

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 645 860**

51 Int. Cl.:

A61L 15/28 (2006.01)

A61L 27/20 (2006.01)

A61L 31/04 (2006.01)

C08B 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.10.2011 E 15183284 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.08.2017 EP 2979709**

54 Título: **Hilos de ácido hialurónico reticulado y uso de los mismos**

30 Prioridad:

20.10.2010 US 405179 P

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

11.12.2017

73 Titular/es:

**ALLERGAN HOLDINGS FRANCE S.A.S. (100.0%)
12 Place de La Defense 4eme etage
92400 Courbevoie, FR**

72 Inventor/es:

**HORNE, KENNETH N.;
SHENOY, VIVEK;
JAYAKUMAR, NAVEEN y
GURTNER, GEOFFREY C.**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 645 860 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

Hilos de ácido hialurónico reticulado y uso de los mismos

5 CAMPO

Esta divulgación se refiere, en general, a hilos de ácido hialurónico, a procedimientos de elaboración de tales hilos y a usos de los mismos como se expone en las reivindicaciones.

10 ANTECEDENTES

El ácido hialurónico es un polisacárido lineal (es decir, glicosaminoglicano no sulfatado) que consiste en una unidad disacárida repetida de β -D-N-acetilglucosamina y ácido β -D-glucurónico unidos alternadamente, que puede representarse por la fórmula:

15

donde n es el número de unidades de repetición. A veces se hace referencia al ácido hialurónico con la nomenclatura $(-4\text{GlcUA}\beta 1-3\text{GlcNAc}\beta 1-)_n$ y es un componente principal de la matriz extracelular encontrada, por ejemplo, en tejido conectivo, epitelial y neural. El ácido hialurónico natural es altamente biocompatible debido a su falta de especificidad de especie y órgano, y se usa a menudo como biomaterial en ingeniería de tejidos y como ingrediente común en productos de aumento de tejido blando.

20

El ácido hialurónico natural tiene una mala estabilidad *in vivo* debido a la rápida degradación enzimática y a la hidrólisis y, por consiguiente, se han sintetizado diversas formas modificadas químicamente de ácido hialurónico (por ejemplo, formas reticuladas, formas modificadas iónicamente, formas esterificadas, etc.) para abordar este problema. Actualmente, se usan el ácido hialurónico o versiones reticuladas del mismo en diversas formas de gel, por ejemplo, para productos de aumento de tejido blando, barreras de adhesión y similares.

25

Sin embargo, existen problemas con el uso de geles de ácido hialurónico o sus versiones reticuladas. En primer lugar, la fuerza requerida para dispensar geles de ácido hialurónico o sus versiones reticuladas no es lineal, lo que causa una eyección inicial de un "pegote" de gel que reseñan muchos médicos cuando usan ácido hialurónico. En segundo lugar, la dispensación precisa de ácido hialurónico a localizaciones específicas puede ser difícil debido a que dichos geles tienen poca resistencia mecánica. Además, el gel ocupará el espacio de menor resistencia, lo que hace problemático su uso en muchas aplicaciones (por ejemplo, tratamiento de arrugas finas) ya que el gel a menudo migrará a áreas espaciales no deseadas, volviendo el procedimiento cosmético difícil y posiblemente incluso peligroso. Muchos productos de aumento del tejido blando comunes que se inyectan en el sitio de tratamiento en forma de líquido o gel son capaces de migrar y/o de causar "bultos" antiestéticos que son dolorosos de tratar. Además, estos productos de aumento de tejido blando no se recomiendan para uso alrededor de los ojos, ya que la migración desde el sitio de inyección puede causar ceguera, necrosis cutánea y, en casos excepcionales, incluso apoplejía. Los médicos clínicos consideran también que efectuar aumentos de labio usando estos rellenos es muy lento, y los pacientes consideran los tratamientos en esta área tan dolorosos que se efectúan rutinariamente bloqueos nerviosos.

30

35

40

Por consiguiente, existe la necesidad de nuevas formas físicas de ácido hialurónico o de sus versiones reticuladas que puedan dispensarse uniformemente en localizaciones específicas, independientemente de la resistencia de tejido y sin el riesgo de migración. Además, sería beneficioso disponer de hilos que pudieran soportar diversos tipos de esterilización. Tales nuevas formas tendrán usos particulares, por ejemplo, en aplicaciones estéticas y quirúrgicas, suministro de fármacos, terapia de heridas y apósitos de heridas.

45

SUMARIO

50

Se han divulgado anteriormente procesos para fabricar hilos de ácido hialurónico. Estos procesos implican la reticulación de ácido hialurónico durante el proceso de secado después de extraer los hilos. En la presente divulgación, la reticulación de ácido hialurónico se produce antes de la extrusión y el secado, aunque puede producirse algo más de reticulación durante la etapa de secado. Además, el ácido hialurónico reticulado puede secarse e irradiarse antes de formularse en un gel de ácido hialurónico para extrusión y secado.

55

Se contempla que los hilos fabricados usando el proceso descrito en la presente memoria y expuestos en las reivindicaciones se degradan más lentamente en comparación con hilos fabricados por procesos descritos anteriormente. Además, se contempla que los hilos fabricados con ácido hialurónico reticulado, que se ha irradiado antes de la formulación del gel de ácido hialurónico, se degradan más lentamente que los hilos que se han irradiado

60

después de extruir y secar los hilos.

Además, se ha descubierto que el uso de ciertas relaciones de agente reticulante y ácido hialurónico en la composición, antes de la extrusión, proporciona una composición que puede estar sustancialmente reticulada. Por lo tanto, en un aspecto, se proporciona una composición acuosa que comprende ácido hialurónico y un agente reticulante, donde la relación en peso de ácido hialurónico y agente reticulante es de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 10:1.

En otro aspecto, se proporciona un ácido hialurónico reticulado esterilizado que tiene una tasa de degradación comparable a o ligeramente más rápida que la tasa de degradación de ácido hialurónico reticulado antes de la esterilización.

En otro aspecto, se proporciona un hilo de ácido hialurónico reticulado preparado mediante el proceso de:

- 15 a) combinar ácido hialurónico y un agente reticulante en una composición acuosa, hasta que el ácido hialurónico se reticula sustancialmente, proporcionando una composición sustancialmente reticulada;
- b) extruir la composición sustancialmente reticulada, proporcionando un hilo húmedo; y
- c) secar el hilo húmedo, proporcionando un hilo de ácido hialurónico reticulado.

20 En otro aspecto, se proporciona un procedimiento no terapéutico de tratamiento de una arruga en un paciente que lo necesita, comprendiendo dicho procedimiento:

- 1) insertar un hilo proporcionado en la presente memoria en la piel del paciente, adyacente a o bajo la arruga; y
- 2) aplicar el hilo adyacente a o bajo la arruga, tratando así la arruga.

25 En otro aspecto, se proporciona un hilo de ácido hialurónico reticulado, obtenible mediante el proceso expuesto en las reivindicaciones 1 a 9, para uso en un procedimiento de provisión de remodelación facial a un paciente que lo necesita, comprendiendo dicho procedimiento:

- 30 1) insertar un hilo proporcionado en la presente memoria en la piel del paciente, adyacente a o bajo una localización de tratamiento; y
- 2) aplicar el hilo adyacente a o bajo la localización de tratamiento, proporcionando así remodelación facial.

En otro aspecto, se proporciona un kit de piezas que comprende un hilo, como se proporciona en la presente memoria, y un dispositivo de suministro, tal como una aguja.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La divulgación se entiende mejor a partir de la siguiente descripción detallada cuando se lee junto con los dibujos adjuntos. Se recalca que, de acuerdo con la práctica común, los diversos rasgos de los dibujos no están a escala. Por el contrario, las dimensiones de los diversos rasgos están expandidas o reducidas arbitrariamente para que sea más claro. Se incluyen en los dibujos las siguientes figuras:

45 La Fig. 1A muestra una ilustración esquemática de ácidos hialurónicos reticulados. El filamento representa el HA y la esfera y la barra representan el agente reticulante.

La Fig. 1B muestra una ilustración esquemática de un hilo que incluye ácidos hialurónicos reticulados.

La Fig. 2 muestra un esquema de ácido hialurónico reticulado con butanodioldiglicidiléter (BDDE).

La Fig. 3 ilustra un hilo enlazado con el extremo proximal de un aguja en su totalidad (N= aguja, T= hilo).

50 La Fig. 4 muestra una aguja enlazada con el hilo (N= aguja; T= hilo). La Fig. 4A ilustra una vista detallada de un hilo insertado en el diámetro interno de una aguja; y la Fig. 4B ilustra una vista detallada del extremo proximal de una aguja sólida con el hilo superpuesto a la aguja.

La Fig. 5 muestra el tratamiento de una arruga. La Fig. 5A ilustra una arruga facial final en la región periorbital de un ser humano; la Fig. 5B ilustra una aguja y un hilo que se están insertando en la piel de la arruga en el margen medio; la Fig. 5C ilustra la aguja que se está ajustando para atravesar por debajo la arruga; la Fig. 5D ilustra la aguja saliendo por el margen lateral de la arruga; la Fig. 5E ilustra la aguja que ha arrastrado al hilo a la localización que ocupaba anteriormente bajo la arruga; y la Fig. 5E ilustra el hilo implantado bajo la arruga, con el hilo en exceso cortado.

60 La Fig. 6 muestra el tratamiento de calvicie o recrecimiento capilar. La Fig. 6A ilustra una vista aérea de un hombre con calvicie de patrón masculino típica; la Fig. 6B ilustra dónde se desea recrecimiento capilar, teniendo en cuenta las líneas capilares; la Fig. 6C ilustra una aguja curvada con hilo enlazado que se está insertando en

una línea imaginaria donde se desea recrecimiento capilar; la Fig. 6D ilustra la aguja que atraviesa la línea imaginaria y sale de la piel; la Fig. 6E ilustra la aguja arrastrada distalmente, que arrastra consigo el hilo a la localización deseada; y la Fig. 6F ilustra tijeras que se están usando para cortar el hilo en exceso.

5 La Fig. 7 muestra el tratamiento de una arruga. La Fig. 7A ilustra una vista en sección transversal de un pliegue o arruga; la Fig. 7B ilustra un hilo implantado debajo de una arruga que no se ha hidratado todavía; y la Fig. 7C ilustra un hilo implantado debajo de una arruga que se ha hidratado completamente y ha alisado la apariencia de superficie de la arruga.

10 La Fig. 8 muestra el tratamiento de un tumor. La Fig. 8A ilustra un páncreas humano con un tumor; la Fig. 8B ilustra una aguja curvada con un hilo enlazado con la misma; la Fig. 8C ilustra una aguja curvada que atraviesa el tumor en el páncreas; y la Fig. 8D ilustra el resultado final de implantaciones repetidas de hilo.

La Fig. 9 muestra una reconstrucción de pezón. La Fig. 9A ilustra múltiples capas de rollos concéntricos de hilo, conformados para representar un pezón humano; la Fig. 9B ilustra el implante de la Fig. 9A en sección transversal; y la Fig. 9C ilustra cómo se usaría un implante de hilo enrollado para la reconstrucción de pezón.

15 La Fig. 10 ilustra cómo se usarían aguja e hilo para colocar un hilo en una localización lineal específica para promover el recrecimiento nervioso o vascular en una línea específica.

La Fig. 11A muestra la colocación de hilos en una orientación relativamente paralela para la remodelación facial en el surco lagrimal (hilo 1, 2, 3, 4, 5 y 6). Esta figura muestra también la colocación del hilo para la remodelación facial del pliegue nasolabial (hilo 7 y 8). Los hilos pueden colocarse en cualquiera de las capas de la epidermis, dermis, hipodermis o combinaciones de las mismas.

20 La Fig. 11B muestra la colocación de hilos en forma de tramado cruzado para remodelación facial en el surco lagrimal (hilo 1, 2, 3, 4, 5 y 6). Los hilos pueden colocarse en cualquiera de las capas de epidermis, dermis, hipodermis o combinaciones de las mismas.

La Fig. 11C muestra una sección transversal de las capas dérmicas donde se han suministrado hilos a diversas capas, incluyendo las capas de la epidermis, dermis e hipodermis en planos paralelos.

25 La Fig. 11D muestra una sección transversal tridimensional de las capas dérmicas en forma de hamaca o de tramado cruzado. Lo que puede no ser fácilmente evidente a partir de la figura es que los hilos pueden estar estratificados por las diversas capas para mejorar la remodelación.

La Fig. 12 muestra un esquema de preparación de los hilos de acuerdo con los procedimientos de la presente divulgación.

30

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

1. Definiciones

35 A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que un especialista en la materia a la que pertenece esta divulgación entiende comúnmente. Como se usan en la presente memoria, los siguientes términos tienen los siguientes significados.

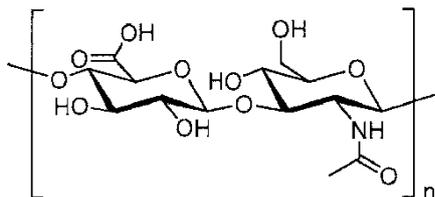
40 Como se usa en la presente memoria, el término "comprendiendo" o "comprende" pretende significar que las composiciones y procedimientos incluyen los elementos enumerados, pero no excluyen otros. "Consiste esencialmente en", cuando se usa para definir composiciones y procedimientos, significará excluir otros elementos de cualquier importancia esencial para la combinación con el fin afirmado. Por tanto, una composición que consiste esencialmente en los elementos como se definen en la presente memoria no excluiría otros materiales o etapas que no afecten materialmente la característica o características básicas y novedosas de la divulgación reivindicada. "Que

45 consiste en" significará excluir más que oligoelementos de otros ingredientes y etapas del procedimiento sustanciales. Las realizaciones definidas por cada uno de estas expresiones de transición están dentro del alcance de esta divulgación.

50 El término "aproximadamente", cuando se usa ante una denominación numérica, por ejemplo, temperatura, tiempo, cantidad y concentración, incluyendo el intervalo, indica aproximaciones que pueden variar en (+) o (-) 10 %, 5 % o 1 %.

55 Como se usa en la presente memoria, el término "hilo" hace referencia a una forma larga, fina y flexible de un material. El hilo de la divulgación puede tener una variedad de formas, en la sección transversal, que se discuten a continuación.

El término "ácido hialurónico" o "HA" hace referencia al polímero que tiene la fórmula:



donde n es el número de unidades de repetición. Todas las fuentes de ácido hialurónico son útiles en esta divulgación, incluyendo fuentes bacterianas y aviarias. Los ácidos hialurónicos útiles en esta divulgación tienen un peso molecular de aproximadamente 0,5 MDa (megadalton) a aproximadamente 3,0 MDa. En algunas realizaciones, el peso molecular es de aproximadamente 0,6 MDa a aproximadamente 2,6 MDa y en aún otra realización, el peso molecular es de aproximadamente 1,4 MDa a aproximadamente 1,6 MDa. El término "ácido hialurónico modificado o activado" hace referencia a un HA que está parcialmente reticulado, lo que significa que la reacción de reticulación no está totalmente completa.

10

La expresión "condiciones ambientales" pretende hacer referencia a las condiciones ambientales típicas, y preferiblemente, a una presión de aproximadamente 1 atmósfera y/o a temperaturas de aproximadamente 5 a aproximadamente 40 y preferiblemente 20 a 30 °C. En algunas realizaciones, las condiciones ambientales comprenden una humedad relativa de aproximadamente 20 % a aproximadamente 80 %.

15

Al menos una porción del hilo está reticulado. El término "reticulado" pretende hacer referencia a dos o más cadenas poliméricas de ácido hialurónico que se han unido covalentemente a través de un agente reticulante. Tal reticulación se diferencia de la deshidratación intermolecular o intramolecular que da como resultado la formación de lactona o anhídrido en una sola cadena polimérica o entre dos o más cadenas. Aunque se contempla que puede ocurrir también reticulación intramolecular en los hilos.

20

Los "agentes reticulantes" contienen al menos dos grupos reactivos que crean enlaces covalentes entre dos o más moléculas. Los agentes reticulantes pueden ser homobifuncionales (es decir, tener dos extremos reactivos que son idénticos) o heterobifuncionales (es decir, tener dos extremos reactivos diferentes). Los agentes reticulantes deberían comprender grupos funcionales complementarios a los del ácido hialurónico, de tal modo que pueda proceder la reacción de reticulación. En una realización, la reticulación no forma ácido hialurónico esterificado. Los agentes reticulantes adecuados incluyen, únicamente a modo de ejemplo, butanodioldiglicidiléter (BDDE), divinilsulfona (DVS) y clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) o una combinación de los mismos. En una realización, el agente reticulante es BDDE.

30

La expresión "sustancialmente reticulado" significa que se completa al menos aproximadamente un 50 % de la reacción de reticulación. En algunas realizaciones, se completa al menos aproximadamente un 75 % de la reacción de reticulación. En aun otras realizaciones, al menos aproximadamente un 80 %, aproximadamente un 90 % o incluso aproximadamente un 100 % de reticulación significa aproximadamente al menos. En algunas realizaciones, se completa al menos aproximadamente un 75 % de la reacción de reticulación. En aún otras realizaciones, se completa al menos aproximadamente un 80 %, aproximadamente un 90 % o incluso aproximadamente un 100 % de la reacción de reticulación. Para determinar la cantidad de reticulación que ha ocurrido, pueden usarse una variedad de procedimientos incluyendo, pero sin limitación, cromatografía de exclusión por tamaño, dispersión de luz, viscosidad o reometría, etc. Esto no quiere decir que el HA esté reticulado al 50 %, sino que el porcentaje está relacionado con la cantidad de reticulación posible, que está determinada por la cantidad de HA y la cantidad de reticulante.

40

"Tasa de degradación" hace referencia tanto a la degradación *in vitro* como a la *in vivo*. La cantidad de degradación puede medirse en una variedad de modos, incluyendo mediante el ensayo *in vitro* descrito en el Ejemplo 12.

45

El término "humedad porcentual" pretende hacer referencia al porcentaje total de agua en peso. En una realización, el porcentaje de hidratación es de aproximadamente 30 % o menos, o como alternativa de aproximadamente 15 % o menos, o como alternativa de aproximadamente 10 % o menos. Esto puede medirse normalmente mediante la valoración de Karl Fischer.

50

La expresión "resistencia a la tracción definitiva" pretende hacer referencia a la resistencia a la tracción del hilo que se ha normalizado con respecto al área de sección transversal. La expresión "resistencia a la tracción" pretende hacer referencia a la carga máxima que puede soportar un hilo sin fallar cuando se somete a tensión. En una realización, se contempla que la resistencia a la tracción definitiva es suficiente para arrastrar el hilo a través de la

piel y manipularlo una vez está en la piel, de tal modo que no se comprometa sustancialmente la integridad de hilo, por ejemplo, por rotura o segmentación. Se contempla que los hilos tengan preferiblemente una resistencia a la tracción definitiva de aproximadamente 3 kpsi ("kilolibras por pulgada cuadrada") o mayor, o 5 kpsi o mayor, o 10 kpsi o mayor, o 15 kpsi o mayor, o 20 kpsi o mayor, o 50 kpsi o mayor, o 75 kpsi o mayor.

5

Los hilos pueden elaborarse con una variedad de formas. La expresión "sustancialmente cilíndrico" hace referencia a un hilo donde la sección transversal del hilo es redonda. La expresión "sustancialmente", como se usa para hacer referencia a las formas de los hilos, significa que al menos un 50 % del hilo tiene la forma descrita. El término sustancialmente se usa también para englobar hilos que tienen una variedad de formas a lo largo de la longitud del

10

hilo. Por ejemplo, un hilo podría ser sustancialmente cilíndrico, pero los extremos del hilo pueden ser ahusados. Pueden proporcionarse hilos sustancialmente cilíndricos cuando el ángulo de contacto de la mezcla acuosa y el sustrato sobre el que se extruyen tiene un ángulo de contacto en equilibrio de más de aproximadamente 90 grados.

La expresión "sustancialmente en forma de D" hace referencia a un hilo donde la sección transversal tiene forma de

15

D o es sustancialmente semicircular. Los hilos sustancialmente en forma de D tienen un lado plano y un lado sustancialmente redondo. Pueden proporcionarse hilos sustancialmente en forma de D cuando el ángulo de contacto de la mezcla acuosa y el sustrato sobre el que se extruye tiene un ángulo de contacto en equilibrio de aproximadamente 90 grados.

20 La expresión "sustancialmente en forma de cinta" hace referencia a un hilo donde el grosor del hilo es menor de aproximadamente un 50 % de la anchura del hilo. En algunas realizaciones, la sección transversal es sustancialmente rectangular. Pueden proporcionarse hilos en forma de cinta cuando el ángulo de contacto de la mezcla acuosa y el sustrato sobre el que se extruye tiene un ángulo de contacto en equilibrio de menos de aproximadamente 90 grados. Como alternativa, pueden formarse hilos en forma de cinta cortando un gel húmedo

25

para conseguir la forma de la sección transversal deseada. "En forma de cinta" puede incluir también formas que son sustancialmente elipsoidales. La expresión "sustancialmente elipsoidal" hace referencia a un hilo donde la sección transversal es sustancialmente oblonga o elíptica.

El término "agente terapéutico" puede incluir uno o más agentes terapéuticos. En aún otra de las realizaciones

30

anteriores, el agente terapéutico es un anestésico incluyendo, pero no limitándose a, lidocaína, xilocaína, novocaína, benzocaína, prilocaína, ripivacaína, propofol o combinaciones de los mismos. En aún otra de las realizaciones anteriores, el agente terapéutico incluye, pero no limitándose a, epinefrina, efedrina, aminofilina, teofilina o combinaciones de los mismos. En aún otra de las realizaciones anteriores, el agente terapéutico es toxina botulínica.

35

En aún otra de las realizaciones anteriores, el agente terapéutico es laminina 511. En aún otra de las realizaciones anteriores, el agente terapéutico es glucosamina, que puede usarse, por ejemplo, en el tratamiento de la enfermedad articular regenerativa. En aún otra de las realizaciones anteriores, el agente terapéutico es un antioxidante incluyendo, pero no limitándose a, vitamina E o todos los ácidos transretinoicos, tales como retinol. En aún otras de las realizaciones anteriores, el agente terapéutico incluye células madre. En aún otra de las realizaciones anteriores, el agente terapéutico es insulina, un factor de crecimiento tal como, por ejemplo, NFG

40

(factor de crecimiento nervioso), BDNF (factor neurotrófico derivado del cerebro), PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas) o purmorfamina, deferroxamina, NGF (factor de crecimiento nervioso), dexametasona, ácido ascórbico, 5-azacitidina, pirrolopirimidina 4,6-disustituída, cardiogenoles, ADNc, ADN, iARN, BMP-4 (proteína morfogenética ósea 4), BMP-2 (proteína morfogenética ósea 2), un agente antibiótico tal como, por ejemplo, β -lactamas, quinolonas incluyendo fluoroquinolonas, aminoglicósidos o macrólidos, un agente antifibrótico incluyendo,

45

pero no limitándose a, factor de crecimiento de hepatocitos o pirfenidona, un agente anticicatrices tal como, por ejemplo, anticuerpo monoclonal anti-TGF- β 2 (rhAnti-TGF- β 2 mAb), un péptido tal como, por ejemplo, péptido de unión a cobre GHK, un agente de regeneración de tejido, un esteroide, fibronectina, una citocina, un analgésico tal como, por ejemplo, HCl de tapentadol, opiáceos (por ejemplo, morfina, codona, oxicodona, etc.), un antiséptico,

50

interferón alfa, beta o gamma, EPO, glucagones, calcitonina, heparina, interleucina 1, interleucina 2, filgrastim, una proteína, HGH, hormona luteinizante, factor natriurético auricular, factor VIII, factor IX o una hormona estimulante de foliculo.

La expresión "agente mejorador de la lubricación" pretende hacer referencia a una sustancia o solución que, cuando se pone en contacto con el hilo seco, actúa lubricando el hilo seco. Un agente mejorador de la lubricación puede comprender, por ejemplo, agua y/o un alcohol, un tampón acuoso y puede comprender además agentes adicionales

55

tales como polietilenglicol, ácido hialurónico y/o colágeno.

El término "carga de fallo" pretende hacer referencia al peso máximo que, cuando se aplica al hilo, causa que el hilo falle. Se entiende por "fallar" que el hilo pueda romperse o segmentarse o perder de otro modo integridad estructural.

60

En algunas realizaciones, la tensión de fallo es de aproximadamente 0,1 libras o 0,22 kilogramos o mayor.

- El término "composición acuosa" o "mezcla acuosa" u otras composiciones de materiales, que se incluyen usados en la presente memoria, pretende hacer referencia a una composición acuosa que comprende agua, ácido hialurónico y un agente reticulante, que es útil para su uso en una extrusora para elaborar fibras. En algunas realizaciones, la composición puede comprender además un tampón, de modo que el pH de la solución cambie muy poco con la adición de componentes de la composición. El pH de la composición tamponada es normalmente de aproximadamente 7 a aproximadamente 10. En ciertas realizaciones, el pH es aproximadamente 7. En ciertas realizaciones, el pH es mayor de aproximadamente 9 o aproximadamente 10. En algunas realizaciones, el pH puede ajustarse añadiendo una cantidad apropiada de una base adecuada, tal como Na_2CO_3 o NaOH . En algunas realizaciones, la composición acuosa tamponada comprende solución salina tamponada con fosfato. En algunas realizaciones, la composición acuosa tamponada comprende tri(hidroximetil)aminometano (Tris), que tiene la fórmula $(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_2$. En algunas realizaciones, se añaden solutos adicionales para ajustar la osmolaridad y concentraciones iónicas, tales como cloruro de sodio, cloruro de calcio y/o cloruro de potasio.
- El término "tampón" se pretende que haga referencia a una solución que comprende una mezcla de un ácido débil y su base conjugada o una base débil y su ácido conjugado. Las soluciones tampón incluyen, pero sin limitación, 2-amino-2-metil-1,3-propanodiol, 2-amino-2-metil-1-propanol, ácido L-(+)-tartárico, ácido D-(-)-tartárico, ACES, ADA, ácido acético, acetato de amonio, bicarbonato de amonio, citrato de amonio, formiato de amonio, oxalato de amonio, fosfato de amonio, fosfato de amonio y sodio, sulfato de amonio, tartrato de amonio, BES, BICINE, BIS-TRIS, bicarbonato, ácido bórico, CAPS, CHES, acetato de calcio, carbonato de calcio, citrato de calcio, citrato, ácido cítrico, dietanolamina, EPP, sal disódica de ácido etilendiaminotetraacético, solución de ácido fórmico, Gly-Gly-Gly, Gly-Gly, glicina, HEPES, imidazol, acetato de litio, citrato de litio, MES, MOPS, acetato de magnesio, citrato de magnesio, formiato de magnesio, fosfato de magnesio, ácido oxálico, PIPES, solución salina tamponada con fosfato, piperazina, D-tartrato de potasio, acetato de potasio, bicarbonato de potasio, carbonato de potasio, cloruro de potasio, citrato de potasio, formiato de potasio, oxalato de potasio, fosfato de potasio, ftalato de potasio, tartrato de potasio y sodio, tetraborato de potasio, tetraoxalato de potasio deshidratado, solución de ácido propiónico, solución tampón de STE, 5,5-dietilbarbiturato de sodio, acetato de sodio, bicarbonato de sodio, bitartrato de sodio monohidratado, carbonato de sodio, citrato de sodio, cloruro de sodio, formiato de sodio, oxalato de sodio, fosfato de sodio, pirofosfato de sodio, tartrato de sodio, tetraborato de sodio, TAPS, TES, TNT, TRIS-glicina, TRIS-acetato, solución salina tamponada con TRIS, TRIS-HCl, TRIS fosfato-EDTA, tricina, trietanolamina, trietilamina, acetato de trietilamonio, fosfato de trietilamonio, acetato de trimetilamonio, fosfato de trimetilamonio, acetato Trizma®, base Trizma®, carbonato Trizma®, clorhidrato Trizma® o maleato Trizma®.

El término "disolvente acuoso" pretende hacer referencia a una composición acuosa no tóxica no inmunogénica. El disolvente acuoso puede ser agua y/o alcohol, y puede comprender además tampones, sales y otros de tales solutos no reactivos.

La expresión "ángulo de contacto" o "ángulo de contacto en equilibrio" hace referencia a la medida de la afinidad de un líquido por un sólido y cuantifica el grado de extensión de una gota de líquido cuando se coloca sobre el sólido. En el caso de la divulgación, el líquido es la mezcla acuosa y la superficie rígida o sólida es el sustrato sobre el que se extruye la composición. El ángulo de contacto es una medida del ángulo que hace el borde de una gota ideal con una superficie plana. Cuanto menor es el ángulo de contacto, mayor atracción entre la superficie y el líquido. Por ejemplo, el agua se extiende casi completamente sobre vidrio y tiene un ángulo de contacto muy bajo de casi 0 grados. El mercurio, en contraposición, forma gotas y se extiende muy poco; su ángulo de contacto es muy grande.

2. Composiciones de ácido hialurónico reticulado

En un aspecto, se proporciona una composición acuosa que comprende ácido hialurónico y un agente reticulante, donde la relación en peso de ácido hialurónico y agente reticulante es de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 10:1, o de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 8:1. En una realización, la relación es de aproximadamente 2,5:1 a aproximadamente 1,5:1. En otra realización, la relación es de aproximadamente 2:1.

En otra realización, la composición acuosa comprende además agua, donde la concentración de ácido hialurónico es de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 2 %, o de 0,1 % a aproximadamente 1 %, o de aproximadamente 0,25 % a aproximadamente 0,75 % p/p. En otra realización, la concentración de ácido hialurónico es de aproximadamente 0,40 % a aproximadamente 0,55 %. En otra realización, la concentración de ácido hialurónico es de aproximadamente 8 % a aproximadamente 15 %.

En otra realización, la composición acuosa excluye componentes que tengan un peso molecular medio de hasta aproximadamente 14 kDa a aproximadamente 100 kDa, o de hasta aproximadamente 200 kDa. En otra realización,

la composición acuosa excluye componentes que tengan un peso molecular de hasta aproximadamente 12 kDa. La cantidad no incluye ningún reticulante.

5 En otra realización, se proporciona una composición liofilizada donde se liofiliza la composición que se acaba de describir. Antes de la liofilización, la composición puede dializarse o diafiltrarse opcionalmente. Normalmente, esta etapa se realiza para retirar el reticulante no reaccionado o subproductos de reticulación. La composición liofilizada puede esterilizarse entonces opcionalmente por irradiación con rayo de electrones, proporcionando una composición liofilizada esterilizada. La composición liofilizada (y opcionalmente esterilizada) puede formularse por rehidratación. Los sólidos de HA pueden ser de aproximadamente 10 % a aproximadamente 25 %, basados en el peso total de la formulación rehidratada.

15 Dentro de los aspectos y realizaciones divulgados aquí, en una realización, el ácido hialurónico comprende ácido hialurónico que tiene un peso molecular medio de aproximadamente 1 MDa a aproximadamente 3,5 MDa. En otra realización, el ácido hialurónico comprende ácido hialurónico que tiene un peso molecular medio de aproximadamente 1,2 MDa a aproximadamente 3 MDa, de aproximadamente 1,4 MDa a aproximadamente 2,5 MDa o de aproximadamente 1,6 MDa a aproximadamente 2 MDa. En aun otra realización, el peso molecular es de aproximadamente 1,7 MDa. Puede emplearse también una mezcla de ácidos hialurónicos que tienen diferentes pesos moleculares.

20 Dentro de los aspectos y realizaciones divulgados aquí, en una realización, el agente reticulante se selecciona de entre el grupo que consiste en butanodioldiglicidiléter (BDDE), divinilsulfona (DVS), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodimida (EDC) y combinaciones de los mismos. En otra realización, el agente reticulante es BDDE. En otra realización, el agente reticulante es DVS. En otra realización, el agente reticulante es EDC. En otra realización, el agente reticulante está unido covalentemente al ácido hialurónico. En otra realización, el agente reticulante no está unido covalentemente al ácido hialurónico.

En otro aspecto, se proporciona un ácido hialurónico reticulado esterilizado que tiene una tasa de degradación comparable a o más rápida que la tasa de degradación de ácido hialurónico reticulado antes de la esterilización.

30 En otro aspecto, se proporciona un hilo que comprende una composición, que comprende ácido hialurónico (por ejemplo, y sin limitación, composiciones acuosas, composiciones liofilizadas y mezclas acuosas) proporcionado en la presente memoria. En otra realización, el hilo tiene un fallo de tensión de 0,1 libras o mayor. En otra realización, el hilo se trenza, enrolla, escalona o teje para formar un material. En otra realización, el hilo es sustancialmente cilíndrico, sustancialmente en forma de D, sustancialmente en forma de cinta o sustancialmente elipsoidal. En otra realización, el hilo comprende además un miembro seleccionado de entre el grupo que consiste en un agente terapéutico, un agente de diagnóstico, un agente mejorador de la fibrogénesis, un agente mejorador de la lubricación, un agente inhibidor de la biodegradación y combinaciones de los mismos.

40 En una realización, los hilos como se divulgan en la presente memoria tienen una elasticidad a lo largo de su longitud de menos de aproximadamente un 150 %, o de aproximadamente 100 %, o de aproximadamente 50 %, o de aproximadamente 25 % o de menos de aproximadamente 50 %. En otra realización, las composiciones reticuladas e hilos como se divulgan en la presente memoria no son viscoelásticos. En otra realización, las composiciones e hilos como se divulgan en la presente memoria no son biomateriales termoplásticos amorfos. En una realización, las composiciones e hilos como se divulgan en la presente memoria no comprenden colágeno y/o ácido órtico.

3. Procedimientos de elaboración de los hilos

En otro aspecto, se proporciona un hilo de ácido hialurónico reticulado preparado mediante el proceso de:

- 50
- a) combinar ácido hialurónico y un agente reticulante en una composición acuosa hasta que el ácido hialurónico se reticula sustancialmente, proporcionando una composición sustancialmente reticulada;
 - b) extruir la composición sustancialmente reticulada, proporcionando un hilo húmedo; y
 - c) secar el hilo húmedo, proporcionando un hilo de ácido hialurónico reticulado.

55 En algunas realizaciones, después de combinar HA y el agente reticulante, se liofiliza la composición. Se contempla que, cuando se combina BDDE con HA, se activa el HA y se produce la reticulación durante la liofilización cuando el BDDE está más concentrado. Se contempla además que la reticulación puede seguir produciéndose durante la etapa de secado.

60

En otra realización, la relación de ácido hialurónico y agente reticulante es de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 10:1, o de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 8:1. En una realización, la relación es de aproximadamente 2,5:1 a aproximadamente 1,5:1. En otra realización, la relación es de aproximadamente 2:1.

5 En otra realización, el procedimiento comprende además la etapa de esterilizar la composición sustancialmente reticulada antes de extraer. En otra realización, el procedimiento comprende además la etapa de esterilizar el hilo húmedo antes del secado. En otra realización, la etapa de esterilización comprende esterilización por rayo de electrones. Se contempla que las composiciones puedan esterilizarse también mediante una variedad de otros procedimientos, incluyendo óxido de etileno y autoclave. Estos procedimientos de esterilización pueden emplearse
10 en todas las etapas de esterilización del proceso descrito en la presente memoria.

En otra realización, el procedimiento comprende además la etapa de liofilizar la composición antes de extraer, proporcionando una composición liofilizada. En otra realización, el procedimiento comprende además la etapa de dializar la composición antes de liofilizar, proporcionando una composición dializada seca.

15 En otra realización, el procedimiento comprende además la etapa de dializar la composición antes de extraer, proporcionando una composición sustancialmente reticulada dializada. En otra realización, el procedimiento comprende además la etapa de esterilizar la composición sustancialmente reticulada dializada seca, proporcionando una composición sustancialmente reticulada dializada seca. En otra realización, la etapa de esterilización comprende
20 esterilización por rayo de electrones o esterilización por autoclave o esterilización por óxido de etileno.

En otra realización, el procedimiento comprende además la etapa de hidratar la composición sustancialmente reticulada dializada seca esterilizada, proporcionando la composición sustancialmente reticulada. En otra realización, la etapa de hidratación comprende un tampón.

25 En otra realización, la composición sustancialmente reticulada dializada excluye componentes que tienen un peso molecular medio de menos de aproximadamente 14 kDa, o de menos de aproximadamente 12 kDa.

30 En otra realización, la etapa de secado comprende de aproximadamente 36 horas a aproximadamente 60 horas, o aproximadamente 48 horas. En otra realización, el procedimiento comprende además la etapa de aplicar al hilo de ácido hialurónico seco una cantidad suficiente de un agente terapéutico, un agente de diagnóstico, un agente mejorador de la fibrogénesis, un agente inhibidor de la biodegradación, un agente mejorador de la lubricación o combinaciones de los mismos, opcionalmente seguida por la etapa de resecar el hilo.

35 En otra realización, la etapa de extrusión comprende extraer el hilo húmedo sobre un sustrato. En otra realización, el sustrato se selecciona de entre el grupo que consiste en politetrafluoroetileno (PTFE), PTFE expandido, nailon, poli(tereftalato de etileno) (PET), poliestireno, silicio, poliuretano y celulosa activada.

40 En otra realización, el agente reticulante se selecciona de entre el grupo que consiste en butanodioldiglicidiléter, divinilsulfona, clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida y combinaciones de los mismos. En otra realización, el agente reticulante es butanodioldiglicidiléter.

4. Procedimientos de uso de hilos de ácido hialurónico reticulado

45 En otro aspecto, se proporciona un procedimiento no terapéutico de tratamiento de una arruga en un paciente que lo necesita, comprendiendo dicho procedimiento:

- 1) insertar un hilo, proporcionado en la presente memoria, en la piel del paciente adyacente a o bajo la arruga; y
- 2) aplicar el hilo adyacente a o bajo la arruga, tratando así la arruga.

50 En otra realización, se efectúan las etapas 1) y 2) de 2 a 6 veces. En otra realización, se inserta el hilo con una aguja. En otra realización, el procedimiento comprende además retirar la aguja de la piel. En otra realización, el procedimiento comprende además hidratar el hilo. En otra realización, antes de la etapa 1), se aplica al hilo un agente mejorador de la lubricación.

55 Procedimientos para el tratamiento de una arruga

Se contempla que los hilos tienen una capacidad mejorada de fomentar la fibrogénesis y/o reparación de tejido *in vivo*, formando una estructura de tipo armazón en el cuerpo para la deposición de colágeno. Esta reparación de
60 tejido podría prolongar los efectos "de relleno" del hilo cuando se usa para tratar o rellenar una arruga *in vivo*, más

allá de la semivida del hilo basado en ácido hialurónico. Esto se describe en el Ejemplo 8.

En algunas realizaciones, la presente invención está dirigida a un procedimiento no terapéutico de tratamiento de una arruga en un paciente que lo necesita mediante 1) la inserción de la aguja en la piel del paciente adyacente a o bajo la arruga y 2) la aplicación del hilo adyacente a o bajo la arruga, tratando así la arruga. Estas etapas puede efectuarse al menos una vez y hasta 6 veces para tratar cada arruga. En algunas realizaciones, el hilo se enlaza con el extremo distal de una jeringa, como se muestra en las Fig. 3, 4A y 4B. El hilo se inserta con una aguja, retirándose entonces la aguja. Opcionalmente, y según sea necesario, se hidrata el hilo con agua o solución salina o con los fluidos que normalmente perfunden el tejido circundante. Además, el resto de la arruga puede rellenarse con un material biocompatible tal como Pluronic™ de transferencia de fase, que puede introducirse en forma de un líquido y que se solidifica *in vivo*. Como alternativa, puede introducirse gel de ácido hialurónico convencional para rellenar la arruga. En cualquier caso, la trama formada actúa manteniendo el relleno biocompatible en el sitio de la arruga.

En algunas realizaciones, se proporciona un procedimiento no terapéutico de tratamiento de una arruga en un sujeto. En algunas realizaciones, el médico clínico a cargo puede adormecer el área de tratamiento de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica, usando una variedad de anestésicos incluyendo, pero no limitándose a, lidocaína tópica, hielo o un bloque con inyección de lidocaína. Por ejemplo, la arruga puede estar en la región periorbital, como se ilustra en la Fig. 5A. El hilo puede enlazarse con una aguja, como se ilustra, por ejemplo, en las Fig. 3, 4A y 4B. El extremo distal de la aguja puede insertarse a través de la superficie de la piel del sujeto hasta la piel adyacente a o dentro de la arruga como se ilustra, por ejemplo, en la Fig. 5B. En algunas realizaciones, se inserta el hilo en el espacio de la hipodermis, en lugar de en la dermis. La aguja puede atravesar entonces la dermis o el espacio de la hipodermis del sujeto bajo la arruga como se ilustra, por ejemplo, en la Fig. 5C. La aguja puede salir entonces de la piel del sujeto por el margen opuesto de la arruga, como se ilustra por ejemplo en la Fig. 5D. La aguja puede arrastrarse entonces distalmente hasta que se retira del sujeto, de tal modo que el hilo se arrastre a la localización ocupada anteriormente por la aguja bajo la arruga, como se ilustra por ejemplo en la Fig. 5E. Finalmente, se corta el hilo sobrante de la aguja en la superficie de la piel del sujeto, lo que deja el hilo implantado como se ilustra, por ejemplo, en la Fig. 5F.

Aunque no se desea que esté ligado a teoría alguna, el procedimiento anterior puede tratar exitosamente arrugas como se muestra en las Fig. 7A, 7B y 7C. Se ilustra una arruga típica en la Fig. 7A. La Fig. 7B ilustra un hilo implantado bajo una arruga que no está todavía hidratado. A medida que el hilo implantado bajo la arruga se vuelve totalmente hidratado, se alisa simultáneamente la apariencia superficial de la arruga como se ilustra en la Fig. 7C.

En algunas realizaciones, se manipula el hilo de tal forma que un extremo del hilo sea suficientemente duro para usar el hilo para penetrar la piel. Esto puede lograrse recubriendo el hilo con un material endurecedor, tal como un recubrimiento de azúcar. En otra realización, se recubre el hilo en su totalidad, por ejemplo, con un recubrimiento de azúcar, proporcionando al hilo una resistencia columnar aumentada.

Remodelación facial

Se contempla que los hilos sean útiles en la remodelación facial. Lo que se entiende por remodelación facial es que los hilos puedan aplicarse a cualquier área de la cara, cuello o pecho que el paciente desee aumentar incluyendo, solo a modo de ejemplo, los labios, el pliegue nasolabial y el surco lagrimal.

El aumento de labios es un procedimiento estético comúnmente deseado. Normalmente, el objetivo estético es labios más carnosos y más abultados. Algunos estudios psicológicos han descrito una atracción mayor de los hombres por mujeres con labios más carnosos (*Lip Size Key to Sexual Attraction*, 4 de marzo de 2003. <http://news.bbc.co.uk/2/hi/health/2817795.stm>). La explicación hipotética de este fenómeno es que la carnosidad o el abultamiento de labios está correlacionado con mayores niveles de estrógeno, y por lo tanto, se percibe como un signo de fertilidad. Las áreas de mejora pueden incluir el prolabio (o borde labial) para supresión y remodelación de labios y la unión de mucosa húmeda y seca para aumentar la carnosidad. Otras técnicas incluyen la infiltración más difusa del músculo orbicular de la boca.

La remodelación y aumento de labios mediante productos de aumento del tejido blando temporal es una opción popular de bajo riesgo debido a la invasividad mínima y a la naturaleza temporal del procedimiento. Los defectos principales de los productos de aumento de tejido blando actualmente usados en los procedimientos labiales son que (a) son dolorosos, (b) es difícil inyectar el gel de forma consistente y homogénea en la localización deseada y (c) el gel puede migrar durante la duración del implante, causando que cambien los resultados estéticos.

La presente divulgación aborda los defectos descritos anteriormente. Más allá de abordar los defectos anteriormente

enumerados para los productos de aumento de tejido blando temporal existentes y descritos anteriormente, se ha hallado que el procedimiento basado en hilo de HA para mejorar la apariencia de los labios es muy rápido. Un paciente normal puede tener 3 hilos en su labio o labios en solo 3 minutos. Los procedimientos labiales de productos de aumento de tejido blando actuales pueden llevar de 15 a 20 minutos.

5

En realizaciones dirigidas a la remodelación facial, el médico clínico a cargo puede adormecer el área de tratamiento de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica, usando una variedad de anestésicos incluyendo, pero no limitándose a, lidocaína tópica, hielo o un bloque con inyección de lidocaína. Los hilos elaborados con HA (ácido hialurónico) pueden enlazarse con el extremo proximal de una aguja y arrastrarse al labio. La aguja puede servir

10

como guía precisa y puede usarse también para predecir y corregir la localización del implante antes de arrastrar el hilo a la localización deseada. Este mecanismo de suministro preciso puede usarse para suministrar hilos a lo largo del prolabio a remodelar, superficialmente si se desea, así como en la unión húmeda-seca para su abultamiento, más profundamente en el labio si se desea.

15

Se contempla que, cuando se usa el hilo para remodelación facial, puede usarse cualquier número de hilos dependiendo del efecto deseado y del tamaño del hilo. Por ejemplo, se comenta a continuación en el Ejemplo 11 la descripción del procedimiento realizado para el aumento y remodelación de labios.

20

Se ha hallado sorprendente e inesperadamente que esos hilos pueden implantarse en diversos planos de tejido del paciente, proporcionando así un aspecto más natural cuando se efectúa la remodelación facial. Por ejemplo, pueden implantarse los hilos de manera que formen una hamaca en la localización deseada. Dadas las propiedades excepcionales de los hilos, el médico clínico a cargo puede depositar o implantar los hilos en la epidermis, dermis e hipodermis.

25

Esta técnica es posible por la precisión con la que pueden colocarse los hilos, y su tamaño respecto a la dermis y estructuras subyacentes. Los hilos pueden conferir diferentes efectos a los rasgos faciales, tales como arrugas, perfiles, pliegues y surcos, dependiendo de donde se implanten.

30

Por ejemplo, la experiencia clínica reciente indica que colocar un hilo (en este caso, uno que era de aproximadamente 0,008 pulgadas de diámetro) profundamente, por ejemplo en el espacio de la hipodermis a lo largo del eje de una arruga de la frente, puede ayudar a atenuar la apariencia de la arruga que se forma cuando el paciente se alegra, tensando la frente, lo que normalmente exacerbaría la apariencia de la arruga. Estos tipos de arrugas dinámicas se tratan actualmente bien solo con Botox®, que tiene el efecto no deseado de impedir que el paciente exprese todas las expresiones faciales. Además, la experiencia clínica reciente muestra que las arrugas

35

estáticas, aquellas que son visibles en reposo, pueden tratarse eficazmente mediante la colocación de un hilo (de 0,004 a 0008 pulgadas de diámetro) superficialmente, por ejemplo en la dermis.

40

La técnica de estratificación de los planos de tejido de implante de hilo se usa exitosamente también para mejorar la apariencia de los pliegues nasolabiales (hasta 4 hilos de 0,008 pulgadas), las líneas glabellares, líneas de marioneta

45

Esta es otra técnica que es posible gracias a los hilos de HA y su procedimiento de implantación. Para suavizar la apariencia de cavidades o surcos, tales como el surco lagrimal, o remodelar de otro modo el rostro en áreas tales como los pómulos o barbilla, pueden implantarse por ejemplo hilos con patrones de tramado simple (véase la Fig. 11A) y/o tramado cruzado (véase la Fig. 11B) para incidir en áreas mayores que la anchura de un solo hilo. Como se ve en las Fig. 11A y 11B, se suavizan efectivamente los surcos lagrimales de dos pacientes al colocar hilos paralelos, en un caso (Fig. 11A), y en tramado cruzado en otro caso (Fig 11B). El tramado cruzado podría realizarse de manera oblicua a la dirección inicial, como era el caso en la Fig. 11B, o perpendicularmente. Además, las rayas también pueden estar en diferentes planos de tejido también.

50

En otra realización de esta técnica, el tramado puede realizarse de manera oblicua a la direccionalidad del área que se está tratando. Por ejemplo, en la Fig. 11A siguiente, se colocan los hilos alineados con el eje del surco lagrimal. En lugar de ello, los hilos podrían colocarse de manera oblicua al eje del surco lagrimal para soportar el tejido en el área de forma diferente.

55

Se contempla que la implantación de los hilos en diversos planos pueda realizarse también en el tratamiento de arrugas, como se describe anteriormente.

5. Kits

60

En otro aspecto, se proporciona un kit de piezas que comprende un hilo y un medio para el suministro del hilo a un paciente. En otra realización, el medio para el suministro a un paciente es una jeringa, una aguja o una pistola de aire. En otra realización, el kit de piezas es para su uso en el tratamiento de una arruga en un paciente.

- 5 El tamaño (o diámetro) de la aguja puede depender del uso del hilo, y por lo tanto estar basado también en el área de sección transversal del hilo usado. El diámetro externo de la aguja o jeringa puede ser mayor o igual al área de sección transversal del hilo usado para rebajar el requisito de tracción del hilo, a medida que se aplica a la piel. Se contempla además que el diámetro externo del hilo pueda ser mayor que el diámetro externo de la aguja. La piel es bastante flexible, así que tener una aguja de diámetro menor puede permitir que el tamaño de la punción sea menor
10 incluso con el uso de un hilo de mayor diámetro. Además, el grosor del hilo sería diferente en el caso en que el hilo sea una sutura, en comparación con el tratamiento de líneas finas y arrugas, donde puede ser que se use un hilo más fino. Puede enlazarse también más de un hilo con una sola aguja.

Además, el tamaño del dispositivo de suministro, la aguja, dependerá del uso al que se destina y del tamaño del hilo.

- 15 Se contempla que para uso en remodelación facial y/o relleno de arrugas, será suficiente un hilo de 0,006 a aproximadamente 0,008 pulgadas de diámetro o un hilo de 0,003 a aproximadamente 0,004 pulgadas de diámetro. En una realización, la aguja es de acero inoxidable. En otras realizaciones, el tamaño del hilo es de aproximadamente 0,01 a 0,02 pulgadas de diámetro.
- 20 El enlazamiento del hilo con la aguja puede ser cualquier enlazamiento mecánico y/o con el uso de un adhesivo, tal como con cianoacrilato. En una realización, el hilo tejido o anudado a través de orificios en el extremo proximal de la aguja, o como alternativa, el hilo enrollado alrededor del extremo proximal de la aguja o, como alternativa, el hilo enhebrado a través de un ojal de la aguja y atado o unido con un adhesivo para formar un nudo o, como alternativa, el hilo fijado (mecánicamente o unido con un adhesivo) a un orificio del extremo proximal de la aguja. En otra
25 realización, el hilo puede hacerse para formar un enlazamiento físico con la aguja durante el proceso de secado, a medida que el hilo se forma a partir del gel. Por ejemplo, si se usa una aguja que tenga poros en el extremo proximal, los poros pueden rellenarse con el gel durante el proceso de extrusión y el hilo se fijaría por tanto después de secar. La aguja puede ser rígida o flexible para posibilitar al usuario seguir la aguja bajo la arruga en la piel. Además, la aguja puede estar equipada con una rampa para guiar a la aguja a la profundidad deseada en la piel, y
30 después de la inserción de la aguja, puede soltarse la guía a medida que la aguja se lleva a través de la superficie de la piel. En algunas realizaciones, el hilo se enlaza a una aguja.

Se contempla además que el kit comprenda una aguja y el hilo enlazado a la misma, que esté envasado de forma estéril y esté destinada a un solo uso. Como alternativa, un kit puede comprender varias agujas, cada una con un
35 hilo enlazado. En una realización adicional, un kit incluye hilos de diferentes tamaños para posibilitar opciones de tratamiento para el médico a la vez que se minimiza el número de pinchazos requerido. En aún otra realización, el kit incluye hilos y agujas de diferente longitud y formas curvadas para simplificar la implantación en áreas que sean de difícil acceso o tratamiento con una aguja recta, por ejemplo, cerca de la nariz, alrededor de los ojos y en la porción media del labio superior.

40 **Ejemplos**

La presente divulgación se define además por referencia a los siguientes ejemplos. Resultará evidente para los especialistas en la materia que pueden practicarse muchas modificaciones, tanto en los hilos como en los
45 procedimientos, sin apartarse del alcance de la actual divulgación. El ácido hialurónico y los agentes reticulantes están disponibles en fuentes comerciales.

Ejemplo 1: Síntesis general de los hilos reticulados

- 50 En una realización, el proceso de fabricación de hilo es como se describe a continuación:

1. Se prepara una solución de ácido hialurónico de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 0,75 % p/p. Se contempla que el peso molecular del HA pueda oscilar de aproximadamente 750 kDa a aproximadamente 3 MDa. El pH de la solución puede oscilar de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 9,0.
- 55 2. Se añade butanodioldiglicidiléter (BDDE) a una relación de BDDE y HA que oscila de 2:1 a 0,25:1 y se agita la solución durante aproximadamente 6 a aproximadamente 48 horas. Pueden usarse también otros reticulantes usados comúnmente para reticular ácido hialurónico, tales como divinilsulfona. Basándose en el reticulante, puede variarse también el pH de la solución y la concentración del reticulante. También pueden emplearse relaciones adicionales de HA y BDDE. Se dejan reaccionar el BDDE y el HA durante cualquier tiempo de
60 aproximadamente 6 horas a aproximadamente 24 horas o más.

3. Si el nivel de reticulante no reaccionado o subproductos de reticulación es alto, se dializa o diafiltra la solución de ácido hialurónico reticulado.
4. Se liofiliza la solución de HA reticulado dializado.
5. El HA reticulado liofilizado puede esterilizarse por irradiación con rayo de electrones. Pueden usarse también otras formas de esterilización como irradiación gamma, óxido de etileno, vapor, etc.
6. Se hidrata el HA reticulado liofilizado. El pH de la solución de hidratación puede oscilar de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 9,0. El contenido de sólidos de la formulación puede oscilar de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 %.
7. Se extruyen los hilos usando boquillas que oscilan de 15G a 20G.
8. Se secan los hilos extruidos a temperatura ambiente durante aproximadamente 6 a aproximadamente 72 horas.

Ejemplo 2: Síntesis de hilos reticulados

15 Ejemplo 2A

Se preparó una solución de ácido hialurónico (HA) al 0,5 % p/p (aproximadamente 1,5 MDa) disolviendo el HA en tampón TRIS 10 mM (pH 7,00). Se añadió butanodioldiglicidiléter (BDDE) a la solución de HA y se agitó la solución durante una noche. La relación de BDDE y HA era de 2:1. Se dializó entonces la solución de HA sustancialmente reticulado frente a agua desionizada en exceso usando una membrana de diálisis con un corte de peso molecular de aproximadamente 12 a aproximadamente 14 kDa. Se liofilizó entonces la solución dializada para obtener ácido hialurónico sustancialmente reticulado seco.

Se expuso el ácido hialurónico reticulado seco (2,0 g) a un rayo de electrones de 25 kGy (temperatura de irradiación de 1-3 °C) y no se expuso a irradiación 1,0 g de ácido hialurónico reticulado seco. Se formularon entonces ambos grupos a 16 % de sólidos (p/p) en tampón TRIS 10 mM (pH 7,00).

Se extruyó entonces el gel con HA reticulado irradiado a través de dos boquillas de tamaño diferente (20G y 16G). Se secaron los hilos extruidos durante aproximadamente 48 h a temperatura ambiente. Las dimensiones nominales de los hilos secos extruidos con la boquilla de 20G fueron de 0,007 pulgadas de grosor y 0,011 pulgadas de anchura.

Las dimensiones nominales de los hilos secos extruidos con la boquilla de 16G fueron de 0,016 pulgadas de grosor y 0,019 pulgadas de anchura.

Se extruyó entonces el gel con HA reticulado no irradiado a través de una boquilla de 16G. Se secaron los hilos extruidos durante aproximadamente 48 h a temperatura ambiente. Las dimensiones nominales de los hilos secos fueron de 0,025 pulgadas de grosor y 0,029 pulgadas de anchura.

40 Ejemplo 2B

Se preparó una solución de ácido hialurónico (HA) al 0,5 % p/p (aproximadamente 2,7 MDa) disolviendo el HA en tampón TRIS 10 mM (pH 7,00). Se añadió butanodioldiglicidiléter (BDDE) a la solución de HA y se agitó la solución durante una noche. La relación de BDDE y HA era de 2:1. Se dializó entonces la solución de HA reticulado frente a agua desionizada en exceso usando una membrana de diálisis con un corte de peso molecular de 12-14 kDa. Se liofilizó entonces la solución dializada para obtener ácido hialurónico sustancialmente reticulado seco.

Se expuso el ácido hialurónico sustancialmente reticulado seco (2,0 g) a un rayo de electrones de 25 kGy (temperatura de irradiación de 1-3 °C) y no se expuso a irradiación por rayos de electrones 1,0 g de ácido hialurónico sustancialmente reticulado seco. Se formularon entonces ambos grupos a 16 % de sólidos (p/p) en tampón TRIS 10 mM (pH 7,00).

Se extruyó entonces el gel con HA reticulado irradiado a través de dos boquillas de tamaño diferente (20G y 16G). Se secaron los hilos extruidos durante aproximadamente 48 h a temperatura ambiente. Las dimensiones nominales de los hilos secos extruidos con la boquilla de 20G fueron de 0,009 pulgadas de grosor y 0,010 pulgadas de anchura. Las dimensiones nominales de los hilos secos extruidos con la boquilla de 16G no se midieron.

Se extruyó entonces el gel con HA reticulado no irradiado a través de una boquilla de 16G. Se secaron los hilos extruidos durante aproximadamente 48 h a temperatura ambiente. Las dimensiones nominales de los hilos secos fueron de 0,026 pulgadas de grosor y 0,016 pulgadas de anchura. Los hilos fabricados como se describe

anteriormente se colocaron entonces en tampón fisiológico (PBS) y se incubaron a 37 °C. Todos los hilos retenían sustancialmente su estructura durante al menos 3 días.

Ejemplo 3: Lavado (rehidratación) y resecado del hilo

5

En una realización, se lavan los hilos. Se lavan los hilos secos con un disolvente acuoso para retirar los contaminantes. Se efectúa el lavado mediante diversos procedimientos, tales como inmersión en un disolvente acuoso o usando un sistema de flujo paralelo, colocando el hilo en una fosa en pendiente y dejando que un disolvente acuoso fluya sobre el hilo. Además, una vez se rehidrata, se estira el hilo antes del resecado. Se reseca entonces el hilo rehidratado y lavado, proporcionando el hilo seco. El resecado se efectúa normalmente en condiciones ambientales (es decir, temperatura y/o presión ambiental) durante de aproximadamente 8 horas a aproximadamente 24 horas o hasta que el hilo seco tenga un porcentaje de humedad de aproximadamente un 30 %. Se observa la integridad estructural del hilo, el aumento de la longitud total del hilo, tras lavarlo varias veces (por ejemplo, 10 veces o más).

15

Ejemplo 4: Comparación de la resistencia a la tracción definitiva de diferentes hilos

Se prueba en hilos preparados como se describe en la presente memoria la resistencia a la tracción usando un dinamómetro (por ejemplo, dinamómetro digital de Precision Instruments). Se usa Monocryl® según se adquiere como patrón. Se determina el fallo por la fuerza a la que se rompe el hilo. La medida cero es el resultado de la incapacidad de formar un hilo para probar la calidad.

20

Ejemplo 5: Tratamiento de arrugas de un cadáver con hilos de ácido hialurónico

Se adhieren agujas hipodérmicas (22 Ga) con tiras sencillas o dobles de hilos de ácido hialurónico (reticulado con BDDE) con LocTite 4014. Se usa más de un hilo para tratar las arrugas para conseguir el efecto de relleno deseado (2 a 4 hilos). Puesto que el tejido cadavérico no tiene las mismas características de hidratación que el tejido vivo, se hidratan los hilos aplicando una solución salina al 0,9 % en el área tratada. Se observa visiblemente el efecto de la hidratación del hilo sobre la rebaja de la arruga.

30

Ejemplo 6: Colocación de hilos de ácido hialurónico en perros

Se efectúan estudios caninos graves y crónicos. Se adhieren agujas epidérmicas (22 a 25 Ga) con tiras sencillas o dobles de hilos de ácido hialurónico (reticulado con BDDE) que oscilan de 0,004 a 0,008 pulgadas de grosor. Se esterilizan las muestras por rayo de electrones a 29 kGy. Se observa visiblemente el impacto sobre la superficie cutánea de los animales, por ejemplo en forma de un bulto lineal. Se observan además los hilos por disección (por ejemplo, después de 3 días).

35

Ejemplo 7: Organización de los hilos mediante microscopía de fuerza atómica (MFA)

40

Se determina la organización de los hilos reticulados y geles por microscopía de fuerza atómica (MFA). Se recogen las imágenes de MFA usando un NanoScope III Dimension 5000 (Digital Instruments, Santa Barbara, California, EE.UU.). Se calibra el instrumento frente a un patrón trazable del NIST. Se usan puntas de silicio NanoProbe®. Se emplean procedimientos de procesamiento de imágenes que implican autoalisamiento, ajuste de plano o convolución. Se toman imágenes de un área de 20 cm x 20 cm en una localización aleatoria tanto del gel como de las muestras de hilo. Se presentan las diferencias topográficas de estas imágenes en grado de sombreado, donde las áreas oscuras son bajas y las áreas claras son altas.

45

Ejemplo 8: Ensayo *in vivo* o *in vitro* respecto al aumento de fibrogénesis

50

Se logra la estimulación *in vivo* de la producción de colágeno causada por los hilos de la divulgación usando los procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, de acuerdo con los procedimientos de Wang y col. (Arch Dermatol. (2007) 143(2): 155-163), se aplica el hilo a un paciente, seguido de una biopsia del área de tratamiento en uno o más intervalos temporales después del tratamiento. La síntesis *de novo* de colágeno puede valorarse entonces usando análisis inmunohistoquímico, reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa y microscopía electrónica.

55

Se contempla que los hilos como se divulgan en la presente memoria darán como resultado la síntesis de colágeno en el sitio de tratamiento, prolongando por tanto los efectos de relleno de arruga de los hilos más allá de la semivida del hilo.

60

Ejemplo 9: Contenido de agua de los hilos secos por valoración de Karl Fischer

El ácido hialurónico (HA) es un polímero de unión a agua que está presente en los tejidos de mamíferos. El hinchamiento y captación de agua en agregados de HA depende de la tendencia de las moléculas de agua a interactuar con los grupos polares de este polímero. Los estudios de espectroscopía IR sobre películas de HA en estados seco e hidratado han demostrado la presencia de organización intramolecular unida por hidrógeno en estado seco (Haxaire y col. (2003) *Biopolymers*, 72(3): 149-161). Tras la interacción con agua, esta organización se desarrolla hasta estructuras intermoleculares unidas por hidrógeno donde nanoagregados de agua forman puentes entre las moléculas de HA. La estructura intracatenaria unida por hidrógeno que existe en los estados secos contiene pares de $N-H \cdots (-)O-C=O$. A mayor humedad, los grupos N-H y $(-)O-C=O$ se hidratan con nanogotas que contienen 25 moléculas de agua.

Se analiza, en los hilos elaborados mediante los procedimientos anteriores, la humedad porcentual mediante valoración de Karl Fischer. Una molécula de agua por unidad disacárida dará un 4,5 % de contenido de agua en la preparación de HA.

Ejemplo 10: Organización de los hilos mediante microscopía electrónica de transmisión (MET)

Se retiran de la nevera muestras de gel de ácido hialurónico e hilo como se preparan en el Ejemplo 1 y se tapan entonces con carbono protector, metal iridio y platino local. Se preparan muestras listas para MET mediante molienda por haz de iones enfocado (HIE). Se seccionan transversalmente las muestras de fibra en la dirección longitudinal usando el procedimiento de extracción por FIB *in situ* con un FEI 830 Dual Beam FIB equipado con un Omniprobe Autoprobe 2000. La muestra de gel es un corte aleatorio. Se efectúa normalmente la obtención de imágenes por MET a temperatura ambiente en el modo de MET de campo brillante usando un FEI Tecnai TF-20 accionado a 200 kV.

Ejemplo 11: Aumento de labios

Se implantan en un paciente hilos de HA para mejora de labios, remodelación y/o abultamiento. El paciente puede recibir solo un anestésico tópico en el rostro, pero generalmente no se aplica específicamente a los labios. Se sigue el siguiente procedimiento:

- Se abre despegando la bolsa y se retira la bandeja estéril que mantiene los hilos de HA (ácido hialurónico).
- Usando guantes estériles o un instrumento estéril, tal como pinzas, se retira el hilo de HA deseado de la bandeja.
- Se inserta el extremo afilado de la aguja en un margen del área de tratamiento pretendida.
- Se traslada la aguja dentro de la piel bajo o cerca del área de tratamiento pretendida. Si la aguja no está en la localización deseada en ningún punto, se retira suavemente la aguja y se reinserta para corregir la localización.
- Se sale de la piel por el margen opuesto del área de tratamiento pretendida usando el extremo afilado de la aguja. Si la aguja no está en la localización deseada, se retira suavemente la aguja y se reinserta para corregir la localización.
- Tras confirmar la localización deseable de la aguja, se arrastra rápidamente la aguja distalmente, arrastrando el hilo hacia el sitio en la piel
- Usando tijeras quirúrgicas estériles o escalpelo, se corta el hilo en exceso que sobresale de la piel por ambos márgenes del área de tratamiento. Esto separa efectivamente la aguja, que debería desecharse apropiadamente.

Las áreas de mejora incluyen el prolabio (o borde labial) para supresión y remodelación de labios y la unión de mucosa húmeda y seca para aumentar la carnosidad. Otras técnicas incluyen infiltración más difusa del músculo orbicular de la boca. El médico clínico a cargo es capaz de seleccionar la localización de la colocación de hilo, el número de hilos y el tamaño de los hilos dependiendo del efecto deseado. Se contempla que cada área se trate con 1 a 2 hilos, donde cada hilo tiene un diámetro de cualquiera de 200 micrómetros a aproximadamente 500 micrómetros, cuando el hilo está seco. Después de la hidratación, se contempla que el hilo sea de 0,5 milímetros a aproximadamente 5 milímetros.

Ejemplo 12: Procedimiento de ensayo para la caracterización del perfil de degradación de hilos reticulados

ES 2 645 860 T3

A continuación, se describe el procedimiento *in vitro* para caracterizar el perfil de degradación de hilos de ácido hialurónico reticulado (XL HA) de la divulgación. Se usa el siguiente procedimiento.

- 5 • Si no está ya disponible, se prepara una solución de PBS 0,01 M pH 7,4 y se almacena refrigerada.
- Se obtienen tubos de microcentrifuga de plástico de 2 ml.
- Se marcan las tapas de los tubos con los números de ID de muestra asignados. Las muestras se procesan normalmente por duplicado, por lo tanto, puede usarse un sufijo -1, -2 para identificar las duplicaciones. Los números de ID se usará para seguir los datos de degradación en una hoja de cálculo de seguimiento de datos.
- 10 • Se colocan los tubos en una gradilla de tubos de microcentrifuga.
- Se pipetea 1 ml de solución de PBS (solución salina tamponada con fosfato) a cada tubo.
- Se corta un trozo (o trozos) de hilo de muestra de ensayo en 4 secciones de aproximadamente 0,75 pulgadas de longitud.
- Se colocan las secciones de hilo en un tubo y se cierra la tapa.
- 15 • Se repite hasta que todas las muestras están en los tubos.
- Se colocan las muestras en una incubadora configurada a 37 °C.
- Se valora el perfil de degradación puntuando el estado de la muestra usando el sistema de puntuación definido a continuación. Se valoran las muestras diariamente (semana laboral) a menos que se especifique otra cosa en un plan experimental.
- 20 • El sistema de puntuación de estudio por grados oscila de 0 a 3 de acuerdo con las siguientes directrices.

Puntuación	Descripción
3	90-100 % del hilo aún presente en el vial
2	50-90 % del hilo aún presente en el vial
1	10-50 % del hilo aún presente en el vial
0	0-10 % del hilo aún presente en el vial

REIVINDICACIONES

1. Un hilo de ácido hialurónico reticulado obtenible mediante el proceso que comprende las siguientes etapas:
- 5 a) combinar ácido hialurónico y un agente reticulante en una composición acuosa hasta que el ácido hialurónico se reticula sustancialmente, proporcionando una composición sustancialmente reticulada;
b) extruir la composición sustancialmente reticulada, proporcionando un hilo húmedo; y
c) secar el hilo húmedo, proporcionando un hilo de ácido hialurónico reticulado.
- 10 2. El hilo de ácido hialurónico reticulado de la reivindicación 1, donde la relación de ácido hialurónico y agente reticulante es de 1:2 a 10:1.
3. El hilo de ácido hialurónico reticulado de la reivindicación 1 o 2, donde el agente reticulante se selecciona de entre el grupo que consiste en butanodioldiglicidiléter, divinilsulfona, clorhidrato de 1-etil-3-(3-
15 dimetilaminopropil)carbodiimida y combinaciones de los mismos.
4. El hilo de ácido hialurónico reticulado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el proceso comprende además la etapa de esterilizar la composición sustancialmente reticulada antes de extruir.
- 20 5. El hilo de ácido hialurónico reticulado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el proceso comprende además la etapa de esterilizar el hilo húmedo antes de secar.
6. El hilo de ácido hialurónico reticulado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el proceso comprende además la etapa de liofilizar la composición reticulada antes de extruir, proporcionando una composición
25 sustancialmente reticulada liofilizada.
7. El hilo de ácido hialurónico reticulado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el proceso comprende además la etapa de dializar la composición reticulada antes de extruir, proporcionando una composición sustancialmente reticulada dializada.
- 30 8. El hilo de ácido hialurónico reticulado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el proceso comprende además la etapa de dializar la composición reticulada antes de liofilizar, proporcionando una composición sustancialmente reticulada dializada.
- 35 9. El hilo de ácido hialurónico reticulado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde el proceso comprende además la etapa de aplicar al hilo de ácido hialurónico seco una cantidad suficiente de agente terapéutico, agente de diagnóstico, agente mejorador de la fibrogénesis, agente mejorador de la lubricación, agente inhibidor de la biodegradación o combinaciones de los mismos, opcionalmente seguido de la etapa de resecado del hilo.
- 40 10. Un kit de piezas que comprende el hilo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y un medio para el suministro del hilo a un paciente.
11. El kit de piezas de la reivindicación 10, donde el medio para el suministro a un paciente se selecciona de entre una jeringa, una aguja o una pistola de aire.
- 45 12. Un procedimiento no terapéutico de provisión de remodelación facial a un paciente que lo necesita, comprendiendo dicho procedimiento las siguientes etapas:
- 50 1) insertar el hilo de ácido hialurónico reticulado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en la piel del paciente adyacente a o bajo la localización de tratamiento; y
2) aplicar el hilo de ácido hialurónico reticulado adyacente a o bajo la localización de tratamiento, proporcionando así remodelación facial.
13. El procedimiento no terapéutico de la reivindicación 12, donde la localización de tratamiento se selecciona de
55 entre los labios, el pliegue nasolabial y el surco lagrimal.
14. Un hilo de ácido hialurónico reticulado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para uso en un procedimiento para proporcionar remodelación facial a un paciente que lo necesita, comprendiendo dicho procedimiento las
60 siguientes etapas:

- 1) insertar el hilo de ácido hialurónico reticulado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en la piel del paciente adyacente a o bajo la localización de tratamiento; y
- 2) aplicar el hilo de ácido hialurónico reticulado adyacente a o bajo la localización de tratamiento, proporcionando así remodelación facial.

5

15. El hilo de ácido hialurónico reticulado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para uso de acuerdo con la reivindicación 14, donde la localización de tratamiento se selecciona de entre los labios, el pliegue nasolabial y el surco lagrimal.

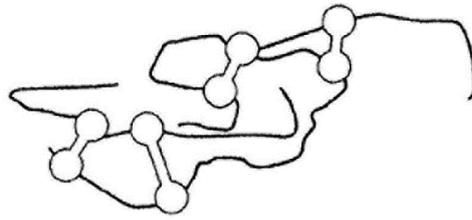


FIG. 1A

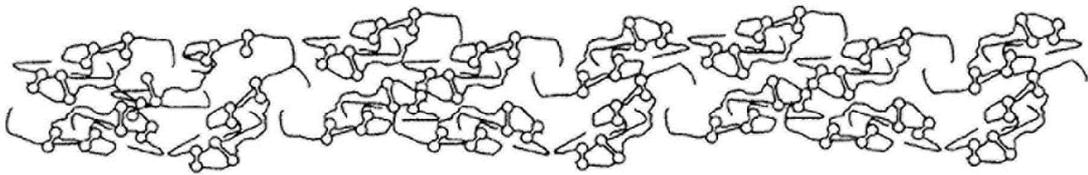


FIG. 1B

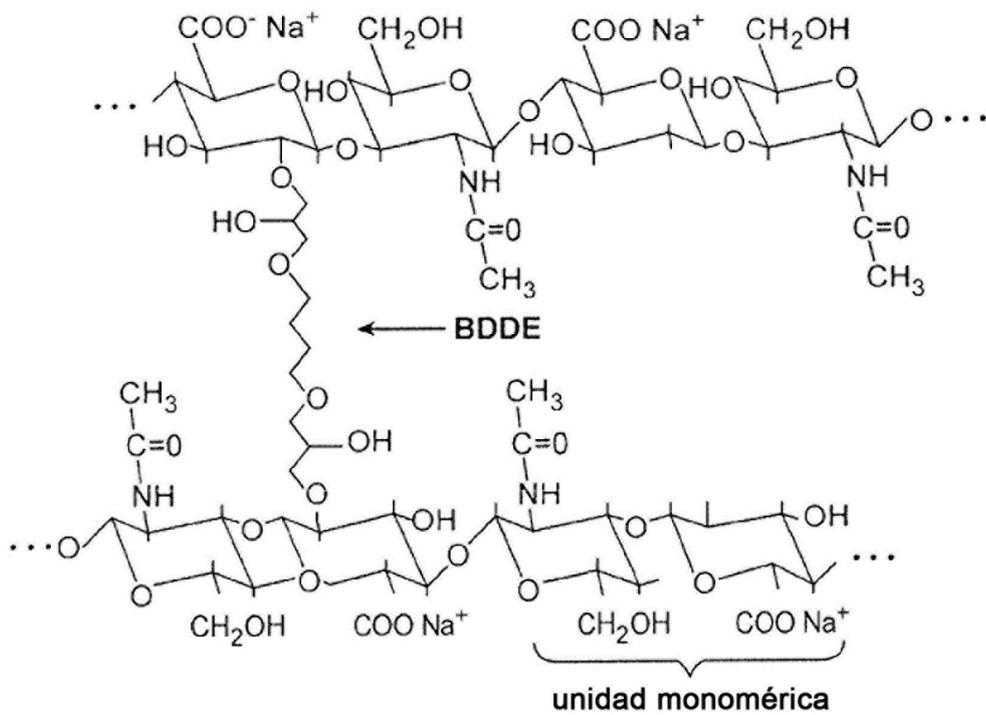


FIG. 2

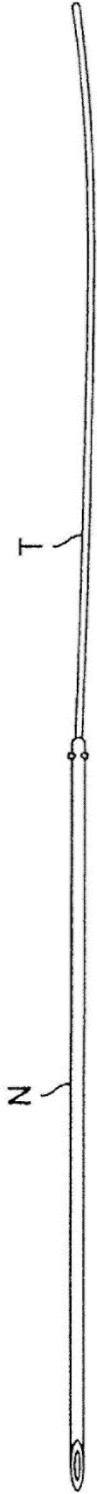


FIG. 3

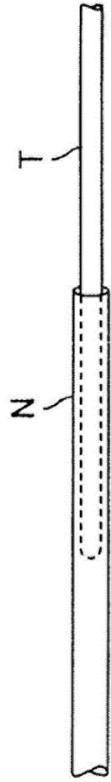


FIG. 4A

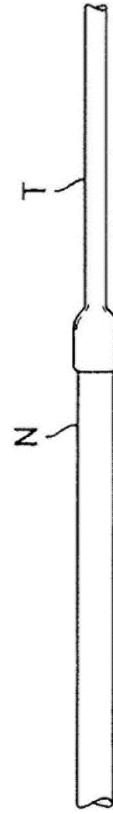


FIG. 4B

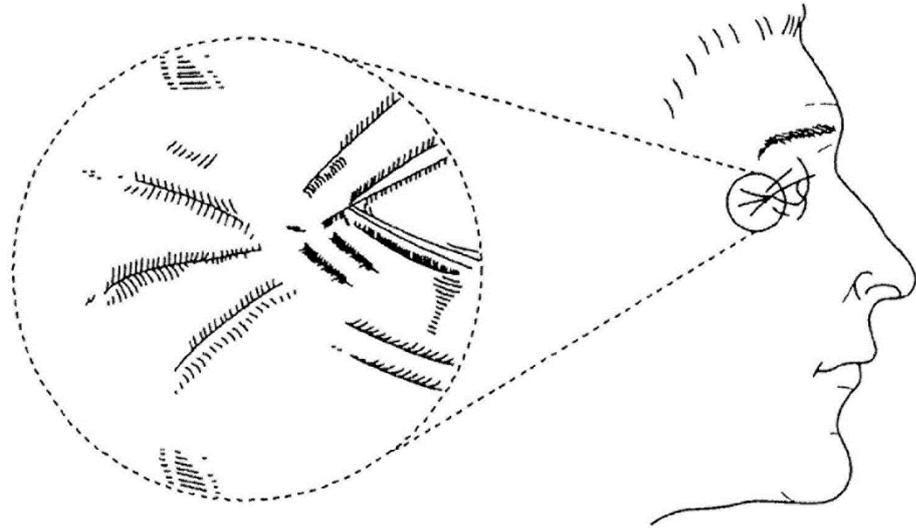


FIG. 5A

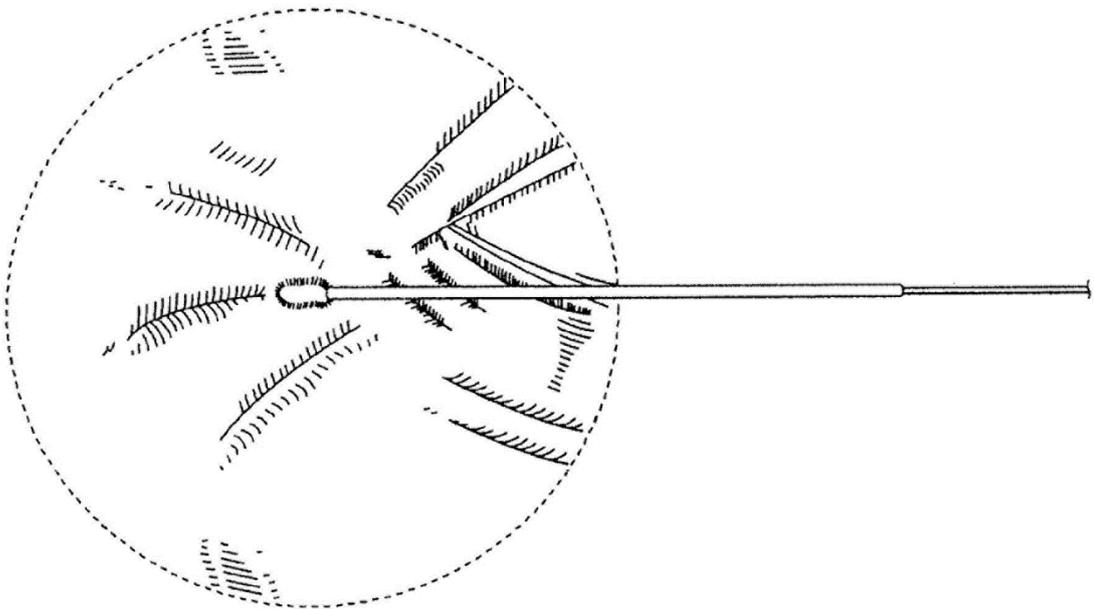


FIG. 5B

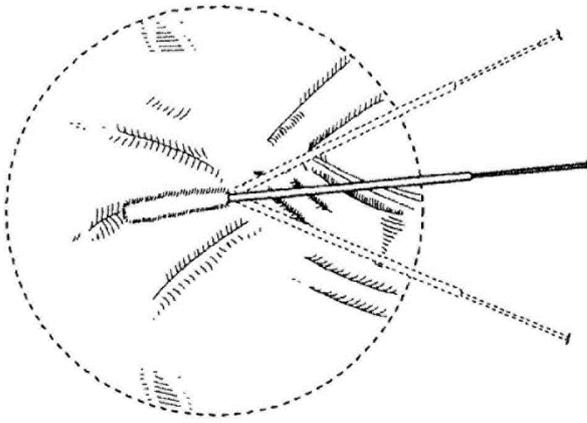


FIG. 5C

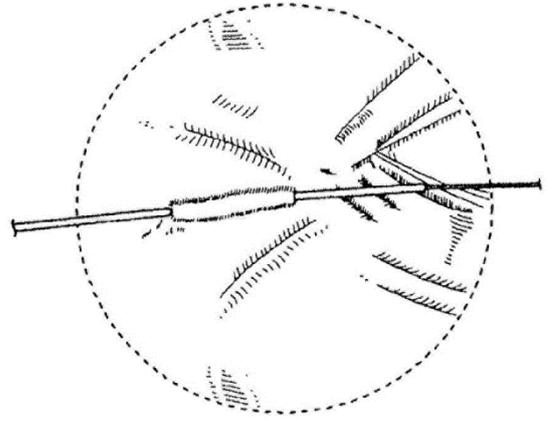


FIG. 5E

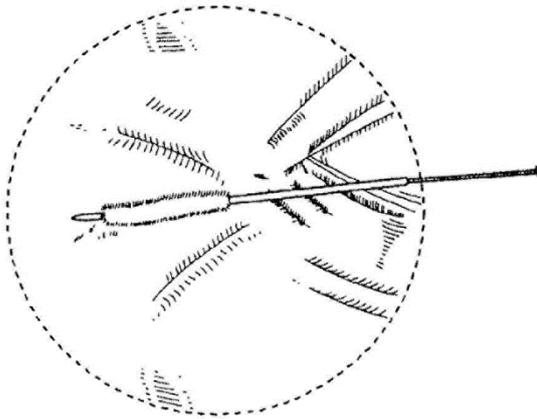


FIG. 5D

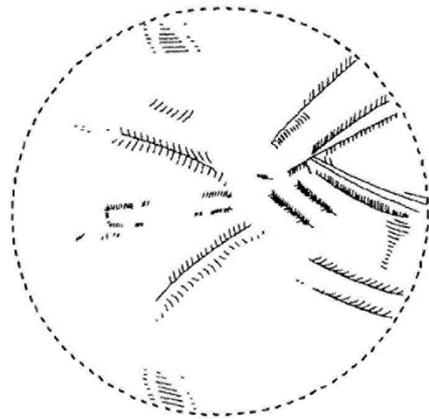


FIG. 5F

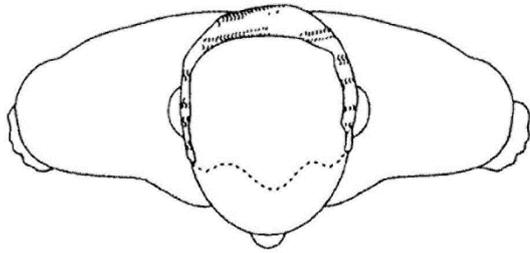


FIG. 6A

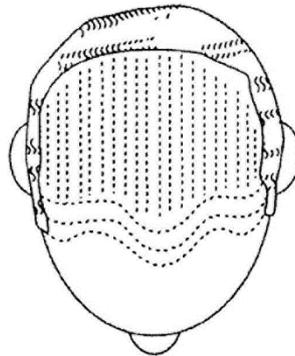


FIG. 6B

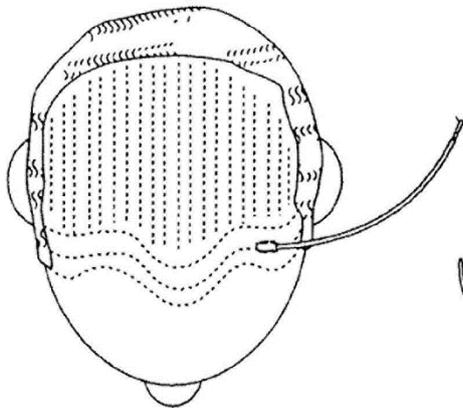


FIG. 6C

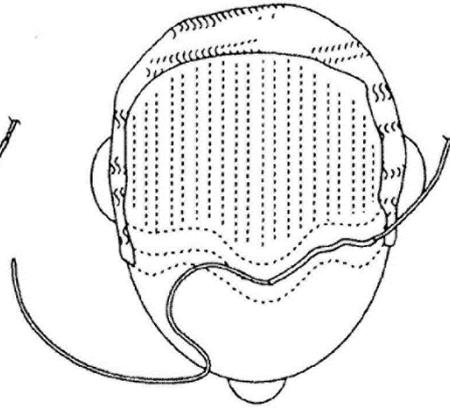


FIG. 6E

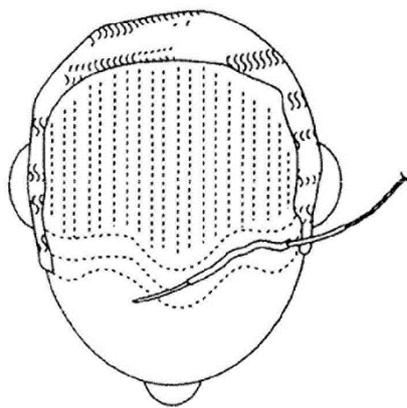


FIG. 6D

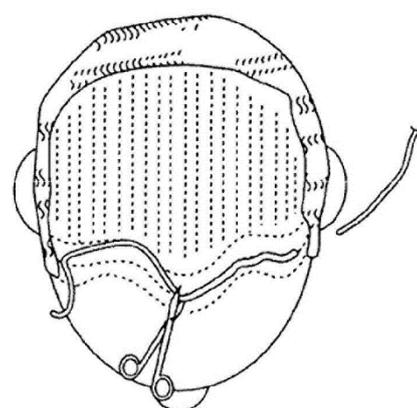


FIG. 6F

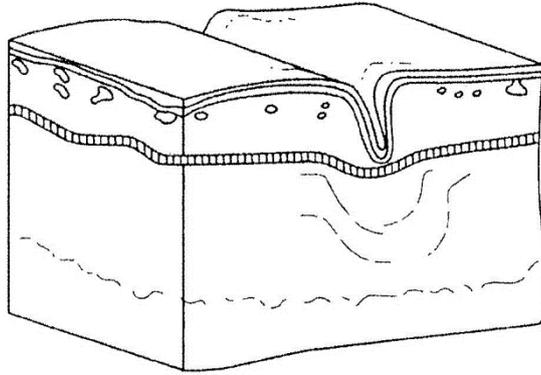


FIG. 7A

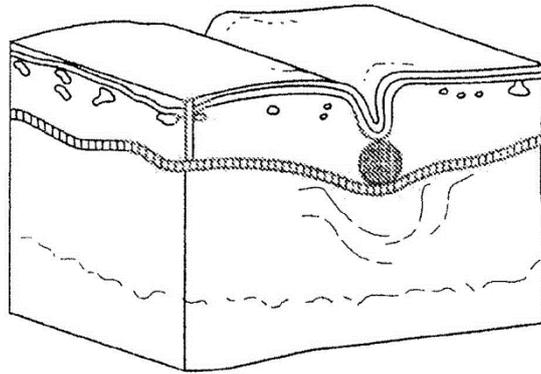


FIG. 7B

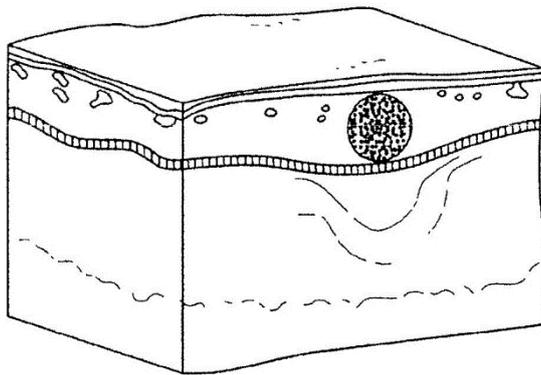


FIG. 7C

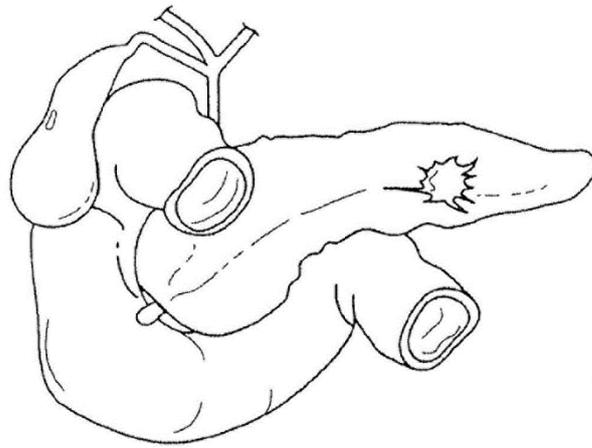


FIG. 8A

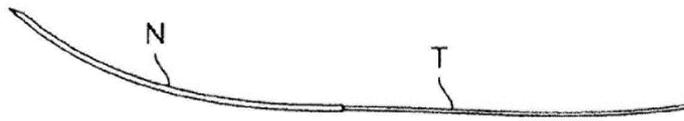


FIG. 8B

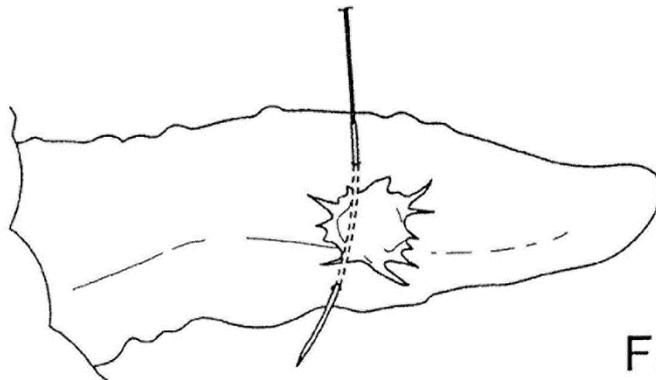


FIG. 8C

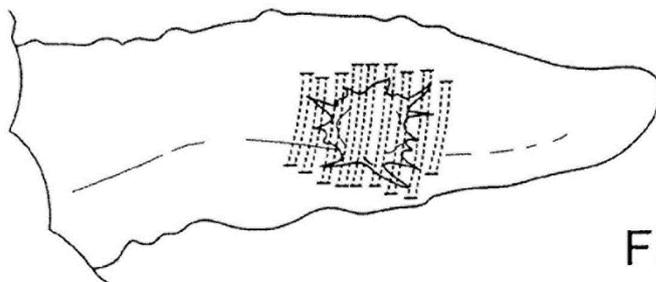


FIG. 8D

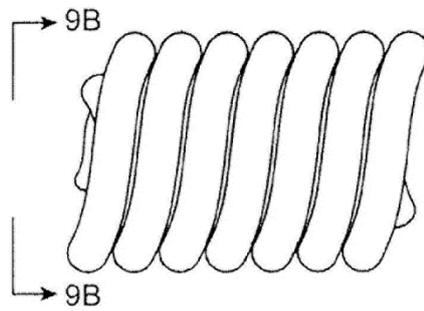


FIG. 9A

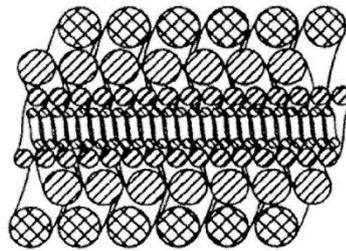


FIG. 9B

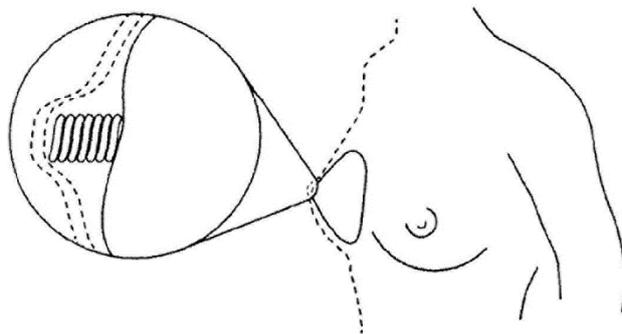


FIG. 9C

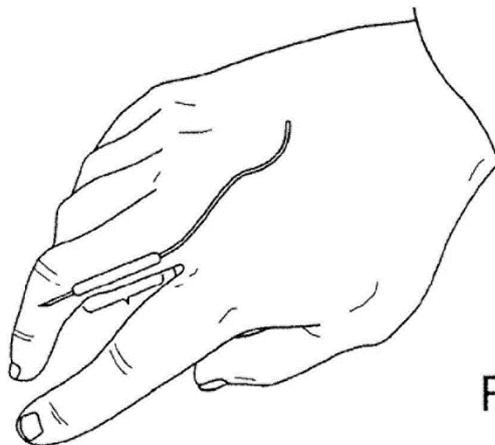


FIG. 10

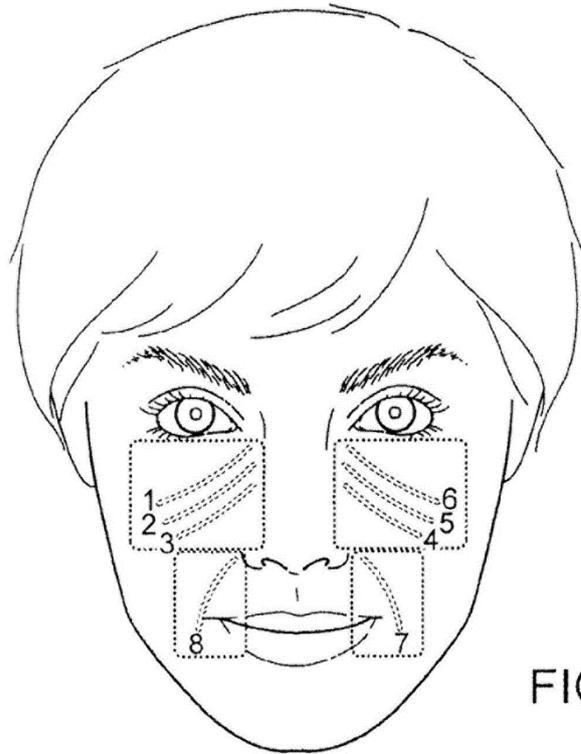


FIG. 11A

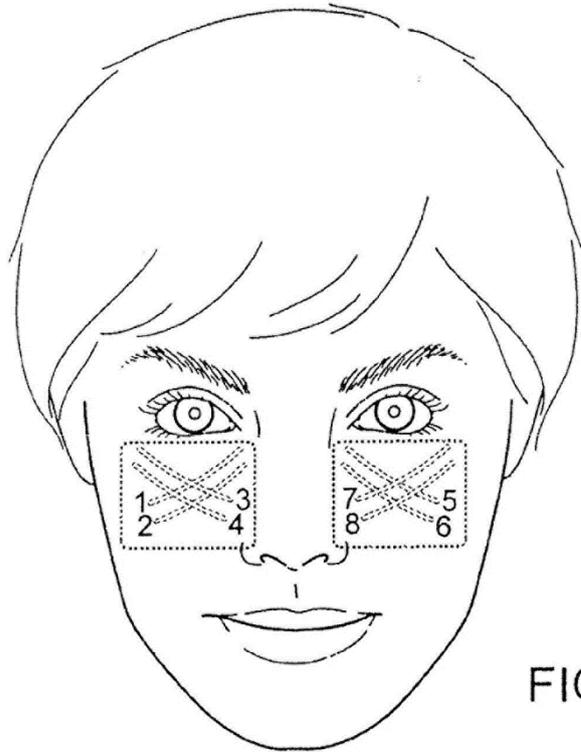


FIG. 11B

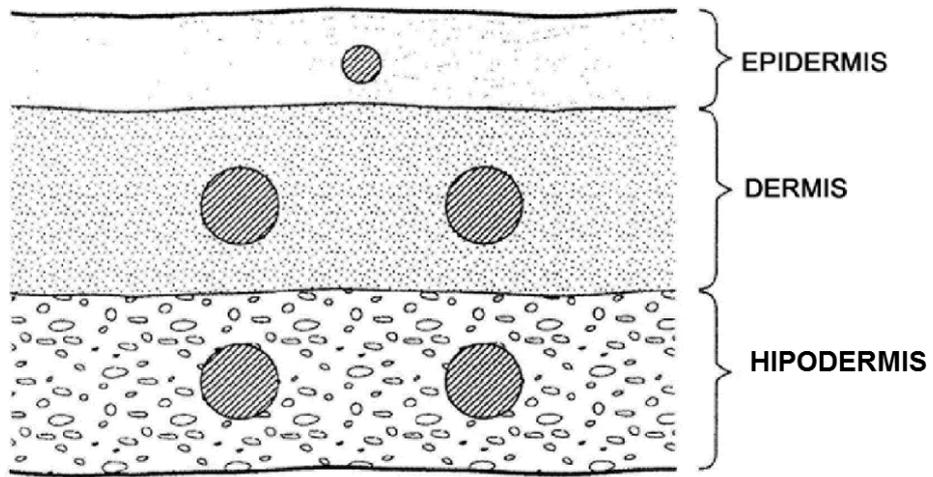


FIG. 11C

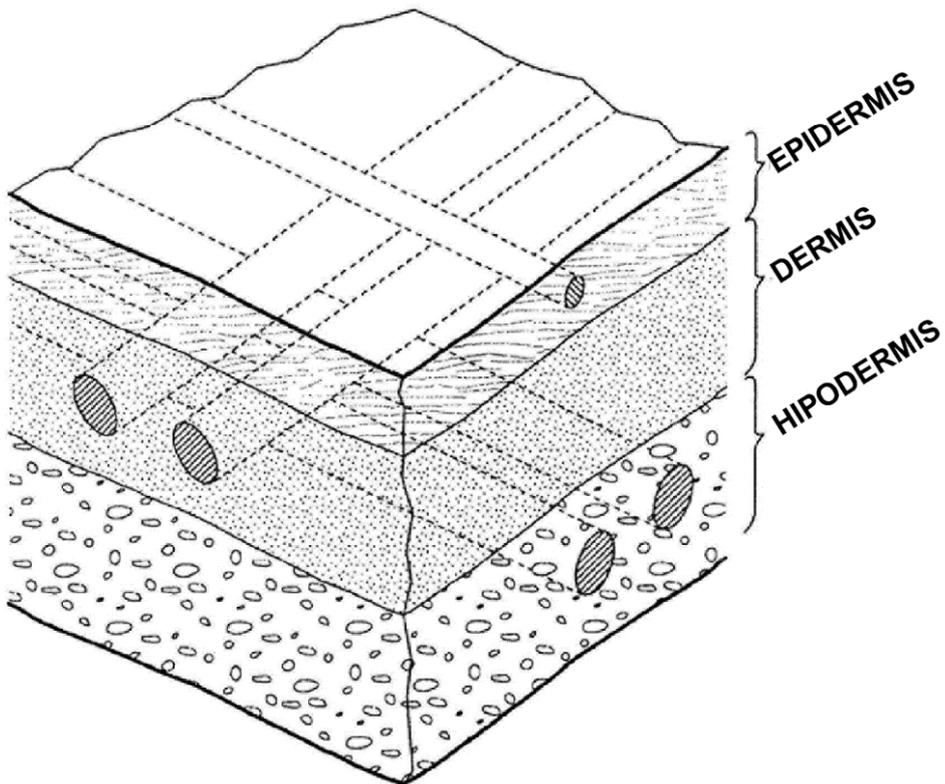


FIG. 11D

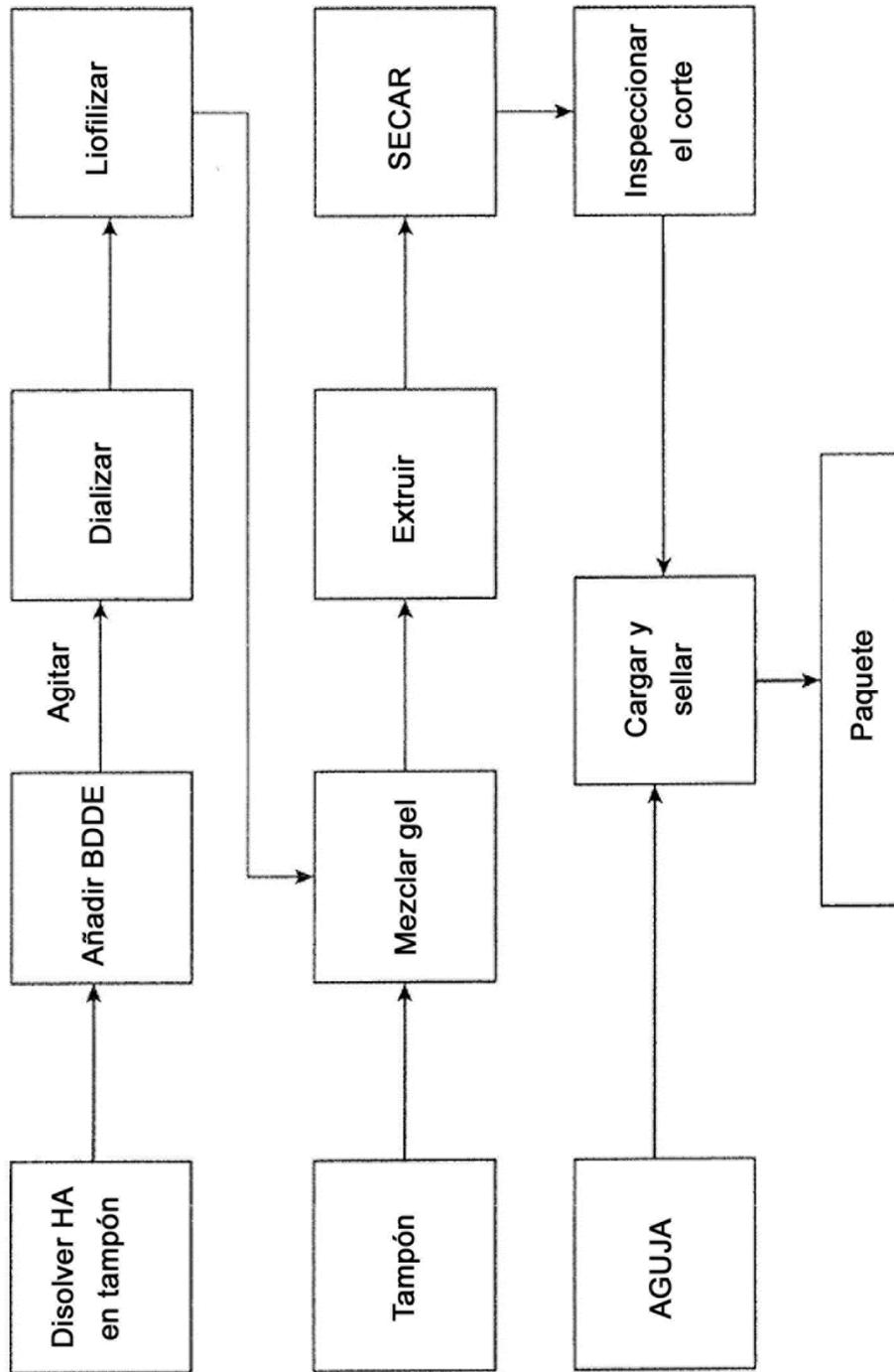


FIG. 12