

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 521**

51 Int. Cl.:

**A61F 7/10** (2006.01)

**A61B 18/02** (2006.01)

**A61B 5/00** (2006.01)

**A61F 7/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.03.2003 E 10181697 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.01.2017 EP 2260801**

54 Título: **Método para la rotura selectiva de tejido graso mediante enfriamiento controlado**

30 Prioridad:

**15.03.2002 US 365662 P**

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

**04.07.2017**

73 Titular/es:

**THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION  
(100.0%)  
55 Fruit Street  
Boston, MA 02114, US**

72 Inventor/es:

**ANDERSON, RICHARD ROX y  
MANSTEIN, DIETER**

74 Agente/Representante:

**ROEB DÍAZ-ÁLVAREZ, María**

ES 2 621 521 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**

Método para la rotura selectiva de tejido graso mediante enfriamiento controlado.

**5 Campo de la invención**

La presente invención se refiere a métodos para su uso en la rotura selectiva de células ricas en lípidos mediante enfriamiento controlado. La presente divulgación se refiere además a un dispositivo para uso en la realización de los métodos para la rotura selectiva de células ricas en lípidos mediante enfriamiento controlado. Se describen otros aspectos de la invención o son evidentes a partir de la siguiente memoria descriptiva (y dentro del ámbito de la invención).

**Antecedentes**

15 El tejido graso subcutáneo de los recién nacidos es especialmente sensible al frío. En los recién nacidos, el contenido intracelular de lípidos de las células grasas subcutáneas, o "adipocitos", comprende proporciones mayores de triglicéridos muy saturados. Incluso las temperaturas moderadamente frías pueden afectar de forma adversa a las células que tienen un alto contenido de lípidos saturados, haciendo que el tejido graso subcutáneo del recién nacido sea vulnerable a la necrosis de adipocitos después de la exposición al frío. La hipotermia del tejido graso subcutáneo puede producir la inflamación asociada de la dermis y/o epidermis. Por ejemplo, se sabe que los trastornos de panniculitis inducidos por frío en recién nacidos producen lesiones dolorosas en la piel.

A medida que los recién nacidos maduran, la proporción de ácidos grasos saturados frente a insaturados entre los triglicéridos intracelulares de los adipocitos disminuye gradualmente. El tener un contenido mayor de ácidos grasos insaturados es más protector frente al frío, y la incidencia de panniculitis por frío en bebés disminuye gradualmente. Para revisiones detalladas sobre el tema de la panniculitis por frío, véase Epstein y col. (1970) *New England J. of Med.* 282(17):966-67; Duncan y col. (1966) *Arch. Derm.* 94:722-724; Kellum y col. (1968) *Arch. Derm.* 97:372-380; Moschella, Samuel L. y Hurley, Harry J. (1985) *Diseases of the Corium and Subcutaneous Tissue*. En *Dermatoloav* (W.B. Saunders Company): 1169-1181; John C. Maize (1998) *Panniculitis En Cutaneous Pathology* (Churchill 30 Livingstone): 327-344; Bondei, Edward E. y Lazarus, Gerald S. (1993) *Disorders of Subcutaneous Fat (Coid Panniculitis)*. En *Dermatoloav in General Medicine* (McGraw-Hill. Inc.): 1333-1334.

En los adultos, el contenido intracelular de lípidos varía entre los tipos de células. Las células dérmicas y epidérmicas, por ejemplo, son relativamente bajas en ácidos grasos insaturados en comparación con los adipocitos subyacentes que forman el tejido graso subcutáneo. Para una revisión detallada de la composición del tejido graso en mamíferos, véase Renold, Albert E. and Cahill, Jr., George F. (1965) *Adipose Tissue*. En *Handbook of Phvsioloav* (American Physiology Society): 170-176. Como resultado, los diferentes tipos de células, por ejemplo, células ricas en lípidos y no ricas en lípidos, tienen diferentes grados de susceptibilidad al frío. En general, las células no ricas en lípidos pueden aguantar temperaturas más frías que las células ricas en lípidos.

Sería muy conveniente dañar de forma selectiva y no invasiva los adipocitos del tejido graso subcutáneo sin causar lesiones al tejido dérmico y epidérmico de alrededor. Se conocen los beneficios tanto para la salud como para los cosméticos que resultan de la reducción del tejido graso, sin embargo, los métodos actuales, tales como la liposucción, implican procedimientos invasivos con riesgos potencialmente mortales (por ejemplo, sangrado excesivo, dolor, choque séptico, infección e hinchazón).

Los métodos actuales para la eliminación no invasiva de tejido graso subcutáneo incluyen el uso de energía radiante y disoluciones de enfriamiento. Las Patentes de Estados Unidos n.º 5.143.063, 5.507.790 y 5.769.879 describen métodos para usar energía radiante para reducir el tejido graso subcutáneo, sin embargo, los niveles de energía aplicados son difíciles de controlar y a menudo hay daños colaterales en la dermis y/o epidermis. Las disoluciones de enfriamiento propuestas por el documento WO 00/44346 no estabilizan las temperaturas de la superficie de la piel, y por lo tanto, tampoco protegen adecuadamente frente a daños colaterales a la dermis y/o epidermis.

Un estudio previo llevado a cabo en cobayas, describía la eliminación de tejido graso subcutáneo mediante daño criogénico. Burge, S. y Dawber, R. (1990) *Cryobiology* 27:153-163. Sin embargo, este resultado se logró usando modalidades de enfriamiento relativamente agresivas (por ejemplo, nitrógeno líquido), que inducían daño epidérmico. De forma ideal, la eliminación de tejido graso subcutáneo no produciría daño asociado a la epidermis.

Los métodos y dispositivos de temperatura controlada para dañar selectivamente las células ricas en lípidos (por ejemplo, adipocitos que comprenden el tejido graso subcutáneo) sin causar lesión a las células no ricas en lípidos (por ejemplo, dermis y/o epidermis) eran hasta ahora desconocidos.

**Resumen**

65 Ahora se ha demostrado que el tejido adiposo que comprende células ricas en lípidos se puede romper selectivamente sin causar lesiones al tejido no rico en lípidos de alrededor (por ejemplo, tejido dérmico y epidérmico)

controlando la temperatura y/o presión aplicados a los respectivos tejidos.

En un aspecto, la invención se refiere a un método de enfriamiento para romper selectivamente células ricas en lípidos en un sujeto humano, que no es un bebé, que comprende aplicar un elemento de enfriamiento próximo a la piel del sujeto para crear un gradiente de temperatura en una región local suficiente para romper selectivamente y de esta forma reducir las células ricas en lípidos de dicha región, y además de eso, mantener simultáneamente la piel del sujeto a una temperatura a la que las células no ricas en lípidos próximas al elemento de enfriamiento no se rompan, tal como se define en la reivindicación adjunta 1. Las realizaciones preferidas se describen en las reivindicaciones dependientes.

En una realización, la invención se refiere a un método para tratar una región del cuerpo de un sujeto para lograr una reducción deseada del tejido adiposo subcutáneo, que comprende a) aplicar un elemento de enfriamiento próximo a la piel del sujeto en la región en la que se desea la reducción del tejido adiposo subcutáneo para crear un gradiente de temperatura en dicha región suficiente para romper selectivamente las células ricas en lípidos de la misma, y simultáneamente mantener la piel del sujeto a una temperatura a la que las células no ricas en lípidos próximas al elemento de enfriamiento no se rompan; b) repetir la aplicación del elemento de enfriamiento a la piel del sujeto de la etapa (a) una pluralidad de veces hasta lograr la reducción deseada del tejido adiposo subcutáneo.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un dispositivo para romper selectivamente a las células ricas en lípidos en un sujeto humano que no es un bebé mediante enfriamiento que comprende: medios para crear un gradiente de temperatura en la región local de la piel del sujeto para romper selectivamente y reducir de este modo las células ricas en lípidos de la región, mientras, además de eso, al mismo tiempo se mantiene la piel del sujeto a una temperatura en la que las células no ricas en lípidos no se rompen.

En un aspecto, la divulgación se refiere a un aparato para reducir localmente células ricas en lípidos, que comprende un dispositivo de tratamiento operable para recibir un agente de enfriamiento; una fuente de agente refrigerante conectada al dispositivo de tratamiento para suministrar dicho agente de enfriamiento; una unidad de control acoplada al dispositivo de tratamiento y la fuente de agente de refrigeración para controlar una temperatura de enfriamiento de dicho agente de enfriamiento, en el que dicho dispositivo de tratamiento expone el tejido diana a dicho agente de enfriamiento, el cual induce selectivamente daño a las células lipídicas en dicho tejido diana.

En otro aspecto, la descripción se refiere además a un aparato para reducir localmente células ricas en lípidos, que comprende un medio para ajustar un agente de enfriamiento a una temperatura predeterminada; y un medio para aplicar dicho agente de enfriamiento al tejido diana, por lo que el agente de enfriamiento induce selectivamente daño a las células ricas en lípidos en dicho tejido diana.

Estos y otros objetos y realizaciones se describen o son evidentes a partir de y dentro del alcance de la invención de la siguiente descripción detallada.

#### Descripción de los dibujos

La figura 1A ilustra un sistema de tratamiento.

La figura 1B representa un diagrama que ilustra una configuración de la unidad de control.

La figura 1C representa un diagrama que muestra el elemento de enfriamiento/calentamiento.

La figura 1D ilustra un sistema de tratamiento de enfriamiento plano con un controlador de sonda.

La figura 2A ilustra un sistema de tratamiento para el enfriamiento de células ricas en lípidos en un pliegue de piel.

La figura 2B ilustra un sistema de tratamiento para el enfriamiento de células ricas en lípidos en un pliegue de piel con un controlador de sonda.

La figura 3A ilustra un sistema de tratamiento que incluye una unidad de succión.

La figura 4 ilustra un sistema de tratamiento que se combina con un sistema de succión para proporcionar el tratamiento de una zona aislada.

Las figuras 5A, B ilustran un sistema de tratamiento que puede encerrar de forma circunferencial una masa de tejido diana.

La figura 6 representa una imagen de la superficie de la piel que muestra hendiduras después de 17 días en algunas zonas que se corresponden con los sitios de exposición al frío.

La figura 7 representa la histología del tejido adiposo subcutáneo 17 días después de exposición al frío (Cerdo II, sitio E). La figura 7A muestra una vista con pocos aumentos y la figura 7B muestra la vista con muchos aumentos.

Las figuras 8A, B representan el Sitio C; 8 C, D representan el Sitio E; y 8 E, F representan el Sitio F; cada una de las cuales muestra la histología del tejido adiposo subcutáneo 17 días después de exposición al frío (Cerdo II, Sitio 55 C, E y F).

La figura 9 representa una imagen del dispositivo usado para administrar enfriamiento al Cerdo III.

Las figuras 10A, B, C, D, E, F, G, H, I y J representan gráficas de temperatura de los sitios de exposición 1, 2, 7, 11, 60 12, 13, 14, 15, 16 y 18 del Cerdo III a diferentes profundidades del tejido.

La figura 11 representa una imagen por ultrasonidos del sitio de ensayo 11, 3,5 meses después de la exposición.

Las figuras 12 A, B representan la histología del sitio de ensayo 8, 6 días después de exposición. Las figuras 12 C, D representan la histología del sitio de ensayo 9 (control).

Las figuras 13A, B, C, D y E representan secciones macroscópicas a través del centro de los sitios de ensayo 1, 3, 11, 12 y 18, 3,5 meses después de exposición.

5

### Descripción detallada

La presente invención se refiere a un método para reducir localmente el tejido adiposo, que comprende aplicar un elemento de enfriamiento a un sujeto a una temperatura suficiente para romper selectivamente células ricas en lípidos, en el que la temperatura no produce efectos indeseados en las células no ricas en lípidos. Preferentemente, el elemento de enfriamiento está acoplado a o contiene un agente de enfriamiento.

En un aspecto, la invención se refiere a un método de enfriamiento para romper selectivamente células ricas en lípidos en un sujeto humano, que no es un bebé, que comprende aplicar un elemento de enfriamiento próximo a la piel del sujeto para crear un gradiente de temperatura en una región local suficiente para romper selectivamente y de esta forma reducir las células ricas en lípidos de dicha región, y manteniendo simultáneamente la piel del sujeto a una temperatura a la que las células no ricas en lípidos próximas al elemento de enfriamiento no se rompan.

En una realización, la invención se refiere a un método para tratar una región del cuerpo de un sujeto para lograr una reducción deseada del tejido adiposo subcutáneo, que comprende a) aplicar un elemento de enfriamiento próximo a la piel del sujeto en la región en la que se desea la reducción del tejido adiposo subcutáneo para crear un 25 gradiente de temperatura en dicha región suficiente para romper selectivamente las células ricas en lípidos de la misma, y simultáneamente mantener la piel del sujeto a una temperatura a la que las células no ricas en lípidos próximas al elemento de enfriamiento no se rompan; b) repetir la aplicación del elemento de enfriamiento a la piel del sujeto de la etapa (a) una pluralidad de veces hasta lograr la reducción deseada del tejido adiposo subcutáneo.

Los elementos de enfriamiento pueden contener agentes de enfriamiento en forma de un sólido, líquido o gas. Los agentes de enfriamiento sólidos pueden comprender, por ejemplo, materiales conductores térmicos, tales como metales, placas metálicas, vidrios, geles y hielo o suspensiones heladas. Los agentes de enfriamiento líquidos pueden comprender, por ejemplo, solución salina, glicerol, alcohol o mezclas de agua/alcohol. Donde el elemento de enfriamiento incluya un agente de enfriamiento circulante, preferentemente la temperatura del agente de enfriamiento es constante. Se pueden combinar sales con mezclas de líquidos para obtener las temperaturas deseadas. Los gases pueden incluir, por ejemplo, aire frío o nitrógeno líquido.

En una realización, los elementos de enfriamiento se pueden aplicar de forma que se haga contacto directo con un sujeto, a través del agente o del elemento. En otra realización, el contacto directo se hace a través del agente solo. En otra realización más, no se hace contacto directo ni a través del agente ni del elemento; el enfriamiento se lleva a cabo mediante el posicionamiento próximo del elemento y/o del agente de enfriamiento.

Preferentemente, la temperatura del agente de enfriamiento es menor de aproximadamente 37 °C, pero no inferior a -196 °C (es decir, la temperatura del nitrógeno líquido).

Preferentemente, el intervalo de temperatura del elemento de enfriamiento administrado es entre aproximadamente 40 °C y -15 °C, incluso más preferentemente entre 4 °C y -10 °C si el agente de enfriamiento es un líquido o un sólido. En general, el elemento de enfriamiento se mantiene preferentemente a una temperatura media entre aproximadamente -15 °C y aproximadamente 35 °C, 30 °C, 25 °C, 20 °C, 15 °C, 10 °C o 5 °C; aproximadamente -10 °C y aproximadamente 35 °C, 30 °C, 25 °C, 20 °C, 15 °C, 10 °C o 5 °C; aproximadamente -15 °C y aproximadamente 20 °C, 15 °C, 10 °C o 5 °C.

El elemento y/o agente de enfriamiento se puede aplicar durante hasta 2 horas. Preferentemente, el elemento de enfriamiento se aplica durante 1 a 30 minutos. El elemento de enfriamiento se puede aplicar durante al menos cien milisegundos (por ejemplo, están previstas duraciones más cortas, por ejemplo, con pulverizadores). Por ejemplo, se puede aplicar nitrógeno líquido en intervalos muy cortos (por ejemplo, aproximadamente 1 segundo), de forma repetida (por ejemplo, aproximadamente 10-100 veces) y entre aplicaciones se mantiene una temperatura que no cause daño epidérmico (por ejemplo, aproximadamente de 0 °C a -10 °C, dependiendo de la duración de la exposición). En un régimen de enfriamiento suave, por ejemplo, se puede pulverizar el nitrógeno líquido desde una distancia (por ejemplo, desde aproximadamente 10 a 30 cm) en el que una parte de las gotas de nitrógeno líquido se evaporan durante la pulverización y/o se mezclan con el aire ambiente.

Los elementos y/o agentes de enfriamiento se aplican, por ejemplo, a la superficie de la piel mediante el contacto directo o indirecto. La piel de un sujeto comprende la epidermis, la dermis o una combinación de las mismas. El elemento y/o agente de enfriamiento es un agente de enfriamiento no tóxico cuando se aplica directamente a la superficie de la piel.

El elemento y/o agente de enfriamiento se puede aplicar más de una vez, por ejemplo, en ciclos repetidos. El agente de enfriamiento se puede aplicar de una forma en pulsos o de forma continua. El elemento y/o agente de

enfriamiento se puede aplicar por todos los métodos convencionales conocidos en la técnica, incluyendo la aplicación tópica mediante pulverización si el material está en forma líquida, gaseosa o en partículas sólidas. Preferentemente, la aplicación se realiza por medios externos, sin embargo, los elementos y/o agentes de enfriamiento de la presente invención también se pueden aplicar de forma subcutánea mediante inyección u otros medios convencionales. Por ejemplo, el agente de enfriamiento se puede aplicar directamente al tejido subcutáneo y entonces también se puede tanto eliminar tras el contacto o dejar en el tejido subcutáneo para alcanzar el equilibrio térmico y, por lo tanto, el enfriamiento del tejido rico en lípidos (por ejemplo, la inyección subcutánea de un agente de enfriamiento líquido o de pequeñas partículas de enfriamiento, tales como bolitas o microperlas).

Los métodos de la presente invención son no invasivos (por ejemplo, métodos superficiales, laparoscópicos o tópicos que no requieren técnicas quirúrgicas invasivas).

El elemento y/o agente de enfriamiento se puede aplicar a una zona definida o a múltiples zonas. La distribución espacial del elemento y/o agente de enfriamiento se puede controlar según sea necesario. En general, las dimensiones del área superficial (por ejemplo, en la que el agente de enfriamiento está en contacto con la piel) debe ser al menos tres veces la profundidad del tejido graso subcutáneo que es objetivo del enfriamiento. Preferentemente, el diámetro mínimo del área superficial es al menos de  $1 \text{ cm}^2$ . Incluso más preferentemente, el diámetro del área superficial es entre 3 y  $20 \text{ cm}^2$ . La determinación del área superficial óptima requerirá la variación rutinaria de varios parámetros. Por ejemplo, las áreas superficiales más grandes, tales como aquellas mayores de  $3500 \text{ cm}^2$ , se pueden enfriar según los métodos de la presente invención si se previene la hipotermia por medios adicionales. La hipotermia se puede prevenir compensando la transferencia de calor hacia el exterior del cuerpo en otros sitios (por ejemplo, aplicando agua caliente en uno o más sitios adicionales). Se pueden usar múltiples elementos y/o agentes de enfriamiento, por ejemplo, en contacto con las áreas superficiales mayores (por ejemplo, mayores de  $3500 \text{ cm}^2$ ).

El elemento y/o agente de enfriamiento puede seguir el contorno de la zona en el que se aplica. Por ejemplo, se puede usar un aparato flexible para seguir el contorno del área superficial en la que se aplica el enfriamiento. El aparato también puede modificar la forma de la superficie con la que está en contacto de modo que la superficie queda contorneada o contenida dentro del agente de enfriamiento o el aparato que contiene el agente de enfriamiento durante el contacto. El elemento y/o agente de enfriamiento puede estar en contacto con más de una superficie a la vez, por ejemplo, cuando la superficie está plegada y se pone en contacto en ambos lados con el elemento y/o agente de enfriamiento. Preferentemente, un pliegue de la piel se pone en contacto por ambos lados mediante el elemento y/o agente de enfriamiento para aumentar la eficacia del enfriamiento.

Preferentemente, el elemento y/o agente de enfriamiento sólido se moldea para potenciar el intercambio de calor termodinámico ("intercambio térmico") en la superficie de contacto (por ejemplo, superficie de la piel). Con el fin de mejorar la conducción, se puede usar un líquido en la interfaz entre el agente de enfriamiento sólido y la superficie de contacto.

Donde sea necesario, la aplicación del elemento y/o agente de enfriamiento se puede acoplar con el uso de un agente de tratamiento del dolor, tal como un anestésico o analgésico (el enfriamiento por sí solo tiene propiedades analgésicas, por lo que el uso de agentes de tratamiento del dolor adicionales es opcional). Se pueden aplicar anestésicos locales, por ejemplo, por vía tópica en el punto de contacto antes, después o durante la aplicación del agente de enfriamiento. Cuando sea necesario, se puede proporcionar la administración sistémica del anestésico mediante métodos convencionales, tales como inyección o administración oral. La temperatura del agente de enfriamiento se puede cambiar durante el tratamiento, por ejemplo, de modo que la velocidad de enfriamiento disminuya con el fin de proporcionar un tratamiento que produzca menos incomodidad. Además, los métodos de la presente invención se pueden llevar a cabo en combinación con otros métodos de reducción de grasa conocidos en la técnica, tales como la liposucción.

Preferentemente, las células ricas en lípidos de la presente invención son adipocitos contenidos en el tejido graso subcutáneo o celulitis. Por lo tanto, el objetivo para la rotura por métodos de la presente invención son las células ricas en lípidos que comprenden el tejido adiposo subcutáneo. Además, está dentro del campo de la invención el dirigirse a la rotura de células ricas en lípidos que comprenden la capa adventicia de los órganos de alrededor u otras estructuras anatómicas internas.

Los lípidos intracelulares de los adipocitos están confinados dentro de la vacuola paraplasma. Hay adipocitos univacuolares y plurivacuolares dentro del tejido graso subcutáneo. La mayoría son univacuolares y mayores de aproximadamente  $100 \text{ nm}$  de diámetro. Este tamaño puede aumentar notablemente en sujetos obesos debido a un aumento del contenido intracelular de lípidos.

Preferentemente, las células ricas en lípidos en la presente invención tienen un contenido intracelular de lípidos total entre el 20-99 %. Preferentemente, las células ricas en lípidos de la presente invención tienen un contenido intracelular de lípidos compuesto de aproximadamente el 20-50 % de triglicéridos saturados, e incluso más preferentemente aproximadamente el 30-40 % de triglicéridos saturados. Los triglicéridos intracelulares incluyen, pero sin limitar, ácidos grasos saturados, por ejemplo, ácido mirístico, palmítico y esteárico; ácidos grasos

monoinsaturados, por ejemplo, ácido palmitoleico y oleico; y ácidos grasos poliinsaturados, por ejemplo, ácido linoleico y linolénico.

5 Preferentemente, las células ricas en lípidos en la presente invención están situadas dentro del tejido adiposo subcutáneo. La composición de ácidos grasos saturados del tejido adiposo subcutáneo varía en las diferentes posiciones anatómicas del cuerpo humano. Por ejemplo, el tejido adiposo subcutáneo humano en el abdomen puede tener la siguiente composición de ácidos grasos saturados: ácido mirístico (2,6 %), palmítico (23,8 %), palmitoleico (4,9 %), esteárico (6,5 %), oleico (45,6 %), linoleico (15,4 %) y linolénico (0,6 %). El tejido adiposo subcutáneo de la zona abdominal puede comprender aproximadamente el 35 % de ácidos grasos saturados. Este es comparativamente mayor que la zona de los glúteos, que puede comprender aproximadamente el 32 % de ácidos grasos saturados. A temperatura ambiente, los ácidos grasos saturados de la zona abdominal están en un estado semisólido como resultado del mayor contenido de ácidos grasos. La zona de los glúteos no se afecta de la misma forma. Malcom G. y col., (1989) Am. J. Clin. Nutr. 50(2):288-91. Un experto en la materia puede modificar los intervalos de temperatura o los tiempos de aplicación según sea necesario para dar cuenta de las diferencias anatómicas en respuesta a los métodos de enfriamiento de la presente invención.

20 Preferentemente, las células no ricas en lípidos en la presente invención tienen un contenido intracelular de lípidos total menor del 20 %, y/o no se rompen por los métodos de enfriamiento de la presente invención. Preferentemente, las células no ricas en lípidos en la presente invención incluyen células que tienen un contenido intracelular de lípidos que comprende menos de aproximadamente el 20 % de triglicéridos muy saturados, incluso más preferentemente menos de aproximadamente 7-10 % de triglicéridos muy saturados. Las células no ricas en lípidos incluyen, pero no se limitan a, las que rodean el tejido graso subcutáneo, tales como la vasculatura, sistema nervioso periférico, epidermis (por ejemplo, melanocitos) y dermis (por ejemplo, fibrocitos).

25 El daño a la dermis y/o epidermis que se evita mediante los métodos de la presente invención puede implicar, por ejemplo, inflamación, irritación, hinchazón, formación de lesiones e hiperpigmentación o hipopigmentación de los melanocitos.

30 Sin estar ligado por la teoría, se cree que la rotura selectiva de células ricas en lípidos es el resultado de la cristalización localizada de ácidos grasos muy saturados tras el enfriamiento a temperaturas que no inducen la cristalización de los ácidos grasos muy saturados en las células no ricas en lípidos. Los cristales rompen la bicapa de la membrana de las células ricas en lípidos, produciendo necrosis. De esta forma se evita el daño de las células no ricas en lípidos, tales como las células dérmicas, a temperaturas que inducen la formación de cristales en células ricas en lípidos. También se cree que el enfriamiento induce lipólisis (por ejemplo, metabolismo) de las células ricas en lípidos, potenciando adicionalmente la reducción en el tejido adiposo subcutáneo. La lipólisis se puede potenciar mediante la exposición local a frío induciendo la estimulación del sistema nervioso simpático.

40 En una realización, la temperatura de las células ricas en lípidos no es inferior a aproximadamente -10 °C. Preferentemente, la temperatura de las células ricas en lípidos es entre -10 °C y 37 °C. Más preferentemente, la temperatura de las células ricas en lípidos es entre -4 °C y 20 °C. Incluso más preferentemente, la temperatura de las células ricas en lípidos es entre -2 °C y 15 °C. Preferentemente, las células ricas en lípidos se enfrían a menos de 37 °C, durante hasta dos horas. En general, las células ricas en lípidos preferentemente se mantienen a una temperatura media de entre aproximadamente -10 °C y aproximadamente 37 °C, 35 °C, 30 °C, 25 °C, 20 °C, 15 °C, 10 °C o 4 °C; aproximadamente -4 °C y aproximadamente 35 °C, 30 °C, 25 °C, 20 °C, 15 °C, 10 °C o 4 °C; aproximadamente -2 °C y aproximadamente 35 °C, 30 °C, 25 °C, 20 °C, 15 °C, 10 °C o 5 °C.

50 En otra realización más, el intervalo de temperatura de las células ricas en lípidos oscila entre 37 °C y -10 °C. Se pueden usar los métodos de enfriamiento por pulsos seguido de periodos breves de calentamiento para minimizar el daño colateral a las células no ricas en lípidos. Más preferentemente, el intervalo de temperatura de las células ricas en lípidos oscila entre -8 °C y 33 °C. Incluso más preferentemente, el intervalo de temperatura de las células ricas en lípidos oscila entre -2 °C y 15 °C. El perfil temporal de enfriamiento de la piel se puede realizar en un acto de enfriamiento continuo o en múltiples ciclos de enfriamiento, o realmente en una combinación de enfriamiento con ciclos de calentamiento activo.

55 Los métodos de enfriamiento de la presente invención eliminan de forma ventajosa los efectos no deseados en la epidermis. En una realización, la temperatura de la epidermis no es inferior a aproximadamente -15 °C. Preferentemente, la temperatura de la epidermis está entre aproximadamente -10 °C y 35 °C. Más preferentemente, la temperatura de la epidermis es entre aproximadamente -5 °C y 10 °C. Incluso más preferentemente, la temperatura de la epidermis está entre aproximadamente -5 °C y 5 °C.

60 Los métodos de enfriamiento de la presente invención eliminan de forma ventajosa los efectos no deseados en la dermis. En una realización, la temperatura de la dermis no es inferior a aproximadamente -15 °C. Preferentemente, la temperatura de la dermis está entre aproximadamente -10 °C y 20 °C. Más preferentemente, la temperatura de la dermis está entre aproximadamente -8 °C y 15 °C. Incluso más preferentemente, la temperatura de la dermis está entre aproximadamente -5 °C y 10 °C. En una realización preferida, las células ricas en lípidos se enfrían de aproximadamente -5 °C a 5 °C durante hasta dos horas y las células dérmicas y epidérmicas mantienen una

temperatura media de aproximadamente 0°C. En una realización más preferida, las células ricas en lípidos se enfrían de aproximadamente -5 a 15 °C, durante períodos de tiempo en el intervalo de aproximadamente un minuto hasta aproximadamente dos horas.

5 Los métodos de la presente invención se pueden aplicar en intervalos cortos (por ejemplo, intervalos de tiempo de 1 minuto, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos y 60 minutos), o intervalos largos (por ejemplo, intervalos de tiempo de 12 horas y 24 horas). Preferentemente, los intervalos de tiempo están entre 5 y 20 minutos. Se puede aplicar calor opcionalmente entre los intervalos de enfriamiento.

10 Se usan mecanismos de retroalimentación para controlar y controlar las temperaturas en el tejido adiposo subcutáneo de la piel (es decir, la dermis, la epidermis o una combinación de las mismas). Un mecanismo de retroalimentación puede controlar la temperatura de la piel de un sujeto para asegurar que la temperatura de la misma no disminuye por debajo de una temperatura mínima predeterminada, por ejemplo, de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 30°C. Se puede aplicar de forma externa un dispositivo no invasivo para medir la temperatura de la superficie en el punto de contacto y/o en la región de alrededor. Se puede usar un dispositivo  
15 invasivo, tal como un termopar, para medir las temperaturas internas.

Los mecanismos de retroalimentación pueden incluir todos los conocidos en la materia para controlar la temperatura y/o la formación de cristales. La formación de cristales se puede medir, por ejemplo, mediante generación de imágenes por ultrasonidos y por mediciones acústicas, ópticas y mecánicas. Las mediciones mecánicas pueden incluir, por ejemplo, mediciones de la resistencia a la tracción.

En una realización, se puede usar un modelo de multicapas para calcular los perfiles de temperaturas a lo largo del tiempo y a diferentes profundidades. Los perfiles de temperaturas se diseñan para producir un gradiente de temperatura dentro del tejido, teniendo una temperatura inferior en la superficie. En una realización preferida, los perfiles de temperatura se diseñan para minimizar el flujo sanguíneo durante el enfriamiento. Se pueden usar mecanismos de retroalimentación que comprenden, por ejemplo, termopares, ultrasonidos (por ejemplo, para detectar cambios de fase del tejido adiposo subcutáneo) o propagación de ondas de choque (por ejemplo, la propagación de una onda de choque se altera si se produce una transición de fase) para lograr gradientes de temperatura óptimos.  
25  
30

El enfriamiento sustancial de la capa adiposa subcutánea, por ejemplo a una temperatura objetivo entre aproximadamente -5 °C y 15 °C, por enfriamiento de la superficie de la piel tiene varios requisitos. El calor extraído de la superficie de la piel establece un gradiente de temperatura dentro de la piel, que a su vez enfría primero la epidermis, la dermis y finalmente las capas adiposas subcutáneas. El flujo sanguíneo dérmico lleva calor desde el centro del cuerpo a la dermis. Por lo tanto, el flujo sanguíneo dérmico puede limitar gravemente el enfriamiento de la dermis profunda y la capa adiposa subcutánea. Por lo tanto, es muy preferido el limitar o eliminar temporalmente el flujo sanguíneo cutáneo, por ejemplo aplicando localmente a la piel una presión mayor que la presión sanguínea sistólica, mientras se enfría como tratamiento para lograr la reducción de la capa adiposa subcutánea. Un requisito general es que el tiempo de enfriamiento en la superficie de la piel debe ser suficientemente largo para permitir que el calor fluya desde la dermis y las capas adiposas subcutáneas con el fin de lograr la temperatura deseada para el tratamiento de las mismas. Cuando la capa adiposa subcutánea se enfría a una temperatura inferior a esta para la cristalización de sus lípidos, el calor latente de congelación de estos lípidos también debe eliminarse por difusión. La temperatura de enfriamiento de la superficie de la piel y el tiempo de enfriamiento se pueden ajustar para controlar la profundidad del tratamiento, por ejemplo la profundidad anatómica a la que se afecta la capa adiposa subcutánea. La difusión de calor es un proceso pasivo y la temperatura central del cuerpo está casi siempre cercana a 37 °C. Por lo tanto, otro requisito general es que la temperatura de la superficie de la piel durante el enfriamiento debe ser inferior a la temperatura objetivo deseada (por ejemplo, adipocitos) para el tratamiento de la región, durante al menos parte del tiempo durante el cual se lleva a cabo el enfriamiento.  
35  
40  
45  
50

Cuando se enfría un diámetro de la piel mayor de aproximadamente 2 cm y sin flujo sanguíneo, la difusión del calor unidimensional ofrece una buena aproximación para calcular los perfiles de temperatura en la piel a lo largo del tiempo durante el enfriamiento. La difusión de calor está controlada por la ecuación de difusión general,  $\delta T/\delta t = k\delta^2 T/\delta z^2$ , en la que  $T(z,t)$  es la temperatura de la piel en función de la profundidad  $z$  y el tiempo  $t$ , y  $k$  es la difusividad térmica, que es aproximadamente  $1,3 \times 10^{-3} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$  para el tejido de la piel. Las soluciones y soluciones aproximadas de la ecuación de difusión de calor se han hecho para la geometría planar de una lámina semi-infinita, que se aproxima a la situación de la piel. Cuando la superficie de la piel ( $z = 0$ ) se mantiene a una temperatura inferior dada, una aproximación útil es que el flujo de calor desde una profundidad  $z$  requiere un tiempo de aproximadamente  $t = z^2$  para lograr una diferencia de temperatura de la  $1/2$  de la diferencia inicial, en la que  $t$  está en segundos y  $z$  en milímetros. Por lo tanto,  $z^2$  se puede considerar un valor aproximado para una constante de tiempo térmica. Por ejemplo, si la temperatura inicial de la piel es 30 °C, y se pone hielo a 0 °C firmemente contra la superficie de la piel, es necesario aproximadamente 1 segundo para que la temperatura a una profundidad de 1 mm alcance aproximadamente 15 °C. La capa de grasa subcutánea normalmente empieza a  $z = 3$  mm, y se extiende desde milímetros hasta muchos centímetros de espesor. La constante de tiempo térmica para la transferencia de calor desde la parte superior de la capa adiposa subcutánea, es por lo tanto aproximadamente 10 segundos. Para lograr un enfriamiento sustancial de la capa adiposa subcutánea, son necesarios al menos varios y preferentemente más  
55  
60  
65

- de 10 constantes de tiempo térmicas de enfriamiento. Por lo tanto, el enfriamiento se debe mantener durante aproximadamente 30-100 segundos en la superficie de la piel, y en ausencia de flujo sanguíneo dérmico, para que la temperatura de la parte más superior de la capa adiposa subcutánea se aproxime a la de la superficie de la piel enfriada. El calor latente de cristalización para lípidos, mencionado anteriormente, también debe eliminarse cuando la temperatura de la grasa disminuye por debajo de la de cristalización. Por lo tanto, en general se desean tiempos de enfriamiento de más de 1 minuto, y se pueden usar tiempos de enfriamiento mayores de aproximadamente 1 minuto para ajustar la profundidad de los adipocitos afectados, durante tiempos de hasta más de 1 hora.
- Por consiguiente, en otra realización más, la dermis se enfría a una velocidad suficiente para inducir vasoconstricción. La circulación sanguínea en la dermis estabiliza la temperatura de la dermis cerca de la temperatura corporal. Con el fin de enfriar el tejido adiposo subcutáneo a temperaturas inferiores a la temperatura corporal, se puede minimizar el flujo sanguíneo. El enfriamiento rápido de la superficie epidérmica puede lograr el reflejo de vasoconstricción que limita la circulación sanguínea de una forma adecuada.
- En otra realización más, se administra un fármaco vasoconstrictor para inducir la vasoconstricción. Los fármacos vasoconstrictores, por ejemplo, se pueden aplicar por vía tópica en el punto de contacto antes, después o durante la aplicación del agente de enfriamiento. Cuando sea necesario, se puede proporcionar la administración sistémica del fármaco vasoconstrictor por métodos convencionales, tales como inyección o administración oral. El fármaco vasoconstrictor puede ser cualquiera conocido en la materia. Preferentemente, el fármaco vasoconstrictor es crema EMLA o epinefrina.
- En otra realización más, se aplica presión a una superficie, tanto en el punto de contacto con el agente de enfriamiento como en la proximidad del mismo, de forma que se limita el flujo sanguíneo lateral. Se puede aplicar presión, por ejemplo, a una superficie de la piel comprimiendo la superficie de la piel en un pliegue de piel que comprende uno o múltiples pliegues. La presión también puede ser aplicando el vacío en el punto de contacto con el agente de enfriamiento o en la proximidad del mismo.
- Sin estar ligados por la teoría, se cree que la velocidad de formación de cristales en las células ricas en lípidos se puede alterar mediante la aplicación de presión durante el método de enfriamiento. La cristalización repentina, en lugar de una acumulación lenta de cristales, produciría mayor daño a las células ricas en lípidos. También se cree que la aplicación de presión puede forzar el movimiento de los cristales dentro de las células ricas en lípidos, potenciando el daño a la membrana de la bicapa. Además, los diferentes compartimentos del tejido adiposo subcutáneo tienen diferentes viscosidades. En general, la viscosidad se potencia a temperaturas más frías (por ejemplo, aquellas particularmente cercanas al punto del cambio de fase). Puesto que el cambio de fase para las células ricas en lípidos se produce a temperaturas mayores que para las células no ricas en lípidos, se forman líneas de tensión no uniformes dentro del tejido adiposo subcutáneo tras la aplicación de presión. Se cree que se produce un daño pronunciado dentro de estas líneas de tensión.
- En otro aspecto más, la temperatura de la dermis y/o de la epidermis oscila entre 35 °C y -15 °C. Más preferentemente, la temperatura de la dermis y/o epidermis oscila entre -10 °C y 10 °C. Incluso más preferentemente, la temperatura de la 60 dermis y/o epidermis oscila entre -8 °C y 8 °C. Las temperaturas que oscilan en la superficie de la piel pueden proporcionar el calentamiento intermitente para contrarrestar los potenciales efectos secundarios del método de enfriamiento (por ejemplo, formación de cristales en las células dérmicas o epidérmicas).
- En otro aspecto más, la aplicación del agente de enfriamiento se acopla con la aplicación de campos eléctricos o acústicos, tanto constantes como oscilantes en el tiempo, localizados en la dermis y/o epidermis para reducir o eliminar la formación de cristales en las mismas.
- La figura 1A ilustra un sistema de tratamiento 100 para enfriar una zona objetivo. Como se muestra en la figura 1A, el sistema de tratamiento 100 puede incluir una unidad de control 105 y una unidad de tratamiento 107, que puede incluir un elemento de enfriamiento/calentamiento 110 y una interfaz de tratamiento 115.
- La unidad de control 105 puede incluir una fuente de energía, por ejemplo la unidad de control puede estar acoplada a una fuente de energía, para suministrar energía a la unidad de tratamiento 107. La unidad de control 105 también puede incluir un dispositivo informático que tiene hardware y/o software de control, para el control basado en las propiedades y/o parámetros introducidos, del elemento de enfriamiento/calentamiento 110 y la interfaz de tratamiento 115. La interfaz de tratamiento 115 puede incluir un detector 120.
- La figura 1B es un diagrama que ilustra una configuración de la unidad de control 105 de acuerdo con una realización de la invención. Como se muestra en la figura 1B, la unidad de control 105 puede comprender un dispositivo informático 125, que puede ser un ordenador de propósito general (tal como un PC), estación de trabajo, sistema de ordenador central, etc. El dispositivo informático 125 puede incluir un dispositivo procesador (o unidad central de procesamiento "CPU") 130, un dispositivo de memoria 135, un dispositivo de almacenamiento 140, una interfaz de usuario 145, un bus del sistema 150 y una interfaz de comunicación 155. La CPU 130 puede ser cualquier tipo de dispositivo de procesamiento para llevar a cabo instrucciones, procesamiento de datos, etc. El

dispositivo de memoria 135 puede ser cualquier tipo de dispositivo de memoria incluyendo una cualquiera o más de memorias de acceso aleatorio ("RAM"), memoria sólo de lectura ("ROM"), memoria rápida, memoria de solo lectura borrrable y programable eléctricamente ("EEPROM"), etc. El dispositivo de almacenamiento 140 puede ser cualquier dispositivo de almacenamiento de datos para la lectura/escritura desde/a cualquier medio de almacenamiento óptico, magnético y/u óptico-magnético extraíble y/o integrado, y similares (por ejemplo, un disco duro, un disco compacto de memoria sólo de lectura "CD-ROM", CD regrabable "CD-RW", disco versátil digital-ROM "DVD-ROM", DVD-RW, etc.). El dispositivo de almacenamiento 140 puede incluir también un controlador/interfaz (no se muestra) para la conexión al bus del sistema 150. Por lo tanto, el dispositivo de memoria 135 y el dispositivo de almacenamiento 140 son adecuados para el almacenamiento de datos así como de instrucciones para los métodos programados para la ejecución en la CPU 130. La interfaz de usuario 145 puede incluir una pantalla táctil, panel de control, teclado, teclado numérico, pantalla o cualquier otro tipo de interfaz, que se puede conectar al bus del sistema 150 mediante el correspondiente dispositivo de interfaz/adaptador de entrada/salida (no se muestra). La interfaz de comunicación 155 se puede adaptar para la comunicación con cualquier tipo de dispositivo externo, incluyendo la unidad de tratamiento 107. La interfaz de comunicación 155 puede estar adaptada además para la comunicación con cualquier sistema o red (no se muestra) tal como uno o más dispositivos informáticos en una red de área local ("LAN"), red de área extensa ("WAN"), internet, etc. La interfaz 155 puede estar conectada directamente al bus del sistema 150, o puede estar conectada por una interfaz adecuada (no se muestra). Por lo tanto, la unidad de control 105 proporciona métodos de ejecución, por sí misma y/o en cooperación con uno o más dispositivos adicionales, que pueden incluir algoritmos para controlar la unidad de tratamiento 107 según la presente invención. La unidad de control 105 se puede programar o instruir para realizar estos procesos según cualquier protocolo de comunicación, lenguaje de programación o cualquier plataforma. Por lo tanto, los métodos se pueden caracterizar en los datos y las instrucciones se pueden almacenar en el dispositivo de memoria 135 y/o el dispositivo de almacenamiento 140 o recibir en la interfaz 155 y/o la interfaz de usuario 145 para la ejecución en la CPU 130.

En relación otra vez con la figura 1A, la unidad de tratamiento 107 puede ser un dispositivo portátil, un aparato automático y similares. El elemento de enfriamiento/calentamiento 110 puede incluir cualquier tipo de componente de enfriamiento/calentamiento, tal como un enfriador termoeléctrico, y similares.

La figura 1C es un diagrama que muestra el elemento de enfriamiento/calentamiento 110. Como se muestra en la figura 1C, el elemento de enfriamiento/calentamiento 110 puede incluir una red de conductos por la que fluye un fluido de enfriamiento/calentamiento. Los conductos pueden estar formados por cualquier tubería conductora de calor y similar. El fluido de enfriamiento/calentamiento se puede dirigir al elemento 110 por una entrada 175 y sacar por una salida 180. El fluido de enfriamiento/calentamiento puede ser cualquier fluido que tenga una temperatura controlada, tal como aire/gas o líquido enfriado. Por ejemplo, se puede usar un baño de sal con agua o acetona que se enfría usando hielo o dióxido de carbono congelado, como fuente de líquido enfriado bombeado por el elemento 110. Por lo tanto, se puede formar un sistema de circulación en el que el fluido sacado por la salida 180 se vuelve a enfriar en la fuente de fluido y se vuelve a dirigir a la entrada 175. La temperatura de la fuente de fluido y/o el elemento 110, que puede incluir la velocidad a la que el fluido de enfriamiento es bombeado por el elemento 110, se puede controlar y controlar mediante la unidad de control 105. De este modo, la temperatura del elemento de enfriamiento/calentamiento 110 se puede controlar o programar usando la unidad de control 105. Como se muestra además en la figura 1C, puede haber una diferencia de temperatura,  $\Delta T$ , entre las regiones del elemento 110. Por ejemplo, se puede transferir calor desde el tejido diana al fluido de enfriamiento durante el tratamiento haciendo que el fluido cerca de la salida 180 tenga una temperatura superior que el fluido de enfriamiento cerca de la entrada 175. Dicha  $\Delta T$  se puede reducir reduciendo el tamaño del elemento 110.

La configuración de los conductos en el elemento 110 y la correspondiente aplicación del elemento 110 al tejido diana 10 pueden representar cualquier diferencia de temperatura necesaria para tratar diferentes tejidos diana. Por ejemplo, la región del elemento 110 cerca de la salida 180 se puede aplicar a zonas de tratamiento que requieren una temperatura de tratamiento mayor, etc. Por lo tanto, los conductos del elemento 110 se pueden configurar según el tamaño, forma, formación etc. del tejido diana que requieren las diferentes temperaturas de tratamiento.

El fluido de enfriamiento/calentamiento también se puede bombear por el elemento 110 de una forma pulsada.

En relación otra vez a la figura 1A, la interfaz de tratamiento 115 puede ser cualquier tipo de interfaz entre el elemento de enfriamiento/calentamiento 110 y la epidermis 160 para realizar el tratamiento sobre la epidermis 160, la dermis 165 y las células grasas 170. Por ejemplo, el tratamiento de la interfaz 115 puede incluir una placa de enfriamiento (conductora), un recipiente cargado con fluido de enfriamiento, una membrana de formación libre (para una interfaz complementaria con una epidermis desigual), un elemento de enfriamiento convexo (por ejemplo, como se muestra en la figura 3), y similares. Preferentemente, la interfaz de tratamiento 115 comprende un material conductor del calor que complementa la epidermis 160 para la máxima transferencia de calor entre el elemento de enfriamiento/calentamiento 110 y la epidermis 160, la dermis 165 y/o las células grasas 170. Por ejemplo, la interfaz de tratamiento 115 puede ser un recipiente cargado de fluido o una membrana de modo que el cambio de presión del elemento de enfriamiento 110 producido por un flujo en pulsos del fluido de enfriamiento se pueda transferir al tejido diana. Además, la interfaz de tratamiento 115 puede ser simplemente una cámara en la que el fluido de enfriamiento/calentamiento se puede aplicar directamente al tejido diana (epidermis 160, dermis 165 y células grasas 170), por ejemplo usando un dispositivo de pulverización y similares.

El detector 120 puede ser un monitor de temperatura, por ejemplo, un termopar, un termistor, y similares. El detector 120 puede incluir cualquier tipo de termopar, incluyendo los tipos T, E, J, K, G, C, D, R, S, B, para controlar el enfriamiento del tejido. El detector 120 también puede incluir un termistor, que puede comprender resistencias termosensibles cuyas resistencias cambian con un cambio de temperatura. El uso de termistores puede ser particularmente ventajoso debido a su sensibilidad. Según una realización de la invención, se puede usar un 35 termistor con un coeficiente de temperatura negativo grande de resistencia ("NTC"). Preferentemente, un termistor usado para el detector 120 puede tener un intervalo de temperatura de trabajo que incluye de aproximadamente -15 °C a 40 °C. Además, el detector 120 puede incluir un termistor con elementos activos de polímeros o cerámicos. Puede ser lo más preferible un termistor cerámico ya que estos pueden tener mediciones de temperatura más reproducibles. Un termistor usado para el detector 120 se puede encapsular en un material protector tal como vidrio. 40 Por supuesto, también se pueden usar otros dispositivos de monitorización de la temperatura distintos dictados por el tamaño, geometría y resolución de temperatura deseados. El detector 120 también puede comprender un electrodo que se puede usar para medir la resistencia eléctrica del área superficial de la piel. La formación de hielo dentro de las estructuras de la piel superficial como la epidermis o la dermis produce un aumento de la resistencia eléctrica. Este efecto se puede usar para controlar la formación de hielo dentro de la dermis. El detector 120 puede consistir además en una combinación de varios métodos de medición.

De este modo, el detector 120 puede extraer, entre otros, información de la temperatura de la epidermis 160, la dermis 165 y/o las células grasas 170 como retroalimentación a la unidad de control 105. La información de la temperatura detectada se puede analizar mediante la unidad de control 105 basándose en las propiedades y/o parámetros introducidos. Por ejemplo, la temperatura de las células grasas 170 se puede determinar mediante cálculos basados en la temperatura de la epidermis 160 detectada mediante el detector 120. Por lo tanto, el sistema de tratamiento 100 puede medir de forma no invasiva la temperatura de las células grasas 170. Después, esta información la puede usar la unidad de control 105 para el control continuo por retroalimentación de la unidad de tratamiento 107, por ejemplo, ajustando la energía/temperatura del elemento de enfriamiento/calentamiento 110 y la interfaz de tratamiento 115, manteniendo así la temperatura de tratamiento óptima de las células grasas diana 170 mientras que se dejan intactas la epidermis 160 y dermis 165 de alrededor. Como se ha descrito antes, el elemento de enfriamiento/calentamiento 110 puede proporcionar temperaturas ajustables en el intervalo de aproximadamente -10 °C hasta 42 °C. Se puede repetir una secuencia de medición y control de la temperatura automático para mantener dichos intervalos de temperatura hasta completarse un procedimiento.

Nótese que la reducción del tejido adiposo por enfriamiento de las células ricas en lípidos puede ser incluso más eficaz cuando el enfriamiento de tejido se acompaña de manipulación física, por ejemplo, mediante masaje del tejido diana. La unidad de tratamiento 107 puede incluir un dispositivo de masaje del tejido, tal como un dispositivo de vibración y similares. Alternativamente, se puede usar un transductor 5 piezoeléctrico en la unidad de tratamiento 107 l con el fin de proporcionar oscilación o movimiento mecánico del elemento de enfriamiento/calentamiento 107 (o mejor unidad de tratamiento). El detector 120 puede incluir dispositivos de retroalimentación para detectar cambios en la viscosidad de la piel para controlar la eficacia del tratamiento y/o prevenir cualquier daño al tejido de alrededor. Por ejemplo, se puede usar un dispositivo de detección de vibración para detectar cualquier cambio en la frecuencia de resonancia del tejido diana (o tejido de alrededor), que puede indicar un cambio en la viscosidad del tejido, que se está moviendo o haciendo vibrar mecánicamente mediante un dispositivo de vibración contenido de la unidad de tratamiento 107.

Para asegurar además que la epidermis 160 y/o la dermis 165 no se dañan por el tratamiento de enfriamiento, se puede usar un dispositivo detector óptico/de retroalimentación para controlar el cambio de las propiedades ópticas de la epidermis (dispersión potenciada si se producen formaciones de hielo); se puede usar un dispositivo de retroalimentación eléctrico para controlar el cambio de la impedancia eléctrica de la epidermis producida por la formación de hielo en la epidermis; y/o se puede usar un dispositivo de retroalimentación de ultrasonidos para controlar la formación de hielo (realmente para evitarla) en la piel. Cualquiera de dichos dispositivos puede incluir una unidad de control de señalización 105 para detener o ajustar el tratamiento para prevenir el daño a la piel.

El sistema de tratamiento 100 puede incluir una serie de configuraciones e instrumentos. Se pueden incluir algoritmos que se diseñan para diferentes tipos de métodos, configuraciones y/o instrumentos para la unidad de control 105.

Tal como se muestra en la figura 1D, el sistema de tratamiento 100 puede incluir un controlador de sonda 175 y una sonda 180 para la medición de la temperatura invasiva mínima de las células grasas 170. Ventajosamente, la sonda 180 puede ser capaz de medir una temperatura más precisa de las células grasas 170 mejorando así el control de la unidad de tratamiento 107 y la eficacia del tratamiento.

Nótese que el sistema de tratamiento 100 se puede controlar de forma remota. Por ejemplo, la conexión entre la unidad de control 105 y la unidad de tratamiento 107 puede ser una conexión remota (con cable o sin cable) que proporciona el control remoto de la unidad de control 105 sobre el elemento de enfriamiento/calentamiento 110, la interfaz de tratamiento 115, el controlador de sonda 175 y la sonda 180.

Mientras que el sistema de tratamiento de ejemplo 100 anterior es ilustrativo de los componentes básicos de un sistema adecuado para usar con la presente invención, la arquitectura mostrada no debe considerarse limitante puesto que son posibles muchas variaciones de la configuración de hardware.

5 La figura 2A ilustra un sistema de tratamiento 200 para enfriar células grasas 170 mediante el plegamiento del tejido diana. Como se muestra en la figura 2A, el sistema de tratamiento 200 puede incluir las correspondientes unidades de control 105 y unidades de tratamiento 107 en dos lados acoplados a una unidad de compresión 205. La unidad de compresión 205 puede estar adaptada para atraer las unidades de tratamiento 107 entre sí, plegando de esta forma (o "pellizcando") el tejido diana (epidermis 160, dermis 165 y células grasas 170) entre las unidades de tratamiento 107. La interfaz de tratamiento 115 de las respectivas unidades de tratamiento 107 en cada lado del tejido diana puede así enfriar las células grasas 170 desde múltiples lados con una mayor eficacia, como se ha descrito antes. Se pueden incluir detectores 120 para medir y controlar la temperatura del tejido diana. Como se muestra en la figura 2A, las unidades de control 105 pueden estar conectadas para formar un sistema integrado. De acuerdo con una realización de la presente invención, los diferentes componentes del sistema 200 se pueden controlar usando cualquier número de unidades de control.

Como se ha descrito antes, la manipulación física del tejido diana puede mejorar la eficacia del tratamiento de enfriamiento. Según una realización de la presente invención, la unidad de compresión 205 puede variar la fuerza con la que las unidades de tratamiento 107 se atraen entre sí alrededor del tejido diana (epidermis 160, dermis 165 y células grasas 170). Por ejemplo, la unidad de compresión 205 puede aplicar una fuerza en pulsos para apretar y aflojar alternativamente el pliegue (o "pinzamiento") del tejido diana. La resistencia al apretamiento se puede controlar además para detectar cualquier cambio en las características (por ejemplo, la viscosidad) del tejido diana, y de esta forma asegurar que la eficacia y seguridad del tratamiento.

25 La figura 2B ilustra el sistema 200 con una sonda 180 similar a la del sistema 100 mostrado en la figura 1C para la medición de la temperatura invasiva mínima de las células grasas 170. Como se ha descrito antes, la sonda 180 puede ser capaz de medir una temperatura más precisa de las células grasas 170, mejorando de esta forma el control de la unidad de tratamiento 107 y la eficacia del tratamiento.

30 Las figuras 3A y 3B son diagramas que muestran un sistema de tratamiento 300. Como se muestra en la figura 3A, el sistema 300 puede incluir una unidad de succión 305, y la unidad de tratamiento 107 puede incluir la interfaz de tratamiento 115 que tiene una superficie curvada, que forma por ejemplo una cúpula, para formar y contener una cámara 310 encima de la epidermis 160. Como se muestra en la figura 3B, la unidad de succión 305 se puede activar para extraer el aire de la cámara 310 de modo que el tejido diana (epidermis 160, dermis 165 y células grasas 170) es empujado para ponerse en contacto con la interfaz de tratamiento 115. Ventajosamente, la interfaz de tratamiento 115 puede rodear las células grasas diana 170 para un enfriamiento más eficaz. La interfaz de tratamiento 115 puede consistir en un material sólido rígido o flexible, que está en contacto con la piel o un agente de acoplamiento térmico entre la superficie de la piel y la unidad de tratamiento. La superficie de la interfaz 115 también puede tener múltiples aberturas conectadas a la unidad de succión 305. La piel entra parcialmente en estas múltiples aberturas que pueden aumentar el área superficial total de la epidermis 160 en contacto térmico con la interfaz de tratamiento (por ejemplo, estiramiento de la piel). El estiramiento de la piel disminuye el espesor de la epidermis y la dermis, facilitando el enfriamiento de la grasa 170. Se pueden incluir una serie de detector(es) 120 y/o sonda(s) 180 en el sistema de tratamiento 300 para controlar la temperatura del tejido durante el tratamiento, como se ha descrito antes con referencia a las figuras 1A, 1C, 2A y 2B, cuya descripción detallada no se repetirá aquí.

45 La figura 4 ilustra un sistema de tratamiento 400. Como se muestra en la figura 4, la unidad de succión 305 puede estar conectada a una abertura anular alrededor de la interfaz de tratamiento 115 de modo que, cuando está activada, se forma un cierre de succión 410 con la epidermis 160 alrededor de la interfaz de tratamiento 115. Como resultado, el tratamiento se puede realizar en la interfaz de tratamiento 115 a una zona del tejido diana aislada.

50 Ventajosamente, el sujeto o parte del cuerpo se pueden sumergir en un baño de calentamiento sin afectar al tratamiento en la interfaz 115. Por consiguiente, la zona de tratamiento se puede aumentar si un entorno de calentamiento circundante puede prevenir la hipotermia general.

55 Las figuras 5A y 5B son diagramas que muestran un sistema de tratamiento 500. Como se muestra en las figuras 5A y 5B, el sistema de tratamiento 500 puede formar una banda (o cilindro) alrededor de una masa de tejido diana 515. El sistema de tratamiento 500 puede comprender cualquier material flexible o rígido. El fluido de enfriamiento/calentamiento se puede bombear a través del sistema de tratamiento 500 por la entrada 175 y la salida 180, como se muestra en la figura 5B. El elemento de enfriamiento/calentamiento 110 puede estar formado por un recipiente interno o una red de conductos, tal como tuberías y similares. La transferencia de calor con la masa de tejido diana 515 se puede realizar mediante la interfaz de tratamiento 115, que puede incluir cualquier material conductor del calor. El sistema de tratamiento 500 puede incluir además un mecanismo de fijación 510, tal como un gancho y presilla y similares, para la sujeción y envoltura alrededor de la masa de tejido 515. Además, la interfaz de tratamiento 115 puede incluir un material flexible de modo que la presión del fluido de enfriamiento bombeado a través del sistema de tratamiento 500 se puede transferir al tejido diana 515. Por ejemplo, con referencia a la figura 5A, el sistema de tratamiento 500 puede aplicar presión hacia el interior a la masa de tejido diana 515. La masa de

tejido diana 515 puede ser cualquier sección, parte del cuerpo o extremidad de un sujeto. Por ejemplo, la masa de tejido diana 515 puede ser un brazo, la parte superior o inferior de una pierna, la cintura, etc. de un sujeto. La presión y el flujo del fluido de enfriamiento en el sistema 500 se puede controlar con la unidad de control 105 hasta una temperatura y/o presión de tratamiento óptimos. Un ajuste apretado alrededor de la masa de tejido 515 y una mayor presión hacia el interior también pueden permitir que el sujeto se sumerja en un baño de calentamiento. Como se ha descrito anteriormente, el flujo de fluido puede ser un flujo en pulsos.

La presente invención se describe además mediante los siguientes ejemplos ilustrativos y no limitantes, que proporcionan una mejor comprensión de la presente invención y de sus muchas ventajas.

### Ejemplos

#### Ejemplo 1: Daño selectivo al tejido graso mediante enfriamiento controlado *in vivo*

Los métodos de la presente invención se llevaron a cabo en un cerdo miniatura de Hanford, hembra, de 6 meses de edad, blanco ("cerdo I") y un cerdo miniatura de Yucatán, hembra, de 6 meses de edad, negro ("cerdo II"). Los cerdos se anestesiaron usando telazol/xilazina (4,4 mg/kg i.m. + 2,2 mg/kg i.m.). Se suministraron anestésicos por inhalación (Halotano o Isoflurano (1,5-3,0 %) con oxígeno (3,0 l/min) mediante máscara y filtrado con un cartucho de filtro de aire solamente si los anestésicos inyectables no proporcionaron suficiente analgesia somática. Se marcaron varios sitios de ensayo con microtatuajes aplicando tinta india en las esquinas de cada sitio de ensayo. Después de cartografiar los sitios de ensayo se llevaron a cabo las exposiciones al frío usando un dispositivo de enfriamiento tal como se describe en la figura 1A. La zona de la interfaz de tratamiento era una zona plana de un tamaño de 2 x 4 cm<sup>2</sup> con un sensor de temperatura incorporado. La interfaz estaba en contacto térmico con un enfriador termoeléctrico, que era regulado electrónicamente mediante una unidad de control de modo que la temperatura de la superficie de la interfaz se mantuviera constante a una temperatura previamente fijada. Durante la exposición al frío, se aplicó el dispositivo de enfriamiento a la piel con una presión de pequeña a moderada que no causaba compresión mecánica significativa del flujo sanguíneo. El elemento de enfriamiento se aplicó a la piel sin ninguna manipulación del perfil de la superficie.

Se ensayaron diferentes combinaciones de temperaturas de la interfaz de enfriamiento y de tiempos de exposición previamente fijados. Para algunos sitios se aplicó una loción termoconductora entre la piel y la interfaz de enfriamiento. Esta loción termoconductora consistía principalmente en glicerol. El cerdo I se observó durante 61 días hasta que se obtuvieron las biopsias excisionales de todos los sitio de ensayo y se sacrificó al cerdo. Del sitio de ensayo C había una biopsia por perforación adicional obtenida el día 2.

Las biopsias se procesaron mediante microscopía óptica rutinaria y se tiñeron con hematoxilina y eosina. La temperatura indicada es la del elemento de enfriamiento aplicado. La tabla 1 representa los parámetros de la aplicación del enfriamiento y los resultados obtenidos en diferentes sitios en el cerdo I.

Tabla 1

Sitio	Temperatura	Tiempo	Loción	Resultados
A	-6 °C	1 minuto	+	A los 61 días: No hay daño epidérmico. No hay daño dérmico. No hay hendidura obvia. No hay alteraciones histológicas obvias.
B	-6 °C	1 minuto	-	A los 61 días: No hay daño epidérmico. No hay daño dérmico. No hay hendidura obvia. No hay alteraciones histológicas obvias.
C	-6 °C	5 minutos	+	A los 61 días: No hay daño epidérmico. No hay daño dérmico. Hendidura debida a la pérdida de tejido adiposo subcutáneo (1 semana a 61 días). Menor tamaño medio de adipocitos a una profundidad entre aproximadamente 3-6 mm. Daño histológico obvio en el tejido adiposo. A los 2 días: Inflamación del tejido y paniculitis.

Sitio	Temperatura	Tiempo	Loción	Resultados
D	-3,5 °C	5 minutos	+	A los 61 días: No hay daño epidérmico. No hay daño dérmico. No hay hendidura obvia. Daño histológico en el borde del tejido adiposo. Menor tamaño medio de los adipocitos.
E	Control			Normal - no hay cambios en la epidermis, dermis y tejido adiposo subcutáneo.

5 El cerdo II se observó durante 50 días hasta que se obtuvieron las biopsias excisionales de todos los sitios de ensayo y se sacrificó al cerdo. Del sitio de ensayo E se obtuvo una biopsia adicional el día 17. Las biopsias se procesaron por microscopía óptica rutinaria y se tiñeron con hematoxilina y eosina como se ha descrito anteriormente. La temperatura indicada es la del elemento de enfriamiento aplicado. La tabla 2 representa los parámetros de la aplicación del enfriamiento y los resultados obtenidos en diferentes sitios en el cerdo II:

Tabla 2

Sitio	Temperatura	Tiempo	Loción	Resultados
C	-6 °C	5 minutos	-	<u>A los 50 días:</u> Hendidura pronunciada (2-3 mm) debido a la pérdida de tejido adiposo subcutáneo. No hay daño epidérmico. No hay daño dérmico. No hay cambios pigmentarios, sin embargo, hay menor tamaño de los adipocitos y daño histológico al tejido adiposo.
D	-8 °C	5 minutos	-	<u>A los 50 días:</u> Hendidura pronunciada (2-3 mm) debido a la pérdida de tejido adiposo subcutáneo. No hay daño epidérmico. No hay daño dérmico. No hay cambios pigmentarios, sin embargo, había daño en los adipocitos a una profundidad de aproximadamente 6 mm. Menor tamaño de los adipocitos y daño histológico al tejido adiposo.
E	-9 °C	5 minutos	-	<u>A los 50 días:</u> Hendidura pronunciada (2-3 mm) debido a la pérdida de tejido adiposo subcutáneo. No hay daño epidérmico. No hay daño dérmico. No hay cambios pigmentarios, sin embargo, había daño en las células adiposas a una profundidad de aproximadamente 6 mm. Menor tamaño de los adipocitos y daño histológico al tejido adiposo. <u>A los 17 días:</u> Signos de paniculitis.
F	-22 °C	5 minutos	-	<u>A los 50 días:</u> Daño epidérmico pronunciado con hipopigmentación pronunciada. Formación de cicatriz con contracción dérmica y ablación completa del tejido adiposo subcutáneo

10 La figura 6 representa una imagen de la superficie de la piel de los sitios de ensayo D, E y F del cerdo II, 17 días después de la exposición. Se puede ver una hendidura que corresponde al sitio de exposición al frío en 1, que empareja el sitio de ensayo D y 2, que se corresponde con el sitio de ensayo E. No se ven cambios epidérmicos anómalos en estos sitios de ensayo. En 3, que se corresponde con el sitio de ensayo F, donde se aplicaron métodos de enfriamiento agresivos, el daño a la epidermis es pronunciado (por ejemplo, pérdida de pigmentación y formación de una costra central).

15 La figura 7 representa la histología del sitio de ensayo E (cerdo II), 17 días después de la exposición al frío a -9 °C durante 5 minutos, en muestras tomadas de una zona debajo del sitio de exposición al frío. La figura 7A representa pocos aumentos (1,25x) y la figura 7B representa un acercamiento con aumentos medios (5x) de la misma muestra.

20 Se muestran la epidermis 701, la dermis 702, la capa adiposa subcutánea 703 y la capa muscular 704. La histología pone de manifiesto signos de paniculitis lobular y septal en la capa adiposa subcutánea 703, que es una inflamación del tejido adiposo. El tamaño medio de las células grasas disminuye comparado con la muestra de la zona no expuesta. No se observan pruebas de alteraciones del tejido en la epidermis, dermis o capa muscular.

Se mostró una disminución del tejido adiposo subcutáneo mediante observación clínica de la hendidura en la superficie de la piel en el sitio exacto del enfriamiento, así como por la histología (tinción con hematoxilina y eosina). Las figuras 8A, B, C, D, E y F representan la histología 50 días después de la exposición con pocos aumentos de 2,5x (figuras 8A, 8C y 8E) y aumentos medios de 5x (figuras 8B, 8D y 8F) del sitio de ensayo C (figuras 8A y 8B), sitio de ensayo E (figuras 8C y 8D) y sitio de ensayo F (figuras 8E y 8F). La epidermis 801 y la dermis 802 no están dañadas en los sitios C y E, mientras que el régimen de enfriamiento más agresivo aplicado en el sitio F produjo daño en la epidermis y la dermis (por ejemplo se puede ver formación de cicatriz e inflamación). La capa adiposa subcutánea 803 muestra una disminución del tamaño de los adipocitos y cambios estructurales (por ejemplo, condensación aparente de la capa de células grasas con septo fibroso incluido en la capa de grasa condensada). Como resultado del régimen de enfriamiento agresivo aplicado en el sitio de ensayo F, se eliminó la capa casi entera, dejando sólo algunos grupos de células grasas residuales. Por lo tanto, cuando se aplica un régimen de enfriamiento agresivo (sitio de ensayo F) se observa daño no selectivo y pronunciado en la epidermis y la dermis.

Considerados en conjunto, los resultados demuestran que se logra la rotura selectiva del tejido adiposo subcutáneo usando métodos de enfriamiento de la presente invención sin producir daño a la epidermis y la dermis.

Se llevó a cabo la medición de la temperatura durante el enfriamiento de la superficie de la piel a -7 °C aplicado con una presión suficiente para detener el flujo sanguíneo de la piel, para ilustrar la dependencia del tiempo y la profundidad del enfriamiento en un cerdo vivo. Se usaron termopares insertados a una profundidad de 0, 2, 4 y 8 mm para registrar la temperatura. Aunque las condiciones de este experimento no eran ideales (el enfriador de la piel no se mantuvo estrictamente a -7°C en la superficie), está claro que el enfriamiento de la dermis (2 mm) y la grasa (4 mm, 8 mm) se produjeron en general como se esperaba (véase por ejemplo, figura 10).

Ejemplo 2: Mediciones del perfil de temperatura a diferentes profundidades de tejido

Este estudio se llevó a cabo usando un cerdo enano de Yucatán sin pelo, hembra de 6 meses de edad, negra (Sinclair Research Center, Columbia, Mo.). El cerdo se anestesió usando telazol/xilazina (4,4 mg/kg i.m. + 2,2 mg/kg i.m.). Se suministró anestésico por inhalación (Halotano o Isoflurano (1,5-3,0%)) con oxígeno (3,0 l/min) mediante máscara y filtrado con cartucho de filtro de aire solamente si los anestésicos inyectables no proporcionaron suficiente analgesia somática. Los sitios de ensayo se marcaron con microtatuajes aplicando tinta india en las esquinas de cada sitio de ensayo e insertando agujas hipodérmicas en dichas esquinas de los sitios de ensayo. La exposición al frío se llevó a cabo con una placa de cobre redonda convexa unida a un intercambiador de calor, que se enfrió mediante un agente de enfriamiento que circulaba atemperado a -7 °C. El tiempo de exposición estaba en el intervalo entre 600 y 1200 s. La tabla 3 representa los parámetros de la aplicación del enfriamiento y los resultados obtenidos en diferentes sitios en el cerdo III. La placa fría tenía tres aberturas centrales de aproximadamente 1 mm de diámetro a través de las cuales se colocaron los termopares para controlar el perfil de temperatura a diferentes profundidades del tejido durante la exposición al frío. El dispositivo de exposición al frío, mostrado en la figura 9, se mantuvo firmemente en el sitio de ensayo durante la exposición al frío. Las exposiciones al frío se llevaron a cabo en dos días diferentes del experimento separados una semana entre sí. En el primer día de experimento los termopares se desplazaron ocasionalmente durante la exposición al frío conduciendo a una variabilidad de 0,5 mm de la medición de la profundidad del termopar. Se llevó a cabo un conjunto adicional de exposiciones con termopares el segundo día de experimento a profundidades bien definidas con una variabilidad desde mínima a sin variabilidad en la profundidad de los termopares. La situación de los termopares el primer día del experimento para los sitios 1, 2, 3, 7, 11 y 12 era a 2,5, 4,5 y 10 mm de profundidad (+/-0,5 mm). Los sitios de ensayo 14, 15, 16 y 18 se trataron el segundo día de experimento con una profundidad del termopar de 2, 4 y 8 mm, con desplazamiento de mínimo a sin desplazamiento. Aún puede haber algo de variabilidad de la profundidad del termopar presente debido a la compresión del tejido durante la exposición al frío. Se usó una disolución que contenía glicol para asegurar un buen contacto térmico en la superficie de la piel. El cerdo se observó durante 3 1/2 meses después del tratamiento, hasta que se sacrificó y se recogió el tejido de los sitios de ensayo para el análisis. La tabla 3 representa los parámetros de la aplicación del enfriamiento y los resultados obtenidos en diferentes sitios en el cerdo III:

Tabla 3

Sitio	Temperatura (agente de enfriamiento)	Tiempo de exposición	Situación	Temp mín a profundidad	Temp mín a profundidad	Temp mín a profundidad	Hendidura 3 1/2 meses	Disminución relativa de la capa de grasa superficial a los 3 1/2 meses
1	-7 °C	5 minutos	Flanco	0 °C a 2,5 mm	7 °C a 5 mm	24 °C a 10 mm	+	66%
2	-7 °C	5 minutos	Flanco	-2°C a 2,5 mm	N/A	21 °C a 10 mm	+	
3	control		Flanco				-	9%
7	-7 °C	10 minutos	Abdomen	3°C a 2,5 mm	7°C a 5 mm	19 °C a 10 mm	+	
9	control		Abdomen					
11	-7 °C	10 minutos	Nalga	N/A	N/A	12 °C a 10 mm	++	79%
12	-7 °C	10 minutos	Nalga	4 °C a 2,5 mm	N/A	13 °C a 10 mm	+	57%
13	-7 °C	10 minutos	Nalga	-4 °C a 2 mm	N/A	7 °C a 10 mm	+	

Sitio	Temperatura (agente de enfriamiento)	Tiempo de exposición	Situación	Temp mín a profundidad	Temp mín a profundidad	Temp mín a profundidad	Hendidura 3 1/2 meses	Disminución relativa de la capa de grasa superficial a los 3 1/2 meses
14	-7 °C	21 minutos	Nalga	-4 °C a 2 mm	3 °C a 4 mm	12 °C a 8 mm	+	
15	-7 °C	11 minutos	Nalga	-4 °C a 2 mm	1 °C a 4 mm	12 °C a 8 mm	+	
16	-7 °C	10 minutos	Nalga	-4 °C a 2 mm	0 °C a 4 mm	14 °C a 8 mm	++	
18	-7 °C	15 minutos	Flanco	-3 °C a 2 mm	N/A	15 °C a 8mm	+	66%

Los sitios de ensayo se expusieron al dispositivo, fijado a una temperatura de enfriamiento de -7 °C y expuestos durante 600 a 1200 s. La dermis se endureció inmediatamente después de la exposición al frío, como se determinó por palpación, y se volvió viscosa cuando volvió a su temperatura normal, aproximadamente un minuto después de la exposición. No había daño epidérmico o alteración evidente mediante un examen de cerca con lupa polarizada minutos después de la exposición. No había formación de ampollas y el signo de Nikolsky era negativo. Durante todo el período de supervivencia no hubo un daño grande a la epidermis. No se observaron costras, ampollas o cambios de pigmentación pronunciada. Algunos sitios de ensayo presentaban un aumento pequeño de la pigmentación epidérmica. Esta ligera hiperpigmentación podía eliminarse después de algunos meses mediante el frotado suave de la epidermis.

Las mediciones de temperatura de los termopares dependían de la profundidad, localización en el cuerpo y la presión con la que se aplicó el enfriamiento. En las figuras 10 A-J se muestran las gráficas de temperatura a diferentes profundidades del tejido durante la exposición al frío para diferentes sitios de ensayo y también se resumen en la tabla 3. Para algunos sitios de ensayo, se observaron oscilaciones de la temperatura que pueden estar relacionadas con un vaso sanguíneo cercano. Algunas gráficas de temperatura no se consideraron debido a los movimientos o desplazamientos erróneos del termopar (marcados como "error" en la tabla 3). La temperatura en la dermis profunda o la capa de grasa superficial está en el intervalo de -2 °C a -4 °C. La temperatura a una profundidad de 4-5 mm está en el intervalo de aproximadamente 0 °C a 7 °C, dependiendo de variaciones en la presión de contacto y la zona anatómica. Esta situación demuestra una alta variabilidad de las diferentes gráficas temperatura. La temperatura a una profundidad de 8-10 mm, que corresponde a una profundidad en la capa de grasa subcutánea tenía una 20 temperatura en el intervalo de 7-24 °C.

Se obtuvo la histología de un sitio de control (sitio 9) y uno expuesto al frío (sitio 8) (-7 °C, 600 s) 6 días después de la exposición y fue analizada por un dermatopatólogo. Se describió lo siguiente en el sitio de control y el de exposición al frío:

La epidermis de ambas muestras es normal y presenta estrato córneo laxo con espesor normal, crestas interpapilares normales comparado con el control. Dentro del sitio expuesto al frío hay presente una ligera infiltración linfocitaria, perivascolar. Sin embargo, no hay signos claros de vasculitis presentes en ninguna de las muestras.

La grasa subcutánea del control presenta la morfología normal. La grasa subcutánea del sitio expuesto al frío presenta signos claros de paniculitis lobular y septal. La mayoría de los adipocitos están rodeados de infiltración linfocitaria con macrófagos que contienen lípidos ocasionales. El espesor del septo subcutáneo es mayor. Hay pequeños cambios vasculares, sin embargo no hay signos claros de vasculitis. Tres meses y medio después de la exposición al frío el cerdo se sacrificó y se recogió del tejido de los sitios de exposición mediante escisión del espesor completo, y después se llevó a cabo la generación de imágenes por ultrasonidos de 20 MHz de los sitios de ensayo seleccionados. Las imágenes por ultrasonidos *in vivo* demostraron claramente la pérdida de tejido graso en la zona de tratamiento por enfriamiento de la piel frente al tejido de alrededor no expuesto al frío. En la figura 11 se muestra una imagen por ultrasonidos *in vivo* 3 1/2 meses después de la exposición al frío.

El tejido recogido se cortó macroscópicamente por los sitios de ensayo y se tomaron imágenes de las secciones transversales del tejido macroscópico. Las secciones transversales macroscópicas de los sitios 1, 3, 11, 12 y 18 se muestran en las figuras 13 A-E. Se observó una disminución del espesor de la capa de grasa subcutánea para todos los sitios expuestos al frío frente a la capa de grasa adyacente no expuesta al frío. Las secciones transversales macroscópicas se correspondían bien con las imágenes por ultrasonidos: se pudieron identificar dos compartimentos diferentes en la grasa subcutánea, una capa de grasa superficial y una capa de grasa profunda. El espesor de la capa de grasa superficial se había reducido notablemente en los sitios de tratamiento con frío, mientras que la capa de grasa profunda no había cambiado significativamente. El porcentaje de disminución de la capa de grasa superficial dentro de la zona de ensayo frente a la exterior, se lista para algunos sitios de ensayo en la tabla 3. Se observó un cambio de la capa de grasa subcutánea para los sitios expuestos al frío 1, 11, 12 y 18. La disminución media del espesor de la capa de grasa superficial en los sitios de ensayo evaluados era 47 %. Para el sitio de control no expuesto, no se encontró una disminución significativa del espesor en ninguna de las capas de grasa.

Estos ejemplos confirman que en un modelo del cerdo se puede lograr el daño de tejidos selectivo del tejido adiposo subcutáneo por enfriamiento externo en un intervalo específico de temperatura de enfriamiento externa y tiempo de exposición, sin daño significativo a la epidermis y la dermis. También se demostró la eliminación de la grasa subcutánea mediante una hendidura obvia en la superficie de la piel tratada, que se correspondía exactamente con

la exposición al frío, y con las mediciones de la capa de grasa en relación con los sitios de exposición al frío por ultrasonidos y las secciones transversales macroscópicas después de sacrificio. Se observaron cambios histológicos pronunciados, que eran selectivos del tejido adiposo subcutáneo 6 días después de la exposición al frío. Histológicamente se observó una paniculitis con una disminución del tamaño de las células grasas. Había pruebas de que la respuesta al frío puede variar para los diferentes sitios y que la pérdida de tejido afecta más a la capa de grasa más superficial que a la capa de grasa más profunda. Sin embargo, los resultados del cerdo III implican que hay una eliminación de grasa potenciada en la capa de grasa superficial frente a la capa más profunda. La explicación para esto es a) la capa de grasa superficial está expuesta a temperaturas más frías debido al gradiente, y/o b) la capa de grasa más profunda en cerdos puede ser menos susceptible al daño por frío selectivo.

La figura 9 representa una imagen del dispositivo para la exposición al frío del cerdo III. La placa de cobre fría 91 se pone en contacto con la piel. El perfil de temperatura en la piel durante la exposición al frío se mide mediante los termopares 92 insertados en el tejido a diferentes profundidades. El dispositivo es accionado por el resorte 93 para proporcionar una presión durante la exposición al frío.

Las figuras 10 representan el perfil de temperatura a diferentes profundidades durante la exposición al frío del cerdo III para diferentes sitios de ensayo: 10A (Sitio 1), 10B (Sitio 2), 10C (Sitio 7), 10D (Sitio 11), 10E (Sitio 12), 10F (Sitio 13), 10G (Sitio 14), 10H (Sitio 15), 10I (Sitio 16) y 10J (Sitio 18). La temperatura a diferentes profundidades está marcada con T3 -E (superficie), T0 -B (2-2,5 mm), T1 -C (4-5 mm) y T2 -D (8-10 mm).

La figura 11 representa una imagen por ultrasonidos del sitio de ensayo 11 tomada 3 <sup>1</sup>/<sub>2</sub> meses después de la exposición. La sección debajo de 1105 está fuera de la zona expuesta al frío, la sección debajo de 1106 está dentro de la zona expuesta al frío. La dermis 1102 se puede distinguir claramente de la capa de grasa 1103 y la capa muscular 1104. En la capa de grasa 1103 se pueden distinguir claramente dos capas diferentes: la capa de grasa superficial 1103a y la capa de grasa profunda 1103b. La imagen por ultrasonidos se corresponde bien con la sección transversal macroscópica del mismo tejido en la figura 13c.

La figura 12 representa la histología del sitio de ensayo 8 (figuras 12A y 12B) 6 días después de la exposición al frío (-7 °C, 600 s) y el sitio de ensayo 9, que es un sitio de control no expuesto (figuras 12C y 12D). Las micrografías muestran una imagen con pocos aumentos (1,25x) en las figuras 12A y 12C, y con aumentos medios (5x) en las figuras 12B y 12D. Las imágenes muestran la epidermis 701, la dermis 702 y la grasa subcutánea 703.

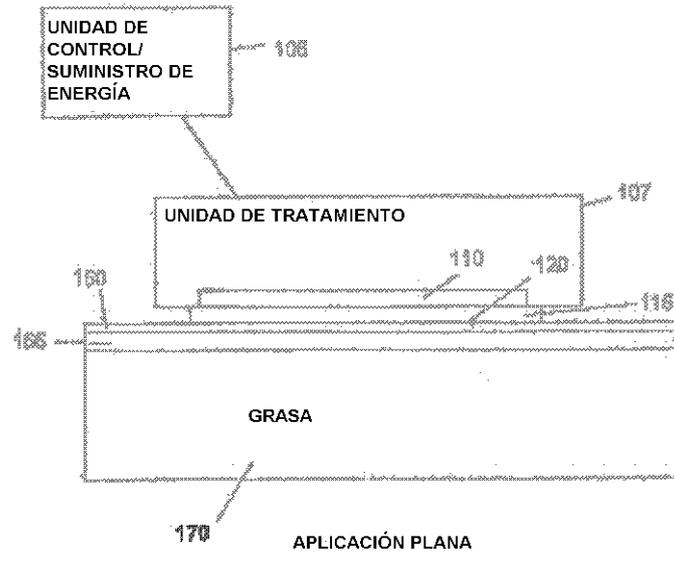
Mientras que el control no expuesto presenta una morfología del tejido normal, el tejido expuesto al frío presenta signos claros de paniculitis en la grasa subcutánea. Las células inflamatorias han migrado a esta zona y ha disminuido el tamaño medio de las células grasas.

Las figuras 13 A-E representan secciones macroscópicas a través del centro de los diferentes sitios de ensayo después de sacrificar al cerdo, 3 <sup>1</sup>/<sub>2</sub> meses después de la exposición al frío: 13A (Sitio 1), 13B (Sitio 3), figura 13C (Sitio 11), figura 13D (Sitio 12) y figura 13E (Sitio 18). Cada figura presenta una escala de 1300, que tiene unidades de 1 cm y subunidades de 1 mm. La epidermis 1301, la dermis 1302, la capa de grasa superficial 1303 y la capa de grasa profunda 1304. Para la figura 13B del control no expuesto, no se observan cambios en el espesor de las capas. Las figuras 13A, 13C, 13D y 13E muestran la sección transversal de las zonas expuestas al frío, que se corresponden con los 4-5 cm centrales de tejido y las zonas de alrededor no expuestas al frío. Se puede ver una disminución del espesor en la capa de grasa superficial de las zonas expuestas al frío frente a las zonas no expuestas al frío, en todas las muestras expuestas al frío. El cambio en % de espesor de cada muestra se lista en la tabla 3.

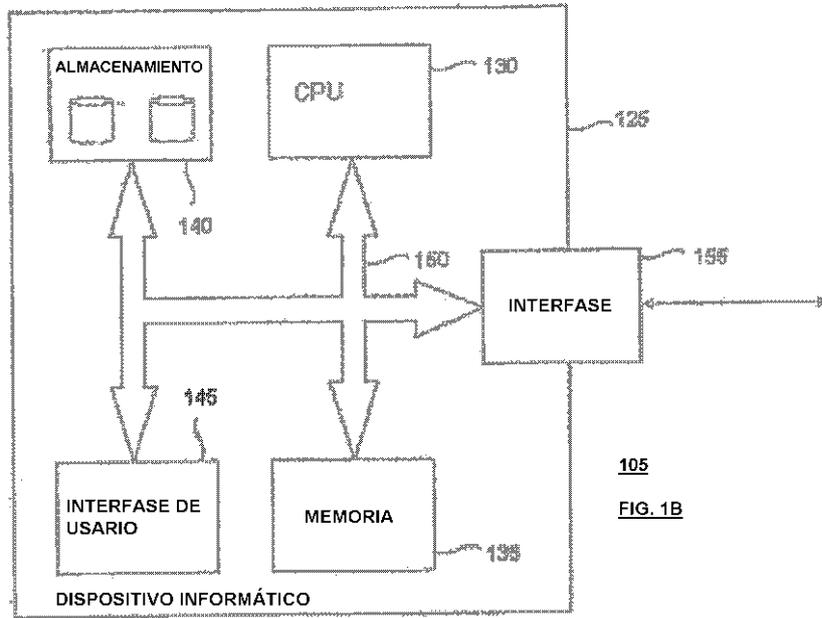
Se han descrito una serie de realizaciones de la invención. No obstante, se entenderá que se pueden hacer diferentes modificaciones sin salirse del alcance de la invención. Por consiguiente, otras realizaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

**REIVINDICACIONES**

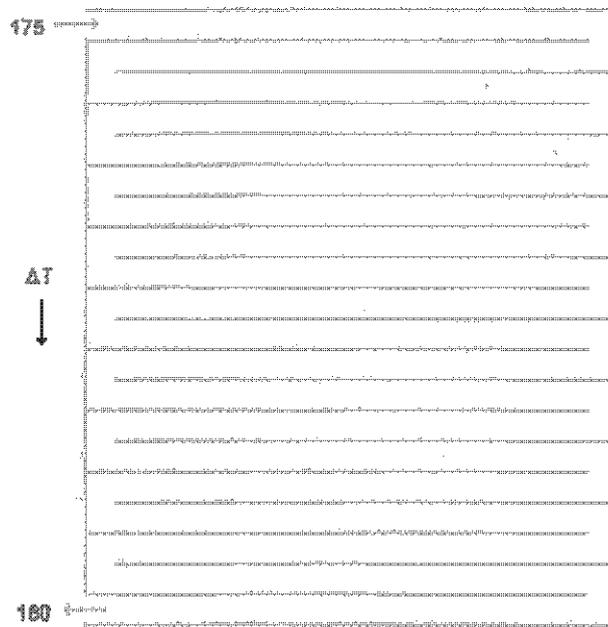
- 5 1. Un método de tratamiento cosmético para reducir de manera local el tejido adiposo en una región local de la zona abdominal, la zona de las nalgas, una extremidad, un brazo, una pierna, la cintura o el costado del cuerpo de un sujeto que no es un bebé, que comprende:
- (a) aplicar medios de enfriamiento de un dispositivo en un área definida de la piel del sujeto en una región local donde se desee reducir el tejido adiposo subcutáneo;
- 10 (b) utilizar al menos un dispositivo de retroalimentación para controlar la temperatura y/o la formación de cristales para proporcionar información de respuesta; caracterizada porque comprende además
- 15 (c) controlar los medios de enfriamiento mediante una unidad control basada en información recibida de al menos un dispositivo de retroalimentación, en el que las células ricas en lípidos en dicha región local, se enfrían a una temperatura entre aproximadamente -10 °C hasta aproximadamente 10 °C durante hasta dos horas de modo que ahí se rompan de forma selectiva las células ricas en lípidos, y, de manera simultánea se mantenga con ello la piel del sujeto a una temperatura conforme a la cual no se rompan las células no ricas en lípidos próximas al medio de enfriamiento y las células no ricas en lípidos que rodean al tejido graso subcutáneo, y
- (d) modificar una forma de la región local para moldear una superficie de la región local.
- 20 2. El método de la reivindicación 1, en el que las células ricas en lípidos son adipocitos en el tejido adiposo subcutáneo o celulitis.
3. El método de una de las reivindicaciones 1 o 2, en el que las células ricas en lípidos se enfrían a una temperatura entre aproximadamente -10 °C y 4 °C, o a una temperatura entre aproximadamente -4 °C y 10 °C, o a una temperatura entre aproximadamente -4 °C y 4 °C, o una temperatura entre aproximadamente -2 °C y 10 °C, o una temperatura entre aproximadamente -2 °C y 4 °C.
- 25 4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que los medios de enfriamiento se aplican a un pliegue en la piel del sujeto.
- 30 5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el pliegue en la piel del sujeto se presiona entre el medio de enfriamiento y un segundo medio de enfriamiento.
- 35 6. El método de la reivindicación 1, que además comprende controlar la temperatura del medio de enfriamiento de manera que la temperatura se mantenga a una temperatura media entre aproximadamente -10 °C y 5 °C.



100  
FIG. 1A



105  
FIG. 1B



110

FIG. 1C

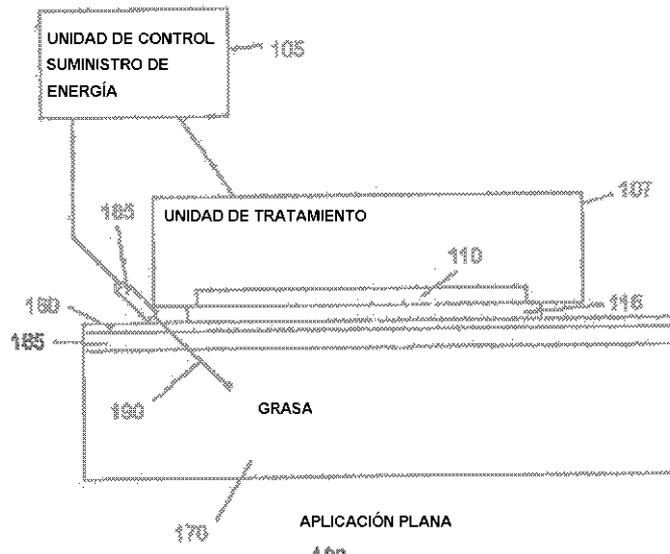
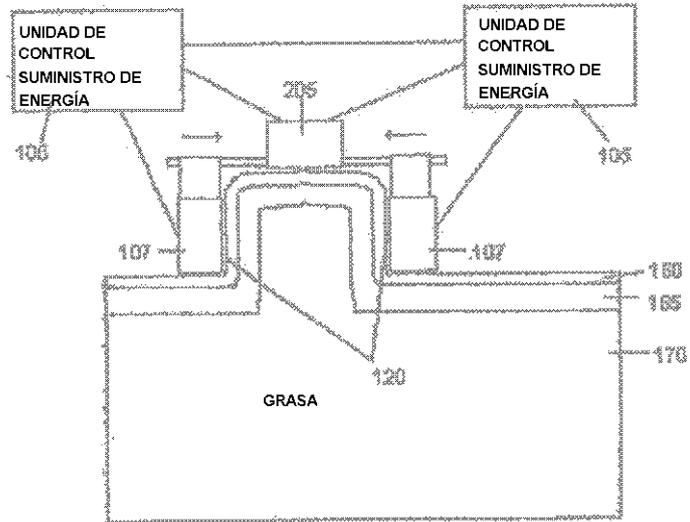


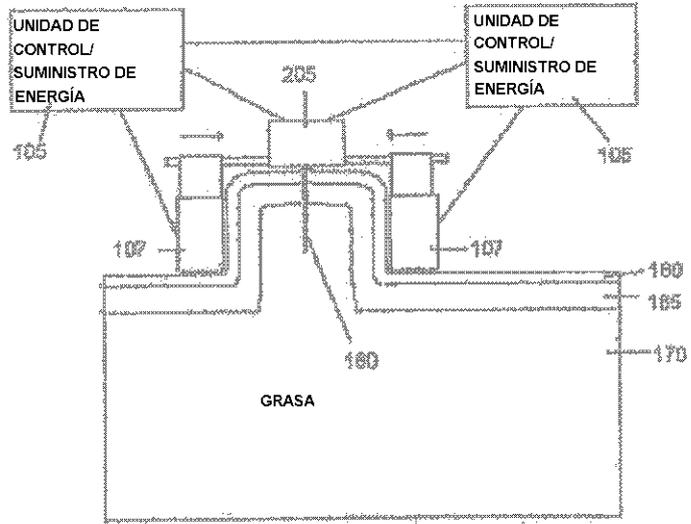
FIG. 1D



APLICACIÓN EN PLIEGUE

200

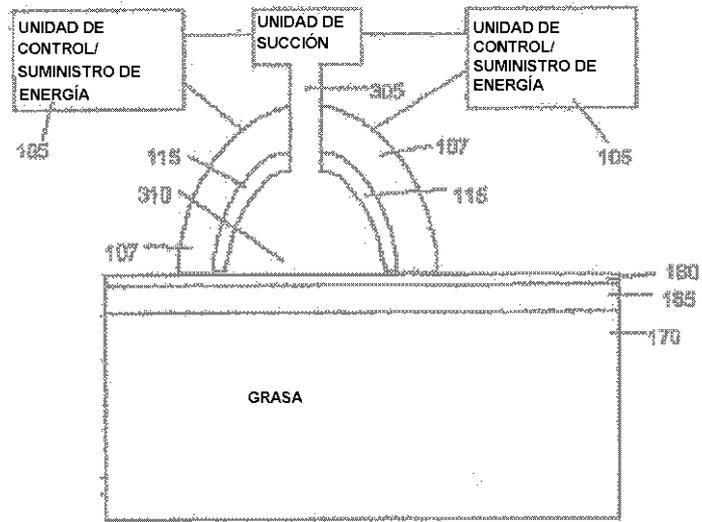
FIG. 2A



APLICACIÓN EN PLIEGUE

200

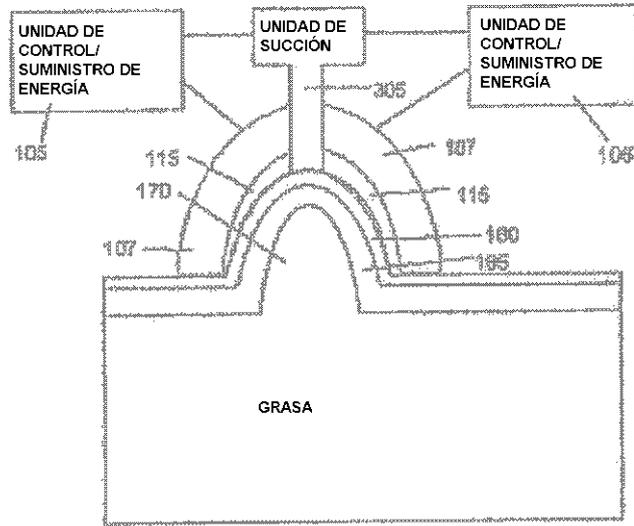
FIG. 2B



APLICACIÓN DE SUCCIÓN

300

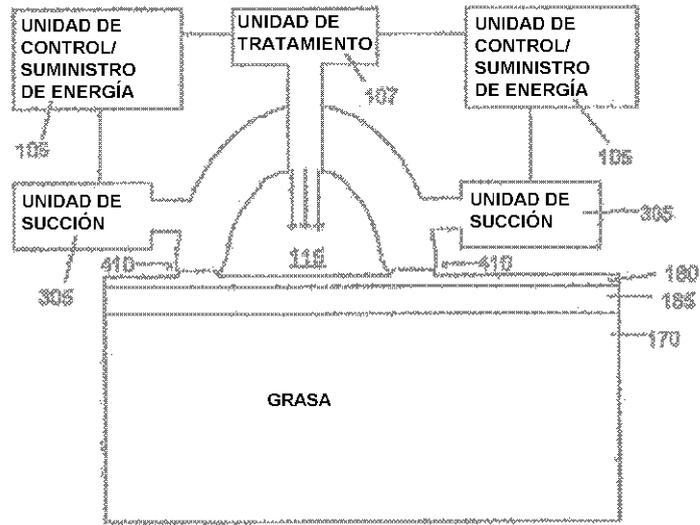
FIG. 3A



APLICACIÓN DE SUCCIÓN

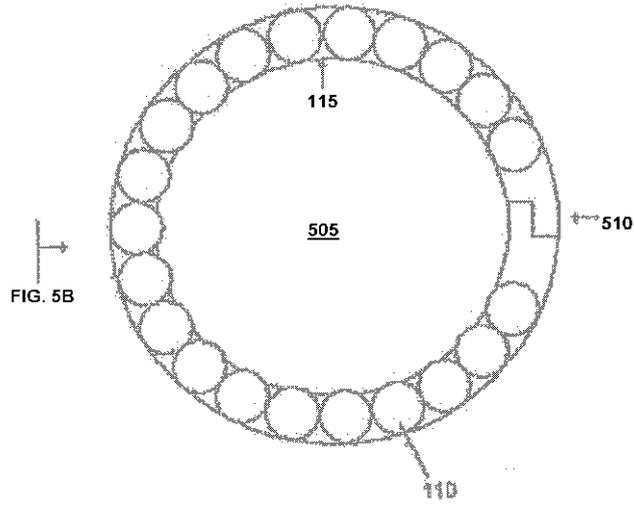
300

FIG. 3B



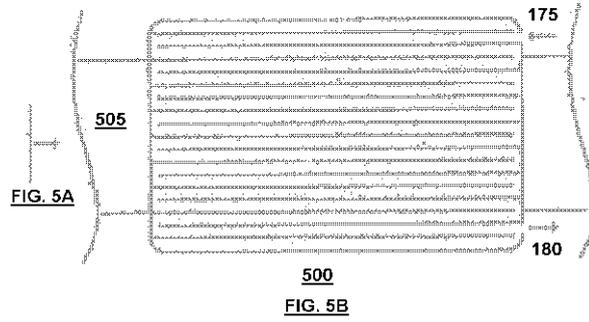
400

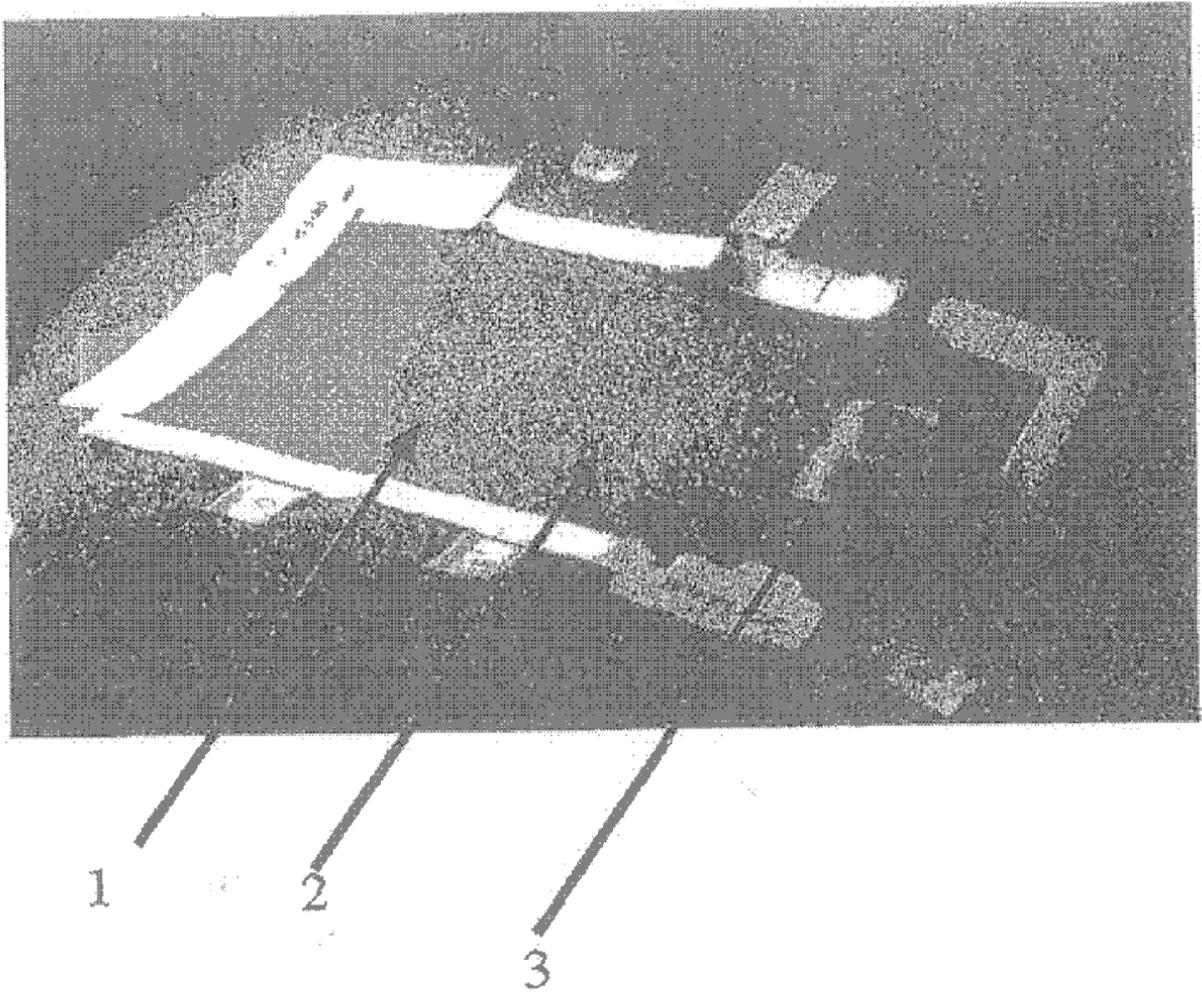
FIG. 4



500

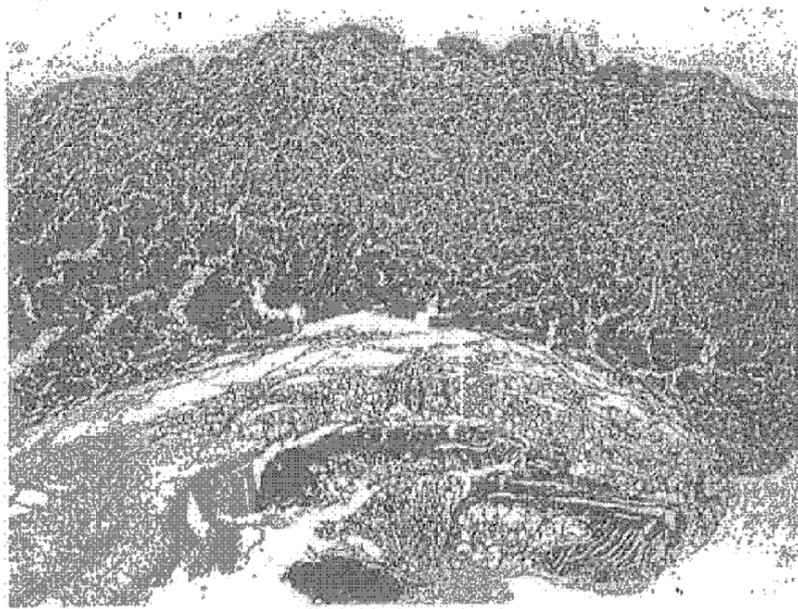
FIG. 5A



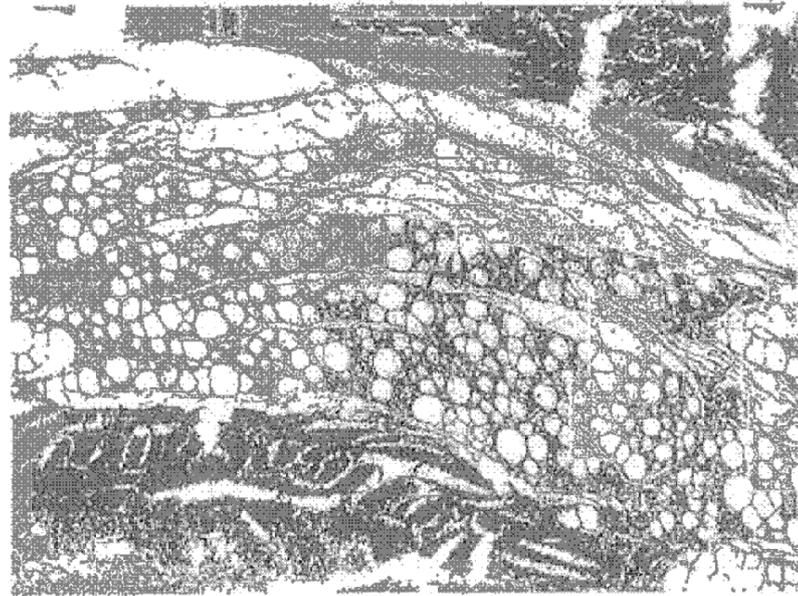


**Figura 6**

**Figura 7a**



**Figura 7b**

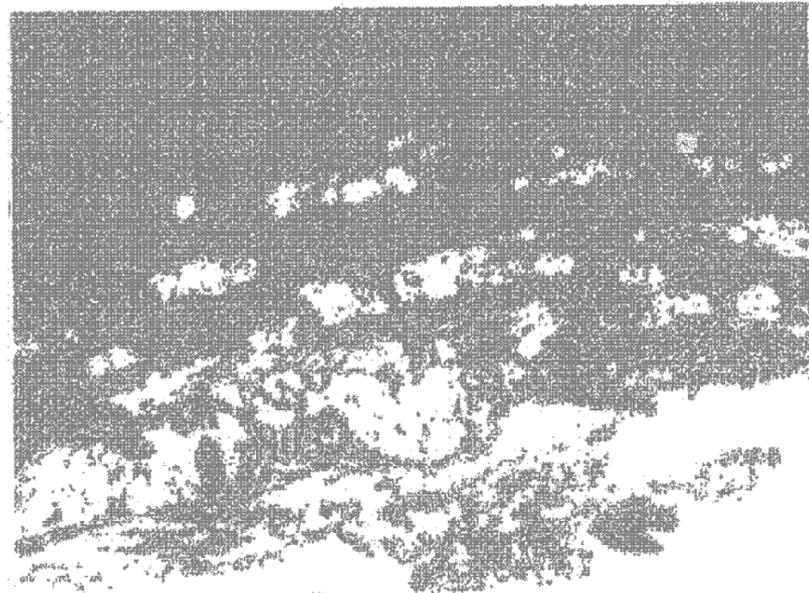


**Figura 7**

**Figura 8a**

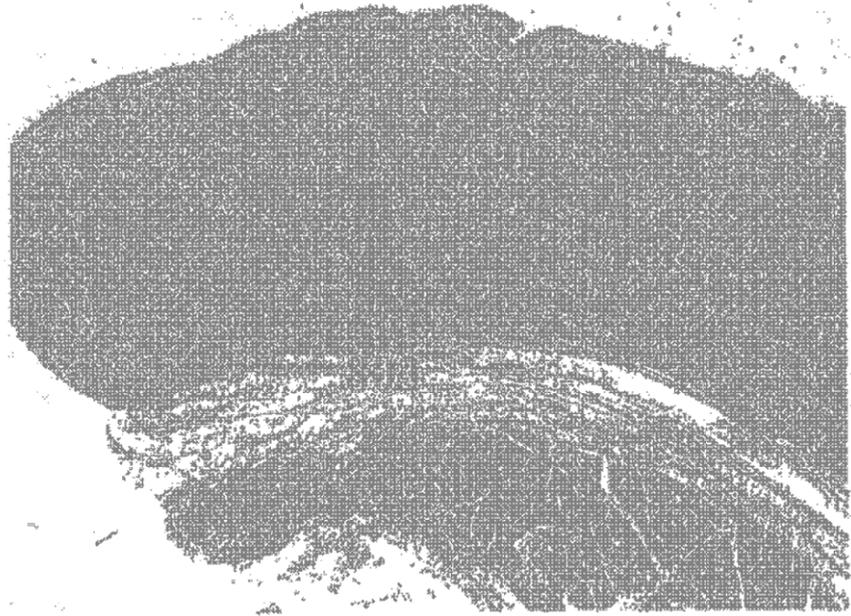


**Figura 8b**

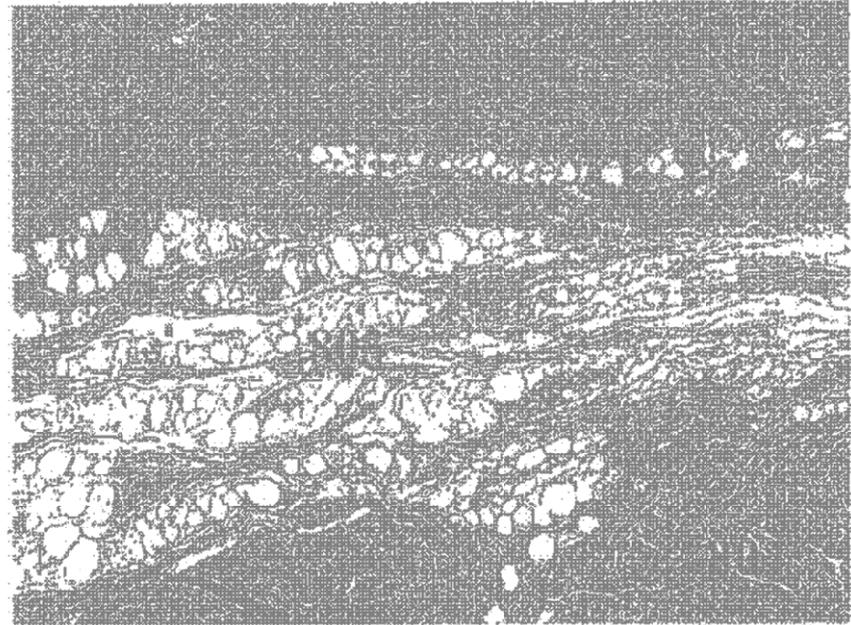


**Figura 8**

**Figura 8c**

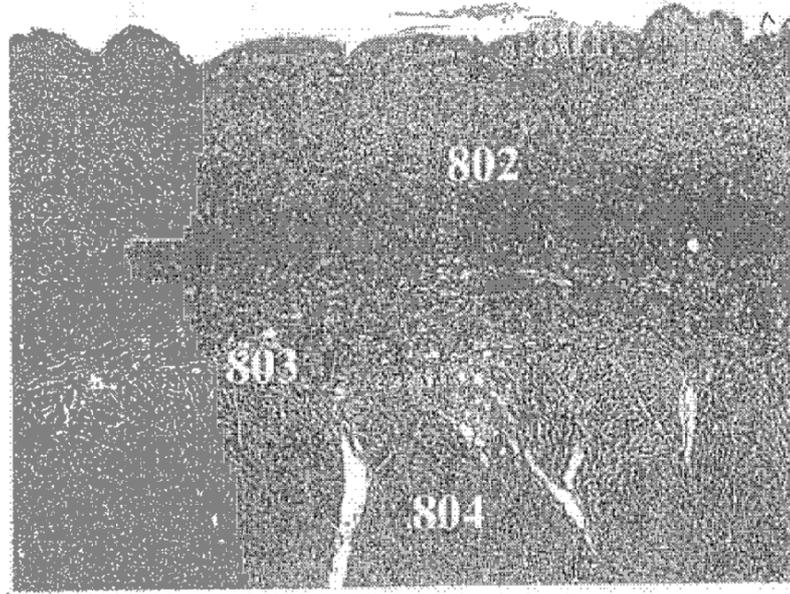


**Figura 8d**

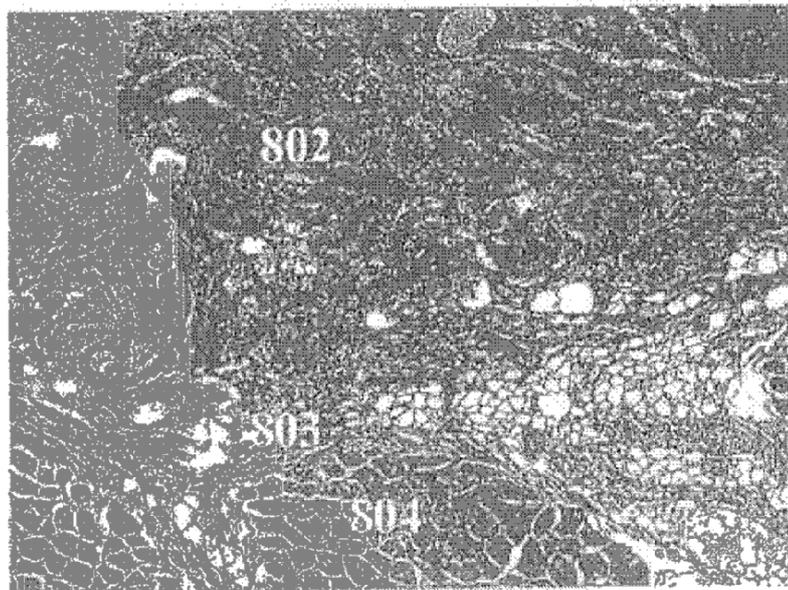


**Figura 8**

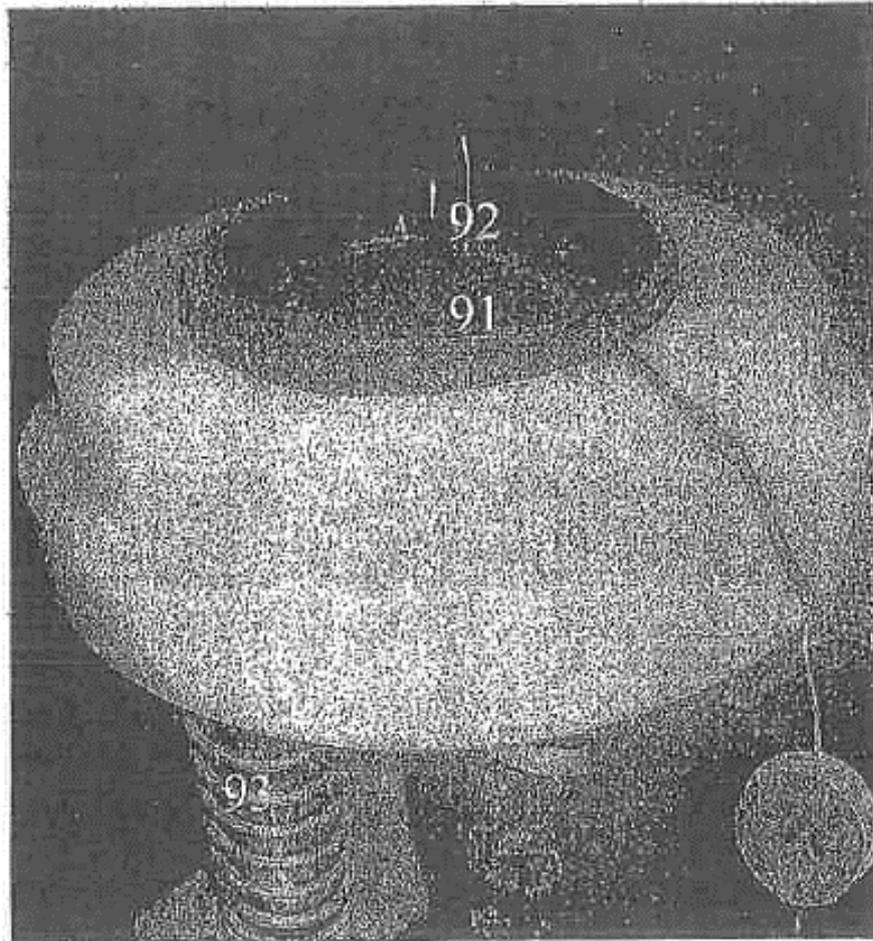
**Figura 8e**



**Figura 8f**



**Figura 8**



**Figura 9**

Figura 10a

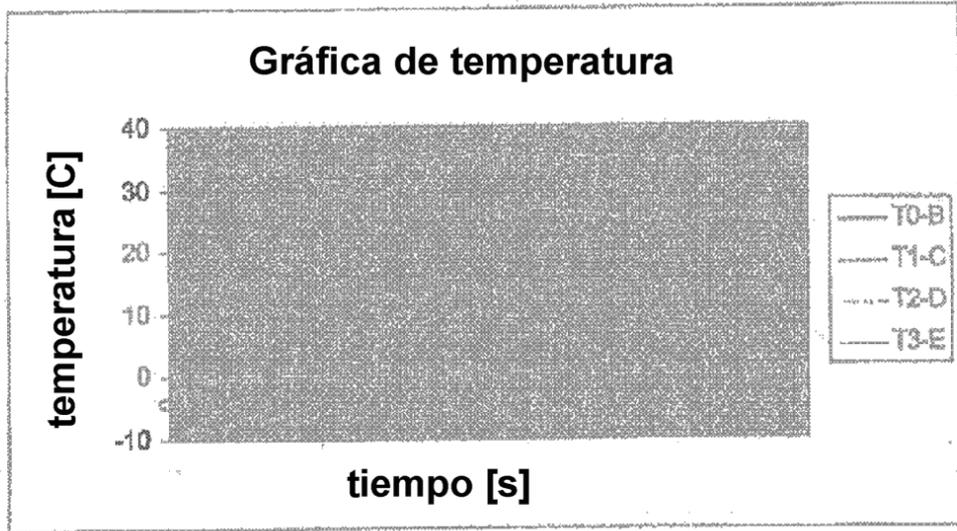


Figura 10b

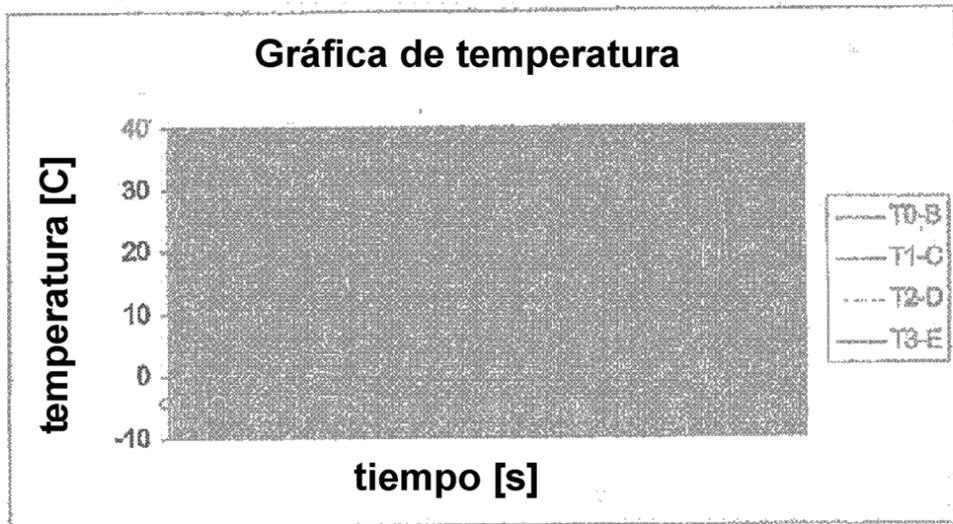


Figura 10

Figura 10c

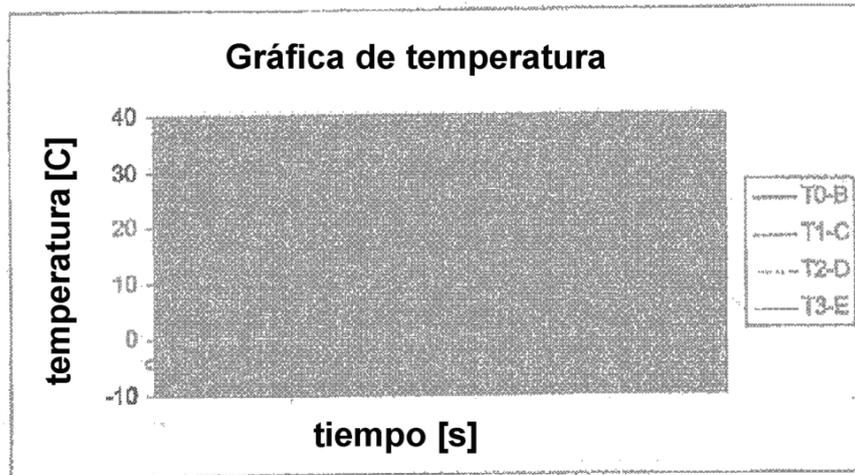


Figura 10d

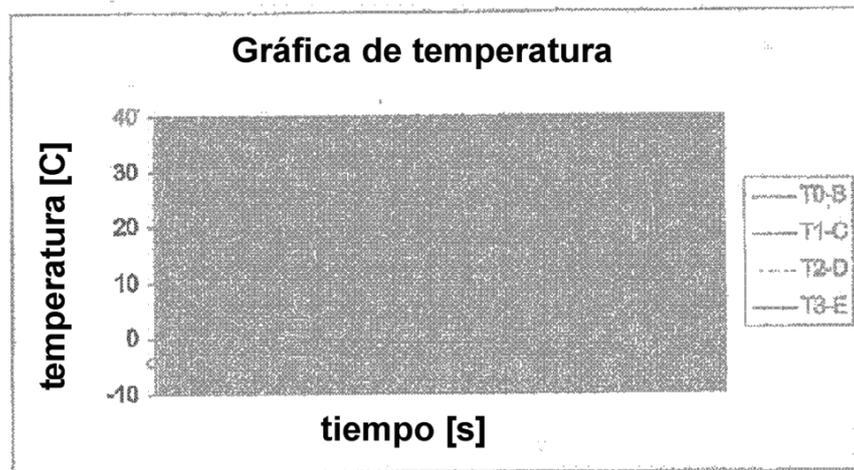


Figura 10

Figura 10e

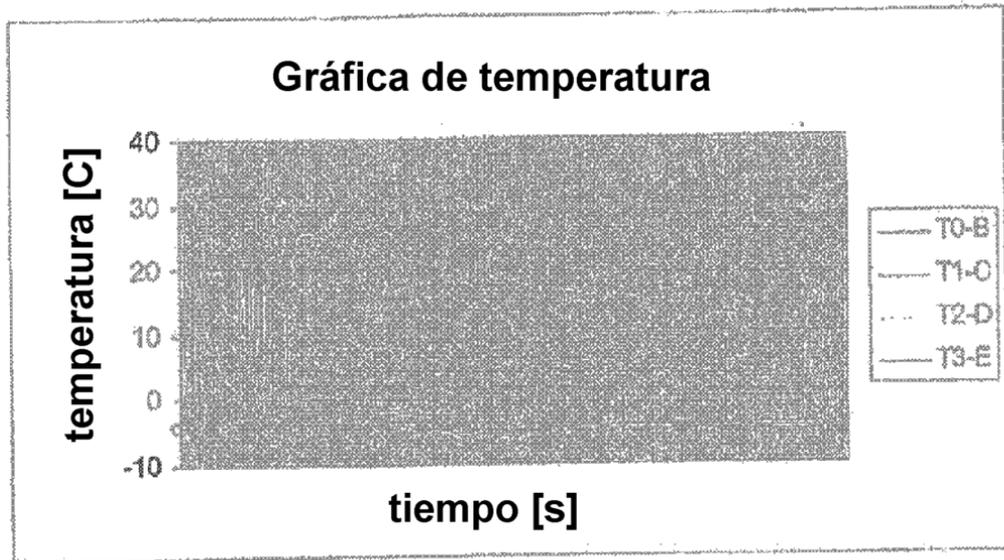


Figura 10f

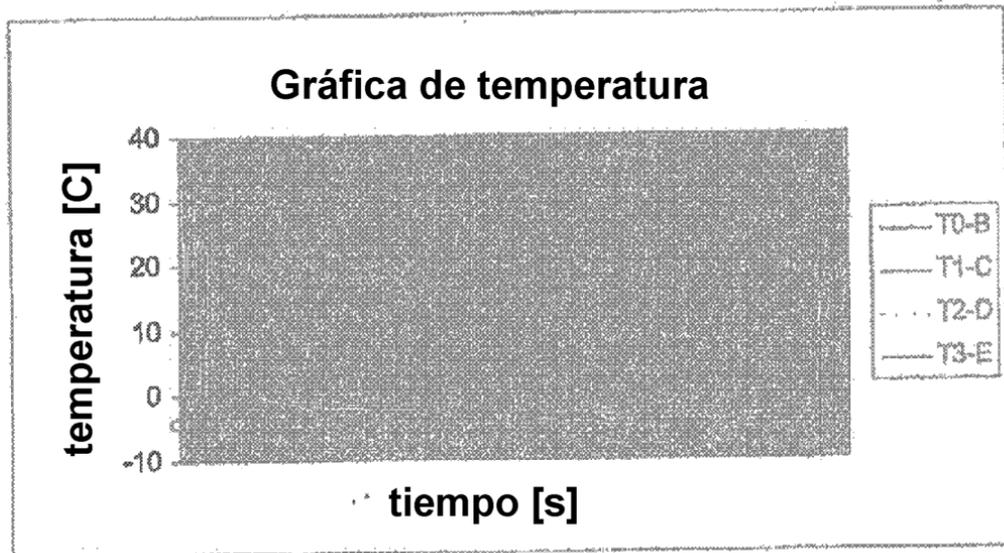


Figura 10

Figura  
10g

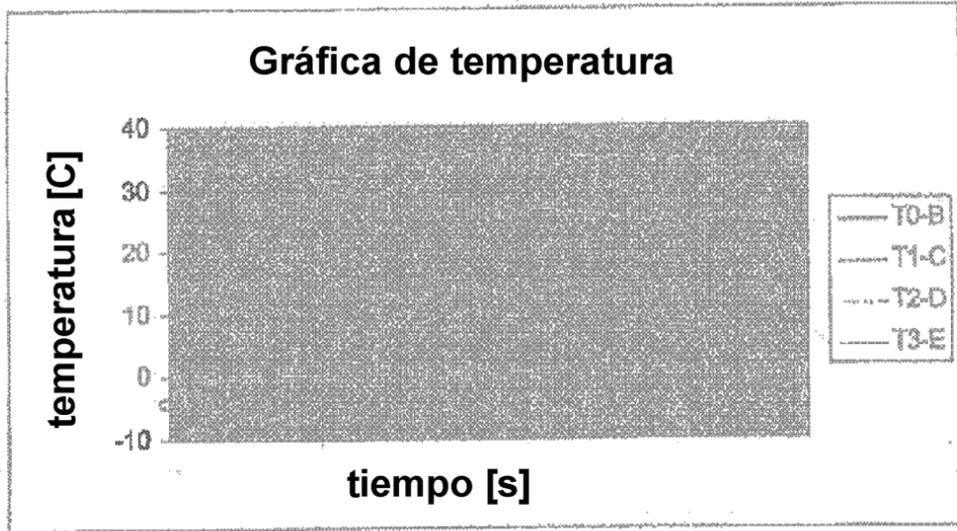


Figura  
10h

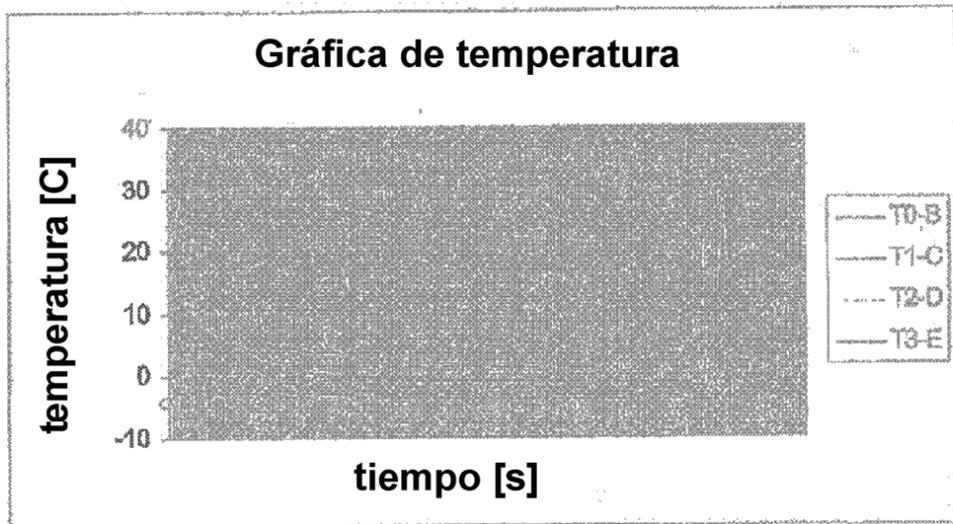


Figura 10

Figura 10i

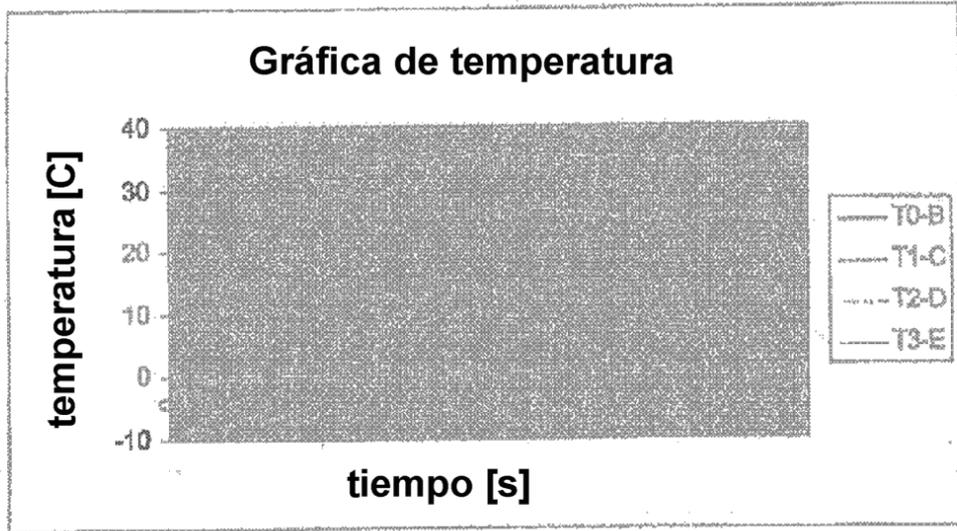


Figura 10j

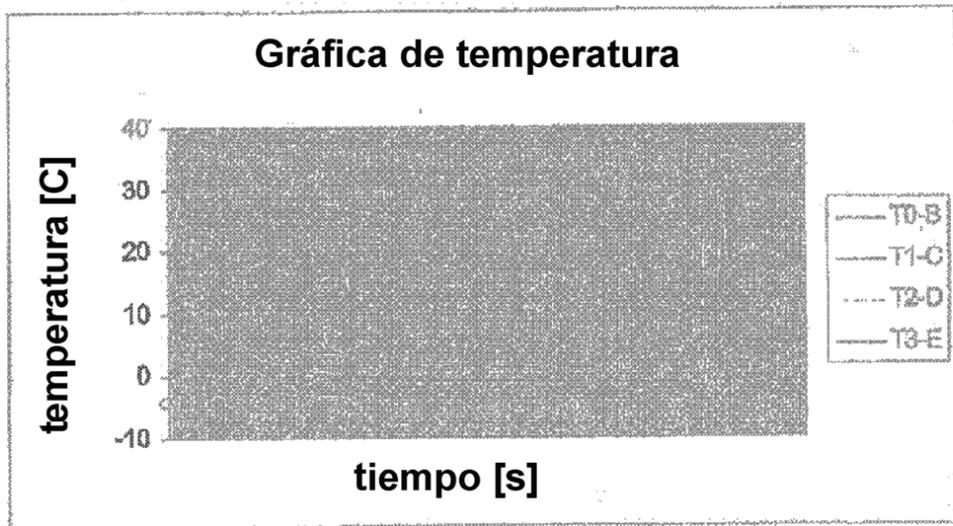


Figura 10

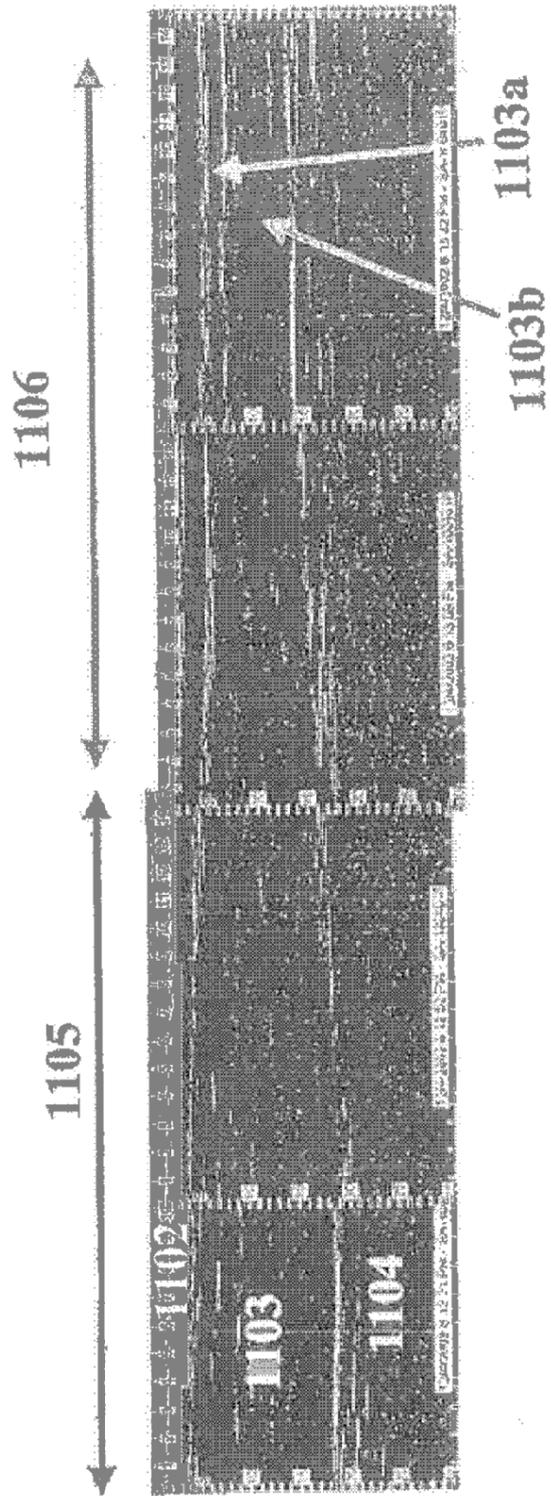
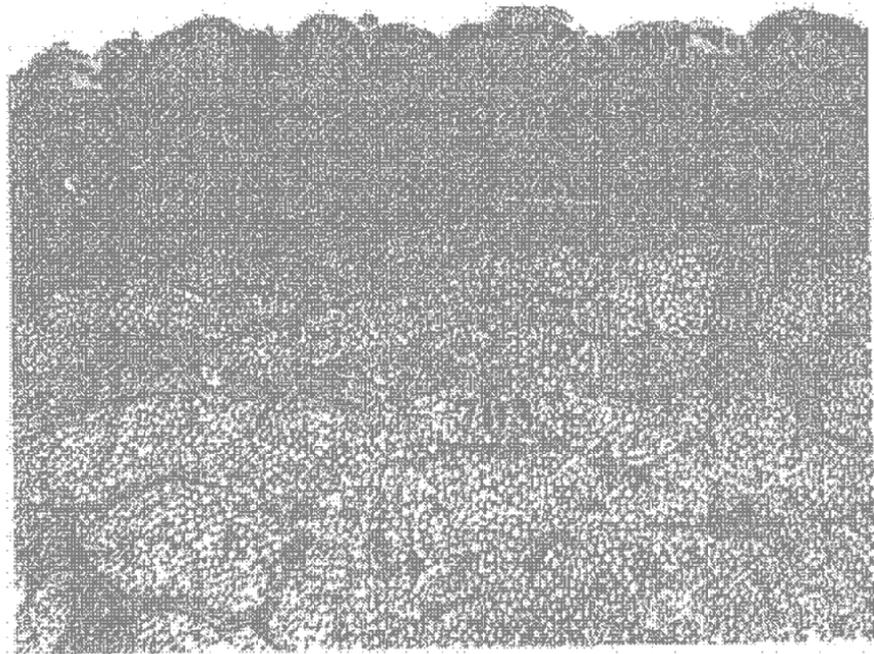
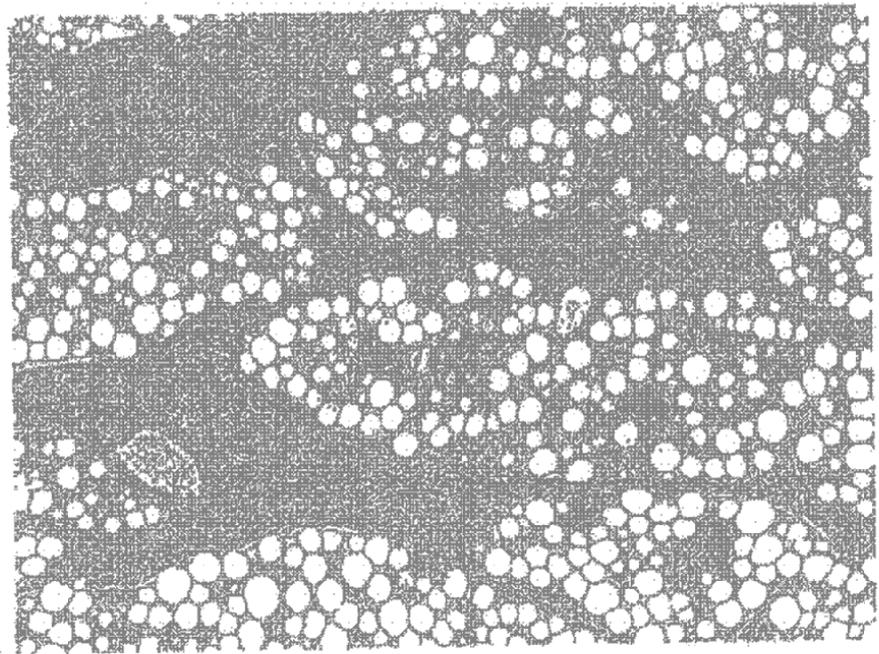


Figura 11

**Figura 12 a**



**Figura 12 b**

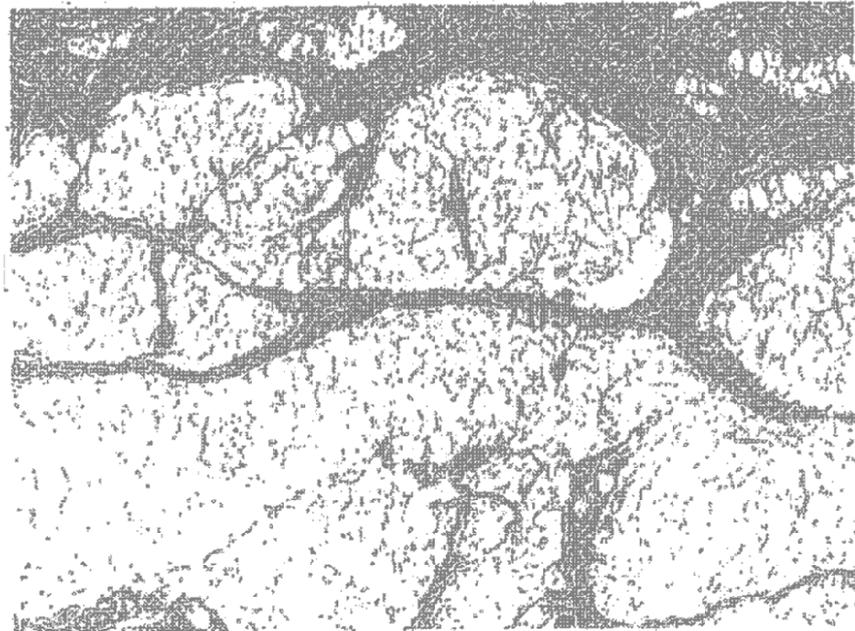


**Figura 12**

**Figura 12 c**



**Figura 12 d**



**Figura 12**

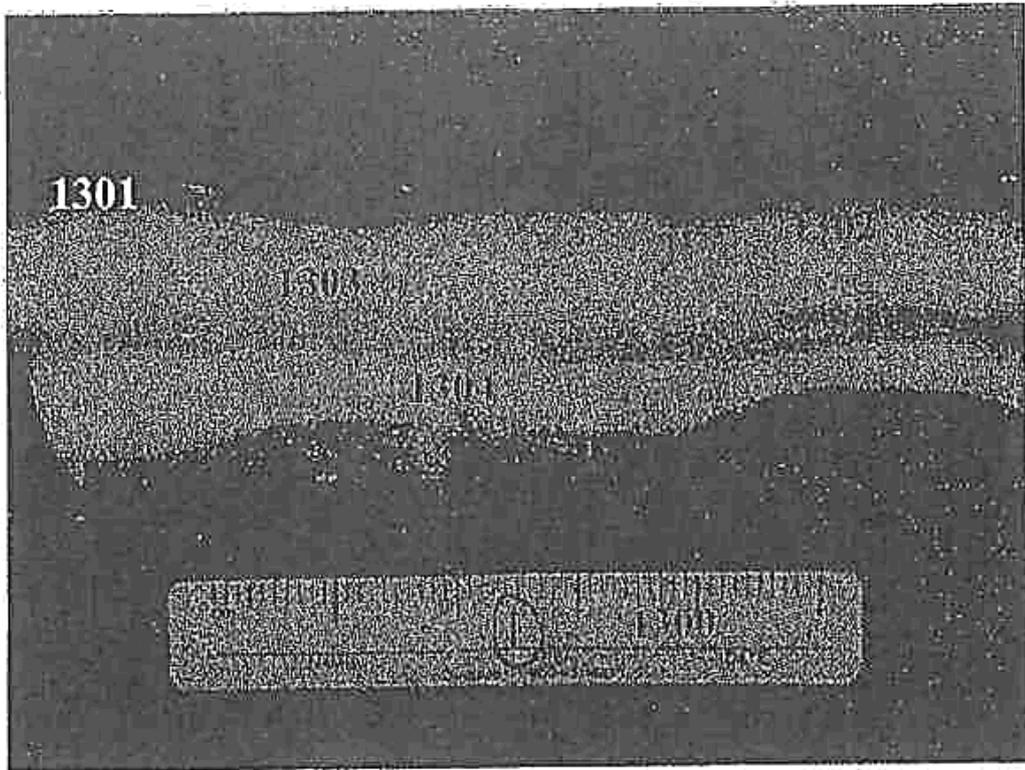
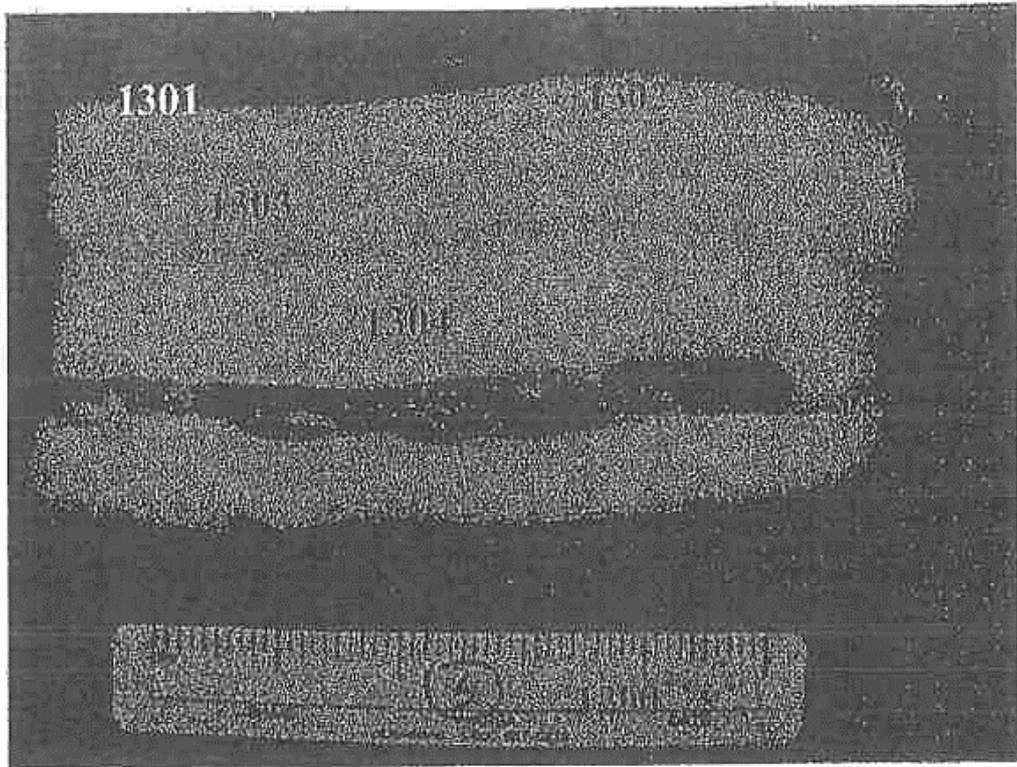
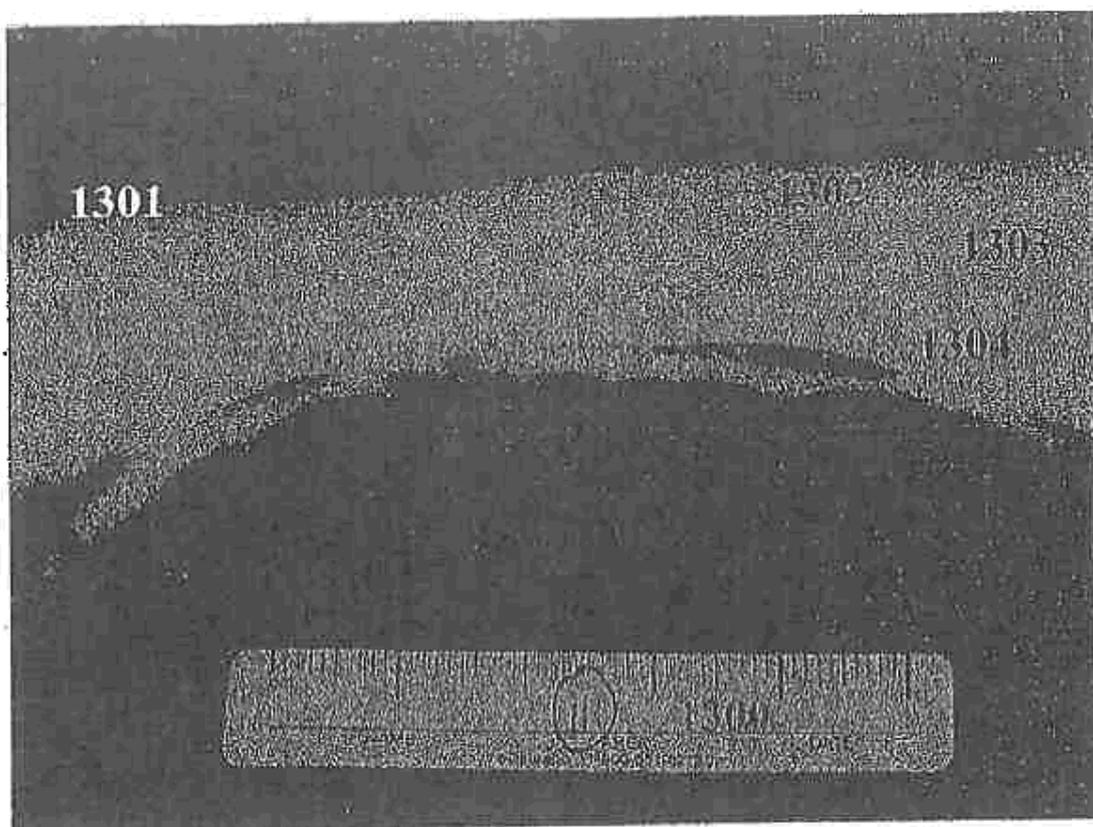


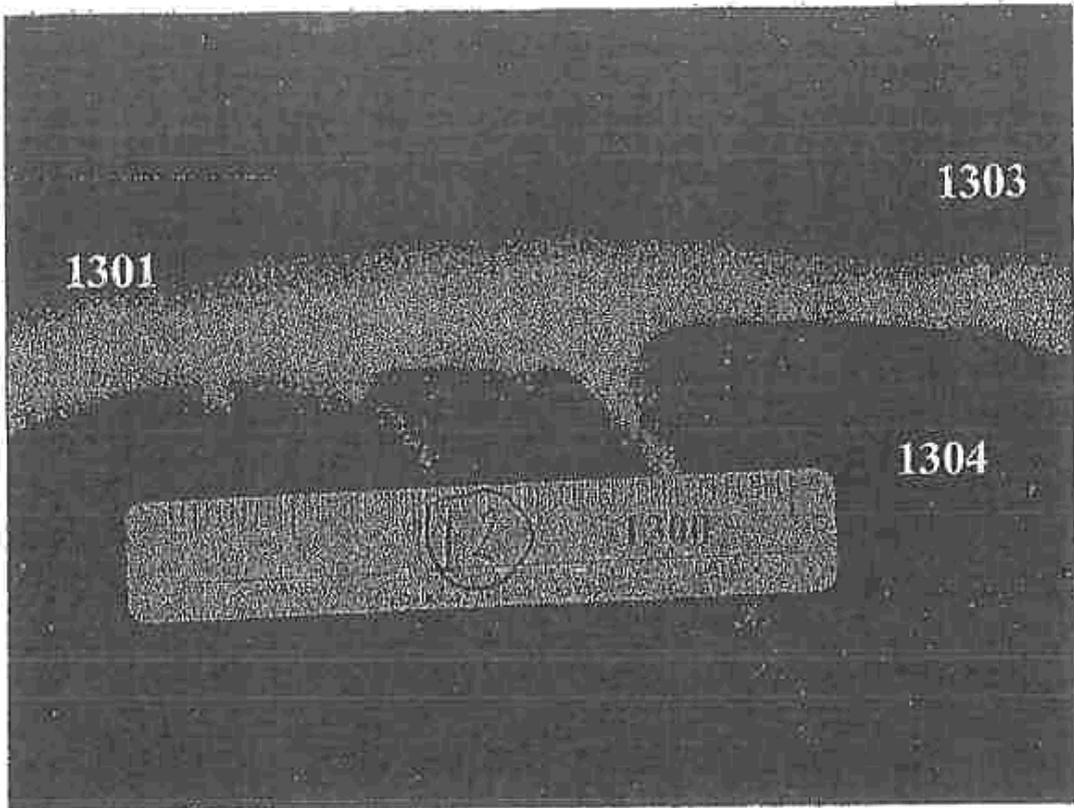
Figura 13 a



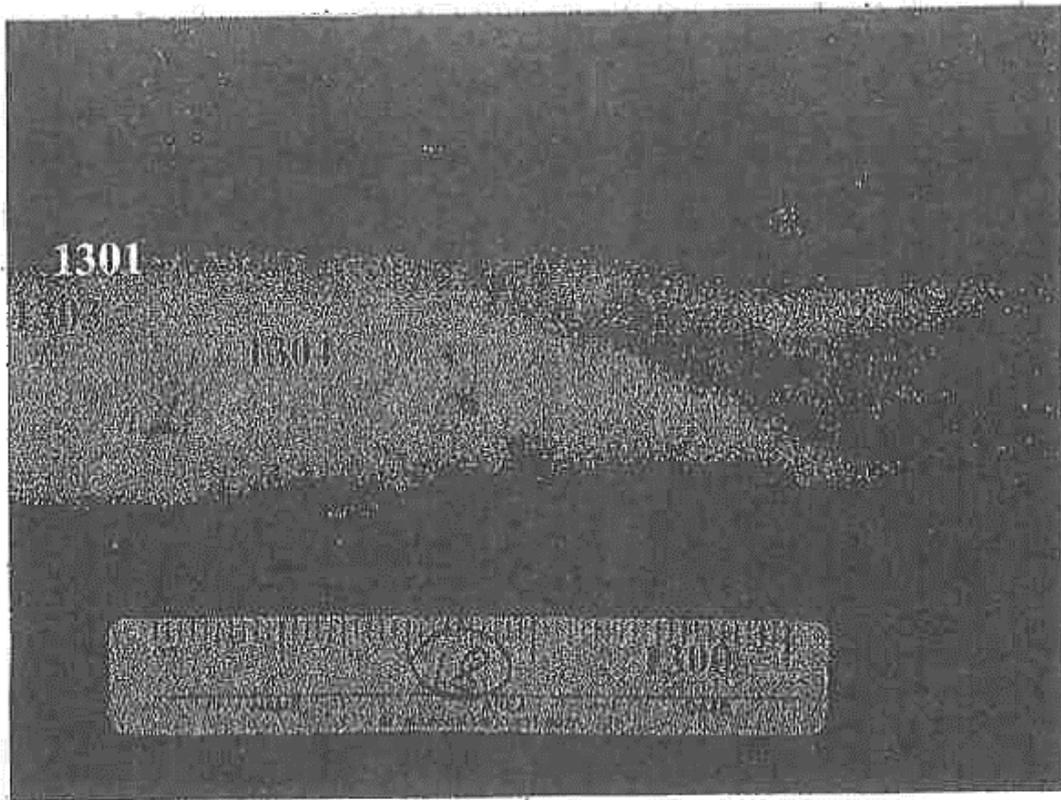
**Figura 13 b**



**Figura 13 c**



**Figura 13 d**



**Figura 13 e**