Cys Arg Ile Asn Arg Gly Phe Cys
1 5 10 15
Val Pro Ile Arg Cys Pro Gly His Arg Arg Gln Ile Gly Thr Cys Leu
20 25 30
Gly Pro Gln Ile Lys Cys Cys Arg
35 40

30

<210> 63
<211> 40
<212> PRT

ES 2 904 352 T3

<213> Bos taurus

<400>63

Gln Gly Val Arg Asn Phe Val Thr Cys Arg Ile Asn Arg Gly Phe Cys
1 5 10 15

Val Pro Ile Arg Cys Pro Gly His Arg Arg Gln Ile Gly Thr Cys Leu
20 25 30

Gly Pro Arg Ile Lys Cys Cys Arg
35 40

5

<210> 64

<211> 42

<212> PRT

<213> Bos taurus

10

<400>64

Gln Gly Val Arg Asn His Val Thr Cys Arg Ile Tyr Gly Gly Phe Cys
1 5 10 15

Val Pro Ile Arg Cys Pro Gly Arg Thr Arg Gln Ile Gly Thr Cys Phe
20 25 30

Gly Arg Pro Val Lys Cys Cys Arg Arg Trp
35 40

15

<210> 65

<211> 40

<212> PRT

<213> Bos taurus

20

<400>65

Gln Val Val Arg Asn Pro Gln Ser Cys Arg Trp Asn Met Gly Val Cys
1 5 10 15

Ile Pro Ile Ser Cys Pro Gly Asn Met Arg Gln Ile Gly Thr Cys Phe
20 25 30

Gly Pro Arg Val Pro Cys Cys Arg
35 40

25

<210> 66

<211> 41

<212> PRT

<213> Bos taurus

30

<400>66

Gln Arg Val Arg Asn Pro Gln Ser Cys Arg Trp Asn Met Gly Val Cys
1 5 10 15

Ile Pro Phe Leu Cys Arg Val Gly Met Arg Gln Ile Gly Thr Cys Phe
20 25 30

Gly Pro Arg Val Pro Cys Cys Arg Arg
35 40

ES 2 904 352 T3

5 <210> 67
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Bos taurus
 <400>67

Gln Gly Val Arg Asn His Val Thr Cys Arg Ile Asn Arg Gly Phe Cys
 1 5 10 15

Val Pro Ile Arg Cys Pro Gly Arg Thr Arg Gln Ile Gly Thr Cys Phe
 20 25 30

Gly Pro Arg Ile Lys Cys Cys Arg Ser Trp
 35 40

10 <210> 68
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Bos taurus
 15 <400>68

Gln Gly Val Arg Ser Tyr Leu Ser Cys Trp Gly Asn Arg Gly Ile Cys
 1 5 10 15

Leu Leu Asn Arg Cys Pro Gly Arg Met Arg Gln Ile Gly Thr Cys Leu
 20 25 30

Ala Pro Arg Val Lys Cys Cys Arg
 35 40

20 <210> 69
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Bos taurus
 25 <400>69

Ser Gly Ile Ser Gly Pro Leu Ser Cys Gly Arg Asn Gly Gly Val Cys
 1 5 10 15

Ile Pro Ile Arg Cys Pro Val Pro Met Arg Gln Ile Gly Thr Cys Phe
 20 25 30

Gly Arg Pro Val Lys Cys Cys Arg Ser Trp
 35 40

30 <210> 70
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Bos taurus
 35 <400>70

ES 2 904 352 T3

Asp Phe Ala Ser Cys His Thr Asn Gly Gly Ile Cys Leu Pro Asn Arg
 1 5 10 15

Cys Pro Gly His Met Ile Gln Ile Gly Ile Cys Phe Arg Pro Arg Val
 20 25 30

Lys Cys Cys Arg Ser Trp
 35

5
 <210>71
 <211>74
 <212> PRT
 <213>Zophobas atratus

10
 <400>71

Ser Leu Gln Gly Gly Ala Pro Asn Phe Pro Gln Pro Ser Gln Gln Asn
 1 5 10 15

Gly Gly Trp Gln Val Ser Pro Asp Leu Gly Arg Asp Asp Lys Gly Asn
 20 25 30

Thr Arg Gly Gln Ile Glu Ile Gln Asn Lys Gly Lys Asp His Asp Phe
 35 40 45

Asn Ala Gly Trp Gly Lys Val Ile Arg Gly Pro Asn Lys Ala Lys Pro
 50 55 60

Thr Trp His Val Gly Gly Thr Tyr Arg Arg
 65 70

15
 <210> 72
 <211> 67
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20
 <400>72

Met Arg Ile His Tyr Leu Leu Phe Ala Leu Leu Phe Leu Phe Leu Val
 1 5 10 15

Pro Val Pro Gly His Gly Gly Ile Ile Asn Thr Leu Gln Lys Tyr Tyr
 20 25 30

Cys Arg Val Arg Gly Gly Arg Cys Ala Val Leu Ser Cys Leu Pro Lys
 35 40 45

Glu Glu Gln Ile Gly Lys Cys Ser Thr Arg Gly Arg Lys Cys Cys Arg
 50 55 60

Arg Lys Lys
 65

25
 <210>73
 <211>40
 <212> PRT
 <213>Aedes aegypti

<400>73

ES 2 904 352 T3

Ala Thr Cys Asp Leu Leu Ser Gly Phe Gly Val Gly Asp Ser Ala Cys
 1 5 10 15

Ala Ala His Cys Ile Ala Arg Gly Asn Arg Gly Gly Tyr Cys Asn Ser
 20 25 30

Lys Lys Val Cys Val Cys Arg Asn
 35 40

5 <210>74
 <211>35
 <212> PRT
 <213>Mytilus edulis

10 <220>
 <221> características_misc
 <222> (28)..(28)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

15 <400>74
 Gly Phe Gly Cys Pro Asn Asp Tyr Pro Cys His Arg His Cys Lys Ser
 1 5 10 15

Ile Pro Gly Arg Tyr Gly Gly Tyr Cys Gly Gly Xaa His Arg Leu Arg
 20 25 30

Cys Thr Cys
 35

20 <210> 75
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Sarcophaga peregrina

<400>75
 Ala Thr Cys Asp Leu Leu Ser Gly Ile Gly Val Gln His Ser Ala Cys
 1 5 10 15

Ala Leu His Cys Val Phe Arg Gly Asn Arg Gly Gly Tyr Cys Thr Gly
 20 25 30

25 Lys Gly Ile Cys Val Cys Arg Asn
 35 40

30 <210> 76
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> Oryctolagus cuniculus

<400>76

ES 2 904 352 T3

Met Arg Thr Leu Ala Leu Leu Ala Ala Ile Leu Leu Val Ala Leu Gln
 1 5 10 15

Ala Gln Ala Glu His Val Ser Val Ser Ile Asp Glu Val Val Asp Gln
 20 25 30

Gln Pro Pro Gln Ala Glu Asp Gln Asp Val Ala Ile Tyr Val Lys Glu
 35 40 45

His Glu Ser Ser Ala Leu Glu Ala Leu Gly Val Lys Ala Gly Val Val
 50 55 60

Cys Ala Cys Arg Arg Ala Leu Cys Leu Pro Arg Glu Arg Arg Ala Gly
 65 70 75 80

Phe Cys Arg Ile Arg Gly Arg Ile His Pro Leu Cys Cys Arg Arg
 85 90 95

5

<210> 77
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10

<400>77

Met Lys Pro Leu Val Leu Leu Ser Ala Leu Val Leu Leu Ser Phe Gln
 1 5 10 15

Val Gln Ala Asp Pro Ile Gln Asn Thr Asp Glu Glu Thr Lys Thr Glu
 20 25 30

Glu Gln Ser Gly Glu Glu Asp Gln Ala Val Ser Val Ser Phe Gly Asp
 35 40 45

Arg Glu Gly Ala Ser Leu Gln Glu Glu Ser Leu Arg Asp Leu Val Cys
 50 55 60

Tyr Cys Arg Thr Arg Gly Cys Lys Arg Arg Glu Arg Met Asn Gly Thr
 65 70 75 80

Cys Arg Lys Gly His Leu Met Tyr Thr Leu Cys Cys
 85 90

15

<210> 78
 <211> 93
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

20

<400>78

ES 2 904 352 T3

Met Lys Thr Phe Val Leu Leu Ser Ala Leu Val Leu Leu Ala Phe Gln
1 5 10 15

Val Gln Ala Asp Pro Ile His Lys Thr Asp Glu Glu Thr Asn Thr Glu
20 25 30

Glu Gln Pro Gly Glu Glu Asp Gln Ala Val Ser Ile Ser Phe Gly Gly
35 40 45

Gln Glu Gly Ser Ala Leu His Glu Glu Leu Ser Lys Lys Leu Ile Cys
50 55 60

Tyr Cys Arg Ile Arg Gly Cys Lys Arg Arg Glu Arg Val Phe Gly Thr
65 70 75 80

Cys Arg Asn Leu Phe Leu Thr Phe Val Phe Cys Cys Ser
85 90

5 <210> 79
<211> 35
<212> PRT
<213> Mus musculus

10 <400>79

Leu Arg Asp Leu Val Cys Tyr Cys Arg Ala Arg Gly Cys Lys Gly Arg
1 5 10 15

Glu Arg Met Asn Gly Thr Cys Arg Lys Gly His Leu Leu Tyr Met Leu
20 25 30

Cys Cys Arg
35

15 <210> 80
<211> 43
<212> PRT
<213> Pyrrhocoris apterus

<400>80

Ala Thr Cys Asp Ile Leu Ser Phe Gln Ser Gln Trp Val Thr Pro Asn
1 5 10 15

His Ala Gly Cys Ala Leu His Cys Val Ile Lys Gly Tyr Lys Gly Gly
20 25 30

20 Gln Cys Lys Ile Thr Val Cys His Cys Arg Arg
35 40

25 <210> 81
<211> 32
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400>81

ES 2 904 352 T3

Val Thr Cys Tyr Cys Arg Ser Thr Arg Cys Gly Phe Arg Glu Arg Leu
1 5 10 15

Ser Gly Ala Cys Gly Tyr Arg Gly Arg Ile Tyr Arg Leu Cys Cys Arg
20 25 30

5 <210> 82
<211> 31
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

10 <400>82

Val Thr Cys Ser Cys Arg Thr Ser Ser Cys Arg Phe Gly Glu Arg Leu
1 5 10 15

Ser Gly Ala Cys Arg Leu Asn Gly Arg Ile Tyr Arg Leu Cys Cys
20 25 30

15 <210>83
<211>34
<212> **PRT**
<213>Oryctolagus cuniculus

20 <400>83

Gly Ile Cys Ala Cys Arg Arg Arg Phe Cys Leu Asn Phe Glu Gln Phe
1 5 10 15

Ser Gly Tyr Cys Arg Val Asn Gly Ala Arg Tyr Val Arg Cys Cys Ser
20 25 30

Arg Arg

25 <210>84
<211>64
<212> **PRT**
<213>Pan troglodytes

30 <400> 84

Met Arg Val Leu Tyr Leu Leu Phe Ser Phe Leu Phe Ile Phe Leu Met
1 5 10 15

Pro Leu Pro Gly Val Phe Gly Gly Ile Ser Asp Pro Val Thr Cys Leu
20 25 30

Lys Ser Gly Ala Ile Cys His Pro Val Phe Cys Pro Arg Arg Tyr Lys
35 40 45

Gln Ile Gly Thr Cys Gly Leu Pro Gly Thr Lys Cys Cys Lys Lys Pro
50 55 60

35 <210> 85
<211> 64
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400>85

ES 2 904 352 T3

Met Arg Val Leu Tyr Leu Leu Phe Ser Phe Leu Phe Ile Phe Leu Met
 1 5 10 15

Pro Leu Pro Gly Val Phe Gly Gly Ile Gly Asp Pro Val Thr Cys Leu
 20 25 30

Lys Ser Gly Ala Ile Cys His Pro Val Phe Cys Pro Arg Arg Tyr Lys
 35 40 45

Gln Ile Gly Thr Cys Gly Leu Pro Gly Thr Lys Cys Cys Lys Lys Pro
 50 55 60

5

<210> 86
 <211> 68
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400>86

Met Arg Thr Ser Tyr Leu Leu Leu Phe Thr Leu Cys Leu Leu Leu Ser
 1 5 10 15

Glu Met Ala Ser Gly Gly Asn Phe Leu Thr Gly Leu Gly His Arg Ser
 20 25 30

Asp His Tyr Asn Cys Val Ser Ser Gly Gly Gln Cys Leu Tyr Ser Ala
 35 40 45

Cys Pro Ile Phe Thr Lys Ile Gln Gly Thr Cys Tyr Arg Gly Lys Ala
 50 55 60

Lys Cys Cys Lys
 65

15

<210> 87
 <211> 64
 <212> PRT
 <213> Capra hircus

20

<400>87

Met Arg Leu His His Leu Leu Leu Val Leu Phe Phe Leu Val Leu Ser
 1 5 10 15

Ala Gly Ser Gly Phe Thr Gln Gly Ile Arg Ser Arg Arg Ser Cys His
 20 25 30

Arg Asn Lys Gly Val Cys Ala Leu Thr Arg Cys Pro Arg Asn Met Arg
 35 40 45

Gln Ile Gly Thr Cys Phe Gly Pro Pro Val Lys Cys Cys Arg Lys Lys
 50 55 60

25

<210>88
 <211>64
 <212> **PRT**
 <213>Capra hircus

<400>88

ES 2 904 352 T3

Met Arg Leu His His Leu Leu Leu Ala Leu Phe Phe Leu Val Leu Ser
 1 5 10 15

Ala Gly Ser Gly Phe Thr Gln Gly Ile Ile Asn His Arg Ser Cys Tyr
 20 25 30

Arg Asn Lys Gly Val Cys Ala Pro Ala Arg Cys Pro Arg Asn Met Arg
 35 40 45

Gln Ile Gly Thr Cys His Gly Pro Pro Val Lys Cys Cys Arg Lys Lys
 50 55 60

<210> 89
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> Macaca mulatta

5

<400>89

10

Met Arg Thr Leu Val Ile Leu Ala Ala Ile Leu Leu Val Ala Leu Gln
 1 5 10 15

Ala Gln Ala Glu Pro Leu Gln Ala Arg Thr Asp Glu Ala Thr Ala Ala
 20 25 30

Gln Glu Gln Ile Pro Thr Asp Asn Pro Glu Val Val Val Ser Leu Ala
 35 40 45

Trp Asp Glu Ser Leu Ala Pro Lys Asp Ser Val Pro Gly Leu Arg Lys
 50 55 60

Asn Met Ala Cys Tyr Cys Arg Ile Pro Ala Cys Leu Ala Gly Glu Arg
 65 70 75 80

Arg Tyr Gly Thr Cys Phe Tyr Arg Arg Arg Val Trp Ala Phe Cys Cys
 85 90 95

<210> 90
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> Macaca mulatta

15

<400>90

Met Arg Thr Leu Val Ile Leu Ala Ala Ile Leu Leu Val Ala Leu Gln
 1 5 10 15

Ala Gln Ala Glu Pro Leu Gln Ala Arg Thr Asp Glu Ala Thr Ala Ala
 20 25 30

20

ES 2 904 352 T3

Gln Glu Gln Ile Pro Thr Asp Asn Pro Glu Val Val Val Ser Leu Ala
 35 40 45

Trp Asp Glu Ser Leu Ala Pro Lys Asp Ser Val Pro Gly Leu Arg Lys
 50 55 60

Asn Met Ala Cys Tyr Cys Arg Ile Pro Ala Cys Leu Ala Gly Glu Arg
 65 70 75 80

Arg Tyr Gly Thr Cys Phe Tyr Leu Gly Arg Val Trp Ala Phe Cys Cys
 85 90 95

5 <210>91
 <211>33
 <212> PRT
 <213>Mesocricetus auratus

10 <400>91

Val Thr Cys Phe Cys Arg Arg Arg Gly Cys Ala Ser Arg Glu Arg His
 1 5 10 15

Ile Gly Tyr Cys Arg Phe Gly Asn Thr Ile Tyr Arg Leu Cys Cys Arg
 20 25 30

Arg

15 <210> 92
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Mesocricetus auratus

20 <400>92

Cys Phe Cys Lys Arg Pro Val Cys Asp Ser Gly Glu Thr Gln Ile Gly
 1 5 10 15

Tyr Cys Arg Leu Gly Asn Thr Phe Tyr Arg Leu Cys Cys Arg Gln
 20 25 30

25 <210>93
 <211>39
 <212> PRT
 <213>Gallus gallus

30 <400>93

Gly Arg Lys Ser Asp Cys Phe Arg Lys Asn Gly Phe Cys Ala Phe Leu
 1 5 10 15

Lys Cys Pro Tyr Leu Thr Leu Ile Ser Gly Lys Cys Ser Arg Phe His
 20 25 30

Leu Cys Cys Lys Arg Ile Trp
 35

35 <210>94
 <211>43
 <212> PRT
 <213>Allomyrina dichotoma

ES 2 904 352 T3

<400>94

Val Thr Cys Asp Leu Leu Ser Phe Glu Ala Lys Gly Phe Ala Ala Asn
1 5 10 15

His Ser Leu Cys Ala Ala His Cys Leu Ala Ile Gly Arg Arg Gly Gly
20 25 30

Ser Cys Glu Arg Gly Val Cys Ile Cys Arg Arg
35 40

5 <210> 95
<211> 31
<212> PRT
<213> Cavia porcellus

10 <400>95

Arg Arg Cys Ile Cys Thr Thr Arg Thr Cys Arg Phe Pro Tyr Arg Arg
1 5 10 15

Leu Gly Thr Cys Ile Phe Gln Asn Arg Val Tyr Thr Phe Cys Cys
20 25 30

15 <210> 96
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400>96

Lys Leu Ala Lys Lys Leu Ala
1 5

25 <210> 97
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220> <223> Synthetics

<400>97

Lys Leu Ala Lys Leu Ala Lys
1 5

35 <210> 98
<211> 21
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220> <223> Synthetics

<400>98

45 Lys Ala Leu Lys Ala Leu Lys Lys Ala Leu Lys Ala Leu Lys Lys Ala
1 5 10 15

Leu Lys Ala Leu Lys
20

ES 2 904 352 T3

5 <210> 99
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Sintéticos

10 <400>99

Lys Leu Gly Lys Lys Leu Gly
1 5

15 <210> 100
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Sintéticos

20 <400>100

Lys Ala Ala Lys Lys Ala Ala
1 5

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para fabricar una microlámina de matriz polimérica activa para heridas, comprendiendo el procedimiento los siguientes pasos:

- 5 a) formar una capa polimérica a nanoescala de un espesor de aproximadamente 0,5 nm y 1.000 nm sobre un sustrato;
 b) introducir un agente activo para heridas en dicha capa polimérica a nanoescala para proporcionar la capa polimérica a nanoescala activa para heridas; y
 10 c) formar la capa polimérica de sacrificio de un espesor de 0,1 μm a un espesor de 100 μm sobre dicha capa polimérica a nanoescala activa para heridas, en la que la capa polimérica de sacrificio es soluble.

2. El procedimiento de la reivindicación 1, que comprende además el paso

- 15 d) retirar del sustrato la microlámina de matriz de la capa polimérica a nanoescala que comprende la capa polimérica a nanoescala bioactiva y la capa polimérica de sacrificio asociada.

3. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicha capa polimérica a nanoescala activa para heridas es una multicapa polimérica.

- 20 4. El procedimiento de la reivindicación 3, en el que dicha multicapa polimérica está formada por capas alternas de al menos un polielectrolito cargado positivamente y al menos un polielectrolito cargado negativamente, en la que el al menos un polielectrolito cargado positivamente se selecciona preferentemente del grupo que consiste en poli(clorhidrato de alilamina) (PAH), polilisina (PLL), poli(imina de etileno) (PEI), poli(histidina), poli(N,N-dimetilaminoacrilato), poli (cloruro de N, N, N-trimetilaminoacrilato), poli(cloruro de metacrilamidopropiltrimetilamonio), y polisacáridos naturales o sintéticos tales como quitosano, y en el que el al menos un polielectrolito cargado
 25 negativamente se selecciona preferentemente del grupo que consiste en poli(ácido acrílico) (PAA), poli(estirenosulfonato) (PSS), alginato, ácido hialurónico, heparina, heparán sulfato, condroitín sulfato, dextrán sulfato, ácido poli(met)acrílico, celulosa oxidada, carboximetilcelulosa, ácido poliaspártico y ácido poliglutámico.

- 30 5. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicho agente activo para heridas se incorpora a dicha multicapa polimérica a nanoescala, de modo que dicho agente activo para heridas se intercala dentro de las capas de dicha multicapa polimérica a nanoescala.

- 35 6. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicho agente activo para la herida se selecciona del grupo que consiste en un agente antimicrobiano, un agente antibiopelícula, un factor de crecimiento, un agente hemostático, un péptido bioactivo, un polipéptido bioactivo, un analgésico, un anticoagulante, un agente antiinflamatorio y una molécula de fármaco o un compuesto de fármaco.

- 40 7. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que dicho agente antimicrobiano es un agente antimicrobiano de iones metálicos, cuyo agente antimicrobiano de iones metálicos se selecciona preferentemente del grupo que consiste en una nanopartícula de plata, o un agente antimicrobiano de molécula pequeña, cuyo agente antimicrobiano de molécula pequeña se selecciona preferentemente del grupo que consiste en plata, clorhexidina, antibióticos, polihexametileno biguanida (PHMB), yodo, yodo cadexómero, povidona yodada (PVI), peróxido de hidrógeno y vinagre (ácido acético).

- 45 8. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que dicho agente antibiopelícula se selecciona del grupo que consiste en agentes antibiopelícula de moléculas pequeñas, agentes antibiopelícula de moléculas pequeñas cargadas, polipéptidos antibiopelícula, enzimas antibiopelícula, partículas metálicas y agentes antibiopelícula de iones metálicos, cuyo agente antibiopelícula de iones metálicos es preferentemente un es un ion de galio, una sal de ion de galio, una nanopartícula de ion de galio, una aleación de galio o una aleación de galio y plata.

- 50 9. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicha capa polimérica de sacrificio comprende un agente activo para la herida seleccionado del grupo que consiste en un agente antimicrobiano, un agente antibiopelícula, un factor de crecimiento, un agente hemostático, un péptido bioactivo, un polipéptido bioactivo, un analgésico, un anticoagulante, un agente antiinflamatorio y una molécula de fármaco o un compuesto de fármaco.

- 55 10. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicho agente activo para heridas se proporciona en una cantidad tal que dicho agente activo para heridas en dicha capa polimérica a nanoescala se libera a una tasa de 0,01 a 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ por día.

- 60 11. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicha capa polimérica de sacrificio está formada por un polímero seleccionado del grupo que consiste en alcohol polivinílico (PVA), ácido poliacrílico (PAA).

12. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicha capa polimérica de sacrificio está formada por alcohol polivinílico (PVA).

13. El procedimiento de la reivindicación 3, en el que dicha multicapa polimérica está formada por capas alternas de al menos un polielectrolito cargado positivamente y al menos un polielectrolito cargado negativamente, en el que el al menos un polielectrolito cargado positivamente es poli(clorhidrato de alilamina) (PAH), y en el que el al menos un polielectrolito cargado negativamente es poli(ácido acrílico) (PAA).

5

14. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el sustrato se selecciona del grupo que consiste en un sustrato de polidimetilsiloxano (PDMS), un sustrato de vidrio, un sustrato de plástico, un sustrato de metal y un sustrato de teflón.

FIGURA 1

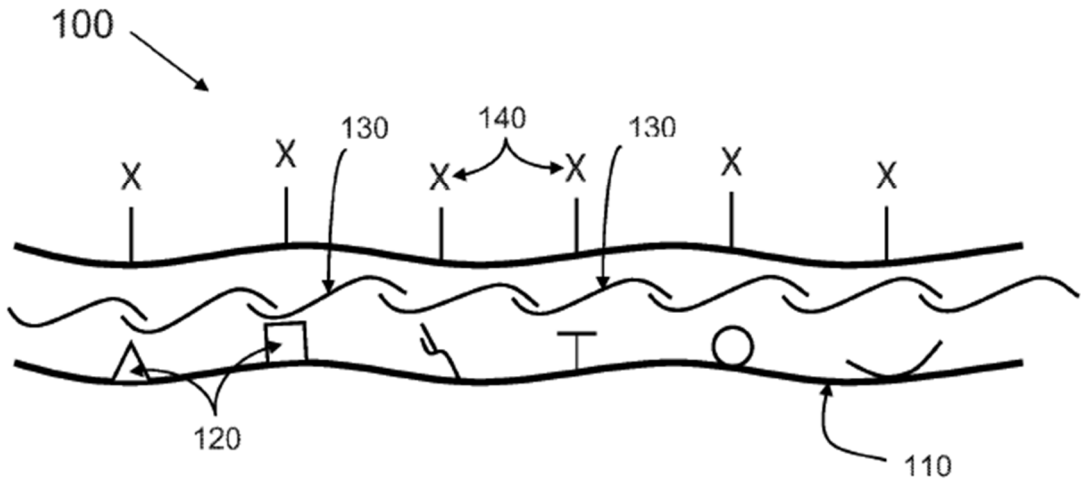


FIGURA 2

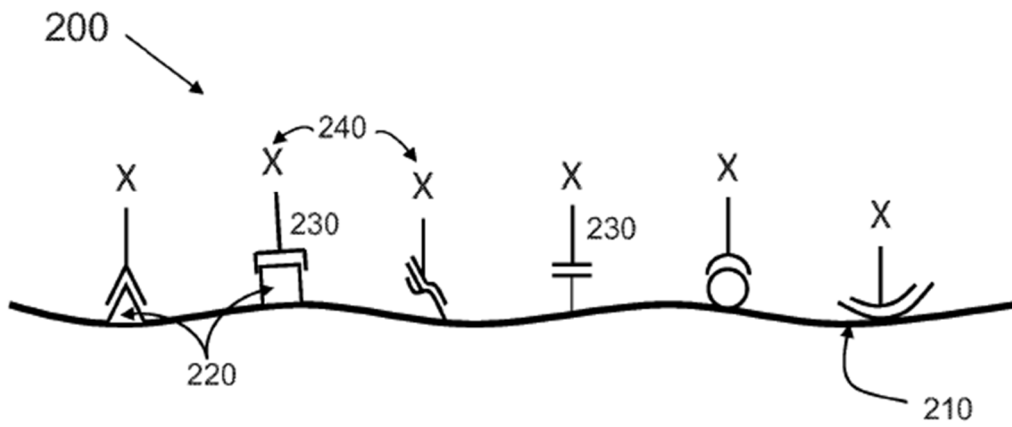


FIGURA 3

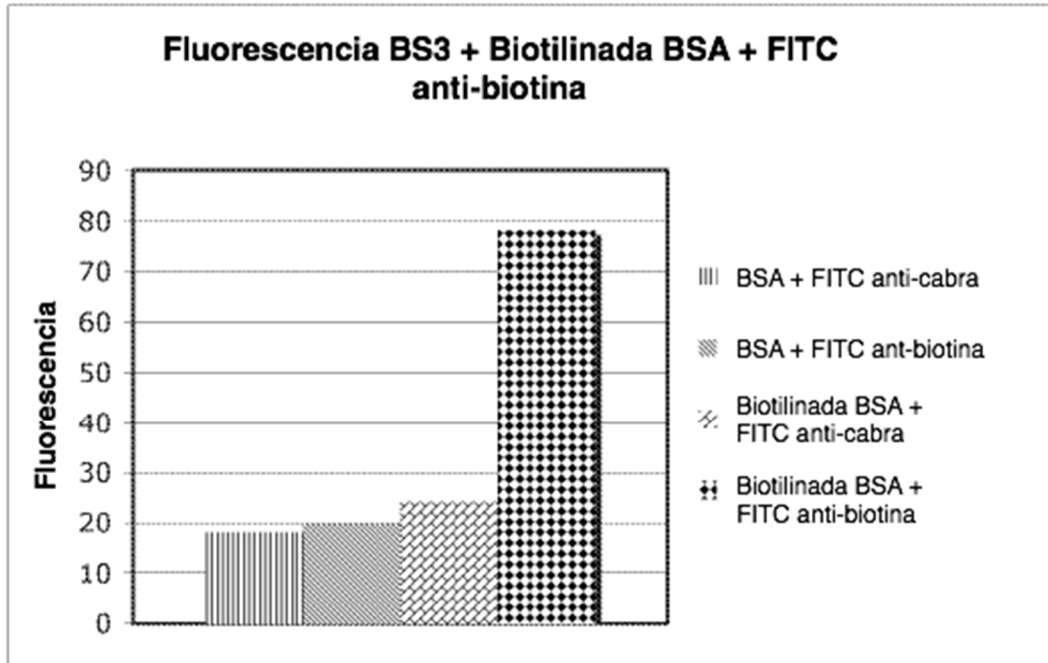


FIGURA 4

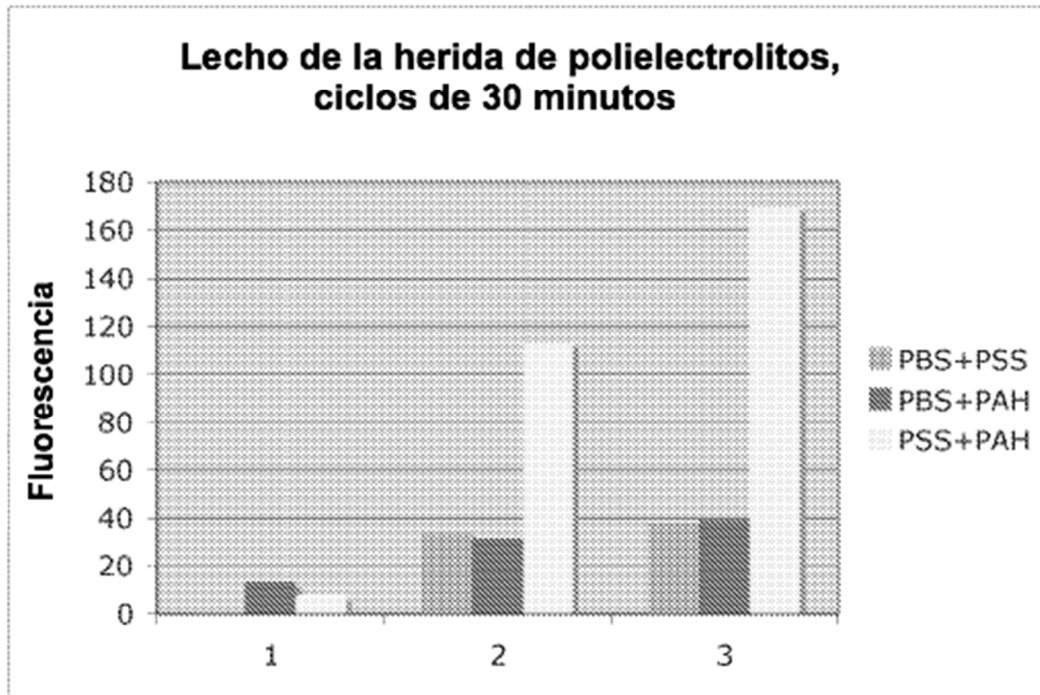


FIGURA 5

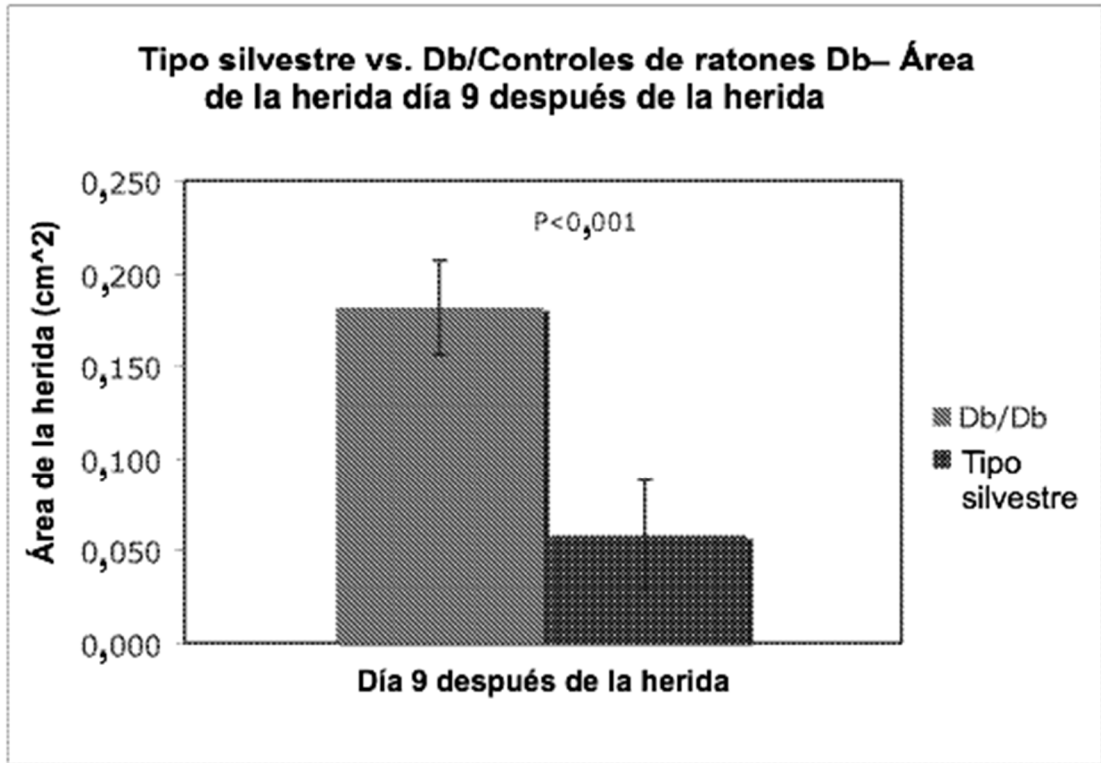


FIGURA 6

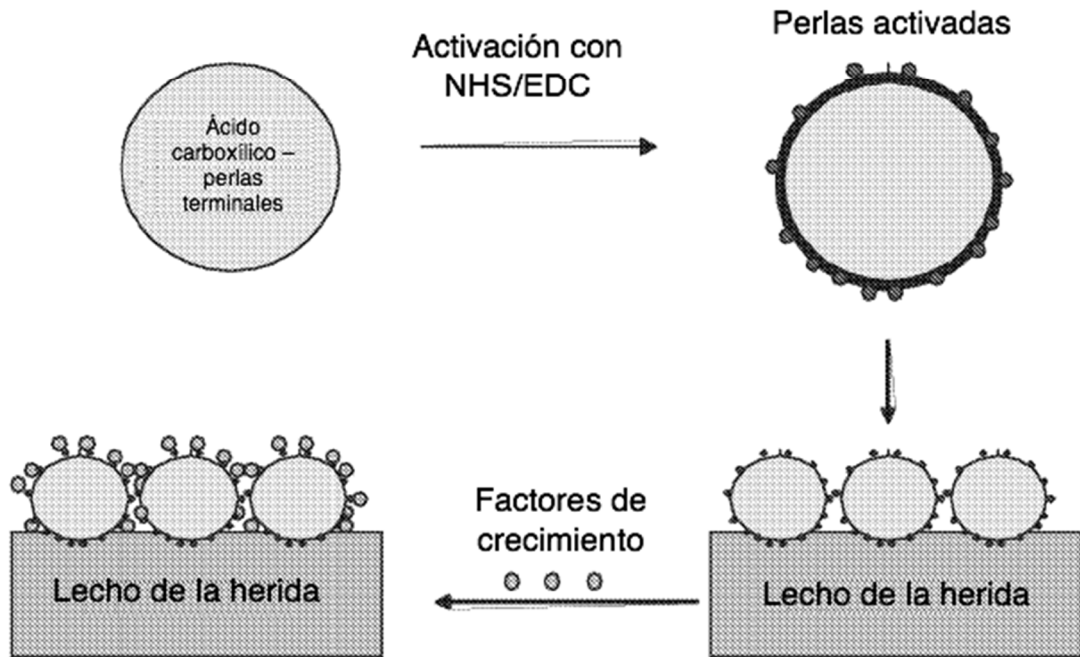


FIGURA 7

ID: AAP_BOMMA
DE: PÉPTIDO ANTIMICROBIANO ANIÓNICO.

ID: ABAE_APIME
DE: PRECURSOR DE ABAECINAA; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: ABAE_BOMPA
DE: ABAECINA; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: ABA5_BASAL
DE: ALFA-BASRUBRINA (FRAGMENTO).

ID: ABF1_CAEEL
DE: ABF-1, PRECURSOR DE FACTOR ANTIBACTERIANO; DEFENSINA DE NEMÁTODO, DEFENSINA SIMILAR A INSECTO

ID: ABF2_CAEEL
DE: ABF-2, PRECURSOR DE FACTOR ANTIBACTERIANO; DEFENSINA DE NEMÁTODO, DEFENSINA SIMILAR A INSECTO

ID: ABF5_CAEEL
DE: ABF-5, PRECURSOR DE FACTOR ANTIBACTERIANO; PÉPTIDO DE DEFENSA DE NEMÁTODO

ID: ABF6_CAEEL
DE: ABF-6, PRECURSOR DE FACTOR ANTIBACTERIANO; PÉPTIDO DE DEFENSA DE NEMÁTODO

ID: ABP2_RIPCL
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO ANTIBACTERIANO (PUTATIVO); PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO.

ID: ABPP_RIPCL
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO ANTIBACTERIANO (PUTATIVO); PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: ACA1_ACALU
DE: ACALOLEPTINA A1; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO; COLEPTERICINA

ID: ACAN_ACAGO
DE: PRECURSOR DE ACANTOSCURRINA.

ID: ACHC_ACHFU
DE: PRECURSOR DE ACACINA; PROTEÍNA DE DEFENSA DE GASTRÓPODO.

ID: AFP2_GASEL
DE: PROTEÍNA ANTIFÚNGICA.

ID: AFP3_BRANA
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO ANTIFÚNGICO RICO EN CISTEÍNA; DEFENSINA DE PLANTA

ID: AFP_ASPGI
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO ANTIFÚNGICO MOLDE

ID: AFP_GASEL
DE: PROTEÍNA ANTIFÚNGICA.

ID: ALO1_ACRLO
DR: PÉPTIDO ALO-1 ANTIMICROBIANO.

ID: ALO2_ACRLO
DE: PÉPTIDO ALO-1 ANTIMICROBIANO.

ID: ALO3_ACRLO
DE: PÉPTIDO ALO-1 ANTIMICROBIANO.

ID: ALPS_LIMPO
DE: FACTOR ANTI-LIPOPOLISACÁRIDO (LPS).

ID: ALPS_TACTR
DE: FACTOR ANTI-LIPOPOLISACÁRIDO (LPS).

ID: AMP1_ALLCE
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA ACE-AMP1 ANTIMICROBIANA; PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA

ID: AMP1_MACIN
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO 1 ANTIMICROBIANO (AMP1), PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA;

ID: AMP1_MESCR
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO 1 ANTIMICROBIANO, PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA;

ID: AMP1_MIRJA
DE: PÉPTIDO 1 ANTIMICROBIANO (AMP1); PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA

ID: AMP2_MIRJA
DE: PÉPTIDO 2 ANTIMICROBIANO (AMP2); PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA

ID: AMP_AMACA
DE: PÉPTIDO ANTIMICROBIANO (AMP1 Y AMP2); PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA.

ID: AMP_AMAHY
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA ANTIMICROBIANA. PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA

ID: AMP_CARMA
DE: CARCININA, PROTEÍNA ANTIMICROBIANA DE 11KDA; PROTEÍNA DE DEFENSA DE CRUSTÁCEO

ID: AMSH_BOVINO
DE: ALFA MELANOTROPINA (ALFA-MSH)

ID: ANDP_DROME
DE: PRECURSOR DE ANDROPINA, PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO.

ID: ANDP_DROOR
DE: PRECURSOR DE ANDROPINA, PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO.

ID: ANDP_DROSE
DE: PRECURSOR DE ANDROPINA, PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: ANDP_DROSI
DE: PRECURSOR DE ANDROPINA, PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: ANDP_DROTE
DE: PRECURSOR DE ANDROPINA, PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: ANDP_DROYA
DE: PRECURSOR DE ANDROPINA, PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: ANDT_ANDAU
DE: ADROCITINA; PÉPTIDO DE DEFENSA DE QUELICERADO

ID: ANPL_ANOSA
DE: ANOPLINA

ID: ANSA_STRCZ
DE: SUSTANCIA A ANTIBACTERIANA.

ID: ANTF_SARPE
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA ANTIFÚNGICA (AFP). PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: AP14_APIME
DE: PRECURSOR DE APIDAECINA, TIPO 14. PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: AP22_APIME
DE: PRECURSOR DE APIDAECINA, TIPO 122. PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: AP39_CERDO
DE: PÉPTIDO 3910 ANTIBACTERIANO. PÉPTIDO DE DEFENSA MAMÍFERO

ID: AP73_APIME
DE: PÉPTIDO ANTIMICROBIANO DE INSECTO

ID: APA2_BOVINO
DE: APOLOPOPROTEÍNA A-II (APO-AII) (PÉPTIDO BAMP-1 ANTIMICROBIANO).

ID: API2_APIME
DE: APIDAECINA II, PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: APIA_APIME
DE: PRO-APIDAECINA IA. PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: APIB_APIME

FIGURA 7 (cont.)

DE: PRO-APIDAECINA IB. PÉPTIDO DE DEFENSINA DE INSECTO

ID: API_BOMPA
DE: APIDAECINA, PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: APLY_APLKU
DE: PRECURSOR DE APLISIANINA-A. PROTEÍNA DE DEFENSA DE GASTRÓPODO.

ID: APRFR_BOVINO
DE: FRAGMENTOS ANTIBACTERIANOS DE APROTININA

ID: ARIN_CICAR
DE: ARIETINA (FRAGMENTO); PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA.

ID: ASABF_ASCSU
DE: COMO PRECURSOR DE FACTOR ANTIBACTERIANO; DEFENSINA DE NEMATÓDO, DEFENSINA SIMILAR A INSECTO

ID: ASCP2_ASCTR
DE: ASCAFINA-1, -2, Y 3. PÉPTIDOS DE DEFENSA DE RANA

ID: ASCP4_ASCTR
DE: ASCAFINA-4, -5, -6 Y 7. PÉPTIDOS DE DEFENSA DE RANA

ID: ASCP8_ASCTR
DE: ASCAFINA 8, PÉPTIDOS DE DEFENSA DE RANA

ID: ATT1_DROME
DE: PRECURSOR DE ATACINA B1.

ID: ATTA_DROME
DE: PRECURSOR DE ATACINA A.

ID: ATTA_GLOMO
DE: ATACINA ATTA PÉPTIDO ANTIMICROBIANO, PROTEÍNA DE DEFENSA DE INSECTO

ID: ATTA_TRINI
DE: PRECURSOR DE ATACINA. PROTEÍNA DE DEFENSA DE INSECTO

ID: ATTB_HYACE
DE: PRECURSOR DE PROATACINA B (PROTEÍNA P5 INMUNE); PROTEÍNA DE DEFENSA DE INSECTO

ID: ATTE_HYACE
DE: ATACINA E Y P (PROTEÍNA P5 INMUNE), PROTEÍNAS DEFENSA DE INSECTO

ID: ATT_BOMMO
DE: PRECURSOR DE ATACINA. PROTEÍNA DE DEFENSA DE INSECTO

ID: BAB1B_MAIZE
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO ANTIFÚNGICO DE CAPA BASAL.
ID: BAP1A_MAIZE

DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO ANTIFÚNGICO DE CAPA BASAL.

ID: BAP3A_MAIZE
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO ANTIFÚNGICO DE CAPA BASAL.

ID: BAP3B_MAIZE
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO ANTIFÚNGICO DE CAPA BASAL.

ID: BCT1PRC_BOVINO
DE: PRECURSOR DE DODECAPÉPTIDO CÍCLICO (BCT1)(CATELICIDINA)
ID: BCT1PRC_OVEJA
DE: PRECURSOR DE DODECAPÉPTIDO CÍCLICO (BCT1)(CATELICIDINA).

ID: BCT1_BOVINO
DE: DODECAPÉPTIDO CÍCLICO

ID: BCT1_OVEJA
DE: DODECAPÉPTIDO CÍCLICO DE OVEJA.

ID: BCT5PRC_BOVINO
DE: PRECURSOR (CATELICIDINA) DE BACTENECINA 5 (BAC5).

ID: BCT5PRC_CAPHI
DE: PRECURSOR DE BACTENECINA 5(CHBAC5)(CATELICIDINA).

ID: BCT5PRC_OVEJA
DE: PRECURSOR DE BACTENECINA 5(BAC5)(CATELICIDINA).

ID: BCT5_BOVINO
DE: BACTENECINA 5, BAC5.

ID: BCT6PRC_OVEJA
DE: PRECURSOR DE BACTINECINA 5(CATELICIDINA).

ID: BCT7PRC_BOVINO
DE: PRECURSOR DE BACTENECINA 7(CATELICIDINA).

ID: BCT7PRC_OVEJADE:
PRECURSOR (CATELICIDINA) DE BACTENECINA 7.5 (BAC 7.5).

ID: BCT7_BOVINODE: BACTENECINA 7, BAC7.

ID: BCT7_CARMADE:
BACTENECINA DE CRUSTÁCEO (FRAGMENTO)

ID: BCT7_OVEJADE: OVEJA BACTENECINA, BAC7.5.

ID: BD01A_CHICK

DE: ALFA GALLINACINA 1, DEFENSINA BETA AVIAR

ID: BD01B_PREOB
DE: PROTEÍNA SIMILAR A DEFB1.

ID: BD01P_RATÓN
DE: DEFENSINA 1 BETA DE PRÓSTATA.

ID: BD01_APTPA
DE: SEFENISCINA 1 (SPHE-1) (PBD-1)(DEFENSINA BETA AVIAR).

ID: BD01_BOVINO
DE: DEFENSINA 1 BETA DE BOVINO (BNDB-1).

ID: BD01_CAPHI
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 1 BETA (BD-1).

ID: BD01_CERAE
DE: CERCOPITHECUS AETHIOPS DEFENSINA BETA DE CERCOPITHECUS (CAEBD-1).

ID: BD01_CERER
DE: DEFENSINA 1 BETA DE CERCOPITHECUS ERYTHROGASTER (CERBD-1).

ID: BD01_CERPR
DE: DEFENSINA 1 BETA CERCOPITHECUS PREUSSI (CPRBD-1).

ID: BD01_CHICK
DE: GALLINACINA 1, DEFENSINA BETA AVIAR

ID: BD01_CHILA

ID: BD01_PERRO
DE: PÉPTIDO SIMILAR A DEFENSINA BETA [CANIS

ID: BD01_EQUCA
DE: DEFENSINA 1 BETA DE CABALLO

ID: BD01_GORGO
DE: GORILA DEFENSINA 1 BETA DE GORILA (GGOBD-1).

ID: BD01_HUMANO
DE: DEFENSINA 1 BETA DE HUMANO (HBD-1).

ID: BD01_HYLCO

ID: BD01_HYLLA
DE: DEFENSINA 1 BETA DE HYLOBATES LAR (HLARBD-1).

ID: BD01_HYLMO
DE: DEFENSINA 1 BETA DE HYLOBATES MOLOCH (HMOLBD-1).

ID: BD01_MACFA

FIGURA 7 (cont.)

ID: DEFENSINA 1 BETA DE MACACA
FASCICULARIS (MFABD-1).

ID: BD01_MACMU
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 1 BETA
(RHBD-1)(DEFENSINA, BETA 1).

ID: BD01_MELGA
DE: PÉPTIDO 1 ANTIMICROBIANO
(AMP1); THP1 (PÉPTIDO 1 DE PAVO
HETERÓFILO), DEFENSINA BETA

ID: BD01_RATÓNDE: PRECURSOR
HOMÓLOGO DE DEFENSINA 1 BETA (BD).

ID: BD01_PANTR
DE: DEFENSINA 1 BETA.

ID: BD01_PAPAN
DE: DEFENSINA 1 BETA DE PAPIO
ANUBIS (PAPBD-1).

ID: BD01_CERDO
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 1 BETA
(RHBD-1)(DEFENSINA, BETA 1).

ID: BD01_PONPY
DE: DEFENSINA 1 BETA DE PONGO
PYGMAEUS (PPYBD-1).

ID: BD01_PRECR
DE: DEFENSINA 1 BETA DE PRESBYTIS
CRISTATA (PCRBBD-1).

ID: BD01_PREMEDE:
DEFENSINA 1 BETA DE PRESBYTIS
MELALOPHOS (PMEBD-1).

ID: BD01_PREOBDE: DEFENSINA 1 BETA
DE PREBYTIS OBSCURUS (POBBD-1).

ID: BD01_RATA
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 1 BETA
(BD-1).

ID: BD01_SAGOE
DE: DEFENSINA 1 BETA DE SAGUINUS
OEDIPUS (SOEBD-1).

ID: BD01_OVEJA
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 1 BETA.

ID: BD02A_MACMU
DE: DEFENSINA 2 BETA DE
CERCOPTHECIDAE/MACACA.

ID: BD02B_MACMU
DE: DEFENSINA 2 BETA.

ID: BD02_APTPA
DE: ESFENISCINA 1 (SPHE-1)(PBD-
1)(DEFENSINA BETA AVIAR).

ID: BD02_BOVINO
DE: DEFENSINA 2 BETA DE BOVINO
(BNDB-2).

ID: BD02_CAPHI
DE: PRECURSOR DE BETA 2 DEFENSINA.

ID: BD02_CERPR
DE: DEFENSINA 2 BETA DE
CERCOPTHECUS.

ID: BD02_CHICK
DE: GALLINACINA 2, DEFENSINA BETA
AVIAR.

ID: BD02_GORGO
DE: DEFENSINA BETA DE GORILA

ID: BD02_HUMANO
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 2 BETA
(HBD-2)(DEFB2)(PÉPTIDO 1
ANTIMICROBIANO DE PIEL)(SAP1).

ID: BD02_HYLLA
DE: DEFENSINA 2 BETA DE HILOBATOS

ID: BD02_MELGA
DE: PÉPTIDO 2 ANTIMICROBIANO
(AMP2), THP2 (PÉPTIDO 2 DE PAVO
HETROFILO)(FRAGMENTO), DEFENSINA
BETA.

ID: BD02_RATÓN
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 2 BETA.

ID: BD02_PANTR
DE: DEFENSINA 2 BETA DE CHIMPANCE

ID: BD02_PONPY
DE: DEFENSINA 2 BETA DE PONGO
PYGMAEUS (PPYBD-2).

ID: BD02_PREME
DE: DEFENSINA 2 BETA DE PRESBYTIS.

ID: BD02_RATA
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 2 BETA;
RBD-2.

ID: BD02_OVEJA
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 2 BETA.

ID: BD02_BOVINO
DE: DEFENSINA 3 BETA DE BOVINO
(BNDB-3).

ID: BD03_CERPR
DE: DEFENSINA 3 BETA DE HUMANO Y
PRIMATES NO HUMANOS.

ID: BD02_CHICK
DE: GALLINACINA 3, DEFENSINA BETA
AVIAR.

ID: BD03_GORGO
DE: DEFENSINA 3 BETA DE HUMANO Y
PRIMATES NO HUMANOS.

ID: BD03_HUMANO
DE: DEFENSINA 3 BETA.

ID: BD03_HYLCO
DE: DEFENSINA 3 BETA DE HUMANO Y
PRIMATES NO HUMANOS.

ID: BD03_HYLLA
DE: DEFENSINA 3 BETA DE HUMANO Y
PRIMATES NO HUMANOS.

ID: BD03_MACFA
DE: DEFENSINA 3 BETA DE HUMANO Y
PRIMATES NO HUMANOS.

ID: BD03_MELGA
DE: PÉPTIDO 3 ANTIMICROBIANO
(AMP3), THP3 (PÉPTIDO 3 DE PAVO
HETROFILO), DEFENSINA BETA
(FRAGMENTO).

ID: BD02_RATÓN
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 3 BETA
(BD-3).

ID: BD03_PANTR
DE: DEFENSINA 3 BETA.

ID: BD03_PAPAN
DE: DEFENSINA 3 BETA DE HUMANO Y
PRIMATES NO HUMANOS.

ID: BD02_PONPY
DE: DEFENSINA 3 BETA DE HUMANO Y
PRIMATES NO HUMANOS.

ID: BD03_PREOB
DE: DEFENSINA 3 BETA DE HUMANO Y
PRIMATES NO HUMANOS

ID: BD03_PRIMATE
DE: DEFENSINA 3 BETA DE HUMANO Y
PRIMATES NO HUMANOS.

ID: BED03_SAGOE
DE: DEFENSINA 3 BETA DE HUMANO Y
PRIMATES NO HUMANOS.

ID: BD04_BOVINO
DE: DEFENSINA 4 BETA DE BOVINO
(BNDB-4).

ID: BD04_HUMANO
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 4 BETA
(BD-4)(HBD-4).

ID: BD04_MELGA
DE: GALOPAVINA 1, DEFENSINA BETA
AVIAR.

ID: BD04_RATÓN
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 4 BETA
(MBD-4).

ID: BD05_BOVINO
DE: DEFENSINA 5 BETA DE BOVINO
(BNDB-5).

FIGURA 7 (cont.)

ID: BD05_RATÓN DE: DEFENSINA 5 BETA.	ID: BLP1_BOMOR DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO 1 SIMILAR A BOMBININA (BLP-1).	ID: BOMH5_BOMVA DE: BOMBININA H5.
ID: BD06_BOVINO DE: DEFENSINA 6 BETA DE BOVINO (BNDB-6).	ID: BLP2_BOMOR DE: PÉPTIDO 2 SIMILAR A BOMBININA (BLP-2).	ID: BOMN_BOMVA DE: BOMBININA.
ID: BD06_RATÓN DE: DEFENSINA 6 BETA.	ID: BLP3_BOMOR DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO 3 SIMILAR A BOMBININA (BLP-3).	ID: BP1_BOVINO DE: PROTEÍNA QUE AUMENTA LA PERMEABILIDAD BACTERICIDA DE BOVINO (BPI).
ID: BD07_BOVINO DE: DEFENSINA 7 BETA DE BOVINO (BNDB-7).	ID: BLP4_BOMOR DE: PÉPTIDO 4 SIMILAR A BOMBININA (BLP-4).	ID: BP1_HUMANO DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA QUE AUMENTA LA PERMEABILIDAD BACTERICIDA DE HUMANO (BPI)(CAP57).
ID: BD07_RATÓN DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 7 BETA	ID: BLP_BOMVA DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO SIMILAR A BOMBININA (BLP).	ID: BP1_CONEJO DE: PROTEÍNA QUE AUMENTA LA PERMEABILIDAD BACTERICIDA DE CONEJO (BPI)(FRAGMENTO).
ID: BD08_BOVINO DE: DEFENSINA 8 BETA DE BOVINO (BNDB-8).	ID: BMAP27PRC_BOVINO DE: PRECURSOR DEL PÉPTIDO BMAP-27 ANTIBACTERIANO, CATELICIDINA; MB 27 EN SWISSPROT	ID: BPT1_BOVINO DE: FRAGMENTOS BACTERICIDAS DE BPT1, APROTININA
ID: BD08_RATÓN DE: DEFENSINA 8 BETA (DEFENSINA 6 NETA).	ID: BMAP28PRC_BOVINO DE: PRECURSOR DEL PÉPTIDO BMAP-28 ANTIBACTERIANO, CATELICIDINA; MP28 EN SWISSPROT	ID: BR1A_RANES DE: BREVININA-1EA.
ID: BD09_BOVINO DE: DEFENSINA 9 BETA DE BOVINO (BNDB-9).	ID: BMAP34_BOVINO DE: PRECURSOR DEL PÉPTIDO BMAP-34 ANTIBACTERIANO, MB34.	ID: BR1A_RANTE DE: BREVININA-1TA.
ID: BD10_BOVINO DE: DEFENSINA 10 BETA DE BOVINO (BNDB-10).	ID: BMKBPP_BUTMA DE: BMKBPP (PARABUTOPORINA).	ID: BR1B_RANBE DE: BREVININA-1BA.
ID: BD11_BOVINO DE: DEFENSINA 11 BETA DE BOVINO (BNDB-11).	ID: BNP32_HUMANO DE: PÉPTIDO NATRIURÉTICO DE CEREBRO (BNP-32).	ID: BR1BB_RANBE DE: BREVININA-1BB.
ID: BD12_BOVINO DE: DEFENSINA 12 BETA DE BOVINO (BNDB-12).	ID: BOL1_MEGPE DE: BOMBOLITINA I.	ID: BR1BC_RANBE DE: BREVININA-1BC.
ID: BD13_BOVINO DE: DEFENSINA 13 BETA DE BOVINO (BNDB-13).	ID: BOL2_MEGPE DE: BOMBOLITINA II.	ID: BR1BD_RANBE DE: BREVININA-1BD.
ID: BD40_RATÓN DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 40 BETA DE RATÓN.	ID: BOL3_MEGPE DE: BOMBOLITINA III.	ID: BR1BE_RANBE DE: BREVININA-1BE.
ID: BDC7_BOVINO DE: PRECURSOR DE DEFENSINA C7 BETA, BBD-C7 (FRAGMENTO).	ID: BOL4_MEGPE DE: BOMBOLITINA IV.	ID: BR1BF_RANBE DE: BREVININA-1BF.
ID: BHP_BOVINO; DE: FRAGMENTO ANTIMICROBIANO DE HEMOGLOBINA ALFA DE BOVINO DE INTESTINO DE GARRAPATA	ID: BOL5_MEGPE DE: BOMBOLITINA V.	ID: BR1BYA_RANBO DE: BREVININA-1BYA, -1BYB Y -1BYC.
ID: BIGDEF_LIMPO DE: DEFENSINA DE LIMULUS GRANDE	ID: BOMH1_BOMVA DE: BOMBININA H1.	ID: BR1B_RANES DE: BREVININA-1EB.
ID: BIN1_RATA DE: PROTEÍNA BIN-1B SIMILAR A ANTIMICROBIANO [RATTUS NORVEGICUS].	ID: BOMH2_BOMVA DE: BOMBININA H2.	ID: BR1EC_RANES DE: BREVININA-1EC.
	ID: BOMH3_BOMVA DE: BOMBININA H3.	ID: BR1E_RANES DE: PRECURSOR DE BREVININA-1E.
	ID: BOMH4_BOMVA DE: BOMBININA H4.	ID: BR1LA_RANLU DE: BREVININA-1LA.
		ID: BR1LB_RANLU

FIGURA 7 (cont.)

DE: BREVININA-1LB.	ID: BR1PB_RANPI DE: BREVININA-1PB.	ID: BR1SC_RANSP DE: BREVININA 1SC.	ID: BRIS_RANSP DE: BREVININA 1SA Y 1SB	ID: BR1TRA_RANTA DE: BREVININA-1TRA.	ID: BR1T_RANTE DE: BREVININA-1T.	ID: BR1_RANBP DE: BREVININA-1.	ID: BR1_RANDA DE: BREVININA-1 DA.	ID: BR20A_RANOR DE: BREVININA-20A.	ID: BR20B_RANOR DE: BREVININA-20B.	ID: BR2A_RANES DE: BREVININA-2EA.	ID: BR2B_RANES DE: BREVININA-2EB.	ID: BR2C_RANES DE: BREVININA-2EC.	ID: BR2D_RANES DE: BREVININA-2ED.	ID: BR2E_RANES DE: BREVININA-2E.	ID: BR2F_RANES DE: PRECURSOR DE BREVININA-2EF.	ID: BR2G_RANES DE: BREVININA-2EG; PÉPTIDO DE DEFENSA DE ANFIBIO	ID: BR2H_RANES DE: BREVININA-2EH; PÉPTIDO DE DEFENSA DE ANFIBIO	ID: BR2_RANBP DE: BREVININA-2.	ID: BRE1E_RANES DE: BREVININA-1E.	ID: BREE_RANES DE: BREVININA-2EE.	ID: BRKM_BOMMA DE: MAXIMAQUININA [CONTIENE: BRADIQUININA].	ID: BR1A_RANTE DE: PRECURSOR DE BREVININA-2TA.	ID: BR1B_RANTE DE: PRECURSOR DE BREVININA 2TB.	ID: BUTH_ANDAU DE: BUTIRINA; PÉPTIDO DE DEFENSA DE QUELICERADO	ID: C18PRC_CONEJO DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA DE UNIÓN A LIPOPOLISACÁRIDO DE 18KD (PROTEÍNA CATIÓNICA DE 18KD)(CAP18-A)(CATELICIDINA).	ID: C18_CONEJO DE: CAP18	ID: CAE1_XENLA DE: PREPROCAERULEINA TIPO I (PRECURSOR CPF ANTIMICROBIANO)	ID: CAE2_XENLA DE: PREPROCAERULEINA TIPO I (FRAGMENTO). (PRECURSOR CPF ANTIMICROBIANO)	ID: CAE3_XENLA DE: PREPROCAERULEINA TIPO III. (PRECURSOR CPF ANTIMICROBIANO)	ID: CAE4_XENBO DE: PREPROCAERULEINA TIPO IV (PRECURSOR CPF ANTIMICROBIANO)	ID: CAE4_XENLA DE: PREPROCAERULEINA TIPO IV. (PRECURSOR CPF ANTIMICROBIANO)	ID: CAE5_XENLA DE: PREPROCAERULEINA (CLON PXC202)(FRAGMENTO) (PRECURSOR CPF ANTIMICROBIANO).	ID: CALN_NO CONOCIDO DE: CALIVICINA.	ID: CALT_BOVINO DE: PRECURSOR FRAGMENTO) DE CALTRINA (PLASMINA SEMINAL).	ID: CAP7A_HUMANO DE: FRAGMENTO 20-44 DE HUMANO CAP7.	ID: CAP7_HUMANO DE: PRECURSOR DE AZUROCIDINA (PROTEÍNA CAP37 ANTIMICROBIANA CATIÓNICA)(PROTEÍNA DE UNIÓN A HEPARINA)(HBP)(FRAGMENTO).	ID: CAP7_CERDO DE: AZUROCIDINA (PROTEÍNA CAP37 ANTIMICROBIANA	CATIÓNICA)(PROTEÍNA DE UNIÓN A HEPARINA)(HBP).	ID: CASN1_BOVINO DE: CASOCIDINA-1; FRAGMENTO DE CASEÍNA ALFA S2 (165-203).	ID: CATG_HUMANO DE: PRECURSOR DE CATEPSINA G (EC 3.4.21.20)	ID: CATH29_MYXGL DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO-29 ANTIMICROBIANO HEMATOPOYÉTICO (CATH29)(HFIAP)(FRAGMENTO)(HELICIDINA DE GATO)	ID: CATH37_MYXGL DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO-37 ANTIMICROBIANO HEMATOPOYÉTICO (CATH37)(HFIAP)(FRAGMENTO)(CATELICIDINA)	ID: CATHE_PERRO DE: CATELICIDINA DE PERRO.	ID: CEC1_CERCA DE: PRECURSOR DE CECROPINA 1.	ID: CEC1_MUSDO DE: CECROPINA 1.	ID: CEC1_CERDO DE: CECROPINA P1.	ID: CEC2_CERCA DE: PRECURSOR DE CECROPINA 2.	ID: CEC2_MANSE DE: BACTERICIDINA B-2 (PÉPTIDO B-2 SIMILAR A CECROPINA).	ID: CEC3_MANSE DE: BACTERICIDINA B-3 (PÉPTIDO B-3 SIMILAR A CECROPINA).	ID: CEC4_BOMMO DE: CECROPINA (PÉPTIDO CM-IV ANTIBACTERIANO).	ID: CEC4_MANSE DE: BACTERICIDINA B-4 (PÉPTIDO B-4 SIMILAR A CECROPINA).	ID: CEC5_MANSE DE: PRECURSOR DE BACTERICIDINA B-5P (PÉPTIDO B-5 SIMILAR A CECROPINA).	ID: CECA1_AEDAL DE: PÉPTIDO ANTIBIÓTICO	ID: CECA1_DROSE DE: PRECURSOR DE CECROPINA A1.	ID: CECA1_HYPCU DE: PRECURSOR DE HIFANCINA III, CECROPINA A1 DE HIFANTIA.
--------------------	---------------------------------------	---------------------------------------	---	---	-------------------------------------	-----------------------------------	--------------------------------------	---------------------------------------	---------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------	-------------------------------------	---	--	--	-----------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------	---	---	---	---	---	-----------------------------	--	---	---	---	--	---	---	---	---	--	--	--	---	--	--	--	---	---	------------------------------------	-------------------------------------	---	--	--	---	--	--	--	---	--

FIGURA 7 (cont.)

ID: CECA2_AEDAL
DE: PÉPTIDO ANTIBIÓTICO DE CECROPINA A2.

ID: CECA2_HYPCU
DE: PRECURSOR DE HIFANCINA IIIF, CECROPINA A2 HYPHANTIA

ID: CECA3_HYPCU
DE: PRECURSOR DE HIFANCINA IIIG, CECROPINA A3 HYPHANTRIA

ID: CECA_AEDAE
DE: CECROPINA A

ID: CECA_AEDAL
DE: CECROPINA A (AALCECA).

ID: CECA_BOMMO
DE: PRECURSOR DE CECROPINA A.

ID: CECA_DROME
DE: PRECURSOR DE CECROPINA A1/A2

DE: CECA_HYACE
DE: PRECURSOR DE CECROPINA A Y C.

ID: CECA_HYPCU
DE: PRECURSOR DE HIFANCINA IIID, CECROPINA A HYPHANTRIA

ID: CECA_TRINI
DE: PRECURSOR DE CECROPINA A.

ID: CECB1_AEDAL
DE: PÉPTIDO ANTIBIÓTICO DE CECROPINA B1.

ID: CECB2_AEDAL
DE: PÉPTIDO ANTIBIÓTICO DE CECROPINA B2.

ID: CECB_ANPE
DE: CECROPINA B.

ID: CECB_BOMMO
DE: PRECURSOR DE CECROPINA B (LEPIDÓPTERO A Y B) (CECB1 Y CECB2).

ID: CECB_DROMA
DE: PRECURSOR DE CECROPINA B.

ID: CECB_DROME
DE: PRECURSOR DE CECROPINA B.

ID: CECB_DROSE
DE: PRECURSOR DE CECROPINA B.

ID: CECB_HYACE
DE: PRECURSOR DE CECROPINA B (PROTEÍNA P9 INMUNE).

ID: CECC1_AEDAL
DE: PÉPTIDO ANTIBIÓTICO DE CECROPINA C1.

ID: CECC2_AEDAL

DE: PÉPTIDO ANTIBIÓTICO DE CECROPINA C2.

ID: CECC_DROME
DE: PRECURSOR DE CECROPINA C.

DE: CECD_AGRCO
DE: CECROPINAS D1 Y D2 (FRAGMENTO). PÉPTIDOS DE DEFENSA DE INSECTOS

ID: CECD_ANTPE
DE: CECROPINA D.

ID: CECD_HYACE
DE: PRECURSOR DE CECROPINA D.

ID: CECM_BOMMO
DE: (PRECURSOR DE CECROPINA DE BOMBYX MORI)(CECROPINA).

ID: CEC_ANOGA
DE: PRECURSOR DE CECROPINA.

ID: CERA_CERCA
DE: CERÁTOTOXINA A.

ID: CERB_CERCA
DE: CERÁTOTOXINA B.

ID: CERC_CERCA
DE: PRECURSOR DE CERATOTOXINA C.

ID: CERI_CICAR
DE: CICERINA (FRAGMENTO); PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA.

ID: CG1_HUMANO
DE: FRAGMENTO G DE CATEPSINA (230-255).

ID: CGA_HUMANO
DE: FRAGMENTO G DE CATEPSINA (82-101).

ID: CGB_HUMANO
DE: FRAGMENTO G DE CATEPSINA (137-158).

ID: CGC_HUMANO
DE: FRAGMENTO G DE CATEPSINA (210-235).

ID: CHICATH_CHICK
DE: CATELICINA AVIAR.

ID: CHY1_PAGMA
DE: CRISOFSINAS 1 Y 2. (PÉPTIDO SIMILAR A PLEUROCIDINA)

ID: CHY3_PAGMA
DE: CRISOFSINAS 3. (PÉPTIDO SIMILAR A PLEUROCIDINA)

ID: CICN_CICFL
DE: CICADINA (FRAGMENTO).

ID: CIRA_CHAPA
DE: CIRCULINA A (CIRA).

ID: CIRB_CHAPA
DE: CIRCULINA B (CIRB).

ID: CLVAPRC_STYCL
DE: PRECURSOR DE CLAVANINA A; PÉPTIDO ANTIMICROBIANO TUNICADO

ID: CLVA_STYCL
DE: CLAVANINA A; PÉPTIDO DE DEFENSA TUNICADO

ID: CLVD_STYCL
DE: PRECURSOR DE CLAVANINA D.

ID: COLE_ZOPAT
DE: COLEOPTERICINA; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO.

ID: CR10_LITSP
DE: CAERINA 1.10.

ID: CR11_LITSP
DE: CAERINA 1.1.

ID: CR12_LITCE
DE: CAERINA 1.2.

ID: CR13_LITCE
DE: CAERINA 1.3.

ID: CR14_LITGI
DE: CAERINA 1.4.

ID: CR15_LITCE
DE: CAERINA 1.5.

ID: CR16_LITXA
DE: CAERINA 1.6.

ID: CR17_LITXA
DE: CAERINA 1.7.

ID: CR18_LITCH
DE: CAERINA 1.8.

ID: CR19_LITCH
DE: CAERINA 1.9.

ID: CR21_LITSP
DE: CAERINA 2.1.

ID: CR22_LITGI
DE: CAERINA 2.2. (CONTIENE CAERINA 2.2.1).

ID: CR23_LITCE
DE: ESPLÉNDIFERINA (CAERINA 2.3).

ID: CR22_LITCE
DE: CAERINA 2.4.

ID: CR25_LITGI
DE: CAERINA 2.5.

ID: CR31_LITSP
DE: CAERINA 3.1.

ID: ID: CR32_LITCE

FIGURA 7 (cont.)

DE: CAERINA 3.2.

ID: CR33_LITCE
DE: CAERINA 3.3.

ID: CR34_LITCE
DE: CAERINA 3.4.

ID: CR41_LITCE
DE: CAERINA 4.1.

ID: CR42_LITCE
DE: CAERINA 4.2.

ID: CR43_LITCE
DE: CAERINA 4.3.

ID: CRAMPPRC_RATÓN
DE: PROTEÍNA RELACIONADA CON
CAELINA DE RATÓN, PROTEÍNA
SIMILAR A CAELINA DE RATÓN.

ID: CRAMP_RATÓN
DE: MCLP (PÉPTIDO RELACIONADO CON
CAELINA DE RATÓN), CRAMP
(CAELINA RELACIONADA CON AMP)

ID: CRAMP_RATA
DE: CRAMP (FRAGMENTO); (CAELINA
RELACIONADA CON AMP),
CAELICIDINA

ID: CRBL_VESCR
DE: CRABROLINA.

ID: CRN_LITVA
DE: CRUSTINA, PROTEÍNA
ANTIMICROBIANA DE 11 KDA;
PROTEÍNA DE DEFENSA DE CRUSTÁCEO

ID: CRYP_RATÓN
DE: CRIPTIDINAS, CRYP 1-17.
DEFENSINAS DE CRIPTA VER DEFENSAS
(DEF1-DEFx_RATÓN),

ID: CT11_LITCI
DE: [EXTENDIDO A CITROPINA 1.1.2;
CITROPINA 1.1.4.]

ID: CT12_LITCI
DE: 1.2.3].

ID: CT21_LITCI
DE: 2.1].

ID: CTM_HUMANO
DE: CALCITERMINA (FRAGMENTO DE
CALGRANULINA C)

ID: CUP1A_CUPSA
DE: CUPININA 1A

ID: CYLA_PSYLO
DE: CICLOPSICOTRIDA A (CPT).

ID: DBB2_DOLAU
DE: DOLABELANINA B2.

ID: DBIF_CERDO

DE: FRAGMENTO (32-86) DE INHIBIDOR
DE UNIÓN A DIAZEPAM (DBI).

ID: DCD_HUMANO
DE: [CONTIENE: DCD-1].

ID: DEF10_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA-10
(FRAGMENTO), DEFENSINA.

ID: DEF11_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA-11
(FRAGMENTO), DEFENSINA.

ID: DEF13_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA-13
(FRAGMENTO), DEFENSINA.

ID: DEF14_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA-14
(FRAGMENTO), DEFENSINA.

ID: DEF15_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA-15
(FRAGMENTO), DEFENSINA.

ID: DEF16_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA-16
(FRAGMENTO), DEFENSINA.

ID: DEF17_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA-17
(FRAGMENTO), DEFENSINA.

ID: DEF1A_STOCA
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 1A.
DEFENSINA DE INSECTO

ID: DEF1_ANOGA
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA.
DEFENSINA DE INSECTO

ID: DEF1_ATEGE
DE: DEFENSINA ALFA DE PRIMATE
(FRAGMENTO).

ID: DEF1_BOMIG
DE: DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEF1_CENLL
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA DE
ESCORPIÓN.

ID: DEF1_DERVA
DE: DEFENSINA DE DERMACENTOR
(PRECURSOR); VARISINA; DEFENSINA DE
INSECTO

ID: DEF1_MACMU
DE: PRECURSOR DE DEFENSINAS 1,3 Y 8
DE NEUTRÓFILO (RMAD).

ID: DEF1_MESAU
DE: PÉPTIDO 1 DE NEUTRÓFILO DE
HÁMSTER (HANP-1); DEFENSINA DE
NEUTRÓFILO;

ID: DEF1_RATÓN

ID: DEF1_MYTGA
DE: DEFENSINA 1 DE MYTILUS (MGD1)

ID: DEF1_CONEJO
DE:
(PÉPTIDO 1 DE
ANTIADRENOCORTICOTROPINA)

ID: DEF1_RATA
DE: PÉPTIDO DE NEUTRÓFILO DE RATA
(RTNP-1)(RTNP-2), CORTICOESTATINA DE
RATA (R1, R2), DEFENSINA

ID: DEF1_SAGLA
DE: DEFENSINA ALFA DE PRIMATE
(FRAGMENTO).

ID: DEF1_STOCA
DE: PRECURSOR 1 DE DEFENSINA
(DEFENSINA DE INSECTO).

ID: DEF2A_MACMU
DE: DEFENSINA 2 DE MACACA MULATTA
ALFA, RMAD-2

ID: DEF2A_STOCA
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 2A.
DEFENSINA DE INSECTO

ID: DEF2B_MACMU
DE: DEFENSINA 2 DE MACACA MULATTA
ALFA (CONFLICTO DE NOMBRE CON
DEF2A_MACMU).

ID: DEF2_ANOGA
DE: DEFENSINA.

ID: DEF2_APIME
DE: DEFENSINA (FRAGMENTO).

ID: DEF2_MESAU
DE: PÉPTIDO 2 DE NEUTRÓFILO DE
HÁMSTER (HANP-2); DEFENSINA DE
NEUTRÓFILO;

ID: DEF2_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA 2,
DEFENSINA.

ID: DEF2_MYTGA
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 2 DE
MYTILUS (MGD2)

ID: DEF2_CONEJO
DE:
(PÉPTIDO II DE
ANTIADRENOCORTICOTROPINA).

ID: DEF2_RATA
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO NP-2
ANTIBIÓTICO DE NEUTRÓFILO DE RATA;
DEFENSINA

ID: DEF2_STOCA
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 2
(DEFENSINA DE INSECTO).

FIGURA 7 (cont.)

ID: DEF3_MACMU
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 1,3 Y 8 DE NEUTRÓFILO (RMAD).

ID: DEF3_MESAU
DE: PÉPTIDO 3 DE NEUTRÓFILO DE HÁMSTER (HANP-3); DEFENSINA DE NEUTRÓFILO;

ID: DEF3_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA 3, DEFENSINA.

ID: DEF3_CONEJO
DE:
(PÉPTIDO III DE ANTIADRENOCORTICOTROPINA).

ID: DEF3_RATA
DE: PÉPTIDO DE NEUTRÓFILO DE RATA (RTNP-3), CORTICOESTATINA DE RATA (R3), DEFENSINA

ID: DEF4_ANDAU
DE: DEFENSINA DE ANDROCTONO (DEFENSINA SIMILAR A INSECTO)

ID: DEF4_HUMANO
DE: DEFENSINA 4 DE NEUTRÓFILO (HNP-4)(HP4).

ID: DEF4_MESAU
DE: PÉPTIDO 4 DE NEUTRÓFILO DE HÁMSTER (HANP-4); DEFENSINA DE NEUTRÓFILO;

ID: DEF4_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA 4 (FRAGMENTO), DEFENSINA.

ID: DEF4_CONEJO
DE:
(PÉPTIDO III DE ANTIADRENOCORTICOTROPINA).

ID: DEF4_RATA
DE: PÉPTIDO DE NEUTRÓFILO DE RATA (RTNP-4), CORTICOESTATINA DE RATA (R4), DEFENSINA

ID: DEF5_HUMANO
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 5.

ID: DEF5_MACMU
DE: DEFENSINA 4 Y DEFENSINA 5 DE MACACA MULATTA

ID: DEF5_RATÓN
DE: CRIPTIDINA 5, DEFENSINA.

ID: DEF5_RABIT
DE: (PÉPTIDO NP-4 MICROBICIDA).

ID: DEF5_RATA
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 5 (RD-5).

ID: DEF6_HUMANO
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 6, HD6.

ID: DEF6_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA-6/12 (DEFENSINA).

ID: DEF6_RABIT
DE: (PÉPTIDO NP-5 MICROBICIDA).

ID: DEF7_MACMU
DE: DEFENSINA-6 Y DEFENSINA-7 DE MACACA MULATTA

ID: DEF7_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA-7 (FRAGMENTO), DEFENSINA

ID: DEF7_RABIT
DE: DEFENSINA

ID: DEF8_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA-8 (FRAGMENTO), DEFENSINA

ID: DEF9_RATÓN
DE: PRECURSOR DE CRIPTIDINA-9 (FRAGMENTO), DEFENSINA

ID: DEFA_AEDAE
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA A (AADEF)(DEFENSINA DE ARTRÓPODO)

ID: DEFA_ANOCP
DE: DEFENSINA A (DEFENSINA DE INSECTO).

ID: DEFA_MAMBR
DE: DEFENSINA 1, DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEFA_RATÓN
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA DE TESTÍCULO (FRAGMENTO).

ID: DEFA_MYTED
DE: DEFENSINA A DE MYTILUS; DEFENSINA DE MOLUSCO

ID: DEFA_ORNMO
DE: DEFENSINA A.

ID: DEFA_RHOPR
DE: DEFENSINAS A Y B DE RHODNIUS (DEFENSINAS DE INSECTO)

ID: DEFA_ZOPAT
DE: DEFENSINA DE INSECTO, ISOFORMAS B Y C.

ID: DEFB_AEDAE
DE: DEFENSINA B; DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEFB_ANOCP
DE: DEFENSINA B (DEFENSINA DE INSECTO).

ID: DEFB_RATÓN
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA DE TESTÍCULO (FRAGMENTO).

ID: DEFB_MYTED
DE: DEFENSINA B

ID: DEFB_ORNMO
DE: DEFENSINA B.

ID: DEFC_AEDAE
DE: DEFENSINA C; DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEFC_ORNMO
DE: DEFENSINA C.

ID: DEFC_RHOPR
DE: DEFENSINAS C DE RHODNIUS (DEFENSINAS DE INSECTO)

ID: DEFD_AEDAL
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA D (AALDEF)(FRAGMENTO). DEFENSINA DE INSECTO

ID: DEFD_ORNMO
DE: DEFENSINA D.

ID: DEFI_AESCY
DE: DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEFI_ALLDI
DE: DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEFI_APIME
DE: ROYALISINA, DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEFI_BOMPA
DE: DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEFI_DROME
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEFI_PALPR
DE: DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEFI_PHLDU
DE: DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEFIN_PHOTE
DE: PRECURSOR DE FORMICINA (DEFENSINAS A Y B DE INSECTO).

ID: DEFI_PYRAP
DE: DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEFI_TENMO
DE: PRECURSOR DE TENECINA 1 SIMILAR A DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEFN_HELVI
DE: HELIOMICINA, DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEFN_HUMANO

FIGURA 7 (cont.)

DE: DEF1_HUMANO, DEF2_HUMANO, DEF3_HUMANO

ID: DEFV_RATÓN
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA 4C-5 SIMILAR A DEFENSINA.

ID: DEFW_RATÓN
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA 4C-2 SIMILAR A DEFENSINA.

ID: DEFX_RATÓN
DE: DEFENSINA DE RATÓN, PRECURSOR DE PROTEÍNA 4C-4 RELACIONADA CON CRIPTIDINA (CRS4C).

ID: DEFY_RATÓN
DE: PRECURSOR 4C RELACIONADO CON CRIPTIDINA (CRS4C), DEFENSINA.

ID: DEFZ_RATÓN
DE: PRECURSOR 1C RELACIONADO CON CRIPTIDINA (CRS1C), DEFENSINA.

ID: DEF_ACALU
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA 1.

ID: DEF_AEDAL
DE: DEFENSINA (FRAGMENTO), DEFENSINA DE INSECTO

ID: DEF_ANOCP
DE: DEFENSINAS A Y B DEFENSINA DE INSECTO

ID: DEF_CAVPO
DE: DEF1_CAVPO; DEDF2_CAVPO (PÉPTIDO GP-CS1 CORTICOESTÁTICO) (CP-1)].

ID: DEF_ERITE
DE: DEFENSINA DE INSECTO.

ID: DEF_GALME
DE: PÉPTIDO ANTIFÚNGICO DE GALERIMICINA, DEFENSINA DE INSECTO (?).

ID: DEF_LEIQU
DE: DEFENSINA DE ESCORPIÓN (SIMILAR A DEFENSINA DE INSECTO)

ID: DEF_ORYRH
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA DEFENSINA DE INSECTO

ID: DERB_PHYBI
DE: PRECURSOR DE DERMATOXINA.

ID: DIPA_PROTE
DE: DIPTERICINA 1; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: DIPD_PHOTE
DE: PRECURSOR DE DIPTERICINA D; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: DIP_DROME

DE: PRECURSOR DE DIPTERICINA. PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: DISA_PHYDI
DE: DISA, CADENA 1 DE DISTINCTINA, PÉPTIDO ANTIMICROBIANO HETERODIMÉRICO

ID: DISB_PHYDI
DE: DISB, CADENA 2 DE DISTINCTINA, PÉPTIDO ANTIMICROBIANO HETERODIMÉRICO

ID: DLP1_ORNAN
DE: PÉPTIDO 1 SIMILAR A DEFENSINA (DLP-1).

ID: DLP2_ORNAN
DE: PÉPTIDO 2 SIMILAR A DEFENSINA (DLP-2).

ID: DLP3_ORNAN
DE: PÉPTIDO 3 SIMILAR A DEFENSINA (DLP-3).

ID: DMS1_PACDA
DE: PRECURSOR DE DERMASEPTINA PD-1-5.

ID: DMS1_PHYBI
DE: PRECURSOR DE DERMASEPTINA B1

ID: DMS1_PHYSA
DE: DERMASEPTINA 1 (DS I)

ID: DMS2_AGAAN
DE: PRECURSOR DE DERMASEPTINA AA-2-5.

ID: DMS2_PACDA
DE: PRECURSOR DE DERMASEPTINA PD-2-2.

ID: DMS2_PHYBI
DE: ADENOREGULINA (DERMASEPTINA B2).

ID: DMS2_PHYSA
DE: DERMASEPTINA 2 (DS II).

ID: DMS3_AGAAN
DE: PRECURSOR DE DERMASEPTINA AA-3-1.

ID: DMS3_PACDA

ID: DMS3_PHYBI
DE: DERMASEPTINA B3.

ID: DMS3_PHYSA
DE: DERMASEPTINA 3 (DS III).

ID: DMS4_AGAAN
DE: PRECURSOR DE DERMASEPTINA AA-3-3.

ID: DMS4_PACDA
DE: PRECURSOR DE DERMASEPTINA PD-3-6.

ID: DMS4_PHYBI

DE: DERMASEPTINA B3.

ID: DMS4_PHYSA
DE: DERMASEPTINA 4 (DS IV).

ID: DMS5_AGAAN
DE: PRECURSOR DE DERMASEPTINA AA-3-4.

ID: DMS5_PACDA
DE: PRECURSOR DE DERMASEPTINA PD-3-7.

ID: DMS5_PHYBI
DE: DERMASEPTINA B5.

ID: DMS5_PHYSA
DE: DERMASEPTINA 5 (DS V).

ID: DMS6_AGAAN
DE: PRECURSOR DE DERMASEPTINA AA-3-6.

ID: DMS6_PHYBI
DE: DERMASEPTINA B6.

ID: DMS7_PHYBI
DE: PRECURSOR DE DERMASEPTINA DRG3.

ID: DMS8_PHYBI
DE: PRECURSOR DE FILOXINA; PÉPTIDO DERIVADO DE DERMASEPTINA.

ID: DMYC_DROME
DE: PRECURSOR DE DROSOMICINA (PÉPTIDO RICO EN CISTEÍNA); PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: DMYC_DROTI
DE: PÉPTIDO SIMILAR A DROSOMICINA.

ID: DROS_DROME
DE: PRECURSOR DE DROSOCINA; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: DTH_HALAU
DE: CADENA DE DICINTAURINA

ID: EAFP_EUCUL
DE: EAFP1, PÉPTIDO ANTIFÚNGICO DE PLANTA

ID: EAP_BOVINO
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA BETA ENTERICA.

ID: EBCN_BOMMO
DE: PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO ENBOCINA

ID: ECAT1_EQUCA
DE: ECATH-3, CATELICIDINA 3 MIELOIDE DE CABALLO

ID: ECAT2_EQUCA
DE: ECATH-2, CATELICIDINA 2 MIELOIDE DE CABALLO

ID: ECAT3_EQUCA

FIGURA 7 (cont.)

DE: ECATH-3, CATELICIDINA 3 MIELOIDE DE CABALLO

ID: ELAF_HUMANO
DE: ANLILEUCOPROTEINASA) (SKALP).

ID: EMB1_CAVPO
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA 1 BÁSICA MAYOR DE GRÁNULOS DE EOSINÓFILO (MBP-1).

ID: EMB2_CAVPO
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA 2 BÁSICA MAYOR DE GRÁNULOS DE EOSINÓFILO (MBP-2).

ID: EMBP_HUMANO
DE: PROTEÍNA BÁSICA MAYOR ASOCIADA).

ID: ENAP1_CABALLO
DE: GRANÚLINA (PÉPTIDO ANTIBACTERIANO) ENAP-1, INCOMPLETO.

ID: ENAP2_CABALLO
DE: PÉPTIDO ENAP-2 ANTIMICROBIANO (FRAGMENTO).

ID: ENK_BOVINO
DE: ENQUELITINA; DERIVADA DE PRECURSOR A DE PROENCEFALINA [CONTIENE: DE MET-ENCEFALINA; LEU-ENCEFALINA]

ID: ENTA_ENTDI
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO FORMADOR DE PORO NO PATOGENICO (APNP). DISPARPORO-A

ID: ENTB_ENTDI
DE: PRECURSOR DE ISOFORMA B DE PROTEÍNA FORMADORA DE PORO. DISPARPORO-B

ID: ENTC_ENTDI
DE: PRECURSOR DE ISOFORMA B DE PROTEÍNA FORMADORA DE PORO. DISPARPORO-B

ID: ES1A_RANES
DE: ESCULETINA-1A.

ID: ES1B_RANES
DE: PRECURSOR DE ESCULETINA-1B.

ID: ES1_RANES
DE: ESCULETINA-1.

ID: ES2A_RANES
DE: ESCULETINA-2A.

ID: ES2B_RANES
DE: ESCULETINA-2B.

ID: ES2L_RANLU
DE: ESCULETINA-2L.

ID: ESC2B_RANBE
DE: ESCULETINA-2B.

ID: FACTD_TACTR
DE: PRECURSOR DE FACTOR.D; PROTEÍNA DE DEFENSA DE QUELICERADO

ID: FOR1_MYRGU
DE: FORMAEICINA 1, PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: FOR2_MYRGU
DE: FORMAEICINA 2, PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: GAE1_RANRU
DE: GAEGURINA-1.

ID: GAE2_RANRU
DE: GAEGURINA-2.

ID: GAE3_RANRU
DE: GAEGURINA-3.

ID: GAE4_RANRU
DE: GAEGURINA-4.

ID: GAE5_RANRU
DE: GAEGURINA-5.

ID: GAE6_RANRU
DE: GAEGURINA-6.

ID: GALN_KASSE
DE: PRECURSOR DE GALESINA, PÉPTIDO ANTIMICROBIANO DE RANA.

ID: GAM_ANOGA
DE: GAMBICINA; PÉPTIDO CORTO SENSIBLE A LA INFECCIÓN PUTATIVA (PRECURSOR)

ID: GKBL_GNBI
DE: GINKBILOBINA (GNL) (FRAGMENTO).

ID: GLIV_HYACE
DE: GLOVERINA, PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: GMAP43PRC_CAVPO
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO ANTIBACTERIANO MIELOIDE DE CONEJILLO DE INDIAS; CAP 11; CATELICIDINA

ID: GMAP43_CAVPO
DE: PREPOLIPÉPTIDO ANTIBACTERIANO MIELOIDE DE CONEJILLO DE INDIAS (POLIPÉPTIDO DE 11 KDA) CAP 11

ID: GNLY_HUMANO
DE: PROTEÍNA 519 DE ACTIVACIÓN).

ID: GOME_ACAGO
DE: GOMÉSINA, PÉPTIDO DE DEFENSA DE ARTRÓPODO

ID: H1_SALSA
DE: HISTONA H1. (NB EL NÚMERO DE ACCESIÓN PROPORCIONADO ES PARA SALMO GAIRDNERI)

ID: H2AX_ONCMY
DE: HISTONA H2A (FRAGMENTO).

ID: H2A_BUFBG
DE: HISTONA H2A (CONTIENE: BUFORINAS I Y II)(FRAGMENTO).

ID: H2A_HIPHI
DE: HISTONA H2A [CONTIENE: HIPOSINA](FRAGMENTO).

ID: HALN_HALAU
DE: CADENAS DE HALOCIDINA

ID: HDRN_HADAZ
DE: HARDRURINA

ID: HEMI_PYRAP
DE: HEMIPTERICINA; PROTEÍNA DE DEFENSA DE INSECTO

ID: HEMO_HYACE
DE: PRECURSOR DE HEMOLINA (PROTEÍNA P4)(INHIBIDOR DE AGREGACIÓN DE HEMOCITO), PROTEÍNA DE DEFENSA DE INSECTO

ID: HEMO_MANSE
DE: PRECURSOR DE HEMOLINA (PROTEÍNA P4)(INHIBIDOR DE AGREGACIÓN DE HEMOCITO), PROTEÍNA ANTIMICROBIANA DE INSECTO

ID: HEPC_HUMANO
DE: PRECURSOR DE HEPCIDINA DE PÉPTIDO ANTIMICROBIANO (PÉPTIDO ANTIMICROBIANO EXPRESADO EN HÍGADO), LEAP-1.

ID: HEPC_MORCH
DE: HEPCIDINA.

ID: HEPC_RATÓN
DE: PROHEPCIDINA.

ID: HEP_ONCMY
DE: PÉPTIDO ANTIMICROBIANO DE HEPCIDINA PUTATIVA (FRAGMENTO).

ID: HEP_CERDO
DE: PÉPTIDO ANTIMICROBIANO DE HEPCIDINA. EXPRESADO EN HÍGADO

ID: HEP_CATA
DE: PROHEPCIDINA.

ID: HFIAP1_MYXGL
DE: PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS DE INTestino DE PEZ BRUJA(HFIAP-1 Y -2). PÉPTIDO DE DEFENSA CRANEADO (CATELICIDINA)

FIGURA 7 (cont.)

ID: HFIAP3_MYXGL DE: PÉPTIDO ANTIMICROBIANO DE INTESTINO DE PEZ BRUJA(HFIAP-3). PÉPTIDO DE DEFENSA CRANEADO (CATELICIDINA)	ID: INDPRC_BOVINO DE: PRECURSOR DE INDOLICIDINA (CATELICIDINA)	(FALL39, LL37, HCAP18)(CATELICIDINA).
ID: HIS1_HUMANO DE: PRECURSOR DE HISTATINA 1 (PROTEÍNA 1 RICA EN HISTIDINA)(PROTEÍNA POST-B)(PPB).	ID: IND_BOVINO DE: INDOLICIDINA.	ID: LL37_HUMANO DE: HCAP-18, FALL-39, LL-37.
ID: HIS1_MACFA DE: HISTATINA 1.	ID: ISCT_OPIMA DE: PÉPTIDO DE ESCORPIÓN CITOTÓXICO ISCT	ID: LLP1_HIV DE: LLP1 (PÉPTIDO 1 DE LENTIVIRUS LÍTICO)
ID: HIS3_HUMANO DE: PRECURSOR DE HISTATINA 3 (PROTEÍNA 3 RICA EN HISTIDINA)(PB)(PROTEÍNA RICA EN HISTIDINA BÁSICA)(CONTIENE: HISTATINAS 4 A 12).	ID: JAP1_RANJA DE: JAPONICINA-1.	ID: LLP_EIAV DE: LLP (PÉPTIDO DE LENTIVIRUS LÍTICO)
ID: HIS5_HUMANO DE: HISTATINA 5 (PROTEÍNAS 5 RICA EN HISTIDINA)(PB)(PROTEÍNA RICA EN HISTIDINA BÁSICA).	ID: JAP2_RANJA DE: JAPONICINA-2.	ID: LLP_SIV DE: LLP (PÉPTIDO DE LENTIVIRUS LÍTICO)
ID: HLT_HUMANO DE: FRAGMENTO HLT1 Y 2 DE LACTOFERRINA.	ID: KAB1_OLDAF DE: KALATA B1.	ID: LTX1_LYCCA DE: LICOTOXINA 1
ID: HOL2_HOLDI DE: PRECURSOR DE HOLOTICINA 2; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO; COLEOPTERICINA	ID: LAP_BOVINO DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO ANTIMICROBIANO LINGUAL, DEFENSINA BETA DE BOVINO.	ID: LTX2_LYCCA DE: LICOTOXINA 2
ID: HOL3_HOLDI DE: PRECURSOR DE HOLOTICINA 3; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO; COLEOPTERICINA	ID: LBP_HUMANO DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA DE UNIÓN A LIPOPOLISACÁRIDO.	ID: LUM1_LUMRU DE: LUMBRICINA 1; PÉPTIDO DE DEFENSA DE GUSANO
ID: HPA1_RANES DE: PROTEÍNA A1 HEMOLÍTICA (FRAGMENTO).	ID: LBP_RABIT DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA DE UNIÓN A LIPOPOLISACÁRIDO(LBP).	ID: LYS_EISFO DE: FETIDINA, PROTEÍNA RELACIONADA CON LISENINA (HEMOLISINA).
ID: HPB9_RANES DE: PROTEÍNA B9 HEMOLÍTICA (FRAGMENTO).	ID: LCFB_BOVINO DE: FRAGMENTOS RELACIONADOS CON LACTOFERRICINA B (LACTOFERRINA/FRAGMENTOS EN ANILLO DE LACTOTRANSFER).	ID: MAC11_LITGE DE: MACULATINA 1.1, PÉPTIDO DE DEFENSA DE ANFIBIO
ID: HRCYC_HUMANO DE: RETROICLINA.	ID: LCFH_HUMANO DE: LACTOFERRICINA H (FRAGMENTO DE LACTOFERRINA).	ID: MAC12_LITGE DE: MACULATINA 1.2, PÉPTIDO DE DEFENSA DE ANFIBIO
ID: HYP_ARAHY DE: HIPOGÍNA; POLIPÉPTIDO ANTIFÚNGICO DE PLANTA (FRAGMENTO)	ID: LCRP_PETMA DE: PROTEÍNA LCRP RELACIONADA CON CORTICOESTATINA.	ID: MAC21_LITGE DE: MACULATINA 2.1, PÉPTIDO DE DEFENSA DE ANFIBIO
ID: HYTA_APIME DE: HIMENOPTAECINA; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO	ID: LEAP2_CERDO	ID: MAC31_LITGE DE: MACULATINA 3.1, PÉPTIDO DE DEFENSA DE ANFIBIO
ID: IAAT_MAIZE DE: INHIBIDOR DE AMILASA ALFA/TRIPSINA (PROTEÍNA ANTIFÚNGICA DE PLANTA).	ID: LEB2_BOMMO DE: PRECURSOR DE LEBOCINA 1/2; PROTEÍNA ANTIMICROBIANA DE INSECTO	ID: MAG1_XENLA DE: MAGAININA 1.
ID: IBAMP_IMPBA DE: PRECURSOR DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS; IBAMP1 – IBAMP4, PÉPTIDOS DE DEFENSA DE PLANTA	ID: LEB3_BOMMO DE: LEBOCINA 3; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO	ID: MAG2_XENLA DE: MAGAININA 2.
	ID: LEB4_BOMMO DE: PRECURSOR DE LEBOCINA 4 (DEL GEN); PROTEÍNA ANTIMICROBIANA DE INSECTO	ID: MAGA_XENLA DE: PRECURSOR DE MAGAININAS.
	ID: LEVI_XENLA DE: PRECURSOR DE PROLEVTIDA	ID: MAP34_CAPHI DE: GAOAT MAP34-A (MAP34-B); CATELICIDINA.
	ID: LL37PRC_HUMANO DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA DE UNIÓN DE LIPOPOLISACÁRIDO DE 19KD	ID: MAST_POLJA DE: POLISTES MASTOPARANO.
		ID: MAST_VESBA DE: MASTOPARANO B.
		ID: MAST_VESCR DE: MASTOPARANO C.

FIGURA 7 (cont.)

ID: MAST_VESLE
DE: MASTOPARANO.

ID: MAST_VESMA
DE: MASTOPARANO M (PÉPTIDO DEGRANULADOR DE MASTOCITOS).

ID: MAST_VESOR
DE: MASTOPARANO (PÉPTIDO 1 LIBERADOR DE HISTAMINA) (HR-I).

ID: MAST_VESXA
DE: MASTOPARANO X.

ID: MAX1_BOMMA
DE: PRECURSOR 1 DE MAXIMINA [CONTIENE: MAXIMINA-1].

ID: MAX2_BOMMA
DE: PRECURSOR 2 DE MAXIMINA [CONTIENE: MAXIMINA-2].

ID: MAX3_BOMMA
DE: PRECURSOR 3 DE MAXIMINA [CONTIENE: MAXIMINA-3].

ID: MAX4_BOMMA
DE: PRECURSOR 4 DE MAXIMINA [CONTIENE: MAXIMINA-4].

ID: MAX5_BOMMA
DE: PRECURSOR 5 DE MAXIMINA [CONTIENE: MAXIMINA-5].

ID: MAX6_BOMMA
DE: MAXIMINA-6.

ID: MAX7_BOMMA
DE: MAXIMINA-7.

ID: MAX8_BOMMA
DE: MAXIMINA-8.

ID: MBP1_MAIZE
DE: PÉPTIDO MBP-1 ANTIMICROBIANO; PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA

ID: MCDP_APIME
DE: PÉPTIDO DEGRANULADOR DE MASTOCITOS (MCD)(PÉPTIDO 401).

ID: MCDP_MEGPE
DE: PÉPTIDO DEGRANULADOR DE MASTOCITOS (MCD).

ID: MEL1_APIME
DE: PRECURSOR MAYOR DE MELITINA.

ID: MEL2_APIME
DE: MELITINA MENOR.

ID: MEL_APIDO
DE: MELITINA.

ID: MEL_APIFL
DE: MELITINA.

ID: MIS_MISAN
DE: MISGURINA

ID: MK1_PALPR
DE: METALNIKOWINA I; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: MK2A_PALPR
DE: METALNIKOWINA II-A; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: MK2B_PALPR
DE: METALNIKOWINA II-B; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: MK3_PALPR
DE: METALNIKOWINA III; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: MRCN_BOMMO
DE: PRECURSOR DE MORICINAS 1 Y 2 (PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO) (CONFLICTO DE NOMBRE)

ID: MRP_RATAG
DE: PÉPTIDO RELACIONAD CON MELITINA DE RANA (MRP)

ID: MSGP_RATÓN
DE: PROTEÍNA DE GRÁNULO SECUNDARIO MIELOIDE (MRNA)(CLON B6).

ID: MTK_DROME
DE: PRECURSOR DE METCHNIKOWINA; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: MYCA_MYTGA
DE: PRECURSOR DE MITICINA A, PÉPTIDO DE DEFENSA DE MOLUSCO

ID: MYCB_MYTGA
DE: PRECURSOR DE MITICINA B, PÉPTIDO DE DEFENSA DE MOLUSCO

ID: MYMY_MYTED
DE: MITIMICINA (FRAGMENTO).

ID: MYTA_MYTED
DE: MITILINA A; PÉPTIDO DE DEFENSA DE MOLUSCO

ID: MYTB_MYTED
DE: MITILINA B; PÉPTIDO DE DEFENSA DE MOLUSCO

ID: MYTB_MYTGA
DE: MITILINA B; PÉPTIDO DE DEFENSA DE MOLUSCO

ID: MYTC_MYTGA
DE: MITILINA C; PÉPTIDO DE DEFENSA DE MOLUSCO

ID: MYTD_MYTGA
DE: MITILINA D; PÉPTIDO DE DEFENSA DE MOLUSCO

ID: MYTG_MYTGA
DE: MITILINA G1; PÉPTIDO DE DEFENSA DE MOLUSCO

ID: NGC1_RANNI
DE: NIGROCINA-1

ID: NGC2_RANNI
DE: NIGROCINA-2

ID: NKK1_CERDO
DE: LISINA 1 DE NK.

ID: NKK2_CERDO
DE: LISINA 2 DE NK.

ID: NKL_EQUCA
DE: PÉPTIDO DE LISINA DE NK ANTIMICROBIANO.

ID: NKL_CERDO
DE: PRECURSOR DE LISINA DE NK (NKL)(FRAGMENTO). PÉPTIDO FORMADOR DE PORO

ID: NPA_NAEFO
DE: PÉPTIDO FORMADOR DE PORO A PORO DE NAEGLERIA

ID: NPA_NAEFO
DE: PÉPTIDO FORMADOR DE PORO B PORO DE NAEGLERIA

ID: OLPA_TOBAC
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA SIMILAR A OSMOTINA (PROTEÍNA PR-5D RELACIONADA CON PATOGENESIS).

ID: ONCIII_ONCMY
DE: PROTEÍNA SIMILAR A HISTONA H6 (FRAGMENTO).

ID: ONCII_ONCMY
DE: III]

ID: OP01_OXYKI
DE: OXÍOPININA 1 (OXKI1).

ID: OP2_OXYKI
DE: OXÍOPININA 2 (2A, 2B, 2C & 2D).

ID: OPO1_OPICA
DE: OPISTOPORINA 1 & 2.

ID: P15A_RABIT
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA A DE 15 KD (P15A).

ID: P15B_RABIT
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA B DE 15 KD (P15B).

ID: PAFP_PHYAM
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA 1 ANTIFÚNGICA (PAFP-S; AFPS-1). PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA

ID: PAL1C_RANPA
DE: PALUSTRINA-1C. PÉPTIDO LIBERADOR DE INSULINA

ID: PAN1_PANIM
DE: PANDININA 1; PÉPTIDO ANTIMICROBIANO DE VENENO DE ESCORPIÓN

FIGURA 7 (cont.)

ID: PAN2_PANIM
DE: PANDININA 2; PÉPTIDO
ANTIMICROBIANO DE VENENO DE
ESCORPIÓN

ID: PAR1_PARAS
DE: PARÁSINA I (PÉPTIDO DE DEFENSA
DERIVADO DE HISTONA 2A).

ID: PARDX_PARMA
DE: PARDAXINA

ID: PARDX_PARPV
DE: PARDAXINAAS P-1, P-2 Y P3

ID: PBPO_PARSOC
DE: PARABUTOPORINA; BMKBPP.

ID: PCG1_PACGO
DE: PONERICINA G1.

ID: PCG2_PACGO
DE: PONERICINA G2.

ID: PCG3_PACGO
DE: PONERICINA G3.

ID: PCG4_PACGO
DE: PONERICINA G4.

ID: PCG5_PACGO
DE: PONERICINA G5.

ID: PCG6_PACGO
DE: PONERICINA G6.

ID: PCG7_PACGO
DE: PONERICINA G7.

ID: PCL1_PACGO
DE: PONERICINA L1.

ID: PCW1_PACGO
DE: PONERICINA W1.

ID: PCW3_PACGO
DE: PONERICINA W3.

ID: PCW4_PACGO
DE: PONERICINA W4.

ID: PCW5_PACGO
DE: PONERICINA W5.

ID: PCW6_PACGO
DE: PONERICINA W6.

ID: PDEF1_AESHI
DE: PROTEÍNA 1 ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (AH-AMP1), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF1_ARATH
DE: PÉPTIDO PDF1 ANTIFÚNGICO,
PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA

ID: PDEF1_BETVU
DE: PROTEÍNA AX1 ANTIFÚNGICA,
DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF1_BRANA
DE: PROTEÍNA 1 ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (AFP1) DEFENSINA DE PLANTA
(FRAGMENTO).

ID: PDEF1_BRARA
DE: PROTEÍNA 1 ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (AFP1) DEFENSINA DE PLANTA
(FRAGMENTO).

ID: PDEF1_CAJCA
DE: DEFENSINAS DE PLANTA
(PUTATIVA).

ID: PDEF1_CAPAN
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA JI-1.

ID: PDEF1_CLITE
DE: PROTEÍNA 1 ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (CT-AMP1), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF1_DAHME
DE: PROTEÍNA 1 ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (DM-AMP1), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF1_HEUSA
DE: PROTEÍNA 1 ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (HS-AMP1), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF1_ORYSA
DE: DEFENSINAS DE PLANTA
(PUTATIVA)

ID: PDEF1_PETHY
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA 1
SIMILAR A DEFENSINA FLORAL
(PHD1)(DEFENSINA DE PLANTA)

ID: PDEF1_PICGL
DE: DEFENSINA DE PLANTA (PUTATIVA)

ID: PDEF1_PISSA
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA 39 DE
RESPUESTA DE RESISTENCIA A
ENFERMEDAD. DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF1_RAPSA
DE: PROTEÍNA 1 ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (RS-AFP1), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF1_SINAL
DE: PROTEÍNA 1 ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (AFP1)(M1) DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF1_SORBI
DE: INHIBIDOR DE PROTEÍNA PEQUEÑA
DE AMILASAS 1 ALFA DE INSECTO (SI
ALFA-1).

ID: PDEF1_SPIOL
DE: PROTEÍNA 2 ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (SO-D1) FRAGMENTO DE
DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF1_VICFA
DE: FABATINA; DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF1_VIGRA
DE: DEFENSINA DE PLANTA (PUTATIVA)

ID: PDEF1_TRIGO
DE: PUROTIONINA GAMMA-1 (TGH-1)
DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF2A_SINAL
DE: PROTEÍNA 2 ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (AFP2A)(M2A) DEFENSINA DE
PLANTA

ID: PDEF2B_SINAL
DE: PROTEÍNA 2B ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (AFP2B)(M2B) DEFENSINA DE
PLANTA

ID: PDEF2_ARATH
DE: PROTEÍNA ANTIFÚNGICA PUTATIVA
(PROTEÍNA ANTIFÚNGICA RICA EN
CISTEÍNA), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF2_BETVU
DE: PROTEÍNA AX2 ANTIFÚNGICA

ID: PDEF2A_BRANA
DE: PROTEÍNA 2 ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (AFP2A); DEFENSINA DE PLANTA
(FRAGMENTO).

ID: PDEF2A_BRARA
DE: PROTEÍNA 2 ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (AFP2A) DEFENSINA DE PLANTA
(FRAGMENTO).

ID: PDEF2_CAPAN
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA JI-2.

ID: PDEF2_PETHY
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA 2
SIMILAR A DEFENSINA FLORAL (PHD2).

ID: PDEF2_PISSA
DE: PROTEÍNA ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (p1230), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF2_RAPSA
DE: PROTEÍNA ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (RS-AFP2), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF2_SORBI
DE: PROTEÍNA ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (SI-ALFA-2), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF2_SPIOL
DE: PROTEÍNA 2 ANTIFÚNGICA RICA EN
CYS (SO-D2) DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF2_VICFA
DE: FABATINA-2 (DEFENSINA DE
PLANTA)

FIGURA 7 (cont.)

ID: PDEF2_TRIGO
DE: Purotionina gamma-2 (THG-2), DEFENSINA DE PLANTA.

ID: PDEF3_ARATH
DE: PRECURSOR DEL HOMÓLOGO AT2G02100 DE TIONINA GAMMA (THG1), DEFENSINA DE PLANTA (PUTATIVA)

ID: PDEF3_BRARA
DE: PROTEÍNA 3 ANTIFÚNGICA RICA EN CYS (AFP3) DEFENSINA DE PLANTA (PUTATIVA).

ID: PDEF3_PISSA
DE: (PROTEÍNA PSD1 ANTIFÚNGICA).

ID: PDEF3_SORBI
DE: DEFENSINA DE PLANTA.

ID: PDEF3_SPIOL
DE: PROTEÍNA 2 ANTIFÚNGICA RICA EN CYS (SO-D3) DEFENSINA DE PLANTA, FRAGMENTO

ID: PDEF4_ARATH
DE: PRECURSOR DEL HOMÓLOGO AT2G02120 DE TIONINA GAMMA (THG-2); DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF4_PISSA
DE: PÉPTIDO 2 RELACIONADO CON DEFENSA (DEFENSINA 2)(PROTEÍNA PSD2 ANTIFÚNGICA).

ID: PDEF4_SPIOL
DE: PROTEÍNA 2 ANTIFÚNGICA RICA EN CYS (SO-D5) DEFENSINA DE PLANTA, FRAGMENTO

ID: PDEF5_SPIOL
DE: PROTEÍNA 2 ANTIFÚNGICA RICA EN CYS (SO-D6) DEFENSINA DE PLANTA, FRAGMENTO

ID: PDEF6_SPIOL
DE: PROTEÍNA 2 ANTIFÚNGICA RICA EN CYS (SO-D7) DEFENSINA DE PLANTA, FRAGMENTO

ID: PDEF7_SPIOL
DE: TIONINA 5 GAMMA (DEFENSINA D5)(FRAGMENTO).

ID: PDEFA_HELAN
DE: PRECURSOR DE TIONINA GAMMA ESPECÍFICA DE FLOR (DEFENSINA SD2).

ID: PDEFB_HELAN
DE: DEFENSINA (FRAGMENTO).

ID: PDEFC_HELAN
DE: DEFENSINA CUA1 (FRAGMENTO).

ID: PDEF_HORVU

DE: PROTEÍNA ANTIFÚNGICA RICA EN CYS (GAMMA1-H), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF_MAIZE
DE: ZEATIONINA 1 GAMMA (THG1) DEFENSINA DE PLANTA.

ID: PDEF_MEDSA
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA ANTIFÚNGICA (AFP) DEFENSINA DE PLANTA.

ID: PDEF_MEDSA
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA ANTIFÚNGICA (AFP) DEFENSINA DE PLANTA.

ID: PDEF_NICAL
DE: PRECURSOR DE DEFENSINA ESPECÍFICA DE FLOR (NAD1).

ID: PDEF_NICPA
DE: PRECURSOR DE TIONINA 1 GAMMA (THG-1 DEFENSINA DE PLANTA.

ID: PDEF_NICTA
DE: PROTEÍNA ANTIFÚNGICA RICA EN CYS (FST), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF_PETIN
DE: PROTEÍNA ANTIFÚNGICA RICA EN CYS (PPT), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF_SOLTU
DE: PROTEÍNA ANTIFÚNGICA RICA EN CYS (P322), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF_SOYBN
DE: PROTEÍNA ANTIFÚNGICA RICA EN CYS P322), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF_TRIAE
DE: PROTEÍNA ANTIFÚNGICA RICA EN CYS (GAMMA1-P), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF_VIGUN
DE: PROTEÍNA ANTIFÚNGICA RICA EN CYS (PSA510), DEFENSINA DE PLANTA

ID: PDEF_WASJA
DE: PRECURSOR DE TIONINA 1 GAMMA.

ID: PEPA_RANCA
DE: PÉPTIDO DERIVADO DE PEPSINÓGENO A (BPAAP)

ID: PEPC_RANCA
DE: PÉPTIDO DERIVADO DE PEPSINÓGENO C (bPcAP)

ID: PERF_RATÓN
DE: PRECURSOR DE PERFORINA 1 (P1)(PROTEÍNA FORMADORA DE PORO DE LINFOCITO).

ID: PF4PF_HUMANO
DE: FACTOR 4 DE PLAQUETA (PF-4) FRAGMENTO DE PÉPTIDO.

ID: PFFA_ENTHI
DE: ISOFORMA A DEL PÉPTIDO FORMADOR DE PORO DE PORO DE AMEBA .

ID: PFPB_ENTHI
DE: PORO DE AMEBA ISOFORMA B DEL PÉPTIDO FORMADOR DE PORO.

ID: PFPC_ENTHI
DE: PORO DE AMEBA ISOFORMA C DEL PÉPTIDO FORMADOR DE PORO.

ID: PFPRC_CERDO
DE: PRECURSOR DE PROFENINAS (PF-1), (CLON C12), (PF-2), (CLON C6), (CATELICIDINA).

ID: PFP_ENTHI
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO FORMADOR DE PORO (CEH-APP).

ID: PF_CERDO
DE: PROFENINA (PF-1, -2), (CLON C6 Y C12)

ID: PG1_CERDO
DE: PRÓTEGRINA 1 (PG-1).

ID: PG2_CERDO
DE: PRÓTEGRINA 2 (PG-2).

ID: PG3_CERDO
DE: PRÓTEGRINA 3 (PG-3).

ID: PG4_CERDO
DE: PRÓTEGRINA 4 (PG-4)

ID: PG5_CERDO
DE: PRÓTEGRINA 5 (PG-5).

ID: PGK_XENLA
DE: FRAGMENTO DEL PRECURSOR DE LEVITIDA (PÉPTIDO PGK ANTIMICROBIANO).

ID: PGLA_XENLA
DE: PÉPTIDO PGLA ANTIMICROBIANO.

ID: PGPRC_CERDO
DE: PRECURSOR DE PROTEGRINAS (PG-1, PG-5)(CATELICIDINAS).

ID: PGQ_XENLA
DE: PÉPTIDO PGQ ANTIMICROBIANO.

ID: PIP_RANPI
DE: PIPININA, BREVINA-1PA

ID: PIS1_MORSA
DE: PISCIDINA 1 / MORONECIDINA

ID: PIS3_MORSA
DE: PISCIDINA 3

ID: PLE01A_PLEAM

FIGURA 7 (cont.)

DE: PREPROPOLIPÉPTIDO SIMILAR A PLEUROCIDINA DE PLEURONECTES AMERICANUS (PLE1A)

ID: PLE01_HIPPL
DE: PÉPTIDO AP1 SIMILAR A PLEUROCIDINA.

ID: PLE01_PLEAM
DE: PREPROPOLIPÉPTIDO SIMILAR A PLEUROCIDINA DE PLEURONECTES AMERICANUS (PLE1)

ID: PLE02_HIPPL
DE: PÉPTIDO AP2 SIMILAR A PLEUROCIDINA.

ID: PLE02_PLEAM
DE: PREPROPOLIPÉPTIDO SIMILAR A PLEUROCIDINA DE PLEURONECTES AMERICANUS (PLE2)

ID: PLE03_HIPPL
DE: PÉPTIDO AP3 SIMILAR A PLEUROCIDINA.

ID: PLE03_PLEAM
DE: PREPROPOLIPÉPTIDO SIMILAR A PLEUROCIDINA DE PLEURONECTES AMERICANUS (PLE3)

ID: PLE04_PLEAM
DE: PREPROPOLIPÉPTIDO SIMILAR A PLEUROCIDINA DE PLEURONECTES AMERICANUS (PLE4)

ID: PLE_PLEAM
DE: PLEUROCIDINA

ID: PMAP23PRC_CERDO
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO ANTIBACTERIANO MIELOIDE DE CERDO (PMAP-23, MP23)(CATELICIDINA).

ID: PMAP23_CERDO
DE: PÉPTIDO ANTIBACTERIANO MIELOIDE DE CERDO (PMAP-23).

ID: PMAP36PRC_CERDO
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO ANTIBACTERIANO MIELOIDE DE CERDO (PMAP-36, MP36)(CATELICIDINA).

ID: PMAP36_CERDO
DE: PÉPTIDO ANTIBACTERIANO MIELOIDE DE CERDO (PMAP-36).

ID: PMAP37PRC_CERDO
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO ANTIBACTERIANO MIELOIDE DE CERDO (PMAP-37, MP37)(CATELICIDINA)

ID: PMAP37_CERDO

DE: PÉPTIDO ANTIBACTERIANO MIELOIDE DE CERDO (PMAP-37).

ID: PN1_PENVA
DE: PENAEIDINA-1 (P1), PÉPTIDO DE DEFENSA DE CRUSTÁCEO

ID: PN2_PENVA
DE: PRECURSOR DE PENAEIDINA-2 (P2), PÉPTIDO DE DEFENSA DE CRUSTÁCEO

ID: PN3A_PENVA
DE: PRECURSOR DE PENAEIDINA-3A (P3-A), PÉPTIDO DE DEFENSA DE CRUSTÁCEO

ID: PN3B_PENVA
DE: PRECURSOR DE PENAEIDINA-3B (P3-B), PÉPTIDO DE DEFENSA DE CRUSTÁCEO

ID: PN3C_PENVA
DE: PRECURSOR DE PENAEIDINA-3C (P3-C), PÉPTIDO DE DEFENSA DE CRUSTÁCEO

ID: PNAMP_PHANI
DE: PÉPTIDO PN-AMP ANTIMICROBIANO (PN-AMP1/PN-AMP2), PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA

ID: PP1_PHETS
DE: PÉPTIDO PP-1 SIMILAR ANTIMICROBIANO.

ID: PPM1_LIMPO
DE: POLIFEMUSINA I; PÉPTIDO ANTIMICROBIANO DE QUELICERADO

ID: PPM2_LIMPO
DE: POLIFEMUSINA II; PÉPTIDO ANTIMICROBIANO DE QUELICERADO

ID: PR39PRC_CERDO
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO PR-39 ANTIBACTERIANO (CATELICIDINA).

ID: PR39_CERDO
DE: PÉPTIDO PR-39 ANTIBACTERIANO.

ID: PSE1_PSEPA
DE: PSEÚDINA-1

ID: PSE2_PSEPA
DE: PSEÚDINA-2

ID: PSE3_PSEPA
DE: PSEÚDINA-3

ID: PSE4_PSEPA
DE: PSEÚDINA-4

ID: PSPB_HUMANO

DE: PROTEÍNA DE SURFACTANTE PULMONAR).

ID: P RTP_CERDO
DE: DE CLON C6/C12 (CATELICIDINA).

ID: PUJA_TRIGO
DE: PRECURSOR DE PUROINDOLINA-A; PROTEÍNA DE DEFENSA DE PLANTA

ID: PUIB_TRIGO
DE: PRECURSOR DE PUROINDOLINA-B.

ID: PYRR_PYRAP
DE: PIRROCORICINA; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: RGSNA_RANRU
DE: RUGOSINA A.

ID: RGSNB_RANRU
DE: RUGOSINA B.

ID: RGSNC_RANRU
DE: RUGOSINA C.

ID: RHIC_ORYRH
DE: PRECURSOR DE RINOCEROSINA; PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO, COLEOPTERICINA

ID: RK1_CONEJO
DE: RINÓN DE CONEJO CORTICOSTATI/PÉPTIDO RK1 SIMILAR A DEFENSINA

ID: RL37_MACMU
DE: RL37.

ID: RLXN_RANCA
DE: PRECURSOR DE RANALEXINA.

ID: RNX1G_RANGR
DE: RANALEXINA-1G

ID: RT1GA_RANGR
DE: RANATUERINA-1GA

ID: RT1GB_RANGR
DE: RANATUERINA-1GB

ID: RT2B_RANBE
DE: RANATUERINA-2B.

ID: RT2GB_RANGR
DE: RANATUERINA-2GB

ID: RT2LA_RANLU
DE: RANATUERINA-2LA.

ID: RT2LB_RANLU
DE: RANATUERINA-2LB.

ID: RT2TRA_RANTA
DE: RANATUERINA-2TRA.

FIGURA 7 (cont.)

ID: RT4_RANCA
DE: RAÑATUERDNA 4.

ID: SALC_ONCMY
DE: SALMOCIDINA (FRAGMENTO).

ID: SAPBRK_SARPE
DE: FRAGMENTO DE SAPECINA B 7R-17K;
PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO.

ID: SAPB_SARPE
DE: SAPECINA B, DEFENSINA DE
INSECTO.

ID: SAPC_SARPE
DE: SAPECINA C, DEFENSINA DE
INSECTO.

ID: SAPE_SARPE
DE: PRECURSOR DE SAPECINA,
DEFENSINA DE INSECTO.

ID: SCAR_ORHYR
DE: ESCARABAECINA, PÉPTIDO DE
DEFENSA DE INSECTO

ID: SCR_PANIM
DE: PRECURSOR DE ESCORPINA.

ID: SECP_APIME
DE: SECÁPINA, COMPONENTE DE
VENENO DE INSECTO

ID: SHEP_CAPBU
DE: PÉPTIDO SHEP-GRP
ANTIMICROBIANO, SEFERINA-1

ID: SILU_RHIPU
DE: SILÚCINA; PÉPTIDO
ANTIMICROBIANO DE HONGO

ID: SLN_BOVINO
DE: SECRETOLITINA;
SECRETOTRANINA
I(CROMOGRANINA B)FRAGMENTO
ANTIBACTERIANO

ID: SMAP29PRC_OVEJA
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO
ANTIBACTERIANO MIELOIDE DE OVEJA
(SMAP-29, MP29)(CATELICIDINA)
PÉPTIDO SC5 RELACIONADO CON
CATELINA

ID: SMAP29_OVEJA
DE: PÉPTIDO ANTIBACTERIANO
MIELOIDE DE OVEJA, SC5, SMAP-29.

ID: SMAP34_OVEJA
DE: PRECURSOR DE PÉPTIDO
ANTIBACTERIANO MIELOIDE DE OVEJA
(MAP34)(CATELICIDINA)

ID: SNA1_SOLTU
DE: SNAQUINA-1 (FRAGMENTO).
PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA

ID: SNA2_SOLTU
DE: PRECURSOR DE ESNAQUINA2,
STSN2.

ID: SPAMP1_PINSY
DE: PRECURSORES DEL PÉPTIDO
ANTIMICROBIANO (SP-AMP1 a SP-AMP3);
PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA;

ID: SPD1A_HYACE
DE: ESPODPSINA 1A, PÉPTIDO DE
DEFENSA DE INSECTO

ID: SPD1B_HYACE
DE: ESPODPSINA 1B, PÉPTIDO DE
DEFENSA DE INSECTO

ID: SPF1_BOVINO
DE: FRAGMENTO DE PLASMINA
SEMINAL (SPF), (FRAGMENTO DE
CALTRINA).

ID: SPF2_BOVINO
DE: FRAGMENTO 2 DE PLASMINA
SEMINAL (SPF), (FRAGMENTO DE
CALTRINA).

ID: SPIG_PSEUS
DE: ESPINGERINA/ ESPINIGERINA.

ID: SPYY_PHYBI
DE: POLIPÉPTIDO YY DE PIEL
(NEUROPEPTIDO/ANÁLOGO DE
POLIPÉPTIDO YY PANCREÁTICO)

ID: SR1A_SARPE
DE: PRECURSOR DE SARCOTOXINA IA.

ID: SR1B_SARPE
DE: PRECURSOR DE SARCOTOXINA IB,
PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: SR1C_SARPE
DE: SARCOTOXINA IC, PÉPTIDO DE
DEFENSA DE INSECTO

ID: SR1D_SARPE
DE: SARCOTOXINA ID, PÉPTIDO DE
DEFENSA DE INSECTO

ID: SR21_SARPE
DE: PRECURSOR DE SARCOTOXINA II-1,
PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: SR22_SARPE
DE: PRECURSOR DE SARCOTOXINA II-2,
PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: SR23_SARPE
DE: PRECURSOR DE SARCOTOXINA II-3,
PROTEÍNA DE DEFENSA DE INSECTO

ID: SR2_SARPE
DE: PRECURSOR DE SARCOTOXINA IIA,
PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: STOX_STOMA
DE: ESTOMOXINA.

ID: STYA_STYCL

DE: ESTIELINA A (FRAGMENTO),
PÉPTIDO DE DEFENSA TUNICADO

ID: STYB_STYCL
DE: ESTIELINA B (FRAGMENTO),
PÉPTIDO DE DEFENSA TUNICADO

ID: STYC_STYCL
DE: ESTIELINA C; PÉPTIDO DE DEFENSA
TUNICADO

ID: STYD_STYCL
DE: ESTIELINA D; PÉPTIDO DE DEFENSA
TUNICADO

ID: TAC1_TACGI
DE: TAQUIPLESINA I; PÉPTIDO DE
DEFENSA DE QUELICERADO

ID: TAC1_TACTR
DE: PRECURSOR DE TAQUIPLESINA II;
PÉPTIDO ANTIMICROBIANO DE
QUELICERADO

ID: TAC2_TACTR
DE: PRECURSOR DE TAQUIPLESINA II;
PÉPTIDO DE DEFENSA DE QUELICERADO

ID: TAC3_TACGI
DE: TAQUIPLESINA III; PÉPTIDO DE
DEFENSA DE QUELICERADO

ID: TACA1_TACTR
DE: TAQUIESTATINA A (PÉPTIDO
ANTIMICROBIANO DE QUELICERADO)

ID: TACB_TACTR
DE: TAQUIESTATINA B (PÉPTIDO
ANTIMICROBIANO DE QUELICERADO)

ID: TACC_TACTR
DE: TAQUIESTATINA C (PÉPTIDO
ANTIMICROBIANO DE QUELICERADO)

ID: TACN_TACTR
DE: TAQUICITINA, PÉPTIDO DE DEFENSA
DE QUELICERADO

ID: TAP_BOVINO
DE: PRECURSOR DEL PÉPTIDO
ANTIMICROBIANO TRAUQUEAL (TAP),
DEFENSINA BETA DE BOVINO.

ID: TCBI_TRILO
DE: TRICOLONGINA BI Y BII.

ID: TDEF1A_MACMU
DE: DEFENSINA 1 TETA, PRECURSOR DE
SUBUNIDAD A (RTD-1).

ID: TDEF1B_MACMU
DE: DEFENSINA 1 DE TETA, PRECURSOR
DE SUBUNIDAD B (RTD-1).

ID: TDEF1_MACMU
DE: DEFENSINA 1 DE RHESYS TETA;
PÉPTIDO DE DEFENSA CÍCLICO RTD-1

FIGURA 7 (cont.)

ID: TEJA_RANJA
DE: TEMPORINA-1JA, PÉPTIDO
ANTIMICROBIANO DE RANA.

ID: TEN3_TENMO
DE: PRECURSOR DE TENECINA 3,
PÉPTIDO DE DEFENSA DE INSECTO

ID: TERN_PSEUS
DE: TERMICINA.

ID: THAN_PODMA
DE: TANATINA; PÉPTIDO DE DEFENSA
DE INSECTO.

ID: THHR_HORVU
DE: PROTEÍNA R ANTIFÚNGICA
(FRAGMENTO), PÉPTIDO DE DEFENSA DE
PLANTA

ID: THHS_HORVU
DE: PROTEÍNA S ANTIFÚNGICA
(FRAGMENTO), PÉPTIDO DE DEFENSA DE
PLANTA

ID: TIN1_HOPTI
DE: TIGERININA-1.

ID: TIN2_HOPTI
DE: TIGERININA-2.

ID: TIN3_HOPTI
DE: TIGERININA-3.

ID: TIN4_HOPTI
DE: TIGERININA-4.

ID: TMP10B_RANOR
DE: BREVININA-20B.

ID: TMP10C_RANOR
DE: TEMPORINA-10C.

ID: TMP10D_RANOR
DE: TEMPORINA-10D.

ID: TMP1GA_RANGR
DE: TEMPORINA-1GA

ID: TMP1LA_RANLU
DE: TEMPORINA-1LA.

ID: TMP1LB_RANLU
DE: TEMPORINA-1LB.

ID: TMP1LC_RANLU
DE: TEMPORINA-1LC.
ID: TMP1_RATAG
DE: TEMPORINA

ID: TMPA_RANTE
DE: TEMPORINA A

ID: TMPB_RANTE
DE: TEMPORINA B

ID: TMPL_RANTE
DE: TEMPORINA L.

ID: TPM1_LYCES
DE: PRECURSOR DE PROTEÍNA TPM-1
SIMILAR A OSMOTINA (FRAGMENTO),
PÉPTIDO DE DEFENSA DE PLANTA

ID: TRFE_CHICK
DE: PRECURSOR DE OVOTRANSFERRINA
(CONALBUMINA) (ALÉRGENO GAL
D3)(GAL D III).

ID: UP21_UPEIN
DE: UPERINA 2.1.

ID: UP22_UPEIN
DE: UPERINA 2.2.

ID: UP23_UPEIN
DE: UPERINA 2.3.

ID: UP24_UPEIN
DE: UPERINA 2.4.

ID: UP25_UPEIN
DE: UPERINA 2.5.

ID: UP26_UPEMJ
DE: UPERINA 2.6.

ID: UP27_UPEMJ
DE: UPERINA 2.7.

ID: UP28_UPEMJ
DE: UPERINA 2.8.

ID: UP36_UPEMJ
DE: UPERINA 3.6.

ID: UP3_UPEIN
DE: UPERINAS 3.1, 3.2 & 3.3

ID: UP3_UPEMJ
DE: UPERINAS 3.4, 3.4 Y 3.7

ID: UP41_UPEIN
DE: UPERINA 4.1.

ID: UP6_UPEIN
DE: UPERINA 6.1 Y 6.2.

ID: UP71_LITEW

DE: UPERINA 7.1 [CONTIENE: UPERINA
7.1.1].

ID: VIC12_MACIN
DE: PRECURSOR DE VICILINA (MIAMP2),
PROTEÍNA ANTIMICROBIANA DE
PLANTA

ID: VIC3_MACIN
DE: PRECURSOR DE VICILINA (MIAMP2),
PROTEÍNA ANTIMICROBIANA DE
PLANTA

ID: VIP_CERDO
DE: (VIP)(FRAGMENTO).

ID: VIRE_HELVI
DE: VIRESCÉINA.

ID: VSTN_BOVINO

DE: PANCREAESTATINA; WE-14;
CATESTATINA].

ID: XENO_XENLA
DE: XENOPSINA/PRECURSOR XPF.
PÉPTIDO DE DEFENSA DE ANFIBIO

ID: XT1_XENTR
DE: PÉPTIDO 1 ANTIMICROBIANO
(XT-1).

ID: XT2_XENTR
DE: PÉPTIDO 2 ANTIMICROBIANO
(XT-2).

ID: XT3_XENTR
DE: PÉPTIDO 3 ANTIMICROBIANO (XT-
3)(PÉPTIDO SIMILAR A LEVITIDA).

ID: XT4_XENTR
DE: PÉPTIDO 4 ANTIMICROBIANO
(XT-4).

ID: XT5_XENTR
DE: PÉPTIDO 5 ANTIMICROBIANO
(XT-5)(PÉPTIDO SIMILAR A PGLA).

ID: XT6_XENTR
DE: PÉPTIDO 6 ANTIMICROBIANO
(XT-6).

ID: XT7_XENTR
DE: PÉPTIDO 7 ANTIMICROBIANO
(XT-7).

ID: ZEAM_MAIZE
DE: PRECURSOR DE ZEAMATINA;
PROTEÍNA DE DEFENSA DE PLANTA

FIGURA 8

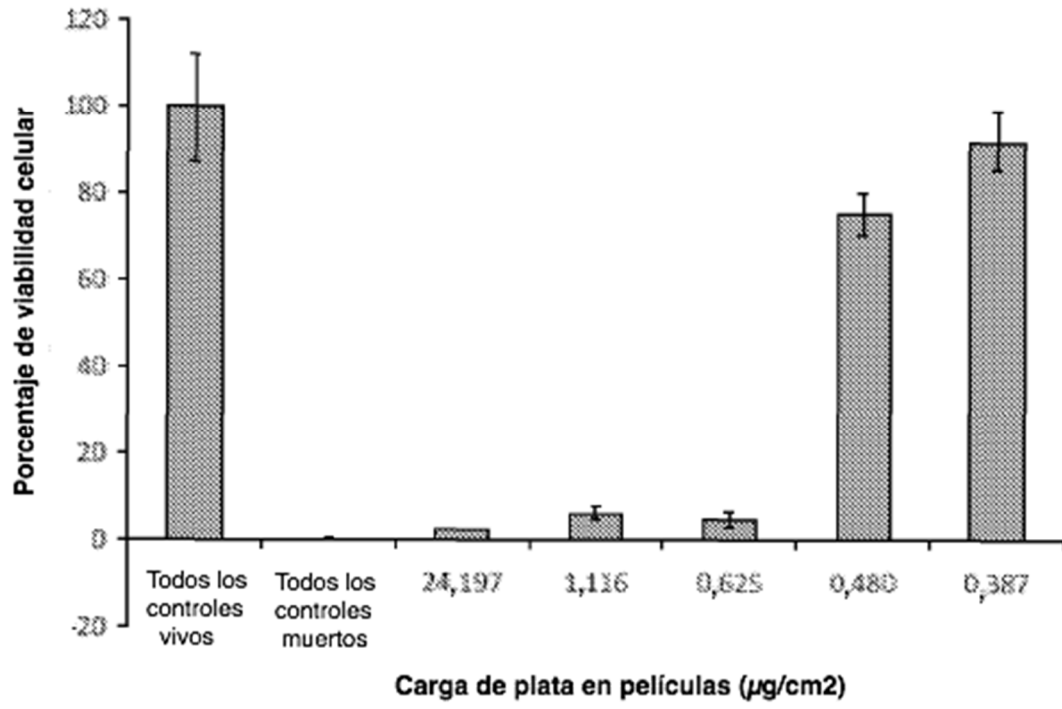


FIGURA 9

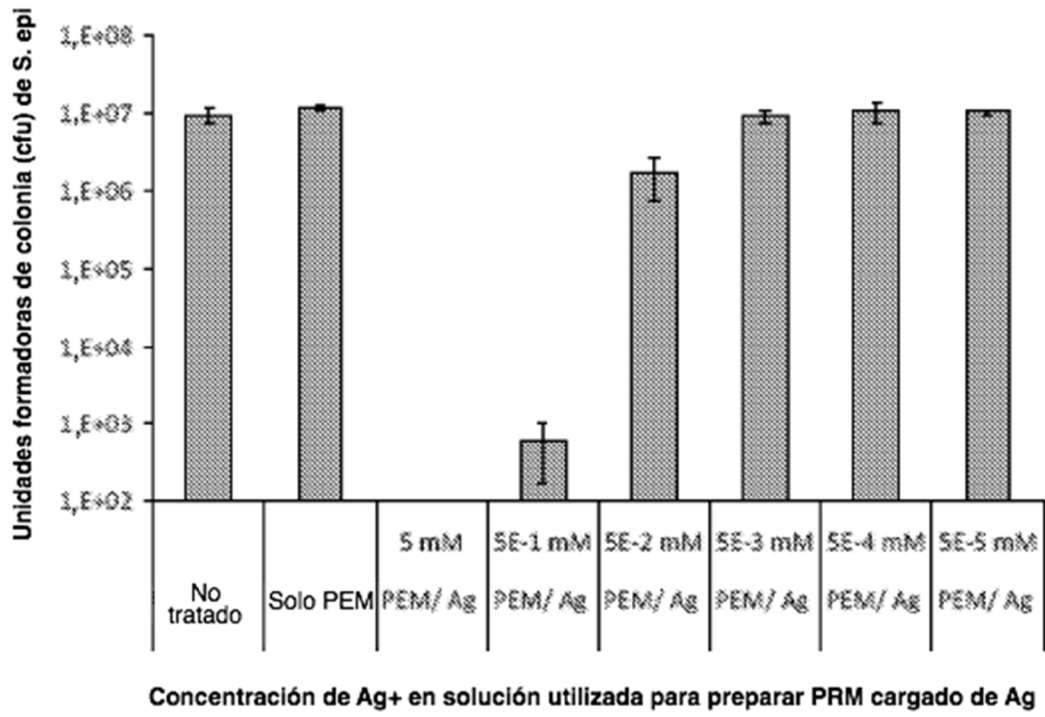


FIGURA 10

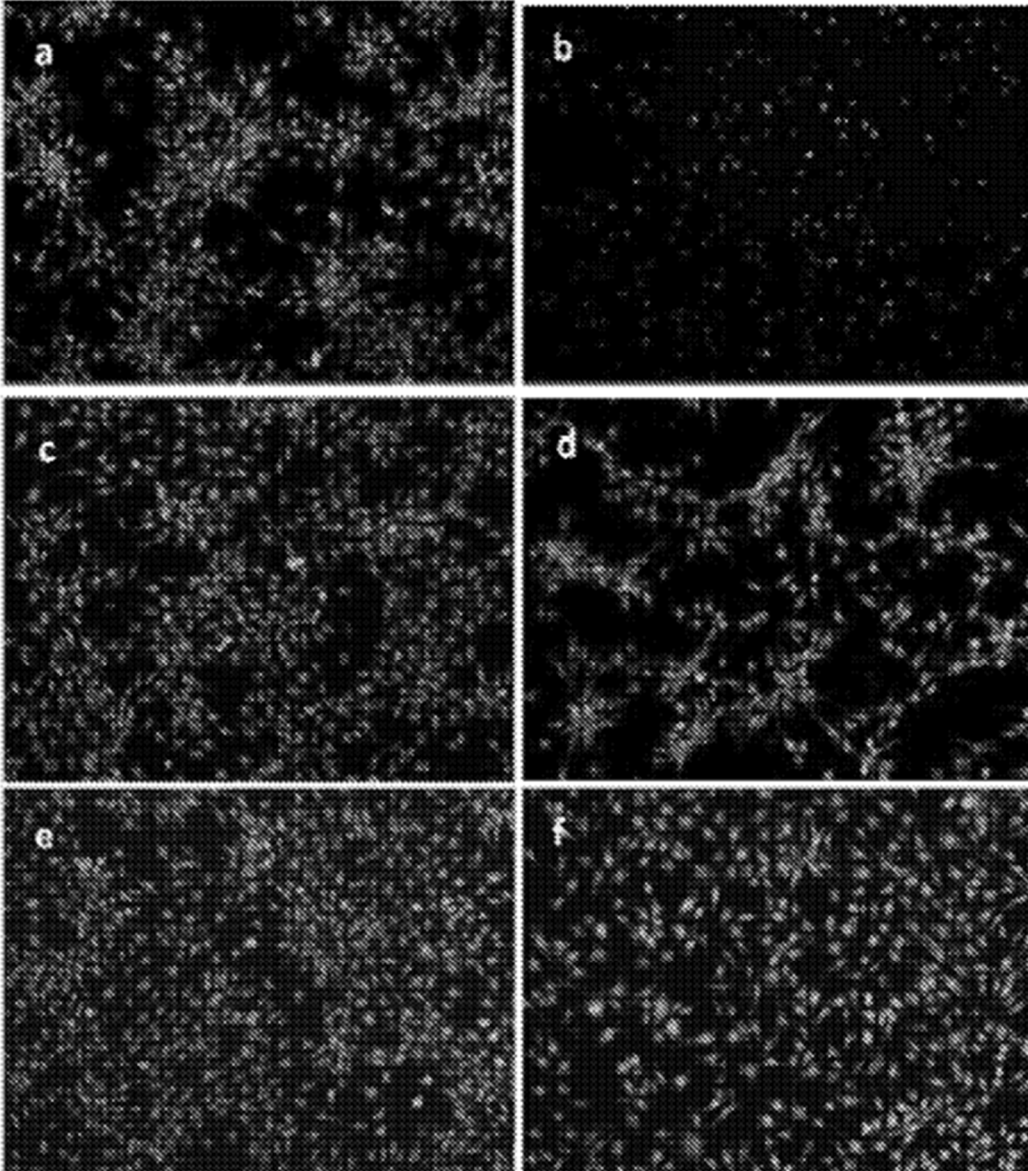


FIGURA 11

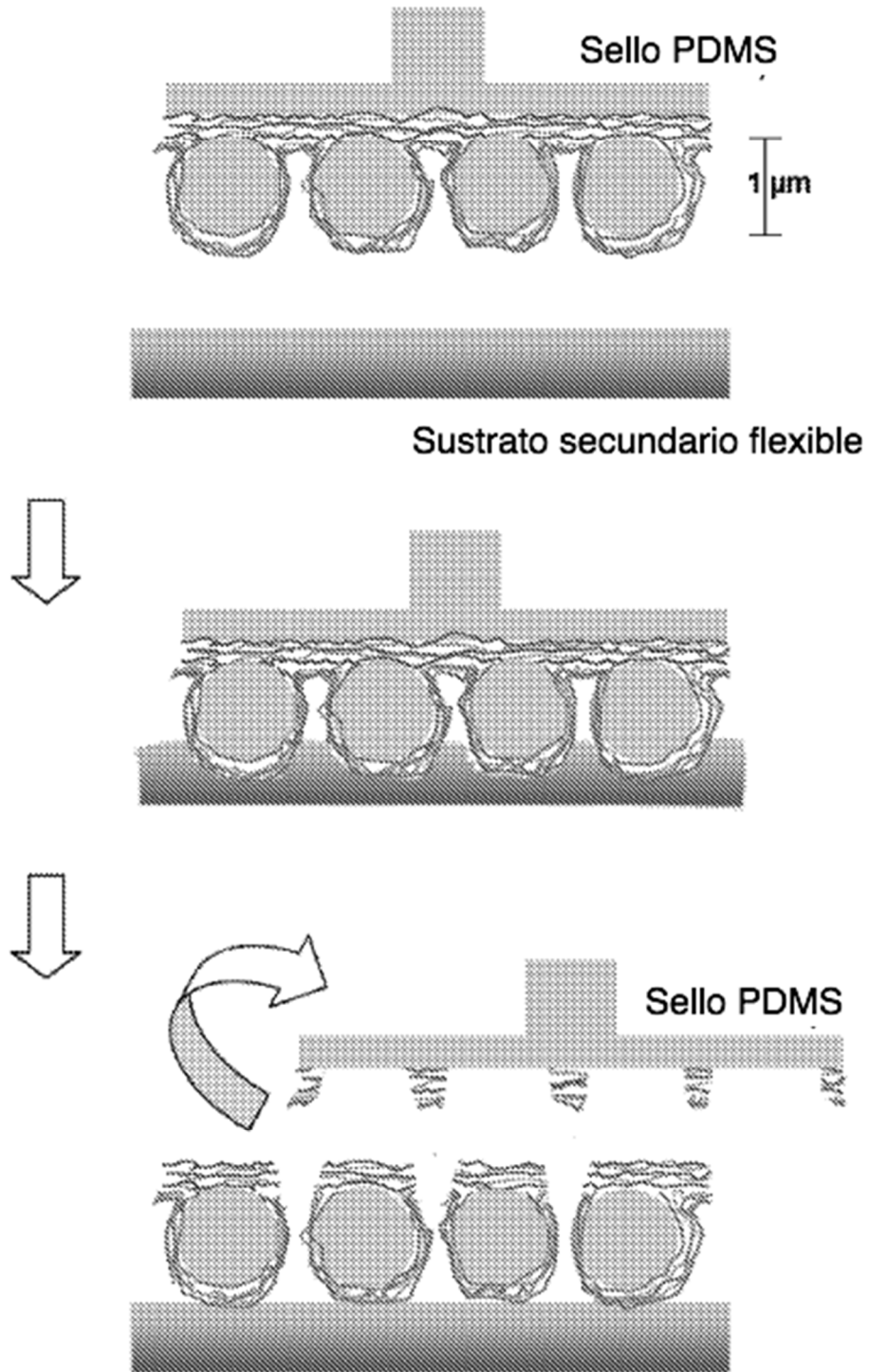
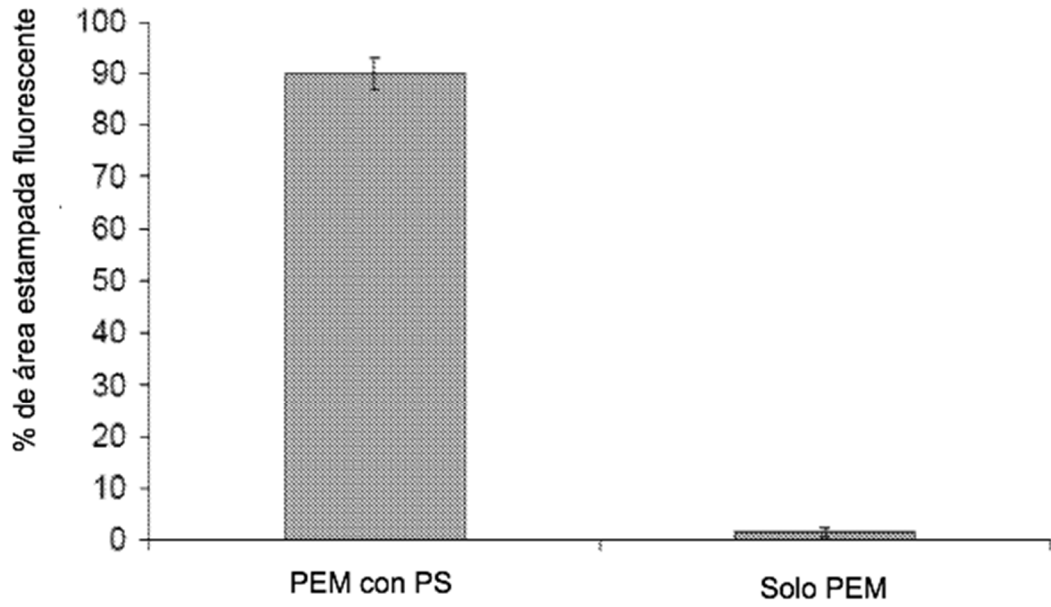


FIGURA 12

Injerto de piel



(H)

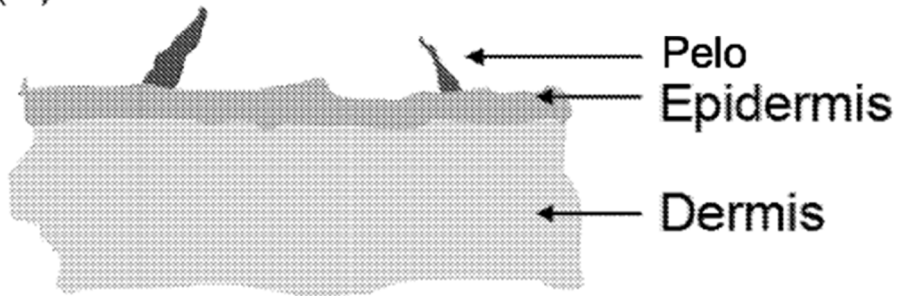


Figura 13

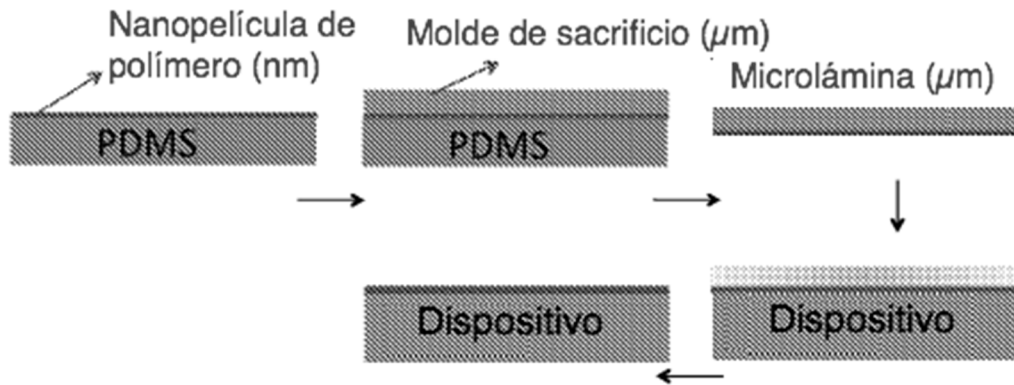


Figura 14

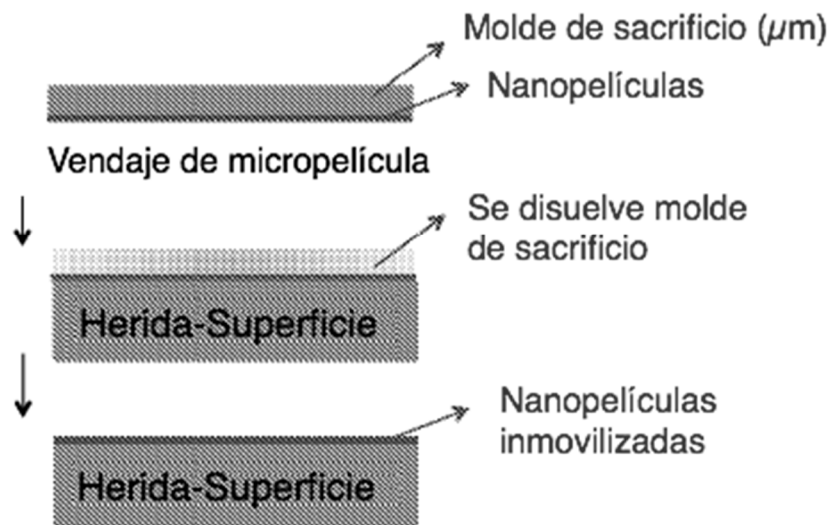


Figura 15

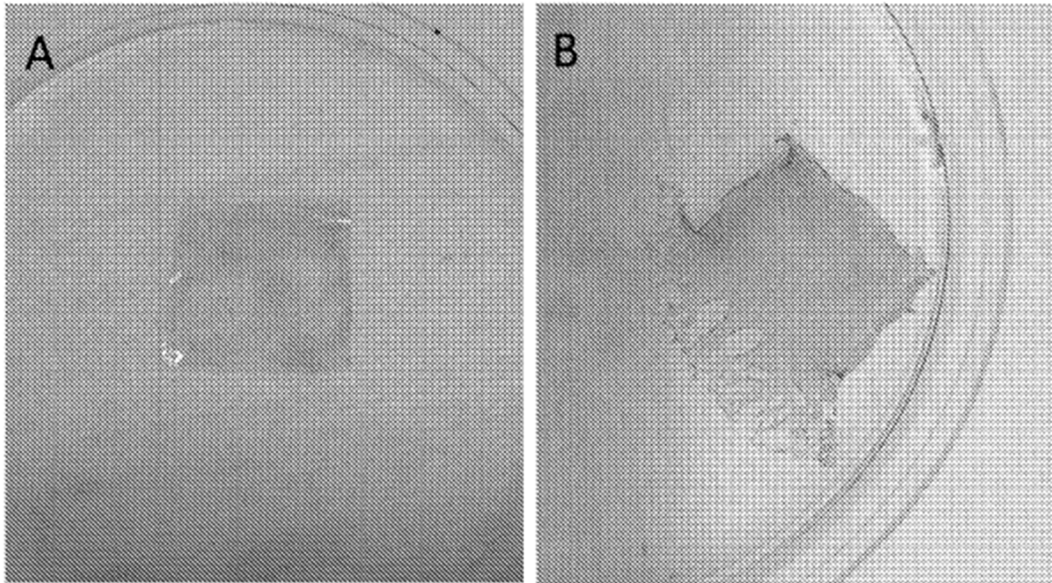


Figura 16

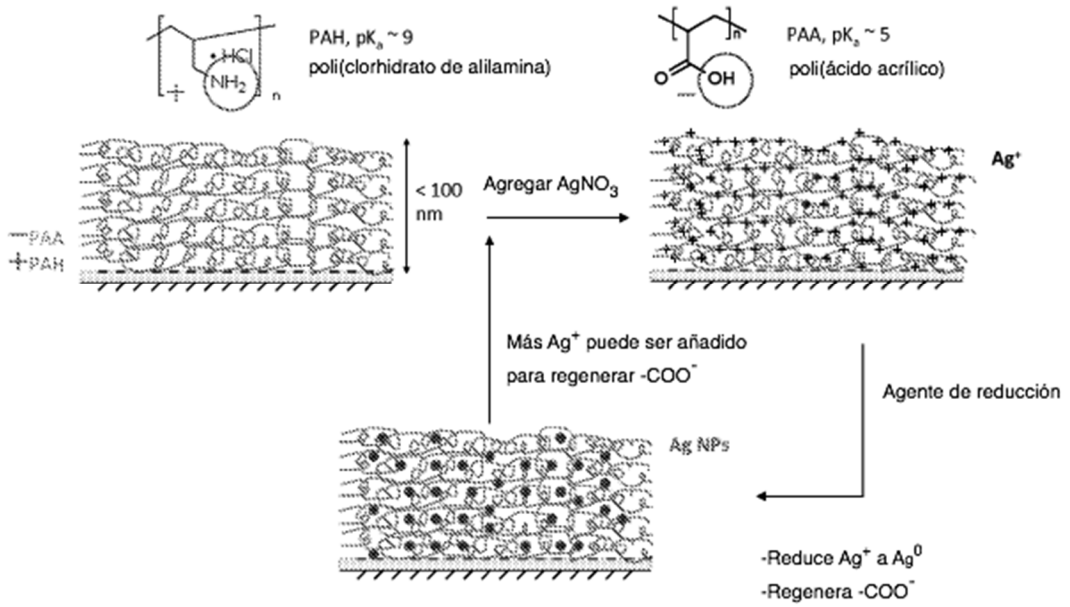


Figura 17

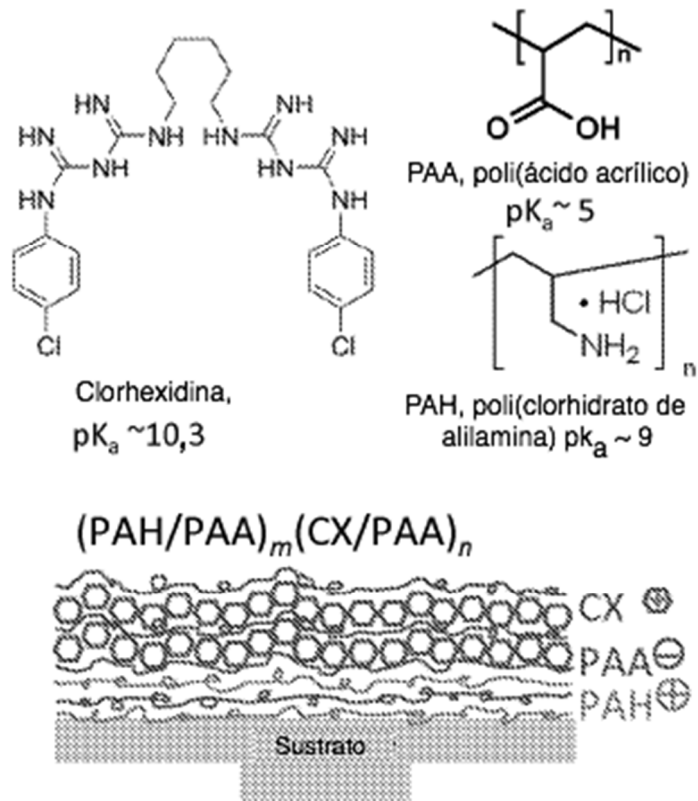


Figura 18

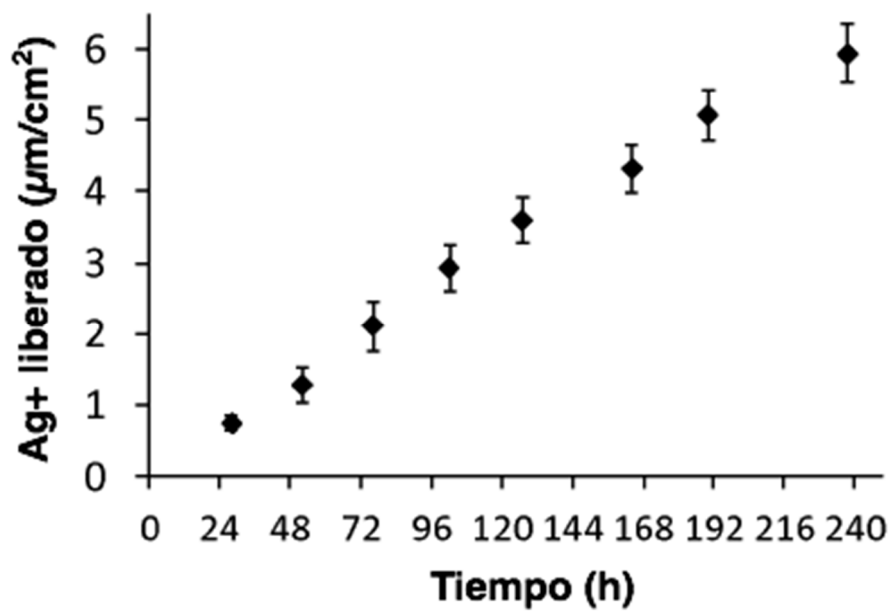


Figura 19

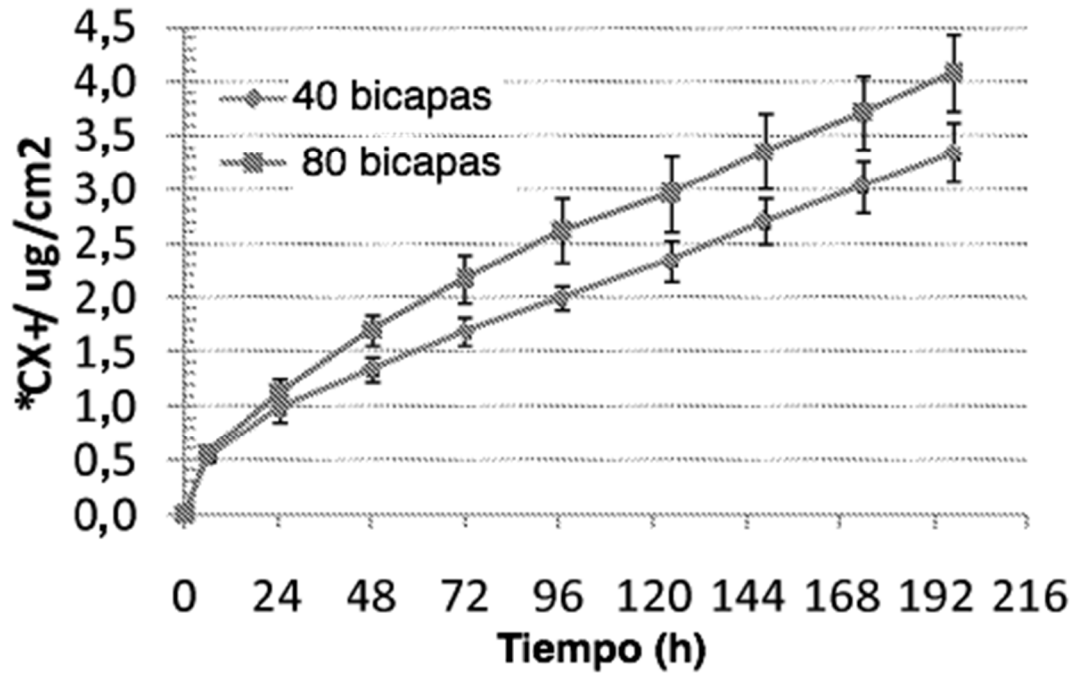


Figura 20

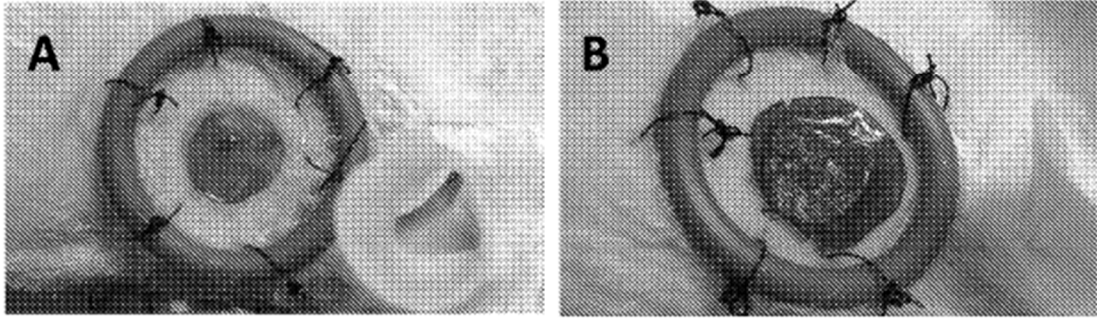


Figura 21

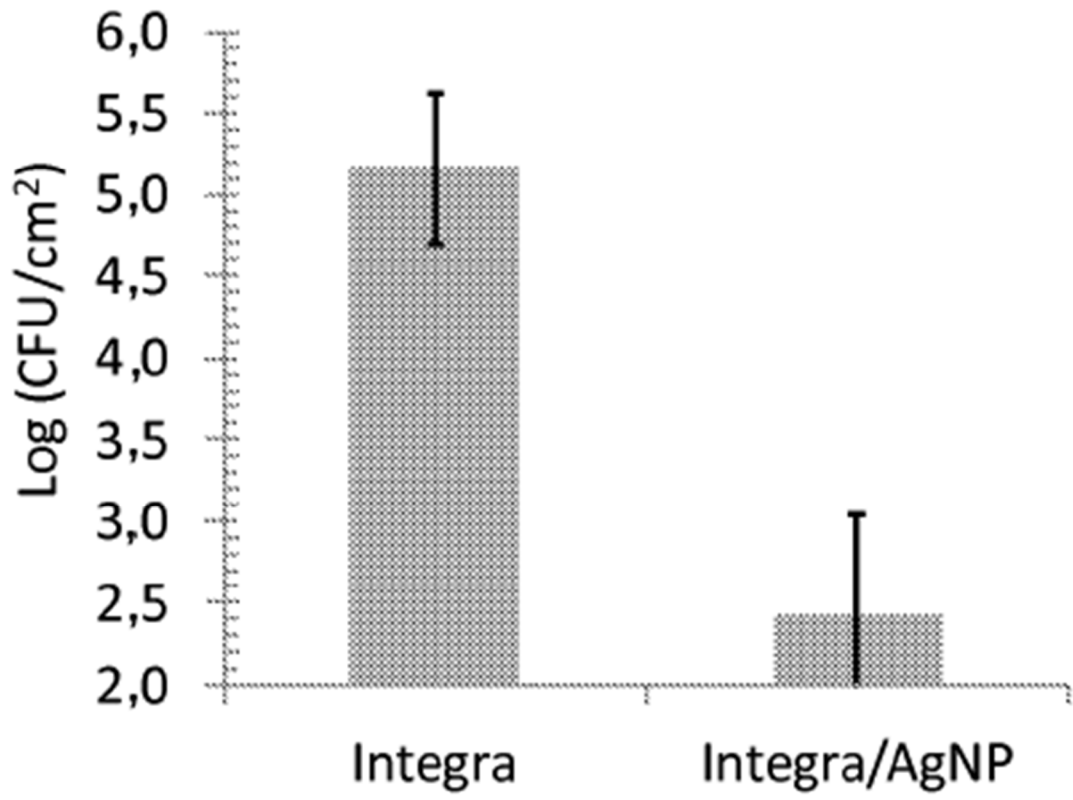
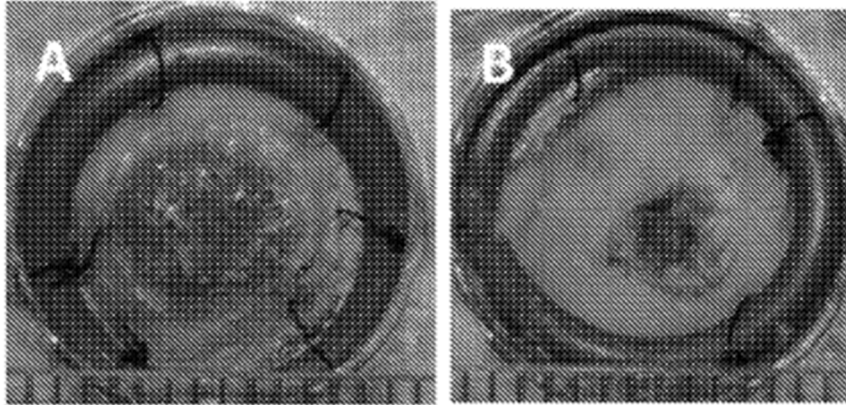


Figura 22



Biobrane
(Heridas infectadas,
<20% de cierre de herida)

**Biobrane/Micropelículas
de plata**
(Sin infección, >50%
de cierre de herida)

C

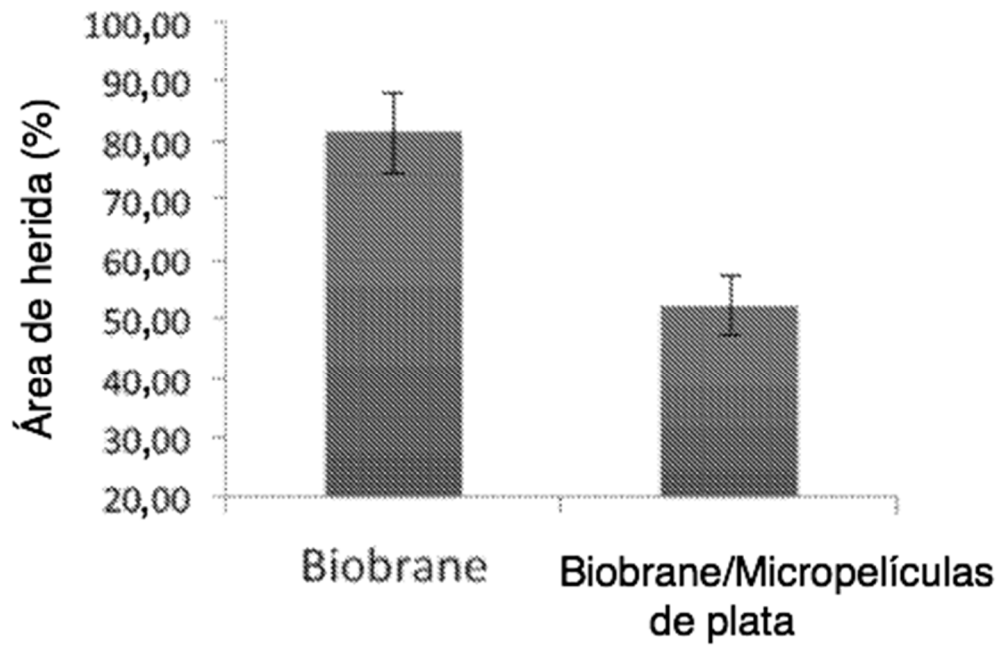
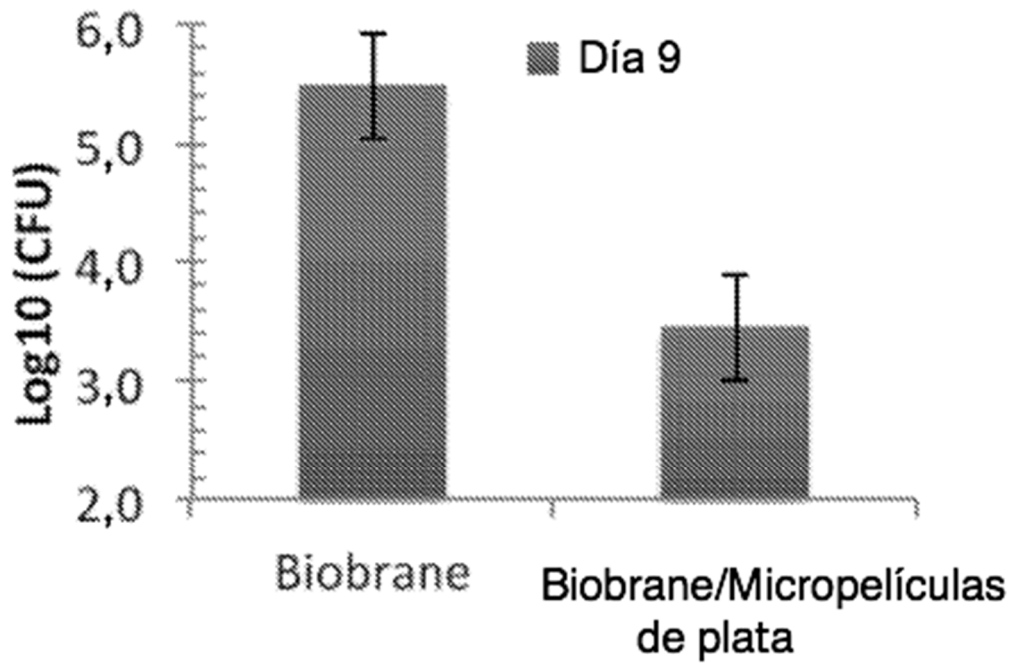


Figura 22 (Continuación)

D



E

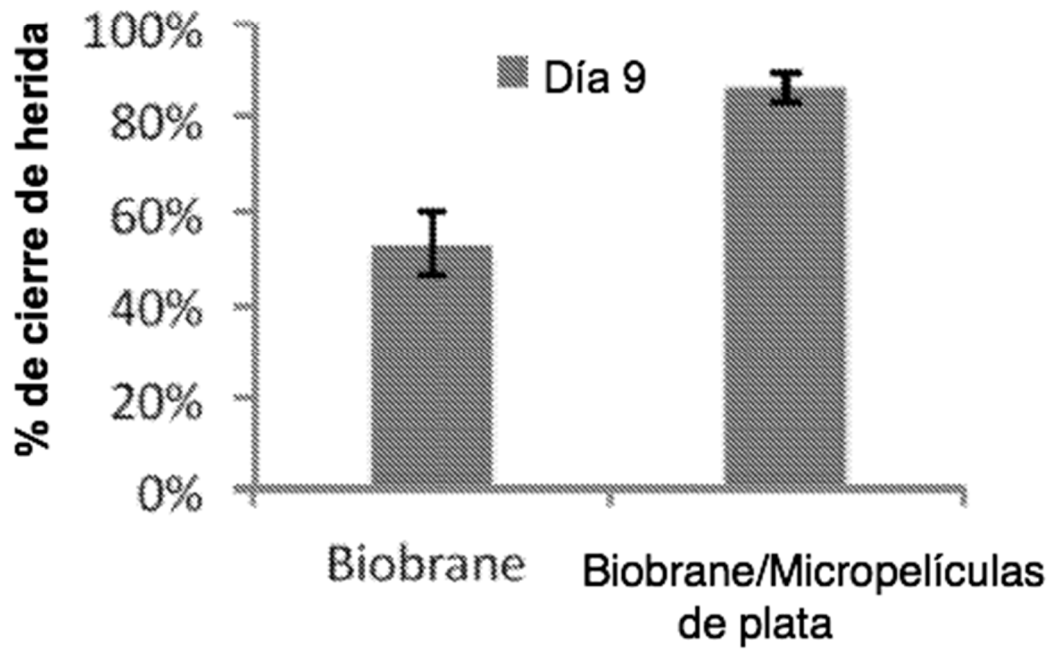


Figura 23

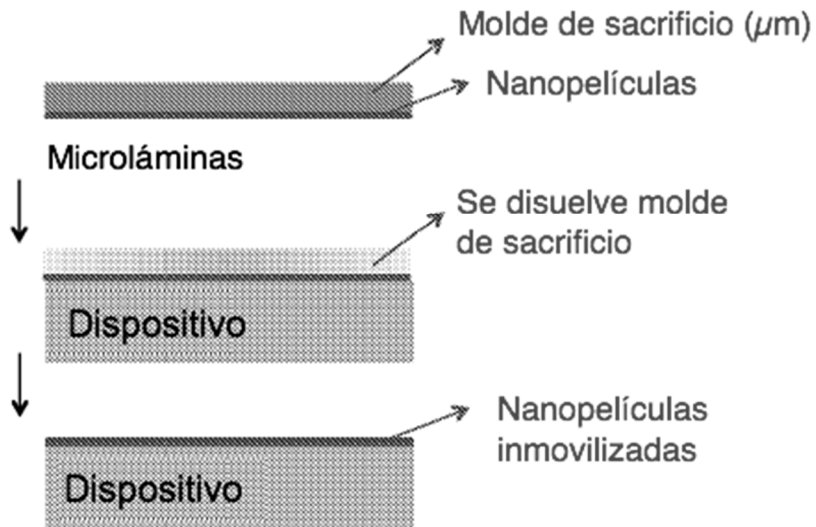


Figura 24

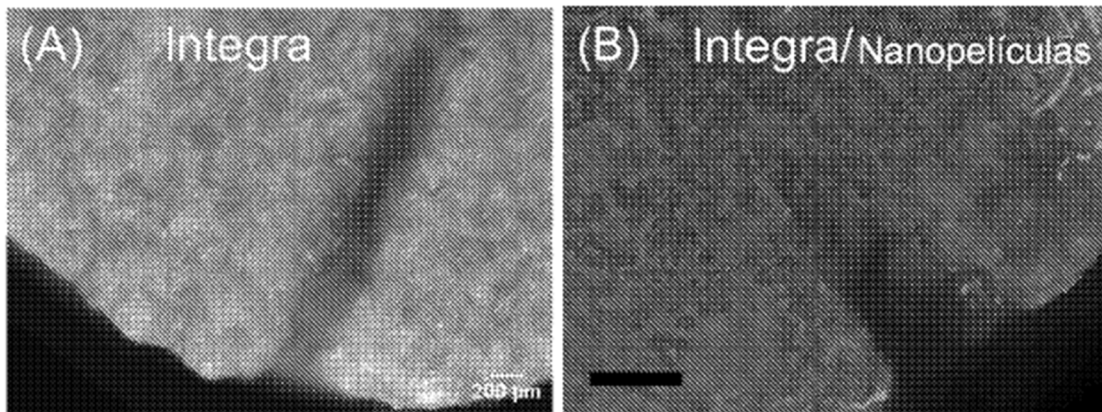


Figura 25.

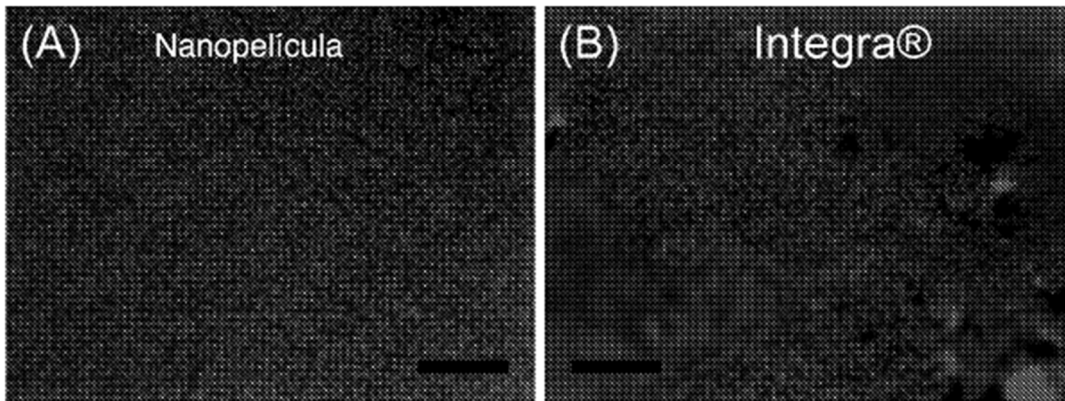


Figura 26.

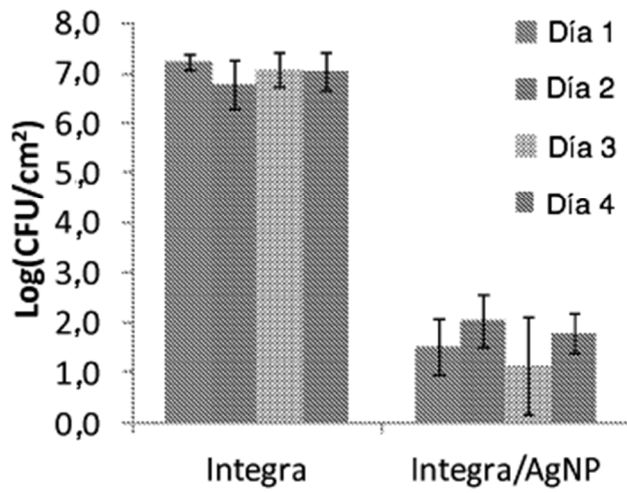


Figura 27

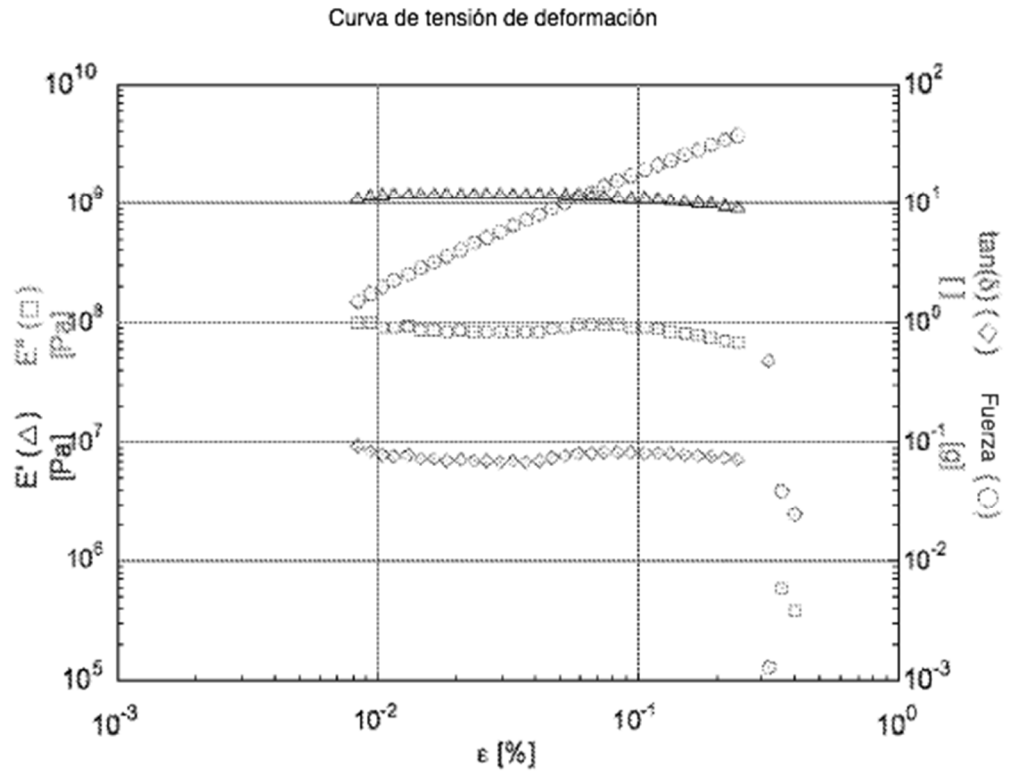


FIGURA 28

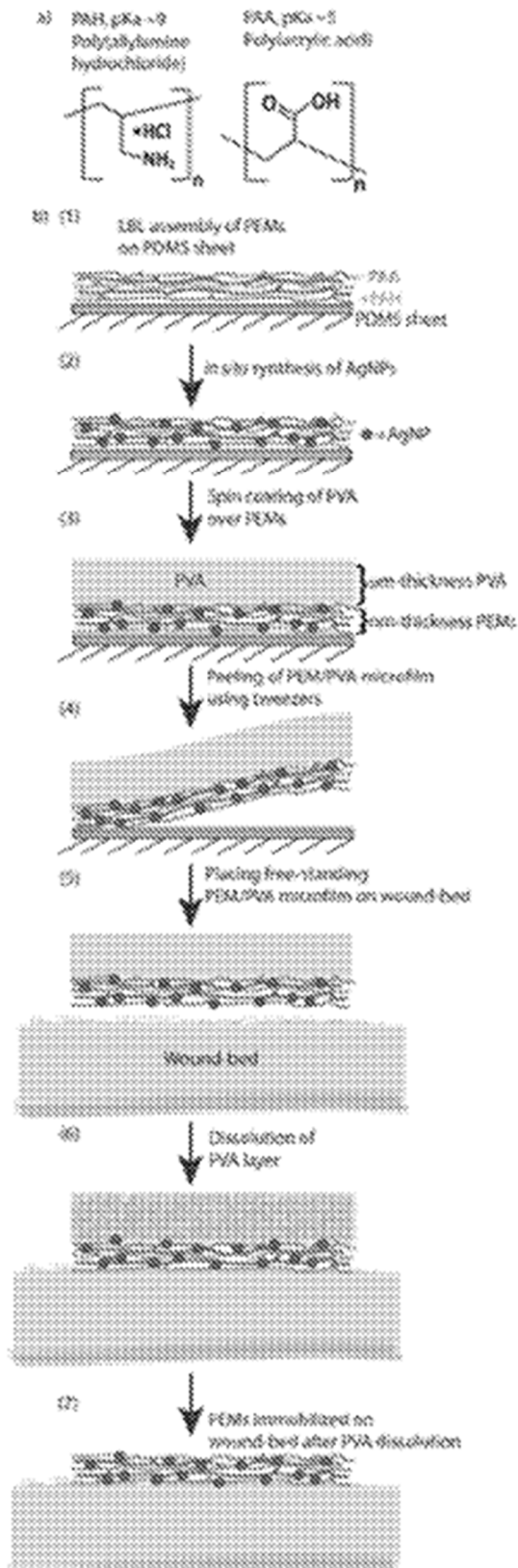


FIGURA 29

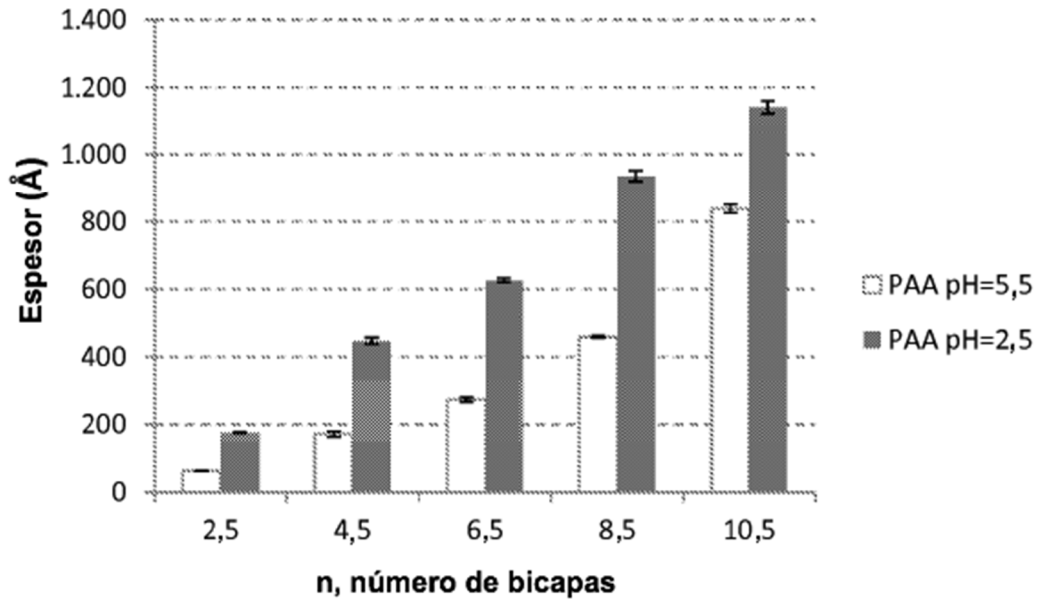


FIGURA 30

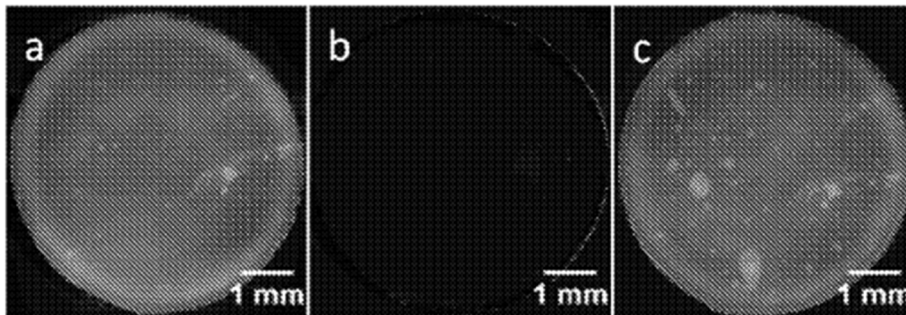


FIGURA 31

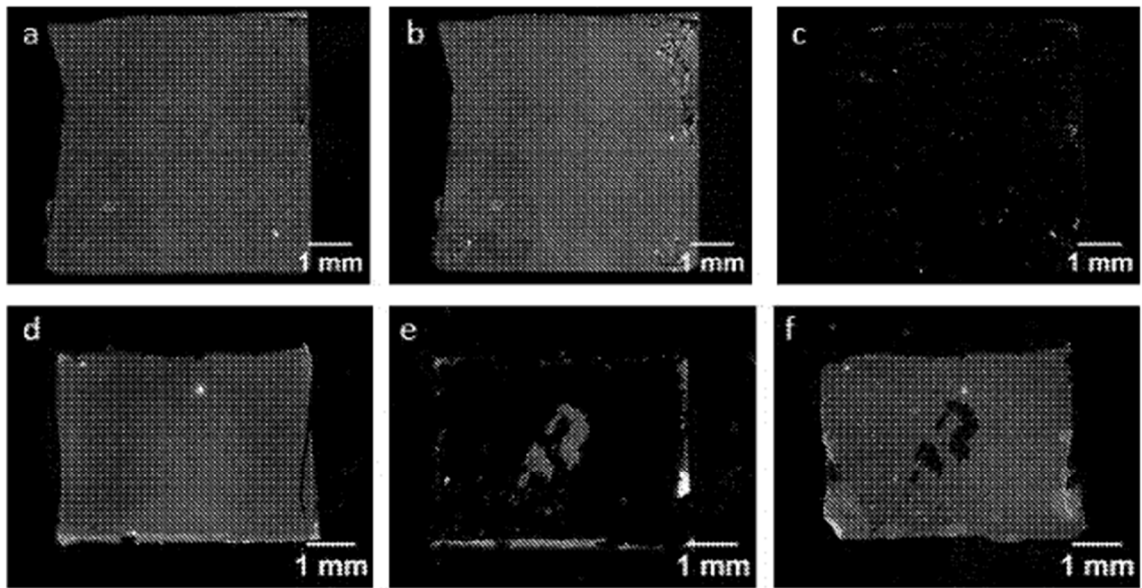


FIGURA 32

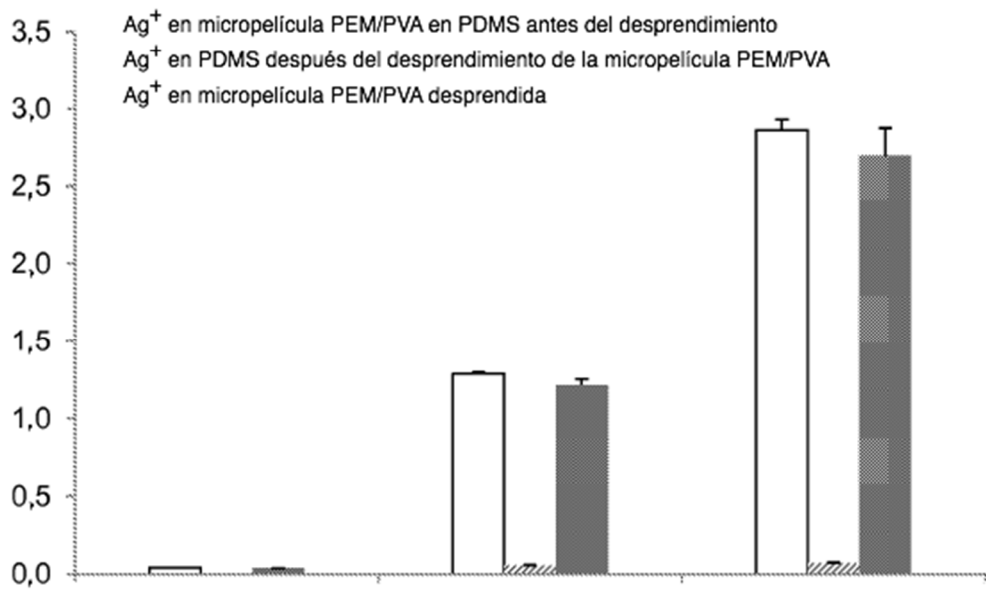


FIGURA 33

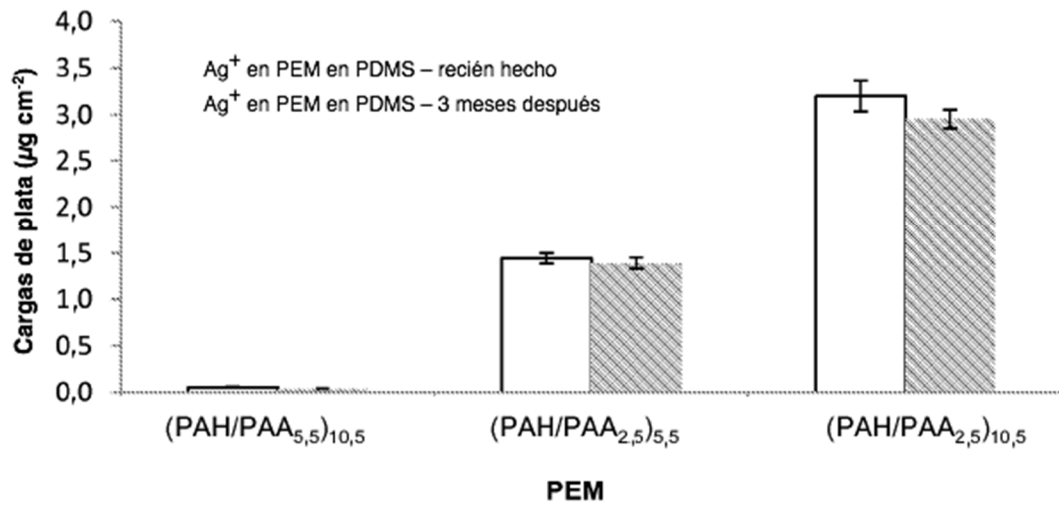


FIGURA 34

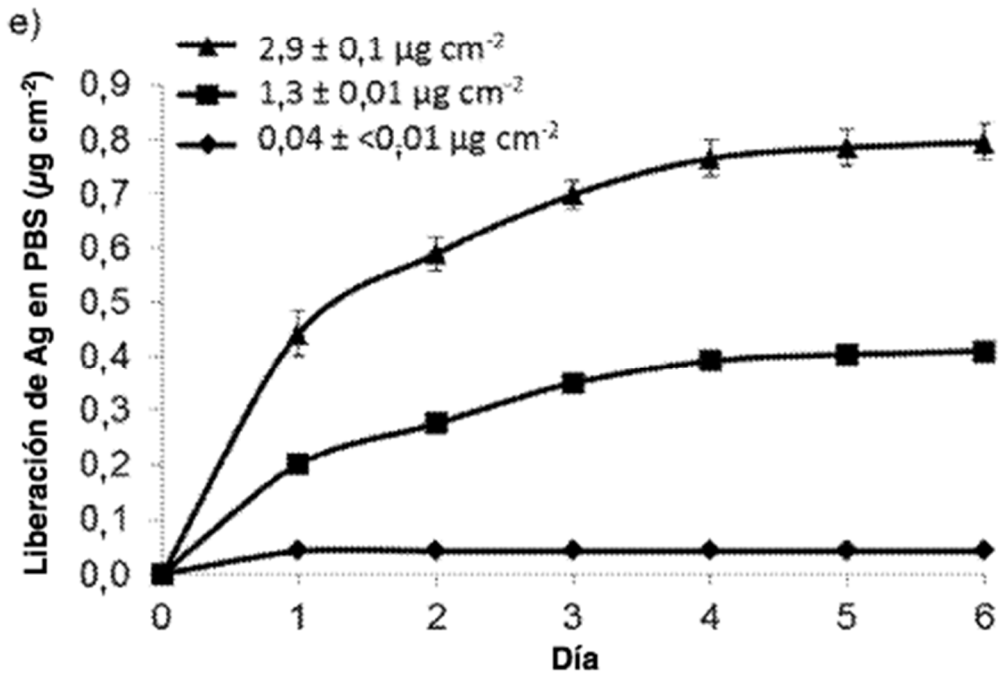
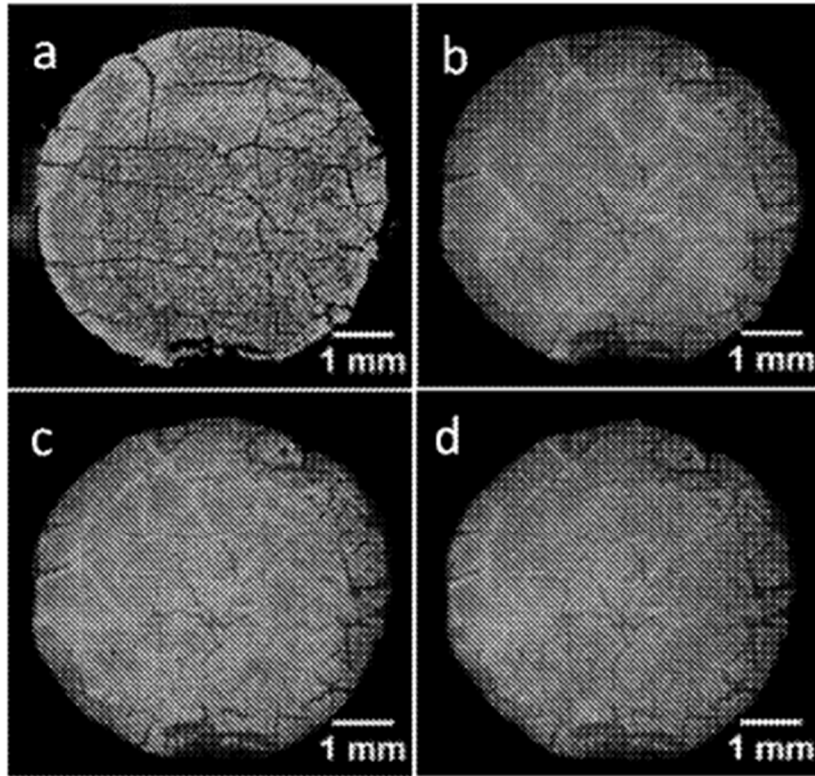


FIGURA 35

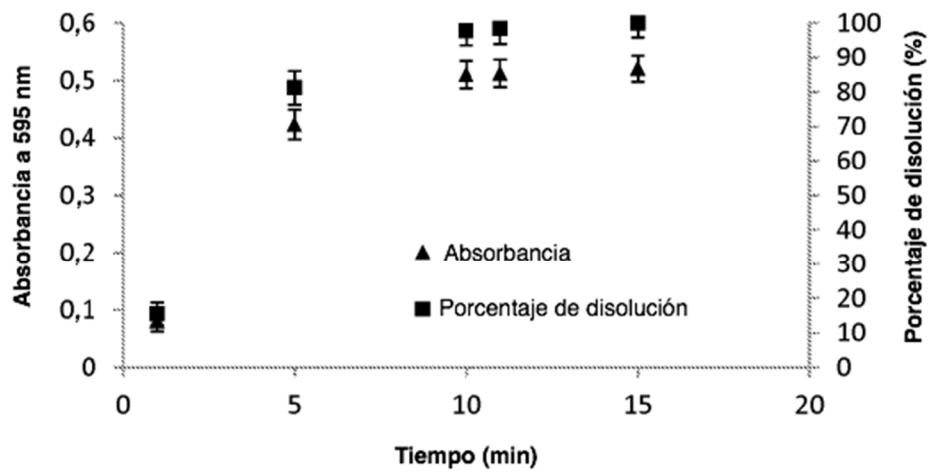


FIGURA 36

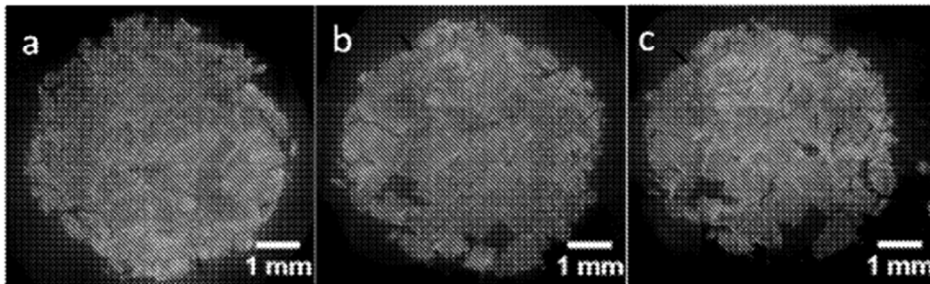


FIGURA 37

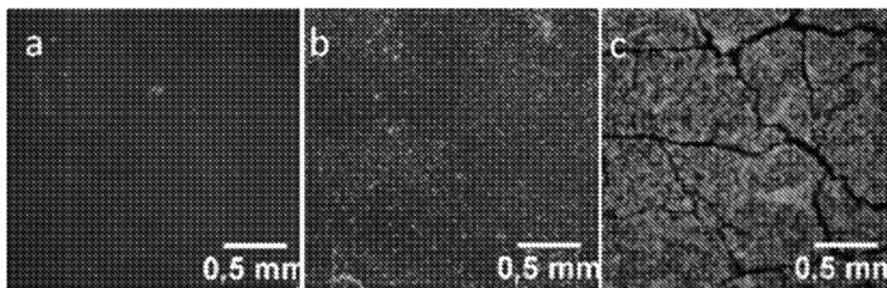


FIGURA 38

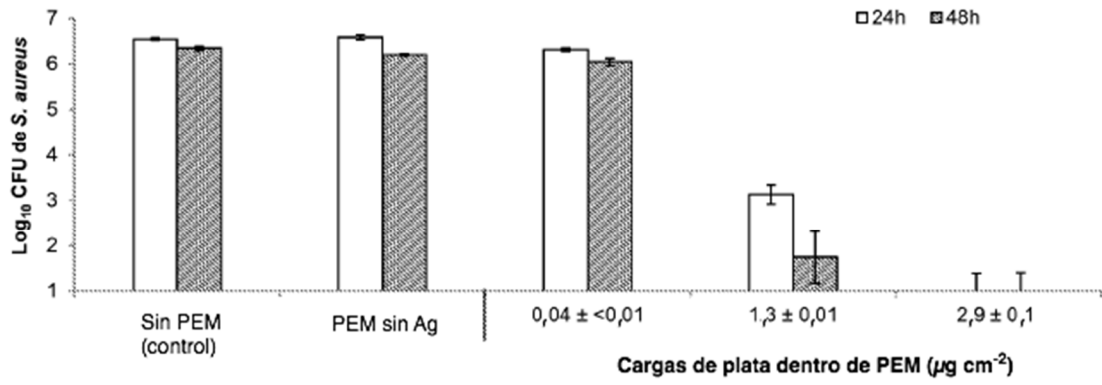


FIGURA 39

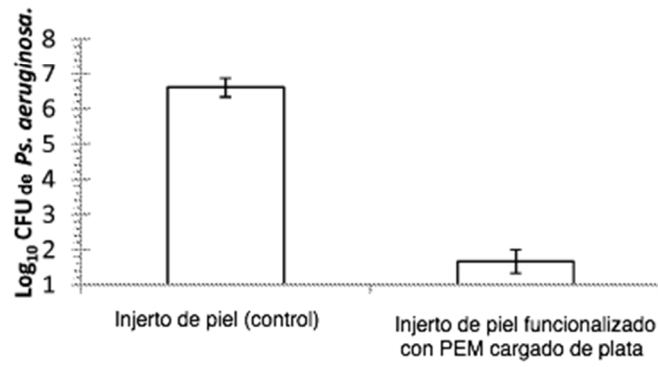


FIGURA 40

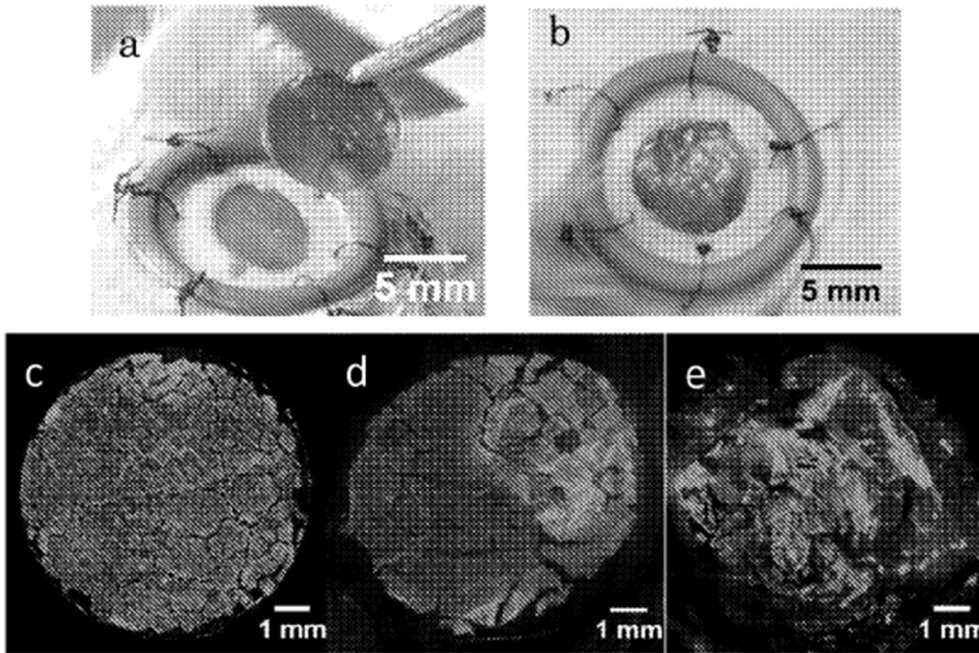


FIGURA 41

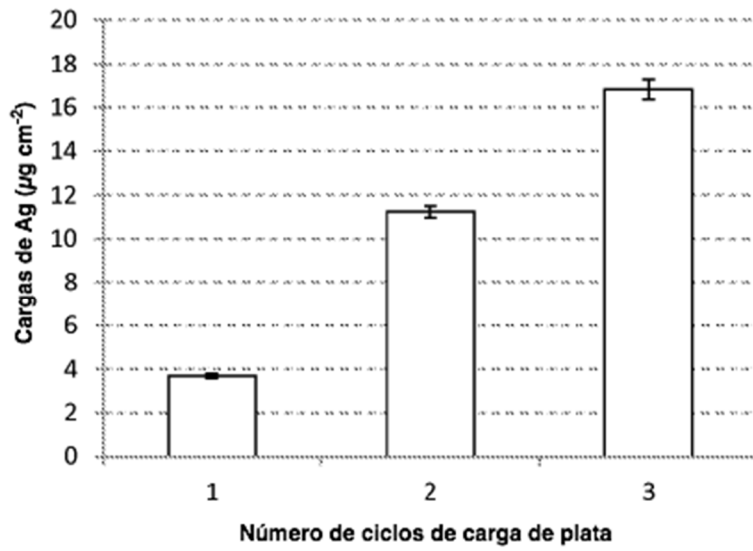


FIGURA 42

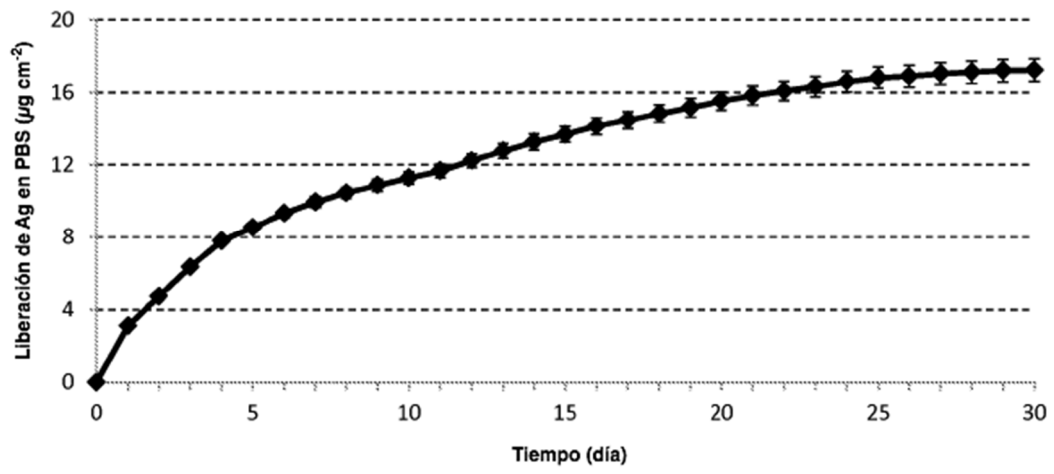


FIGURA 43

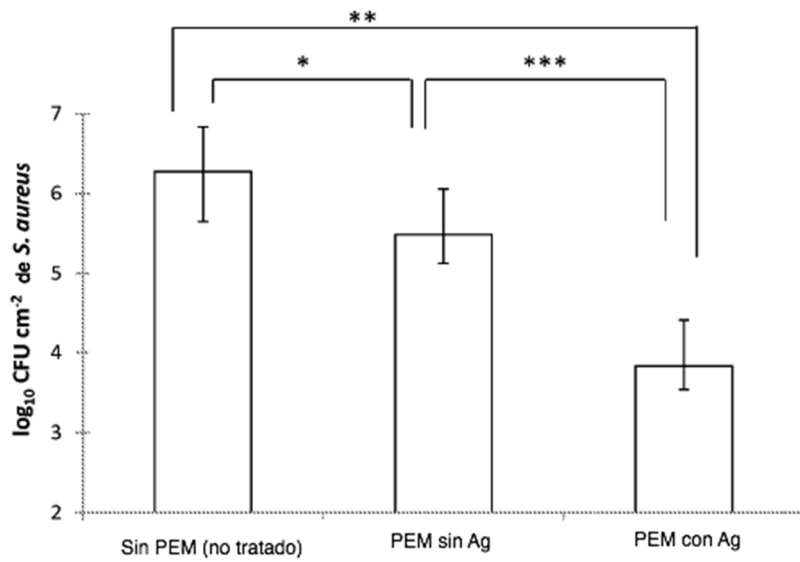


FIGURA 44

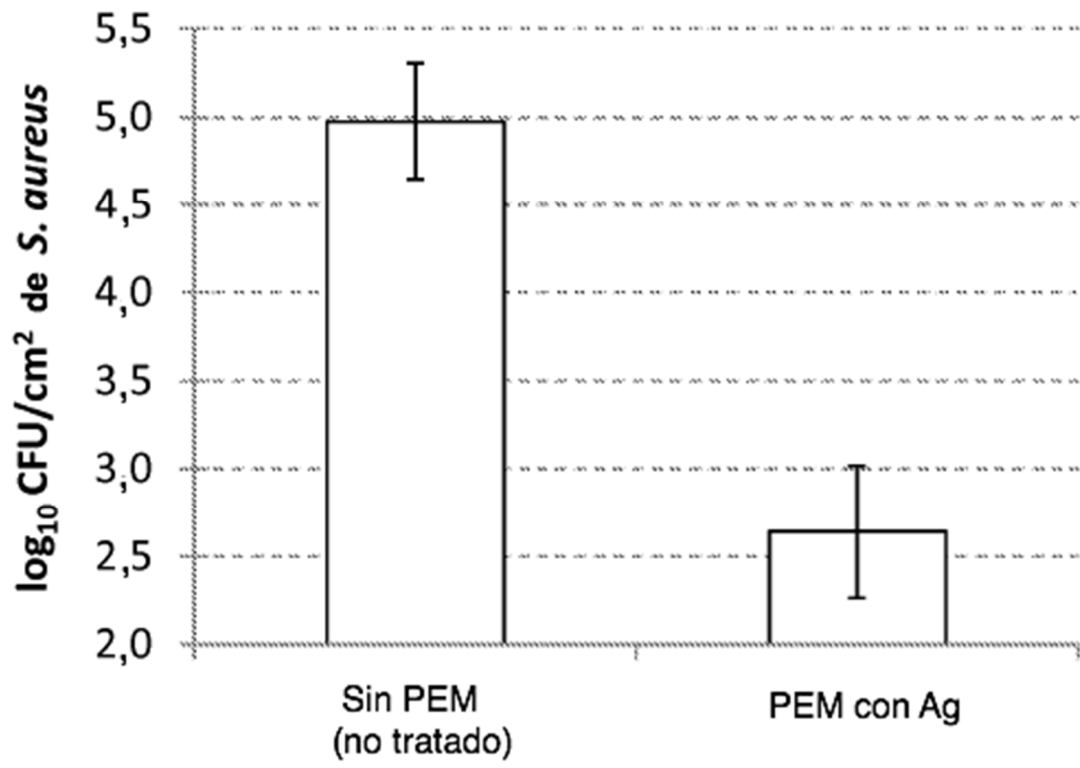


FIGURA 45

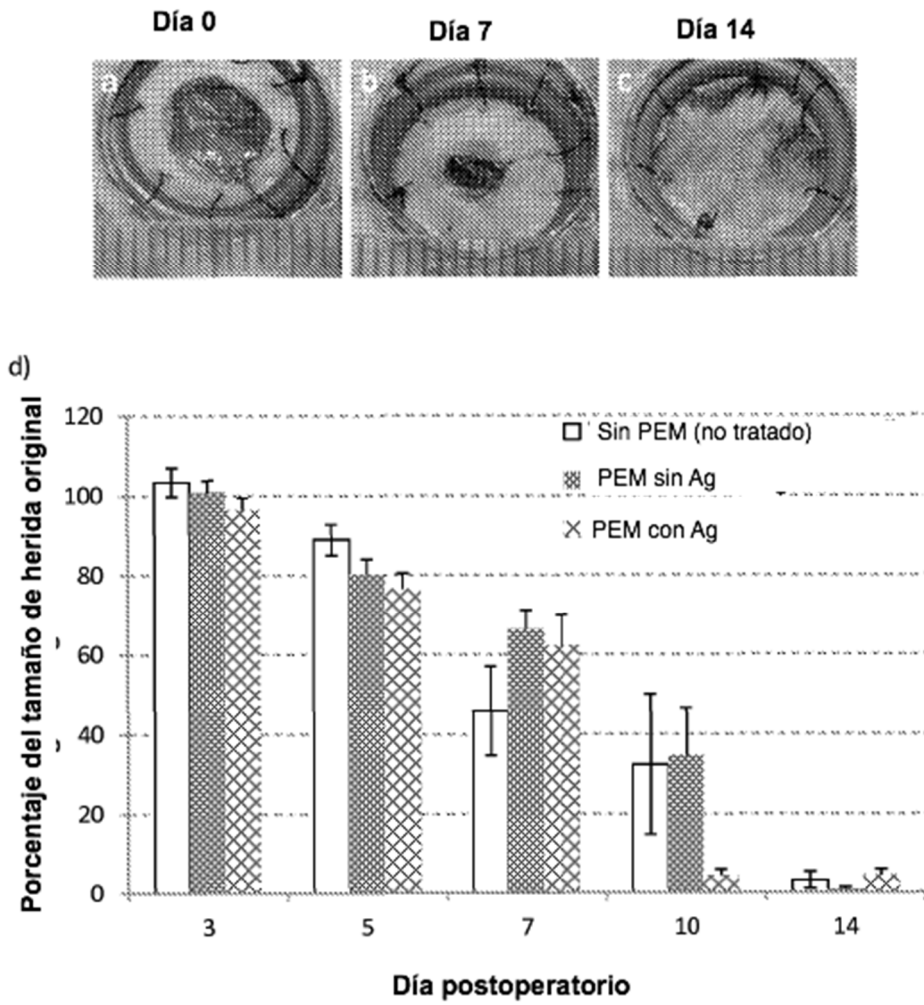


FIGURA 46

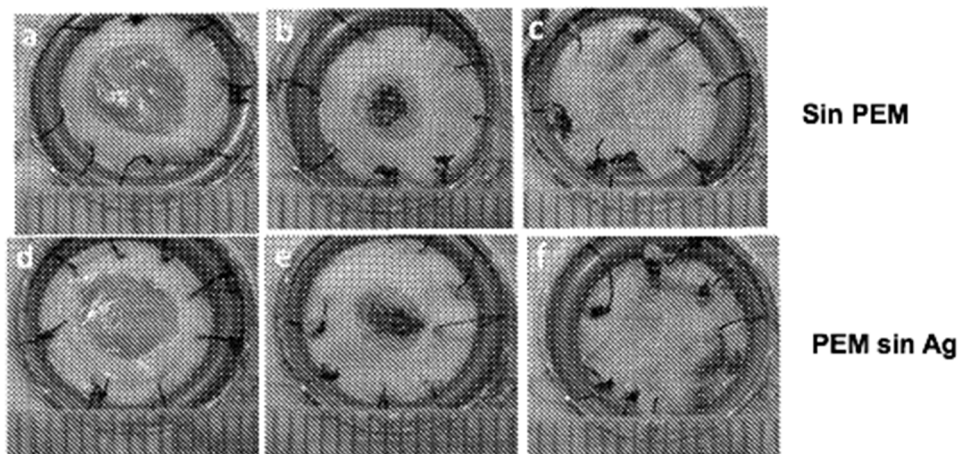


FIGURA 47

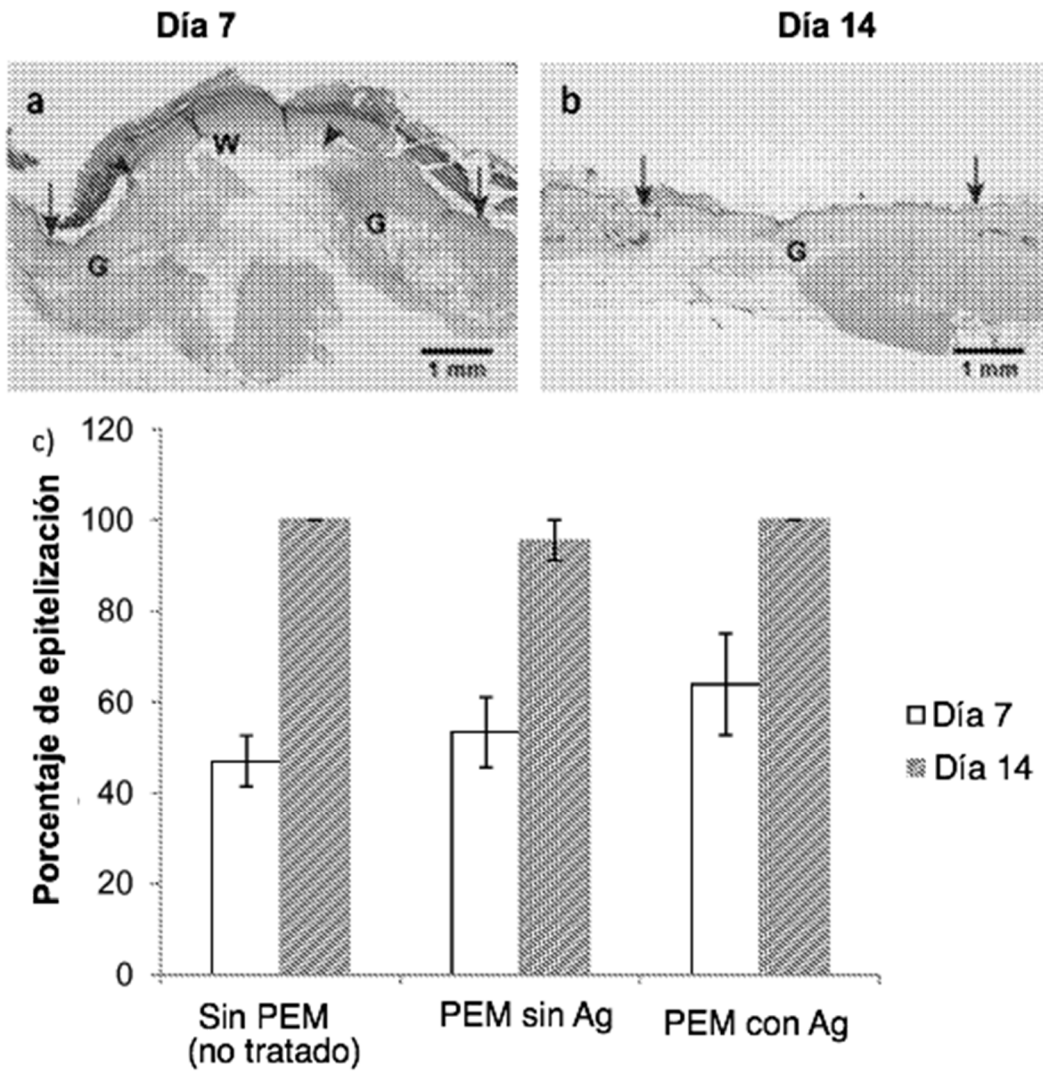


FIGURA 48

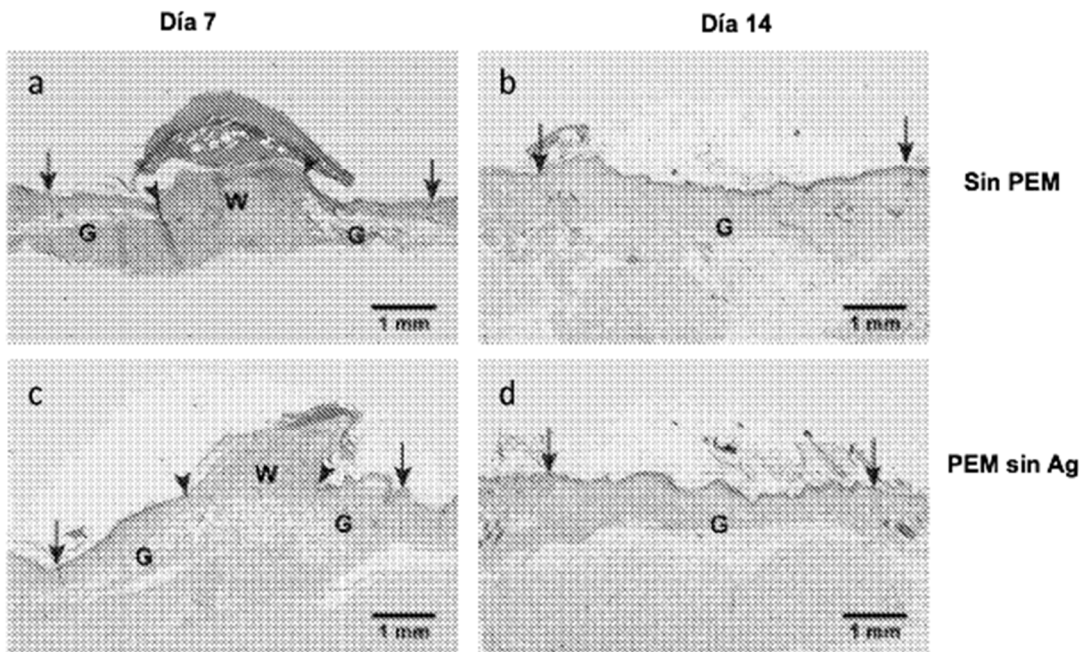


FIGURA 49

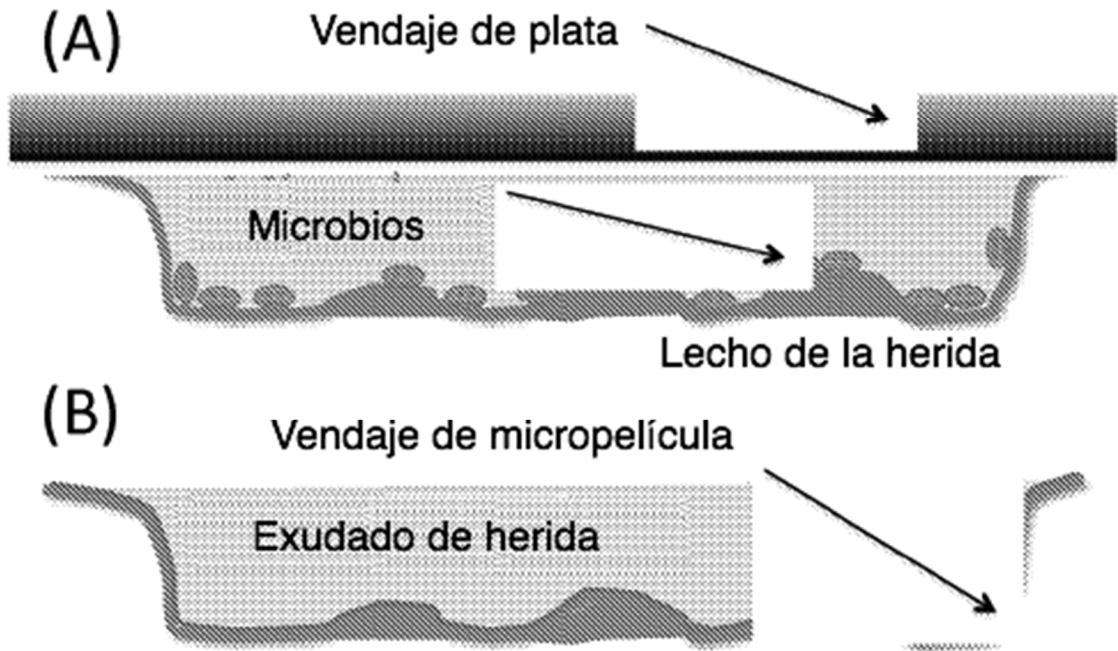


FIGURA 50

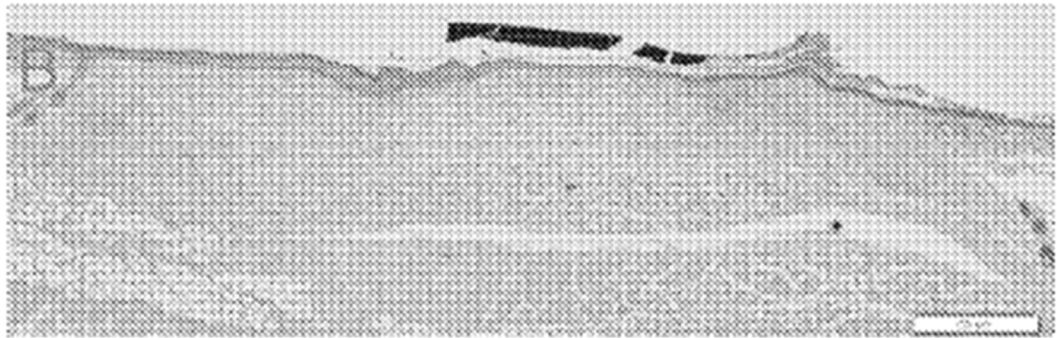


FIGURA 51

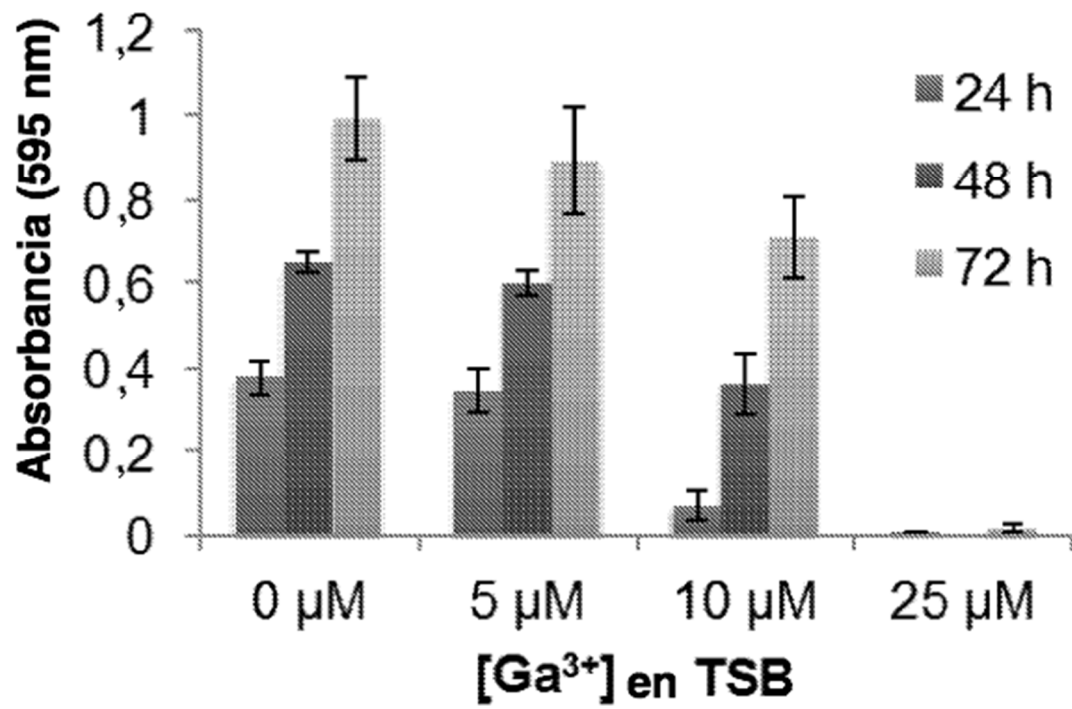


FIGURA 52

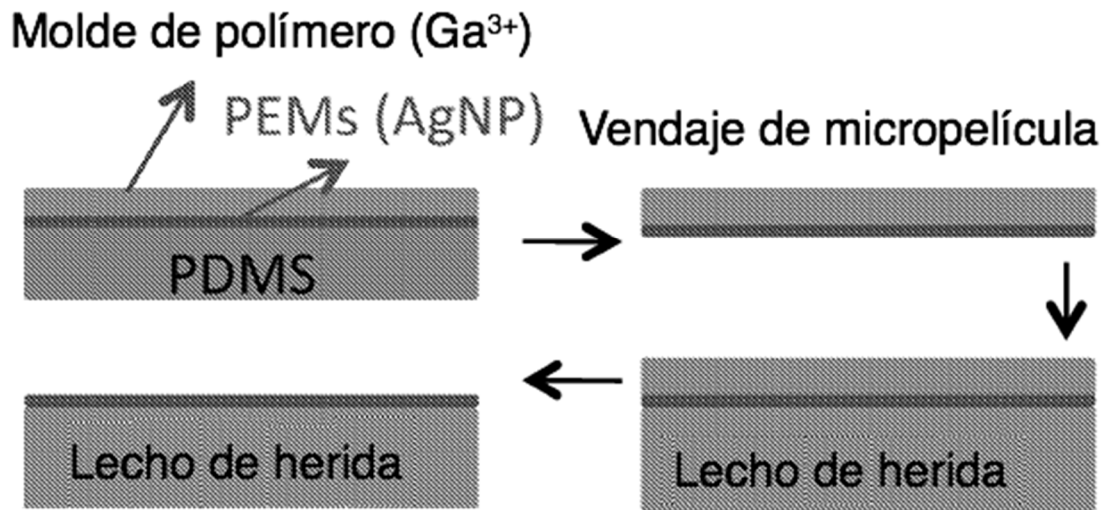


FIGURA 53

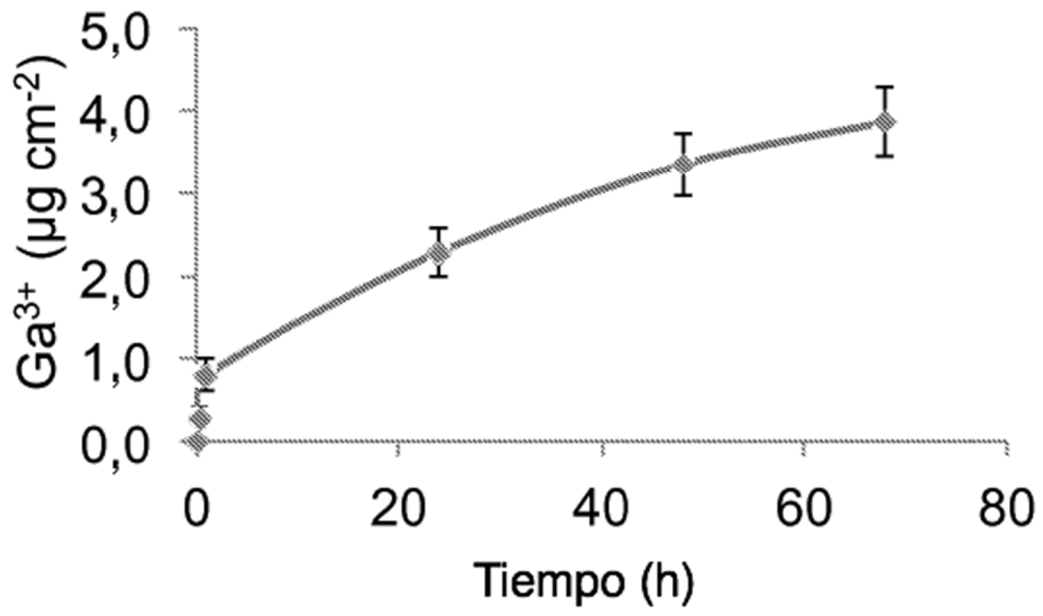


FIGURA 54

