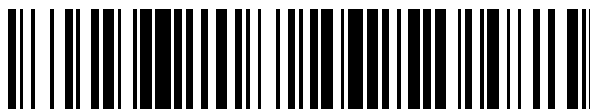


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 868 134**

51 Int. Cl.:

A61L 27/18 (2006.01)
A61L 27/58 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01)
A61P 13/10 (2006.01)
A61P 15/10 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 19/04 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.05.2018** **E 18175001 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.02.2021** **EP 3409301**

54 Título: **Composición médica y cosmética biodegradable reabsorbible**

30 Prioridad:

30.05.2017 EP 17173563

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.10.2021

73 Titular/es:

AQPHA IP B.V. (100.0%)
Daltonlaan 400
3584 BK Utrecht, NL

72 Inventor/es:

STOUTHAMER, JEFFREY MARKGREGORIUS MARIA;
DOS SANTOS ROCHA, MÓNICA EUNICE;
SUPÈR, HENDERIKUS y
LANKHORST, ALEXIUS JOSEPHUS

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 868 134 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

Composición médica y cosmética biodegradable reabsorbible

5 Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere al campo de las composiciones médicas y cosméticas biodegradables reabsorbibles.

10 Estado de la técnica

[0002] Con el aumento de la edad y/o a consecuencia de determinadas enfermedades, los tejidos blandos del cuerpo, incluidos el músculo, la piel y la grasa, pueden reducirse, afectando a la apariencia y/o disminuyendo la función. Por ejemplo, los músculos del esfínter que controlan muchas de las funciones autónomas del cuerpo, tales como el control de la función de la vejiga y el reflujo gástrico, disminuyen con la edad y la enfermedad. Ya se han desarrollado varios compuestos de relleno médicos y cosméticos (denominados también compuestos de aumento de tejido o compuestos de corrección de tejido). Los productos de relleno de origen de animal, como el colágeno bovino inyectable, tienen varios inconvenientes relativos principalmente al riesgo de alergia y la amenaza de enfermedades como la enfermedad de Kreutzfeld Jacob. Como una alternativa al colágeno bovino inyectable, se han desarrollado otros implantes de relleno que comprenden una suspensión o emulsión de partículas hechas de ácido láctico polimérico y/o unidades de repetición de ácido glicólico (US 2003/093157 y WO 98/56431). Otros productos de relleno están basados, por ejemplo, en poli-ε-caprolactona (PCL) (WO2009/014441) o ácido hialurónico (HA) (Wang et al, 2007).

[0003] Una característica clave de un producto de relleno dérmico de larga duración y eficaz es que induce una respuesta a un cuerpo extraño en una medida que da como resultado la síntesis *de novo* de colágeno, preferiblemente colágeno de tipo III, y además preferiblemente, en última instancia, colágeno de tipo I. De hecho, pero sin pretender imponer ninguna teoría, la respuesta ideal a un cuerpo extraño a un producto de relleno dérmico de larga duración está limitada a la síntesis *de novo* de colágeno, preferiblemente colágeno de tipo III y más preferiblemente también y en última instancia colágeno de tipo I, además de la reabsorción del producto; la formación de colágeno debería ser el resultado de una respuesta normal a un cuerpo extraño y la reorganización y cicatrización del tejido. Una respuesta a un cuerpo extraño demasiado fuerte al producto de relleno y/o cualquier compuesto del mismo puede dar como resultado una inflamación grave, la formación de nódulos y otros efectos no deseados.

[0004] Los productos de relleno de la técnica anterior tienen varios inconvenientes. La reabsorción *in vivo* de HA lineal no reticulado es bastante rápida, ya que se reabsorbe típicamente dentro de unos pocos días o semanas. Para aumentar el tiempo de reabsorción, el HA requiere una reticulación química. Sin embargo, un reticulante químico puede ser tóxico, y cantidades residuales de reticulante están presentes en el HA reticulado inyectado que se usa para el aumento de tejido. Además, la degradación de HA da como resultado la formación de productos ácidos que pueden inducir y/o potenciar la respuesta inflamatoria. De manera importante, no hay evidencia de que los productos de relleno de HA estimulen la síntesis *de novo* y la producción de cantidades significativas de cualquier tipo de colágeno que, después de la reabsorción completa del producto, reemplazará la pérdida de volumen que proporciona un efecto de larga duración sostenido del producto de relleno.

[0005] Un estudio (Wang et al, 2007) ha confirmado que el HA reticulado no induce por sí mismo la producción de colágeno. Aunque se observaron pequeños depósitos de colágeno alrededor del producto de relleno de HA después de la inyección en piel fotodañada del antebrazo, se considera que esto es debido al estiramiento mecánico de los fibroblastos de la piel, como resultado de la inyección de producto y no debido al producto de HA o cualquier componente del mismo.

[0006] Los productos de relleno dérmicos hechos con polímeros sintéticos tales como PCL, ácido poliglicólico (PGA), ácido poli(L-láctico) (PLLA) también tienen inconvenientes. Ante todo, estos polímeros se degradan esencialmente a través de la erosión en masa, y como el HA, su degradación da como resultado la formación inevitable de productos ácidos. Además, estos polímeros son de estructura semicristalina, es decir, contienen tanto regiones amorfas como cristalinas, y las regiones amorfas de los polímeros se degradan antes que las áreas cristalinas. Como resultado, las partículas cristalinas que (tras la degradación) permanecen en el tejido circundante pueden cambiar el perfil de biocompatibilidad del producto; su morfología y forma pueden irritar más tarde el tejido y causar inflamación. Por ejemplo, se ha descubierto para el PLLA que, cerca del sitio del implante original, se formaron partículas estables de alta cristalinidad tras la degradación, lo que parece estar relacionado con una inflamación subcutánea en los pacientes tres años después de la operación. Por lo tanto, se prefiere un compuesto completamente amorfo o no cristalino para el aumento de tejido.

[0007] La US2008107744 divulga implantes de tejido inyectable que comprenden micropartículas de poli(glicólido-co-carbonato de trimetileno), carbonato de polítrimetileno o poli(glicólido-co-carbonato de trimetileno-co-dioxanona) suspendido en un portador.

[0008] Por consiguiente, hay una necesidad de un producto de relleno sintético mejorado que se reabsorbe esencialmente a través de un mecanismo de erosión superficial; que no requiere reticulación a través de compuestos químicos tóxicos; que se reabsorbe por un proceso que no libera productos derivados ácidos; preferiblemente tiene un tiempo de reabsorción ajustable y, de manera importante, induce una respuesta a un cuerpo extraño apropiada con síntesis *de novo* de colágeno, preferiblemente de tipo III y más preferiblemente también y en última instancia de tipo I sin efectos secundarios indeseables.

Resumen de la invención

[0009] La invención proporciona una composición reabsorbible *in vivo* como se define en la reivindicación 1.

[0010] La invención provee además para el uso de una composición reabsorbible *in vivo* según la invención para la preparación de un medicamento para tratar una anomalía o desfiguración de la piel, para controlar la función de la vejiga, para controlar el reflujo gástrico, para tratar la disfunción eréctil y/o la eyaculación precoz, para tratar las cuerdas vocales y/o para el tratamiento de enfermedades de las articulaciones y del cartílago. La invención provee además para el uso de una composición reabsorbible *in vivo* según la invención para el tratamiento de una anomalía o desfiguración de la piel, para controlar la función de la vejiga, para controlar el reflujo gástrico, para tratar la disfunción eréctil y/o la eyaculación precoz, para tratar las cuerdas vocales y/o para el tratamiento de las enfermedades de las articulaciones y del cartílago.

[0011] La divulgación se refiere a un método para tratar una anomalía o desfiguración de la piel, controlar la función de la vejiga, controlar el reflujo gástrico, tratar la disfunción eréctil y/o la eyaculación precoz, tratar las cuerdas vocales, y/o tratar las enfermedades de las articulaciones y el cartílago que comprende la administración de una composición reabsorbible *in vivo* según la invención.

[0012] La divulgación se refiere además al uso de una composición reabsorbible *in vivo* según la invención en una aplicación cosmética o estética, preferiblemente una aplicación para el aumento de tejido, más preferiblemente una aplicación como un implante dérmico o relleno dérmico.

Descripción detallada de la invención

[0013] Los inventores han llegado a un compuesto que tiene sorprendentemente todas las características requeridas; dicho compuesto es poli(1,3-trimetileno carbonato) (PTMC). Cuando se compara con el HA, el PTMC produce una mejor estimulación y síntesis de colágeno, como se observa ya después de cuatro semanas (véanse los ejemplos incluidos a continuación), creando un efecto más duradero. En vista de otros productos de relleno sintéticos, el PTMC es un compuesto amorfo, no cristalino que se degrada enzimáticamente durante la reabsorción. En consecuencia, la reabsorción de PTMC implica un comportamiento de degradación que erosiona la superficie por el cual no se forma ningún producto ácido.

[0014] Los polímeros a base de PTMC y carbonato de trimetileno (TMC) se han investigado extensamente por su potencial uso en varias aplicaciones biomédicas. Por ejemplo, el PTMC se usa en la preparación de dispositivos ortopédicos biorreabsorbibles y otros implantes de refuerzo de tejidos, barreras abdominales antiadherencia, andamios para la ingeniería tisular ósea o la regeneración guiada de los nervios, recubrimiento de *stents* e injertos para aplicaciones cardiovasculares. En estas aplicaciones, el PTMC se mezcla a menudo con otros polímeros biorreabsorbibles sintéticos tal como PGA y PEG o solo PGA o el monómero TMC se copolimeriza con los monómeros correspondientes de los polímeros biorreabsorbibles. Gui et al (2010), por ejemplo, se refiere al desarrollo de un andamio de polímero biodegradable para la ingeniería tisular vascular compuesto principalmente por PGA, donde se añadieron PTMC y PEG para modular el comportamiento de degradación. La aplicación en Gui et al no es una aplicación intradérmica, dérmica o subcutánea y, de manera importante, no hay ninguna sugerencia de que el PTMC pueda inducir la síntesis *de novo* de colágeno, menos aún ya después de cuatro semanas. Además, el copolímero en Gui et al comprende el polímero de PGA semicristalino, que, durante la reabsorción, da como resultado la producción de ácido. Mukherjee et al (2009) se refiere a un andamio bioabsorbible para el crecimiento de células condrogénicas en la ingeniería tisular de cartílago donde el PGA se usó como polímero básico al que se le añadió PTMC. Esta no es una aplicación intradérmica, dérmica o subcutánea, y no hay sugerencia de que el PTMC pueda inducir la síntesis *de novo* de colágeno, menos aún ya después de cuatro semanas. Además, el copolímero en Mukherjee et al comprende el PGA semicristalino, que durante la reabsorción da como resultado la producción de ácido. Bat et al (2010) se refiere a la investigación de la degradación *in vivo* de películas de PTMC, PCL y copolímeros después de la implantación subcutánea. De manera importante, no se halló ninguna evidencia de que el PTMC pueda inducir la síntesis *de novo* de colágeno, menos aún ya después de cuatro semanas.

[0015] Por consiguiente, la invención proporciona una composición reabsorbible *in vivo* que comprende un polímero de poli(1,3-trimetileno carbonato) (PTMC) y un portador de gel reabsorbible, donde el portador de gel es un gel polisacárido acuoso.

[0016] Se hace referencia en la presente a dicha composición como una composición según la invención. El término reabsorbible y su sinónimo biodegradable tiene en la presente su significado como se conoce en el campo y típicamente significa que la composición según la invención se degradará *in vivo*, es decir, en el cuerpo de un vertebrado, preferiblemente un mamífero. Preferiblemente, los términos biodegradabilidad y reabsorbilidad de la composición según la invención se interpretan en vista del PTMC, ya que este típicamente tiene un tiempo de biodegradabilidad y reabsorbilidad (tiempo de reabsorción) *in vivo* más largo que el portador de gel. Preferiblemente, el portador de gel reabsorbible comprende la característica viscoelástica de comportamiento pseudoplástico. Por consiguiente, la composición según la invención comprende preferiblemente la característica viscoelástica de comportamiento pseudoplástico. El término reológico comportamiento pseudoplástico tiene en la presente su significado como se conoce en el campo y significa típicamente el comportamiento no newtoniano de fluidos cuya viscosidad se reduce bajo deformación por esfuerzo cortante. La deformación por esfuerzo cortante se define en la presente como un esfuerzo que es paralelo a un elemento, a diferencia de un esfuerzo normal que es perpendicular a un elemento.

[0017] El portador de gel es un portador de gel polisacárido y comprende o está compuesto de un polisacárido (también denominado intensificador de la viscosidad) seleccionado del grupo que consiste en un polisacárido derivado de la celulosa, un almidón, una quitina, un quitosano, un ácido hialurónico, un polisacárido modificado hidrofóticamente, un alginato, un carragenano, un agar, una agarosa, un complejo intramolecular de un polisacárido, un oligosacárido, un polisacárido macrocíclico y una mezcla de los mismos. Más preferiblemente, el portador de gel polisacárido comprende o está compuesto de un polisacárido derivado de la celulosa, seleccionado preferiblemente del grupo que consiste en carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa de agar, hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina, celulosa oxidada y una mezcla de las mismas; incluso más preferiblemente el portador de gel polisacárido reabsorbible comprende o está compuesto de carboximetilcelulosa sódica. La persona experta en la materia comprenderá que otros agentes pueden estar presentes en el portador de gel, tal como, pero de forma no limitativa, (i) un intensificador de densidad que puede, por ejemplo, ser seleccionado del grupo que consiste en sorbitol, manitol y fructosa; otros agentes de densidad adecuados pueden también ser usados, (ii) un agente humectante de tonicidad tal como un polisorbato (por ejemplo Tween 20, 40, 60 u 80); otros agentes humectantes de tonicidad adecuados también pueden ser usados. Un portador de gel reabsorbible según la invención puede incluir cantidades variables de un intensificador de densidad y/o un intensificador de humectación de tonicidad.

[0018] La composición según la invención se puede almacenar en un recipiente en forma de una suspensión estéril. Preferiblemente, un recipiente es una jeringa precargada lista para usar. La composición puede, en una forma de realización, ser liofilizada y reconstituida de manera extemporánea para preparaciones inyectables. Alternativamente, un recipiente puede ser un frasco. Aquí también, en cuanto a una jeringa, un frasco puede contener la composición según la invención lista para ser usada. El agua usada para reconstituir de manera extemporánea el gel en una jeringa o en un frasco puede ser agua destilada, agua destilada doble, agua esterilizada o PBS (solución salina tamponada con fosfato). Por consiguiente, la invención también proporciona un recipiente, preferiblemente una jeringa lista para usar, que comprende la composición según la invención. Un portador de gel reabsorbible según la invención puede comprender además un componente seleccionado del grupo que consiste en un crioprotector y un agente tampón. Un agente crioprotector es un producto químico que inhibe o reduce la formación de cristales de hielo dañinos en tejidos biológicos durante el enfriamiento. Los agentes crioprotectores adecuados incluyen, pero de forma no limitativa, azúcares y carbohidratos, tal como D-manitol, lactosa, sacarosa, fructosa, sorbitol y dextrano, de los cuales se prefiere el D-manitol. La concentración de un crioprotector en el portador del gel puede variar dependiendo de la aplicación destinada y la identidad del crioprotector elegido. Un agente tampón es un compuesto químico o compuestos que se añade(n) a una solución para permitir a esa solución que resista a los cambios en el pH como resultado de la dilución o pequeñas adiciones de ácidos o bases. Los sistemas de tampón eficaces emplean soluciones que contienen concentraciones grandes y aproximadamente iguales de un par ácido-base conjugado (o agentes tampón). Un agente tampón empleado en la presente puede ser cualquier o cualesquiera compuesto(s) químico(s) tal(es) que sea(n) farmacéuticamente aceptable(s), incluidos, pero de forma no limitativa, sales (ácidos y/o bases conjugados) de fosfatos y citratos. Preferiblemente, el portador de gel polisacárido reabsorbible comprende suero salino tamponado con fosfato (PBS).

[0019] En la composición según la invención, el PTMC puede ser cualquier PTMC conocido por la persona experta en la materia. Preferiblemente, el PTMC es un homopolímero, un polímero lineal, un polímero ramificado, un copolímero, un terpolímero, una mezcla o compuesto de diferentes tipos de homo/co/terpolímeros, o un polímero reticulado. Una mezcla de polímeros según la invención que comprende PTMC comprende además preferiblemente un polímero seleccionado del grupo que consiste en PCL, PGA, PLLA, PEG, PVA y PVP. La reticulación se puede realizar usando cualquier método conocido por la persona experta en la materia, tal como, pero de forma no limitativa, reticulación química, reticulación térmica y reticulación por radiación; se prefiere la reticulación no química (por ejemplo la reticulación por radiación o por calor sin adición de ningún agente de reticulación químico), ya que los productos químicos usados para la reticulación pueden ser tóxicos. Preferiblemente, el PTMC tiene un peso molecular medio en número (Mn) de 500 a >500.000 g/mol, preferiblemente de 500 a 600.000 g/mol, más preferiblemente de 500 a 500.000 g/mol, más preferiblemente de 100.000 a 350.000 g/mol o de 50.000 a 600.000 g/mol, tal como 50.000, 100.000, 125.000, 150.000, 165.000,

185.000, 200.000, 225.000, 250.000, 265.000, 285.000, 300.000, 325.000, 350.000, 365.000, 385.000, 400.000, 425.000, 450.000, 465.000, 485.000, 490.000, 500.000, 525.000, 550.000, 565.000, 585.000 y 600.000 g/mol. También se prefieren los rangos de peso molecular promedio en número (Mn), tal como un peso molecular bajo de entre 100.000 y 200.000 g/mol, un peso molecular medio de 200.000 a 300.000 g/mol y un peso molecular alto de 300.000 y 600.000 g/mol. La persona experta en la materia comprenderá que el peso molecular medio en número (Mn) de un polímero no es exacto como las cifras que normalmente se presentan; así, las cifras de Mn pueden interpretarse como 'aproximadamente' el peso molecular medio en número (Mn), es decir, el valor $\pm 10\%$. Por consiguiente, preferiblemente, el PTMC tiene un peso molecular medio en número (Mn) de aproximadamente 500 a $>$ aproximadamente 500.000 g/mol, preferiblemente de aproximadamente 500 a aproximadamente 600.000 g/mol, más preferiblemente de aproximadamente 500 a aproximadamente 500.000 g/mol, más preferiblemente de aproximadamente 100.000 a aproximadamente 350.000 g/mol o de aproximadamente 50.000 a aproximadamente 600.000 g/mol, tal como aproximadamente 50.000, aproximadamente 100.000, aproximadamente 125.000, aproximadamente 150.000, aproximadamente 165.000, aproximadamente 185.000, aproximadamente 200.000, aproximadamente 225.000, aproximadamente 250.000, aproximadamente 265.000, aproximadamente 285.000, aproximadamente 300.000, aproximadamente 325.000, aproximadamente 350.000, aproximadamente 365.000, aproximadamente 385.000, aproximadamente 400.000, aproximadamente 425.000, aproximadamente 450.000, aproximadamente 465.000, aproximadamente 485.000, aproximadamente 490.000, aproximadamente 500.000, aproximadamente 525.000, aproximadamente 550.000, aproximadamente 565.000, aproximadamente 585.000 y aproximadamente 600.000 g/mol. También se prefieren los rangos de peso molecular medio en número (Mn), tal como un peso molecular bajo de entre aproximadamente 100.000 y aproximadamente 200.000, un peso molecular medio de aproximadamente 200.000 a aproximadamente 300.000 y un peso molecular alto de aproximadamente 300.000 y 600.000. Preferiblemente, la cantidad de PTMC en vista de polímero sintético total es al menos un 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% o al menos un 95%. Más preferiblemente, la cantidad de PTMC en vista de polímero sintético total es del 100%.

[0020] En la composición según la invención, el PTMC puede estar en cualquier forma conocida por la persona experta en la materia. Preferiblemente, el PTMC está en forma de una partícula, tal como una nanopartícula y una micropartícula; preferiblemente, en forma de micropartícula (también denominada "microesfera"). Tal partícula de PTMC comprende preferiblemente al menos un 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% o al menos un 95% de PTMC. Más preferiblemente, la partícula de PTMC consiste esencialmente en PTMC o consiste en un 100% de PTMC.

[0021] Las micropartículas según la invención tienen las características siguientes:

- i) un diámetro en el rango entre 1 y 200 μm , más preferiblemente entre 5 y 200 μm , más preferiblemente entre 20 y 200 μm , aún más preferiblemente entre 20 y 150 μm , aún más preferiblemente entre 30 y 90 μm , aún más preferiblemente entre 25 y 75 μm , aún más preferiblemente entre 38 y 75 μm , aún más preferiblemente entre 25 y 50 μm . Un rango de diámetro más preferido es 40 $\mu\text{m} \pm 10\%$ o $\pm 20\%$, tal como un diámetro en el rango entre 32 y 48 μm .
- ii) densidad, forma y contenido homogéneos, en toda la micropartícula,
- iii) forma esférica (esencialmente redonda) y suavidad de superficie y
- iv) microesferas esencialmente esféricas.

[0022] La morfología de las micropartículas puede ser evaluada usando métodos conocidos en la técnica, por ejemplo usando microscopía óptica o usando microscopía electrónica de barrido (looss et al, 2001, que se incorpora en la presente por referencia).

[0023] Las micropartículas se pueden producir usando métodos conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, los métodos divulgados en looss et al (2001) y Chen et al (2000). El PTMC puede disolverse en un solvente orgánico tal como diclorometano (DCM). Después de la formación de las micropartículas, tal como por un método en looss et al, mezclando el PTMC en un solvente orgánico con un líquido acuoso que comprende un tensioactivo, el solvente orgánico se puede eliminar por evaporación de extracción. El PTMC y/o las micropartículas según la invención se pueden reticular durante o después de la producción usando métodos conocidos por la persona experta en la materia, como se ha descrito aquí anteriormente.

[0024] La composición según la invención puede comprender cantidades variables de PTMC, preferiblemente micropartículas, en función de la aplicación pretendida. En la composición según la invención, el PTMC (las micropartículas) está(n) preferiblemente presente(s) en una concentración de aproximadamente 1 a aproximadamente 40 por ciento en volumen (v/v). Aún más preferiblemente, el PTMC (las micropartículas) está(n) presente(s) en una concentración de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en volumen (v/v) o de un 10 a un 30 por ciento en volumen (v/v). Aún más preferiblemente, el PTMC (las micropartículas) está(n) presente(s) en una concentración de aproximadamente 10 a aproximadamente 40 por ciento en volumen (v/v), de aproximadamente 20 a aproximadamente 40 por ciento en volumen (v/v) o de aproximadamente 30 a aproximadamente 40 por ciento en volumen (v/v). Aún más preferiblemente, el PTMC (las micropartículas) está(n) presente(s) en una concentración de aproximadamente un 30 por ciento en volumen (v/v).

[0025] En la composición según la invención, el PTMC (las micropartículas) está(n) preferiblemente presente(s) en una concentración de un 1 a un 40 por ciento en volumen (v/v). Aún más preferiblemente, el PTMC (las micropartículas) está(n) presente(s) en una concentración de 10 a 30 por ciento en volumen (v/v) o de un 10 a un 30 por ciento en volumen (v/v). Aún más preferiblemente, el PTMC (las micropartículas) está(n) presente(s) en una concentración de un 10 a un 40 por ciento en volumen (v/v), de un 20 a un 40 por ciento en volumen (v/v) o de un 30 a un 40 por ciento en volumen (v/v). Aún más preferiblemente, el PTMC (las micropartículas) está(n) presente(s) en una concentración de un 30 por ciento en volumen (v/v).

[0026] En la composición según la invención, el material portador de gel está presente en una concentración de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 20 por ciento en peso (p/p). Más preferiblemente, el material portador de gel está presente en una concentración de un 0,2 a un 20 por ciento en peso. Aún más preferiblemente, el material portador de gel está presente en una concentración de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 5 por ciento en peso; aún más preferiblemente, el material portador de gel está presente en una concentración de un 1 a un 5 por ciento en peso. Preferiblemente, está presente al menos aproximadamente un 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,2, 1,4, 1,6, 1,8, 2,0, 2,2, 2,4, 2,6, 2,8, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9, 4,0, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9 o 5 por ciento en peso del material portador de gel y como mucho está presente aproximadamente un 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,9, 4,8, 4,7, 4,6, 4,5, 4,4, 4,3, 4,2, 4,1, 4,0, 3,9, 3,8, 3,7, 3,6, 3,5, 3,4, 3,3, 3,2, 3,1, 3,0, 2,8, 2,6, 2,4, 2,2, 2,0, 1,8, 1,6, 1,4, 1,2, 1,0, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4 o 0,3 por ciento en peso. Más preferiblemente, al menos está presente un 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,2, 1,4, 1,6, 1,8, 2,0, 2,2, 2,4, 2,6, 2,8, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9, 4,0, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9 o 5 por ciento en peso del material portador de gel y como mucho está presente un 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,8, 4,6, 4,4, 4,2, 4,0, 3,8, 3,6, 3,4, 3,2, 3,0, 2,8, 2,6, 2,4, 2,2, 2,0, 1,8, 1,6, 1,4, 1,2, 1,0, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4 o 0,3 por ciento en peso. Un rango preferido de material portador de gel es de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 8 por ciento en peso, un rango más preferido es de aproximadamente un 0,4 a aproximadamente un 7 por ciento en peso, un rango más preferido es de aproximadamente un 0,5 a aproximadamente un 6 por ciento en peso, un rango más preferido es de aproximadamente un 0,6 a aproximadamente un 5 por ciento en peso, un rango más preferido es de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 5 por ciento en peso. Un rango preferido de polisacárido reabsorbible del portador de gel es de un 0,2 a un 8 por ciento en peso, un rango más preferido es de un 0,4 a un 7 por ciento en peso, un rango más preferido es de un 0,5 a un 6 por ciento en peso, un rango más preferido es de un 0,6 a un 5 por ciento en peso, un rango más preferido es de un 1 a un 5 por ciento en peso. Un rango preferido de portador de gel es de un 0,8 a un 5 por ciento en peso, un rango más preferido es de un 1 a un 4 por ciento en peso, un rango más preferido es de un 1,8 a un 4 por ciento en peso, un rango más preferido es de un 2 a un 4 por ciento en peso, un rango más preferido es de un 3 a un 4 por ciento en peso, un rango más preferido es de un 3,5 a un 4 por ciento en peso. Preferiblemente, la composición según la invención tiene una viscosidad de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 5.000.000 mPa.s a temperatura ambiente. La viscosidad se mide preferiblemente bajo condiciones atmosféricas y a temperatura ambiente, que es de 20 grados Celsius, y la medición se realiza preferiblemente con un viscosímetro rotacional (por ejemplo Brookfield Viscometer DV2T) equipado con un husillo adecuado (por ejemplo la serie LV o T-Bar) para generar un par de fuerzas adecuado (típicamente 50-75%) cuando se aplica una velocidad de rotación de 1 rpm.

[0027] En la composición según la invención, un compuesto adicional puede estar presente, preferiblemente un compuesto activo, preferiblemente un anestésico. Los anestésicos ejemplares incluyen, pero de forma no limitativa, lidocaína, novocaína, benzocaína, prilocaína, ripivacaína y propofol. Otros medicamentos que se pueden emplear en una composición según la invención incluyen: un péptido, un agente de regeneración de tejidos, un antibiótico, un esteroide, fibronectina, una citocina, un factor de crecimiento, un analgésico, un antiséptico, interferón alfa, beta o gamma, eritropoyetina, un glucagón, calcitonina, heparina, interleucina-1, interleucina-2, filgrastim, ADNc, ADN, ARN, una proteína, un péptido, hormona del crecimiento humana (HGH), hormono luteinizante, factor natriurético auricular, Factor VIII, Factor IX, ARN, un anticuerpo, un quimioterapéutico, hormona foliculoestimulante y combinaciones de las mismas. El compuesto adicional también puede ser un excipiente, tal excipiente es preferiblemente de calidad farmacéutica. Un excipiente preferido es glicerol. El glicerol hará que la composición sea más lúbrica. Preferiblemente, el glicerol está presente en una concentración de aproximadamente un 0,05 a aproximadamente un 5 por ciento en peso (p/p). Más preferiblemente, el glicerol está presente en una concentración de aproximadamente un 0,1 a aproximadamente un 4 por ciento en peso, más preferiblemente en una concentración de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 2 por ciento en peso. Preferiblemente, el glicerol está presente en una concentración de un 0,05 a un 5 por ciento en peso (p/p). Más preferiblemente, el glicerol está presente en una concentración de un 0,1 a un 4 por ciento en peso, más preferiblemente en una concentración de un 0,2 a un 2 por ciento en peso.

[0028] Preferiblemente, todos los compuestos de la composición según la invención son biocompatibles. Preferiblemente, la composición según la invención, que comprende un portador de gel reabsorbible (preferiblemente un gel acuoso) y es una composición acuosa, se tampona para mantener la composición a un pH fisiológico, es decir, aproximadamente pH 7,4. La persona experta en la materia sabe cómo tamponar una solución y seleccionará el compuesto tampón apropiado. El compuesto tampón puede ser, pero de manera no limitativa, un fosfato y/o un citrato.

[0029] Preferiblemente, la composición según la invención es una composición farmacéutica, lo que significa que todos los compuestos y toda la combinación (es decir, la composición) es de calidad farmacéutica.

[0030] Alternativamente, o en combinación con lo anterior, la composición según la invención es una composición cosmética o estética. Esto no excluye que la composición sea de calidad farmacéutica, sino que significa que es (también) adecuada para el uso cosmético o estético.

[0031] Preferiblemente, la composición según la invención es adecuada para el aumento de tejido, preferiblemente tejido blando tal como tejido conjuntivo como tendones, ligamentos, fascia, piel, tejidos fibrosos, grasa y membranas sinoviales, preferiblemente un implante o relleno para uso intradérmico, dérmico profundo, subdérmico o subcutáneo.

[0032] La divulgación se refiere al uso médico de la composición según la invención.

[0033] Por consiguiente, la invención proporciona una composición según la invención para el uso como un medicamento, preferiblemente para tratar una anomalía o desfiguración de la piel, para controlar la función de la vejiga (tratamiento de la deficiencia del esfínter urinario), para controlar el reflujo gástrico (tratamiento de deficiencia del esfínter pilórico), para tratar la disfunción eréctil y/o la eyaculación precoz, para tratar anomalías congénitas, para rellenar las encías para el tratamiento dental, para tratar las cuerdas vocales y/o para la lubricación de articulaciones y cartílagos (tratamiento de la osteoartritis). La divulgación se refiere además al uso de una composición según la invención para la preparación de un medicamento para tratar una anomalía o desfiguración de la piel, para controlar la función de la vejiga (tratamiento de la deficiencia del esfínter urinario), para controlar el reflujo gástrico (tratamiento de la deficiencia del esfínter pilórico), para tratar la disfunción eréctil y/o la eyaculación precoz, para tratar anomalías congénitas, para rellenar las encías para el tratamiento dental, para tratar las cuerdas vocales y/o para la lubricación de articulaciones y cartílagos (tratamiento de la osteoartritis). La divulgación se refiere además al uso de una composición según la invención para el tratamiento de una anomalía o desfiguración de la piel, para controlar la función de la vejiga (tratamiento de la deficiencia del esfínter urinario), para controlar el reflujo gástrico (tratamiento de la deficiencia del esfínter pilórico), para tratar la disfunción eréctil y/o la disfunción eréctil, para tratar anomalías congénitas, para rellenar las encías para el tratamiento dental, para tratar las cuerdas vocales y/o para la lubricación de articulaciones y cartílagos (tratamiento de la osteoartritis). La divulgación se refiere además a un método de tratamiento de una anomalía o desfiguración de la piel, para controlar la función de la vejiga (tratamiento de la deficiencia del esfínter urinario), para controlar el reflujo gástrico (tratamiento de la deficiencia del esfínter pilórico), para tratar la disfunción eréctil y/o la eyaculación precoz, para tratar anomalías congénitas, para rellenar las encías para el tratamiento dental, para tratar las cuerdas vocales y/o para la lubricación de articulaciones y cartílagos (tratamiento de la osteoartritis) que comprende la administración de una composición según la invención a un sujeto, preferiblemente un mamífero, preferiblemente un ser humano. Un uso médico adicional de la composición según la invención es la sustitución, el refuerzo, la lubricación y/o la regeneración de cartílago.

[0034] En una forma de realización, una composición según la invención se usa como un implante o relleno para tratar varias deficiencias de los esfínteres tal como la incontinencia urinaria (control de la función de la vejiga). La pérdida de control de la vejiga puede deberse al estrés debido al movimiento físico (tos, estornudar, hacer ejercicio) y/o a la urgencia o la pérdida de cantidades grandes en momentos inesperados, incluido el sueño. Todos los tipos de incontinencias se pueden tratar usando una composición según la invención independientemente de la edad del paciente. La continencia depende de un depósito flexible y una eficiencia del esfínter que tiene dos componentes: (i) el músculo liso involuntario en el cuello de la vejiga; y (ii) el músculo esquelético voluntario del esfínter externo. Por lo tanto, se puede añadir una composición según la invención para localizar la compresión al músculo esfinteriano o la uretra, reduciendo así el tamaño del lumen a través de una o más inyecciones de la composición según la invención y así reducir sustancialmente o eliminar la incontinencia urinaria por estrés. En estos casos, una composición según la invención se puede insertar por inyección en el tejido uretral o periuretral. Así, un procedimiento típico implica inyectar una composición según la invención con la ayuda de un citoscopio en los tejidos alrededor del cuello de la vejiga creando un volumen de tejido aumentado, y la coaptación posterior del lumen uretral. Una composición según la invención añade volumen y ayuda a cerrar la uretra para reducir la incontinencia por estrés. La inyección puede repetirse típicamente periódicamente para unos resultados óptimos.

[0035] En una forma de realización, una composición según la invención se usa como un producto de relleno o como un implante para controlar el reflujo gástrico (para tratar una deficiencia del esfínter pilórico). La enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) implica la regurgitación del ácido gástrico del estómago y otro contenido en el esófago o el diafragma. El 70% de los episodios de reflujo ocurren durante las relajaciones espontáneas del esfínter esofágico inferior, o debido a una relajación prolongada después de la deglución. El 30% ocurren durante periodos de baja presión del esfínter. El síntoma principal es la acidez estomacal (de 30 a 60 minutos después de las comidas). Las manifestaciones atípicas de la ERGE incluyen: asma; tos crónica; laringitis; dolor de garganta; y dolor de pecho no relacionado con el corazón. La ERGE es una enfermedad de por vida que requiere modificaciones del estilo de vida, así como la intervención médica. Por lo tanto, una composición según la invención se puede inyectar para añadir volumen y localizar la compresión al esfínter esofágico inferior. Así, un procedimiento típico implica inyectar una composición según la invención con la ayuda de un endoscopio en los tejidos alrededor

del esfínter esofágico inferior creando un volumen de tejido aumentado, y la coaptación posterior, normalizando la presión del esfínter. Una composición según la invención añade volumen y ayuda a cerrar el esfínter para reducir el reflujo. La inyección se puede repetir anualmente para unos resultados óptimos. Una composición según la invención se puede inyectar usando anestesia local.

[0036] En una forma de realización, una composición según la invención se usa como un producto de relleno o como un implante para tratar la disfunción eréctil (DE) que puede afectar a hombres de todas las edades. Una composición según la invención se puede usar para tratar la DE. Un procedimiento típico implica la inyección de una composición según la invención directamente en la fascia profunda a lo largo de toda la longitud del cuerpo cavernoso.

[0037] En una forma de realización, una composición según la invención se usa como un producto de relleno o como un implante para tratar las cuerdas vocales. Una composición según la invención se puede usar para inyecciones intracordales del generador de voz laríngeo cambiando la forma de esta masa de tejido blando.

[0038] La invención provee además para el uso de una composición según la invención en una aplicación cosmética, preferiblemente una aplicación para el aumento de tejido, más preferiblemente una aplicación como un implante dérmico o relleno dérmico.

[0039] En este documento y en sus reivindicaciones, el verbo "comprender" y sus conjugaciones se usan en su sentido no limitante para significar que los artículos que siguen a la palabra están incluidos, pero los artículos no específicamente mencionados no están excluidos. Además, la referencia a un elemento por el artículo indefinido "una" o "un" no excluye la posibilidad de que más de uno del elemento esté presente, a menos que el contexto requiera claramente que haya uno y solo uno de los elementos. El artículo indefinido "un" o "una" significa por lo tanto normalmente "al menos uno/a".

[0040] La palabra "aproximadamente" cuando se usa en asociación con un valor numérico (por ejemplo aproximadamente 10) preferiblemente significa que el valor puede ser el valor dado (de 10) más o menos un 10% del valor.

[0041] La presente invención es descrita adicionalmente por los ejemplos siguientes, que no deberían interpretarse como limitativos del alcance de la invención.

Referencias

[0042]

Wang et al (2007); Arch Dermatol Vol 143, 155-163; In vivo Stimulation of De novo Collagen Production Caused by Cross-linked Hyaluronic Acid Dermal Filler Injections in Photodamaged Human Skin.

Gui et al (2010); Tissue Engineering: Part A, Volume 17, Numbers 9 and 10, 1191-1200; Development of Novel Biodegradable Polymer Scaffolds for Vascular Tissue Engineering.

Mukherjee et al (2010); Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 92-102 Effect of 3D-Microstructure of Bioabsorbable PGA:TMC Scaffolds on the Growth of Chondrogenic Cells.

Bat et al (2010); Journal of Biomedical Materials Research A | 1 DEC 2010 VOL 95A, ISSUE 3, 940-949.

looss et al (2001); Biomaterials 22, 2785-2794; A new injectable bone substitute combining poly(D,L-lactide) microparticles with biphasic calcium phosphate granules.

Chen et al (2000); Polymer degradation and Stability 67, 455-459; Polycaprolactone Microparticles and their Biodegradation.

Suvarna KS et al (2018); Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques, 8ª ed por Kim S Suvarna, Christopher Layton y John D. Bancroft.

Junqueira LC et al (1979); Histochem J 1979, 11(4):447-55; Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections.

Alves A et al (2015); Microsc Res Tech 2015,78(10):900-7; Computerized histomorphometric study of the splenic collagen polymorphism: A control-tissue for polarization microscopy. Lattouf R et al (2014); J Histochem Cytochem 2014, 62(10):751-758; Picrosirius Red Staining: A Useful Tool to Appraise Collagen

Networks in Normal and Pathological Tissues. Whittaker P et al (2005); Braz J Morphol Sci 2005, 22(2):97-104; Collagen and Picrosirius Red Staining: A Polarized Light Assessment of Fibrillar Hue and Spatial Distribution.

Breve descripción de las figuras

[0043]

La **figura 1** representa la evaluación histomorfométrica del colágeno; se da una microfotografía representativa de la ubicación de la región estandarizada de interés (sección teñida con Picrosirius red).

La **figura 2** representa el porcentaje del contenido de colágeno total en el área implantada después de 4 y 12 semanas de implantación subcutánea en conejos. La cuantificación a las 12 semanas no se realizó para el artículo de prueba 1 y el comparador de HA 2 debido a razones técnicas.

La **figura 3** representa microfotografías representativas del artículo de prueba después de 4 semanas (A) y 12 semanas (B) de implantación subcutánea en conejos y el producto comparador a base de HA después de 4 semanas (C) y 12 semanas (D) de implantación subcutánea en conejos. Se usó Picrosirius red para la tinción de las secciones histológicas. M: músculo cutáneo; T: artículo de prueba; HA: comparador a base de HA.

La **figura 4** representa la cuantificación del índice de remodelación de colágeno en el área implantada después de 4 y 12 semanas de implantación subcutánea en conejos. Los valores IRC bajos, próximos a 1, indican una mayor madurez y una organización y remodelación en curso de las fibras de colágeno de tipo III a tipo I.

La **figura 5** representa microfotografías representativas de la evaluación de la madurez del colágeno después de 4 semanas (A) y 12 semanas (B) de implantación subcutánea en conejos con artículo de prueba. Las secciones teñidas de Picrosirius red fueron analizadas bajo luz polarizada. El color del colágeno indica una madurez y un grosor de las fibras crecientes de verde a rojo anaranjado.

La **figura 6** representa la degradación del artículo de prueba 4 (solo portador de gel) - Se determinó el área de la superficie total después de 4 y 12 semanas de implantación subcutánea en conejos.

La **figura 7** representa microfotografías representativas del artículo de prueba 4 (portador de gel) después de 4 semanas (A) y 12 semanas (B) de implantación subcutánea en conejos. Se usó safranina-hematoxilina-eosina para la tinción de las secciones histológicas. La degradación completa del portador de gel se observa después de 4 semanas de implantación. M: músculo cutáneo.

Ejemplos

Ejemplo 1 Estimulación de la producción de colágeno natural de novo por una composición según la invención

[0044] **Objetivo:** el objetivo de este estudio es evaluar el potencial de un producto de relleno dérmico que comprende microesferas de PTMC representativas conforme a la invención para estimular la producción de colágeno natural *de novo* después de la inyección en un modelo animal.

[0045] **Medida de resultado principal:** análisis histológico de la síntesis *de novo* de colágeno, por ejemplo colágeno de tipo I y de tipo III.

[0046] **Materiales:** un producto de relleno dérmico según la invención (producto de prueba), un producto de relleno dérmico de HA disponible comercialmente, un portador de gel según la invención (control 1) y solución salina (control 2). **Animales:** el estudio se realiza en un total de tres conejos (neozelandeses blancos). Materiales de prueba, comparadores y de control se inyectan en el mismo animal.

[0047] **Sitios de inyección:** se investigan inyecciones subdérmicas. Las inyecciones se realizan en ambos lados de la columna vertebral del modelo animal. Materiales de prueba, comparadores y de control se inyectan en el mismo animal; dos inyecciones por material (una a cada lado), 10 inyecciones por animal. Las inyecciones se realizan para crear un bolo de 0,2 mL.

[0048] **Puntos de tiempo de evaluación:** las evaluaciones se realizan en la semana 4, la semana 12 y la semana 36 después de la inyección, en las que se somete a eutanasia un conejo por punto temporal por inyección intravenosa de pentobarbital sódico. Cada una de las áreas de inyección se explantan y se procesan inmediatamente para el análisis histológico.

[0049] **Tinción y análisis histológicos:** las secciones histológicas se tiñen con los colorantes rutinarios hematoxilina y eosina (1). Tinción tricrómica (2) y/o de Picro-Sirius red (3) se realizan para la detección específica de colágeno.

[0050] **Resultados:** el producto de relleno dérmico conforme a la invención estimula la producción de colágeno natural significativamente mejor que el producto comparador y de control.

(1): Combinación de colorantes de uso general más ampliamente usada e importante. Se puede usar después de cualquier fijación excepto la fijación con tetróxido de osmio. La hematoxilina, un producto colorante natural, actúa como un colorante básico que tiñe de azul o negro. La heterocromatina nuclear tiñe de azul y el citoplasma de las células rico en ribonucleoproteína se tiñe también de azul. El citoplasma de las células con cantidades mínimas de ribonucleoproteína tiende a ser de color lavanda. El colorante anilínico, la eosina, es

un colorante ácido que tiñe el citoplasma, el músculo y los tejidos conjuntivos de varios tonos de rosa y naranja.

(2): la tinción tricrómica (tinción de tejido conjuntivo) se destina al uso en la visualización de fibras de tejido conjuntivo de colágeno en secciones de tejido.

(3): la tinción de Picro-Sirius Red se destina al uso en la visualización histológica de fibras de colágeno I y III además de músculo en secciones de tejido. La tinción PSR se puede ver usando microscopía óptica estándar o luz polarizada dando como resultado la birrefringencia de las fibras de colágeno para distinguir entre el tipo I y el tipo III.

Ejemplo 2 Estimulación de la producción de colágeno natural de novo por tres composiciones según la invención

Objetivo

[0051] El objetivo de este estudio fue demostrar el potencial de un producto de relleno dérmico según la invención que comprende microesferas de poli(trimetileno carbonato) (PTMC) para estimular la producción natural *de novo* de colágeno cuando se compara con productos a base de ácido hialurónico (HA) disponibles comercialmente, después de la administración subcutánea de las composiciones por inyección en conejos.

Materiales y métodos

[0052] Los artículos de prueba 1-3 de productos de relleno dérmicos se prepararon mezclando microesferas de PTMC con un portador de gel acuoso hecho de carboximetilcelulosa (CMC) a una concentración del 3,9% en solución salina tamponada con fosfato pH 7,4, para obtener un gel claro con una viscosidad mínima de 50.000 mPa.s. Las microesferas de PTMC se prepararon por un método de extracción de solvente tal como se describe en looss et al (2001). Típicamente, los polímeros de PTMC de peso molecular medio en número de 100.000 g/mol (artículo de prueba 1), 250.000 g/mol (artículo de prueba 2) y 490.000 g/mol (artículo de prueba 3) se disolvieron en diclorometano con concentraciones de 5,0%, 3,5% y 1,9%, respectivamente. Un total de 100 mL de la solución polimérica se emulsionó luego en 1L de agua que contenía alcohol polivinílico al 3% (p/p) bajo agitación mecánica continua a 750 rpm. Después de la extracción del solvente, las microesferas formadas se filtraron para recoger las partículas con un diámetro que varía entre 20 y 200 µm para la irradiación gamma a 100 kGy. Después de la irradiación, las microesferas de PTMC se lavaron, se mezclaron en el portador de gel a una concentración del 30% (v/v) y se rellenaron jeringas con el producto resultante. El artículo de prueba 4 consistía en el portador de gel solo, es decir, sin las microesferas de PTMC.

[0053] Dos productos de relleno dérmicos a base de HA disponibles comercialmente se usaron en este estudio: comparador de HA 1, Juvéderm® Ultra 3 (Allergan Laboratories, EE. UU.) y comparador de HA 2, Restylane® Defyne (Galderma Laboratories, EE. UU.). Juvéderm® ULTRA 3 es un gel reticulado de HA no animal con una concentración de 24 mg/mL en tampón fosfato pH 7,2, y 3 mg/mL de hidrocloreto de lidocaína. Restylane® Defyne contiene hialuronato de sodio reticulado no animal con una concentración de 20 mg/mL en suero salino tamponado con fosfato a pH 7, y 3 mg/mL de hidrocloreto de lidocaína.

Diseño del estudio

[0054] Dos conejos, uno por punto temporal, cada uno recibió diez inyecciones subcutáneas de 200 µl de los artículos de prueba o comparadores, dos sitios por artículo de prueba y un sitio por producto comparador. Después de 4 y 12 semanas de implantación, la evaluación cuantitativa del contenido de colágeno total (CCT) y el índice de remodelación de colágeno (IRC) se realizó a través de un análisis histomorfométrico. También se obtuvo un análisis histopatológico cualitativo y semicuantitativo de los efectos locales en los tejidos, incluida la respuesta inflamatoria en los sitios de inyección. Este estudio se realizó en adaptación a la ISO 10993-6, Evaluación biológica de productos sanitarios. Parte 6 (2016): Ensayos relativos a los efectos locales después de la implantación. Al final de cada periodo de observación, se anestesió al conejo asignado y se administró una inyección subcutánea de 200 µL de cada artículo en la piel del dorso del animal para obtener una línea base para la caracterización histológica y el análisis de degradación (sitios T0). Los animales fueron sacrificados por un barbitúrico inyectable, y los sitios implantados se extirparon (muestras de aproximadamente 2x2 cm, abarcando la piel y la capa intradérmica), se fijó con formol y se incluyó en parafina y se procesó para una histología. Para todos los artículos y el T0 correspondiente, se cortaron cuatro secciones centrales con un microtomo (4-7 µm de grosor) y se tiñeron con tricómico de Masson modificado, safranina-hematoxilina-eosina (SHE), azul alcian y Picrosirius red, respectivamente. SHE y azul alcian proporcionaron información sobre la organización celular y la estructura de la matriz extracelular. La tinción tricrómica y de Picrosirius red destacan el contenido de colágeno con tinciones de color azul y rojo, respectivamente (Suvana KS et al, 2018). Los portaobjetos teñidos con Picrosirius red se analizaron adicionalmente bajo luz polarizada para confirmar la remodelación del colágeno. Bajo luz polarizada, la madurez del colágeno y el grosor de las fibras se indican mediante diferencias en el color: las fibras inmaduras/delgadas aparecen de color verde/amarillo y las fibras maduras/gruesas aparecen de color naranja/rojo (Junqueira LC et al, 1979, Alves A et al, 2015).

[0055] Para el análisis histomorfométrico, una región de interés (ROI) estandarizada se definió manualmente en el centro del sitio inyectado (aproximadamente sobre 10 mm) para abarcar el material implantado (imagen representativa en la figura 1). Todas las secciones se examinaron usando un microscopio de escaneo de portaobjetos digital (AxioScan.Z1, ZEISS, Francia) y el sistema de análisis de imágenes CALOPIX versión 3.2.0 (TRIBVN, Francia).

Resultados

Análisis histomorfométrico - Evaluación de colágeno

[0056] La fase de curación secundaria a la implantación protésica o la creación de heridas está asociada a la remodelación de colágeno: las fibras de colágeno inmaduras delgadas (tipo III) depositadas durante la fase temprana son sustituidas progresivamente por fibras de colágeno maduras gruesas (tipo I).

[0057] El colágeno es específicamente coloreado por la tinción de Picrosirius red que permite la cuantificación del contenido de colágeno total. Además, tras la tinción de Picrosirius red y usando la microscopía de polarización cruzada, las fibras de colágeno son altamente birrefringentes y presentan un tono variable en función de la cantidad de colágeno de tipo I y III, el grosor y empaquetamiento de las fibras, y la organización molecular del colágeno (Junqueira LC et al, 1979). Las fibras delgadas inmaduras y dispuestas libremente aparecen de color verde mientras que las fibras maduras empaquetadas densamente aparecen de color rojo anaranjado (Alves A et al, 2015). La proporción de fibras verdes respecto a las de color rojo-anaranjado a nivel del tejido en cicatrización se puede cuantificar y se considera que es indicativa del proceso de remodelación de la matriz de colágeno (Lattouf R et al, 2014). Una sección teñida con Picrosirius red de un órgano linfoide (bazo de rata) preparado bajo las mismas condiciones se usó como un control positivo para definir el ángulo de polarización en función de la red de colágeno de la cápsula esplénica y las trabéculas, como se ha descrito en otro lugar (Whittaker P et al, 2005).

Contenido de colágeno total (CCT)

[0058] Se examinaron secciones teñidas con Picrosirius red digitalizadas con un microscopio de campo claro para calcular el CCT a las 4 y las 12 semanas de implantación. Los resultados se expresaron como el porcentaje de área de la superficie de colágeno medida en la ROI seleccionada y se resumen en la figura 2. Las microfotografías representativas de las secciones teñidas histológicas usadas en esta evaluación se muestran en la figura 3.

[0059] Después de 4 semanas de implantación, el porcentaje de colágeno determinado en los sitios de implante ya estaba aumentado aproximadamente dos veces para los artículos de prueba 1 a 3 en comparación con los productos de relleno dérmicos a base de HA. El artículo de prueba 4, el portador de gel solo, estaba degradado completamente después de 4 semanas de implantación, y el contenido de colágeno no se cuantificó (**figura 6**). Estos resultados indican que la estimulación para producir colágeno nativo se debe, de hecho, a la presencia de las microesferas de PTMC. Después de 12 semanas, el porcentaje de colágeno total permaneció superior en los artículos de prueba 2 a 3 en comparación con el de los productos de relleno dérmicos a base de HA implantados. El contenido de colágeno total para el producto 1 y el comparador de HA 2 no se determinó debido a razones técnicas durante la preparación histológica.

Índice de remodelación del colágeno (IRC)

[0060] Usando la microscopía de polarización cruzada, se examinaron secciones teñidas con Picrosirius red digitalizadas de los artículos de prueba para determinar la madurez del colágeno presente en el área implantada a las 4 y las 12 semanas de implantación. Bajo luz polarizada, el color de las fibras de colágeno indica un grosor y una madurez de las fibras crecientes de verde a rojo anaranjado. Por consiguiente, se calculó la proporción de las áreas de la superficie de color verde (colágeno de tipo III inmaduro) respecto a las de color rojo-anaranjado (colágeno de tipo I maduro) en la ROI seleccionada y se presenta como el IRC. Los resultados se resumen en la **figura 4**, y las microfotografías representativas se muestran en la **figura 5**.

[0061] Después de 4 semanas, los valores de IRC para los artículos de prueba 1, 2 y 3 fueron 0,86, 1,06 y 0,95, respectivamente, lo que indica que se observaron fibras con una birrefringencia similar, es decir, no había una diferencia distinta en la madurez del colágeno y el grosor de las fibras en el área implantada. Después de 12 semanas, al menos para el artículo de prueba 2, el análisis de las imágenes de luz polarizada mostró un aumento en la cantidad de fibras de colágeno de color rojo-anaranjado, lo que sugiere que se inició la remodelación, la organización y la deposición de las fibras de colágeno de tipo 1 maduras y gruesas.

Degradación del artículo de prueba 4 (portador de gel)

[0062] Al final de cada periodo de tiempo, la cantidad de portador de gel se cuantificó a través de la evaluación histomorfométrica del área de la superficie de una ROI dada en las secciones SHE en comparación con los sitios T0 correspondientes.

[0063] Los resultados mostraron, después de cuatro semanas de implantación subcutánea en el dorso de los conejos, que el portador de gel ya se había degradado completamente. Por consiguiente, no se detectó ningún producto después de 12 semanas de implantación (**figura 6**, microfotografías representativas en la **figura 7**).

5 ***Evaluación histopatológica - Efectos locales sobre los tejidos:***

[0064] Se llevó a cabo una evaluación histopatológica de los efectos locales sobre los tejidos, incluida la respuesta inflamatoria en los sitios de inyección en adaptación a la norma (ISO 10993-6) sobre las secciones SHE y azul alcian.

[0065] Con el tiempo, tras la inyección subcutánea en el conejo, los artículos de prueba 1 a 3 mostraron señales de leves a moderadas de degradación sin inducir efectos secundarios locales. El grado de inflamación local observado con los artículos de prueba 1 a 3 (moderado) estaba asociado con la presencia de las microesferas poliméricas, ya que el material portador (artículo de prueba 4), completamente degradado, generó solo una inflamación local residual leve. En comparación con los artículos 1 a 3, el comparador 1 y el 2 provocaron señales inferiores de inflamación local.

[0066] Las observaciones macroscópicas de los sitios de implante no revelaron ninguna señal de edema, eritema o escara para ninguno de los artículos del día 0 a la semana 12.

Conclusión

[0067] Este estudio estaba dirigido a investigar el potencial de neocolagénesis de las microesferas de PTMC suspendidas en un portador de gel de CMC en comparación con productos de relleno dérmicos a base de HA comercializados actualmente, tras la administración subcutánea en un modelo animal.

[0068] Los resultados demuestran que la composición de las microesferas de PTMC según la invención desencadena una reacción a cuerpos extraños en el tejido local caracterizada por una mayor estimulación de la síntesis *de novo* y la deposición de colágeno nativo en comparación con productos comparadores a base de HA, que resulta en hasta una cantidad dos veces mayor de colágeno sintetizado ya a las 4 semanas tras la implantación. Además, se observó que la proporción de colágeno (de tipo III) inmaduro respecto a colágeno estable maduro (de tipo I) cambia a lo largo del tiempo a favor del colágeno de tipo I maduro, que es indicativo de una restauración estructural de la red de la matriz extracelular con la reconstitución de moléculas de colágeno en su estructura fibrilar nativa.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición reabsorbible *in vivo* que comprende un polímero poli(1,3-trimetilencarbonato) (PTMC) no cristalino y un portador de gel reabsorbible, donde el portador de gel está en forma de un gel polisacárido acuoso, donde el PTMC está en forma de micropartículas con un diámetro que oscila entre 1 y 200 μm , y donde las micropartículas tienen un contenido y una densidad homogéneos en toda la micropartícula, son esencialmente redondas y tienen superficies lisas.
- 10 2. Composición reabsorbible *in vivo* según la reivindicación 1, donde el portador de gel comprende la característica viscoelástica de comportamiento pseudoplástico.
- 15 3. Composición reabsorbible *in vivo* según la reivindicación 1 o 2, donde el portador de gel comprende un polisacárido seleccionado del grupo que consiste en un polisacárido derivado de la celulosa, un almidón, una quitina, un quitosano, un ácido hialurónico, un polisacárido modificado hidrofóbicamente, un alginato, un carragenano, un agar, una agarosa, un complejo intramolecular de un polisacárido, un oligosacárido y un polisacárido macrocíclico.
- 20 4. Composición reabsorbible *in vivo* según la reivindicación 3, donde el portador de gel polisacárido comprende un polisacárido derivado de la celulosa, seleccionado preferiblemente del grupo que consiste en carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, agar metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina y celulosa oxidada, más preferiblemente el portador de gel de polisacárido reabsorbible comprende carboximetilcelulosa sódica.
- 25 5. Composición reabsorbible *in vivo* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el PTMC es un homopolímero, un polímero lineal, un polímero ramificado, un copolímero, un terpolímero, una mezcla o un compuesto de diferentes tipos de homo/co/terpolímeros, o un polímero reticulado.
- 30 6. Composición reabsorbible *in vivo* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el PTMC tiene un peso molecular medio en número (Mn) de aproximadamente 500 a aproximadamente 600.000 g/mol, más preferiblemente aproximadamente 100.000 a aproximadamente 600.000 g/mol.
- 35 7. Composición reabsorbible *in vivo* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el PTMC está presente en una concentración de aproximadamente un 1 a aproximadamente un 40 por ciento en volumen (v/v).
- 40 8. Composición reabsorbible *in vivo* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el material portador de gel está presente en una concentración de aproximadamente un 0,2 a aproximadamente un 20 por ciento en peso (p/p).
- 45 9. Composición reabsorbible *in vivo* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la composición tiene una viscosidad de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 5.000.000 mPa.s a temperatura ambiente.
- 50 10. Composición reabsorbible *in vivo* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde está presente una sustancia adicional, preferiblemente una sustancia activa, preferiblemente un anestésico.
- 55 11. Composición reabsorbible *in vivo* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde la composición es una composición farmacéutica.
- 60 12. Composición reabsorbible *in vivo* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde la composición es una composición cosmética o estética.
13. Composición reabsorbible *in vivo* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde la composición es una composición para el aumento de tejido, preferiblemente el tejido blando, preferiblemente un implante o relleno para uso intradérmico, dérmico profundo, subdérmico o subcutáneo.
14. Composición reabsorbible *in vivo* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, para el uso como un medicamento, preferiblemente para tratar una anomalía o desfiguración de la piel, para controlar la función de la vejiga, para controlar el reflujo gástrico, para tratar la disfunción eréctil y/o la eyaculación precoz, para tratar las cuerdas vocales y/o para el tratamiento de enfermedades de las articulaciones y del cartílago.
15. Uso de una composición reabsorbible *in vivo* según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para la preparación de un medicamento para tratar una anomalía o desfiguración de la piel, para controlar la función de la vejiga, para controlar el reflujo gástrico, para tratar la disfunción eréctil y/o la eyaculación precoz, para tratar las cuerdas vocales y/o para el tratamiento de enfermedades de las articulaciones y del cartílago.

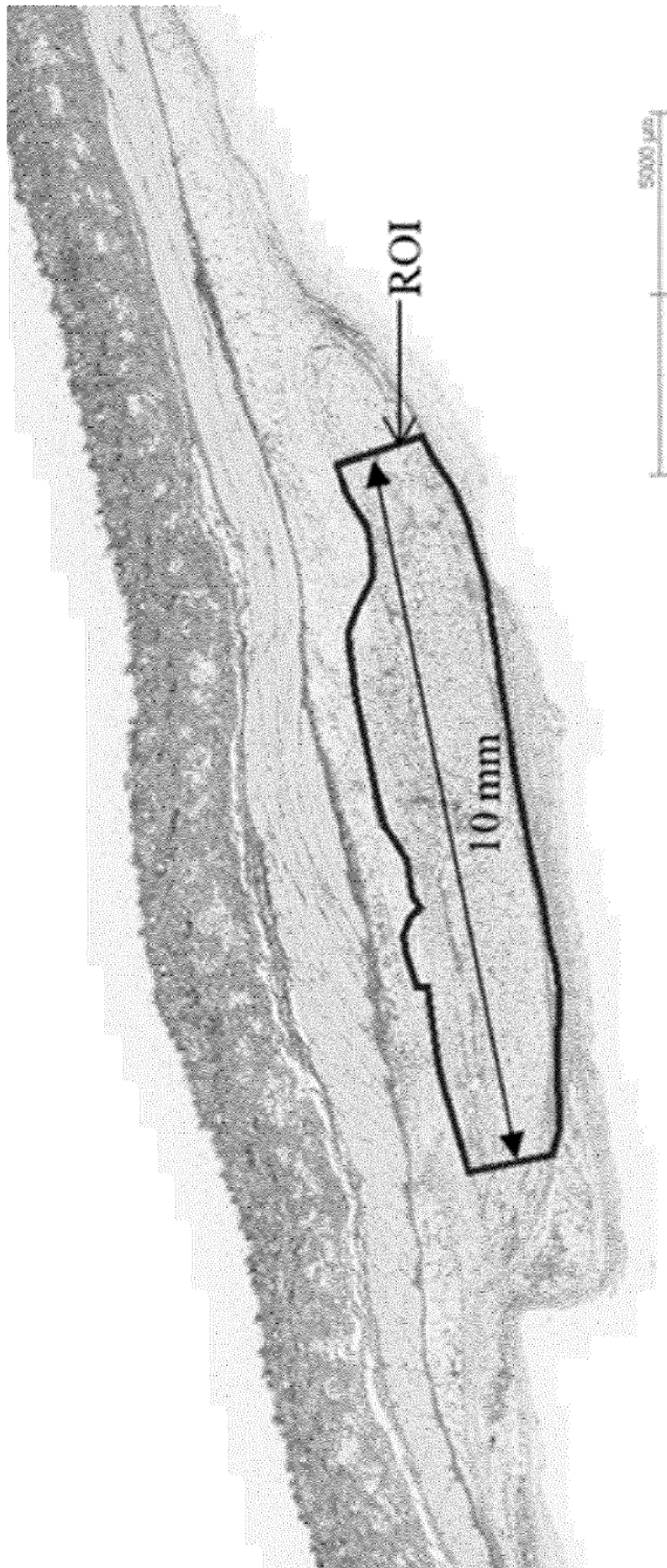


Fig. 1

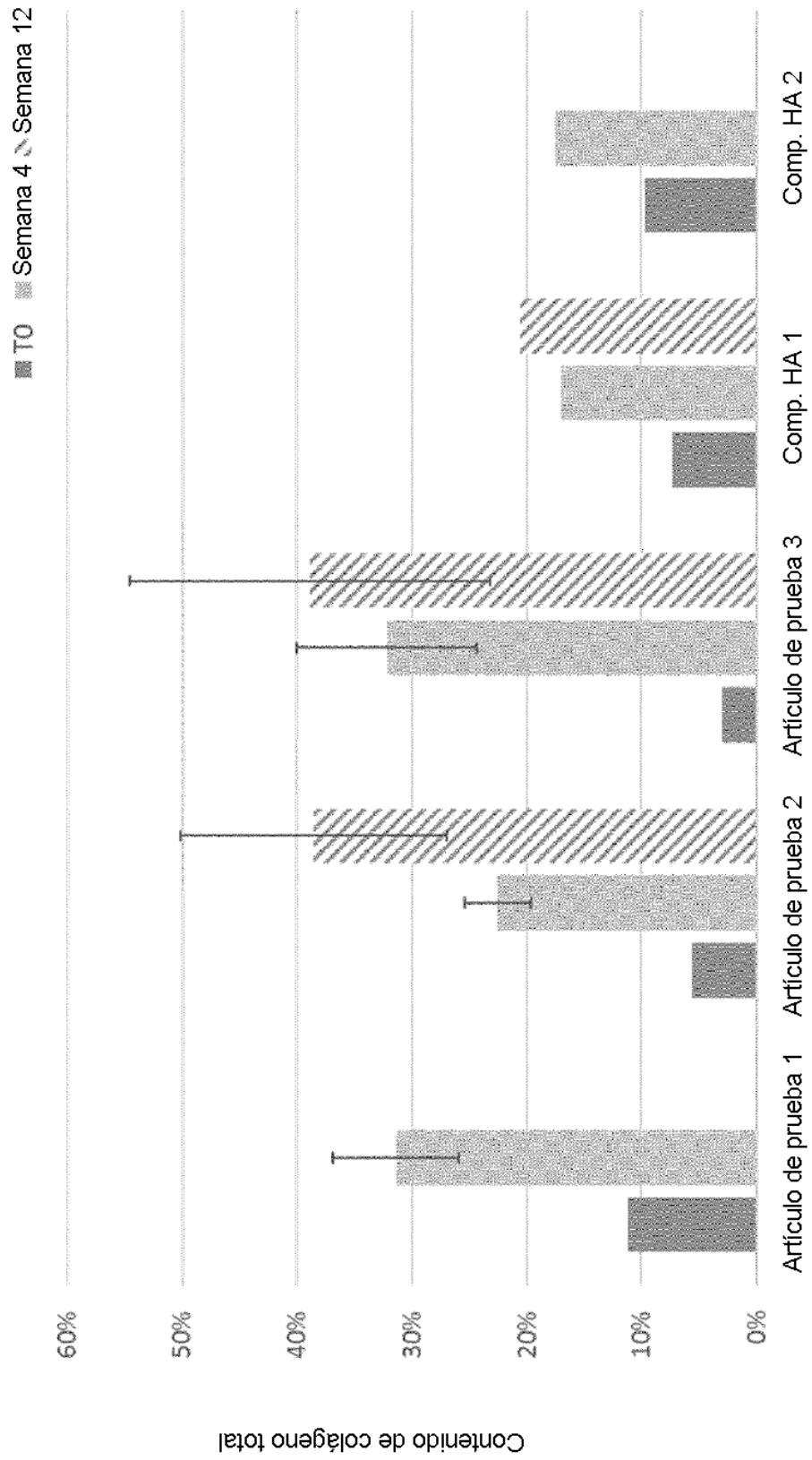


Fig. 2

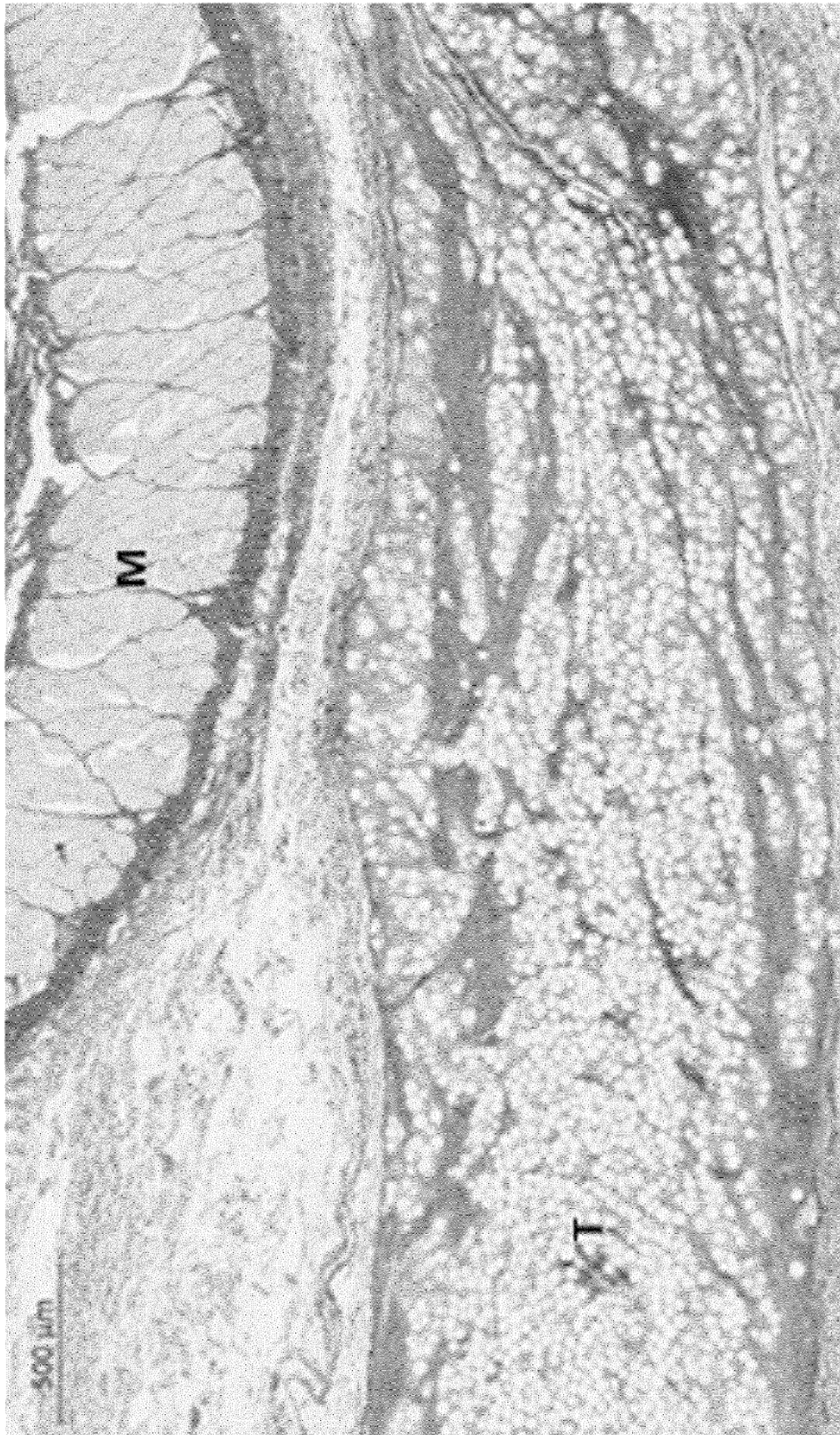


Fig. 3A

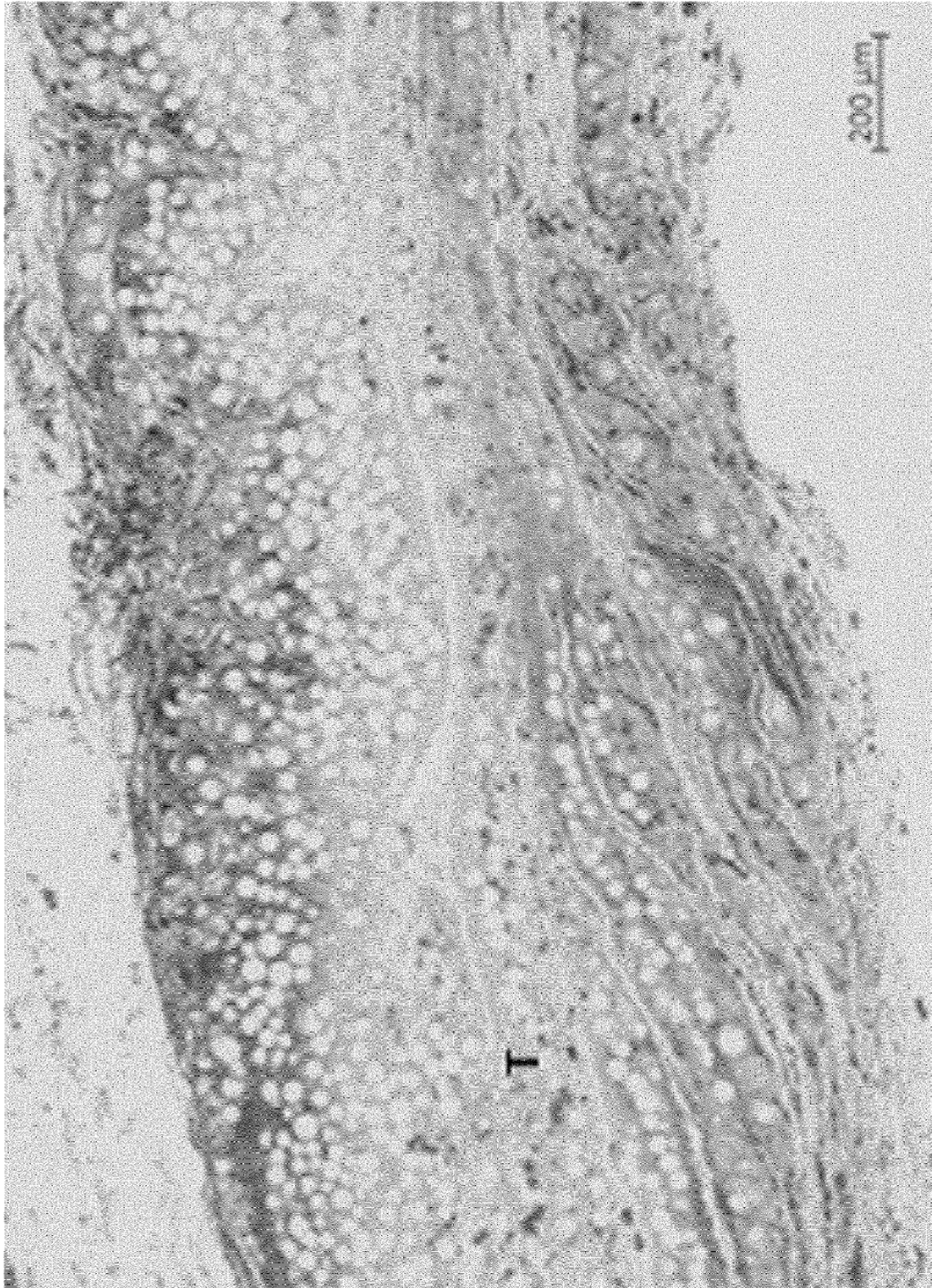


Fig. 3B

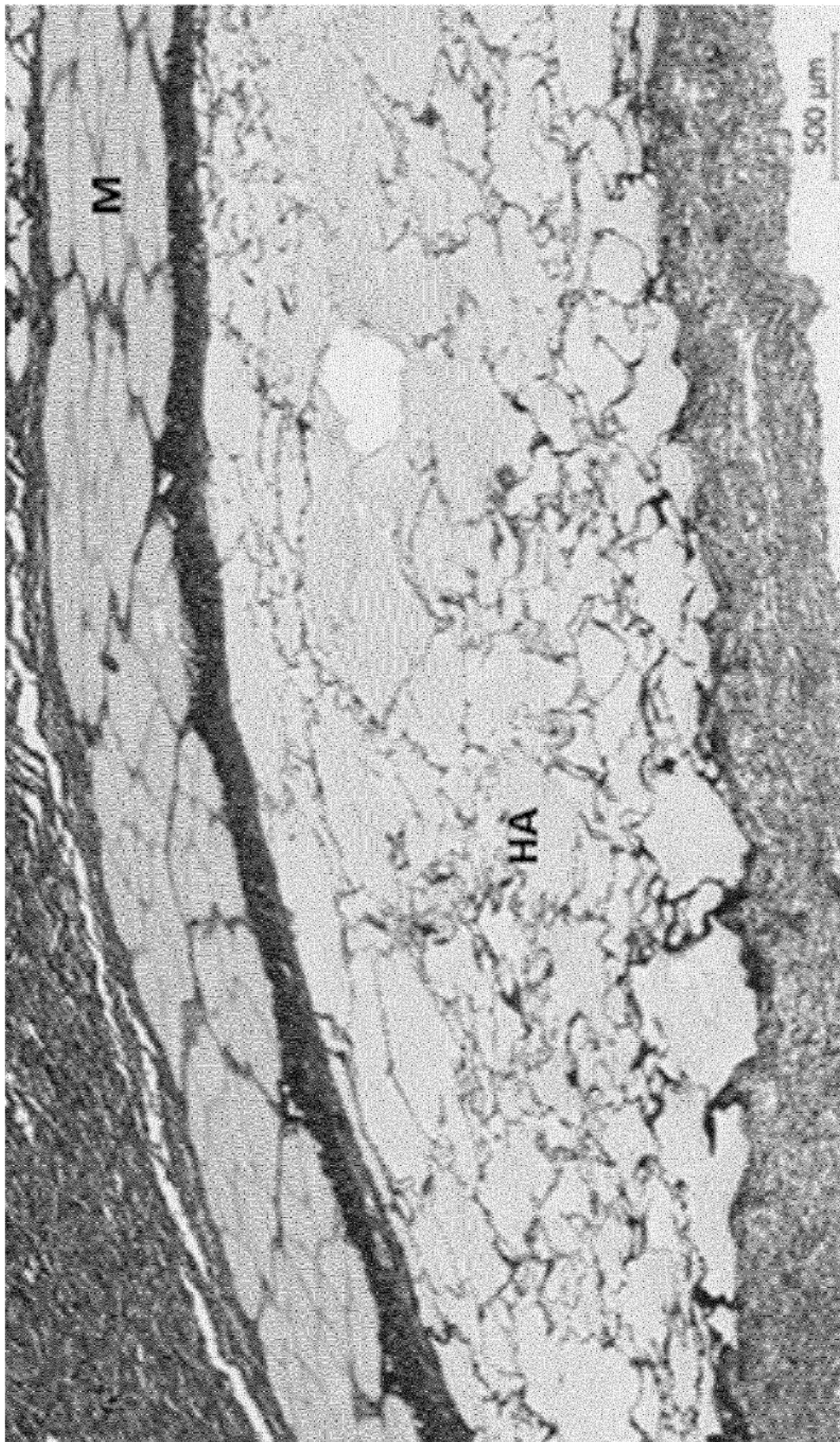


Fig. 3C

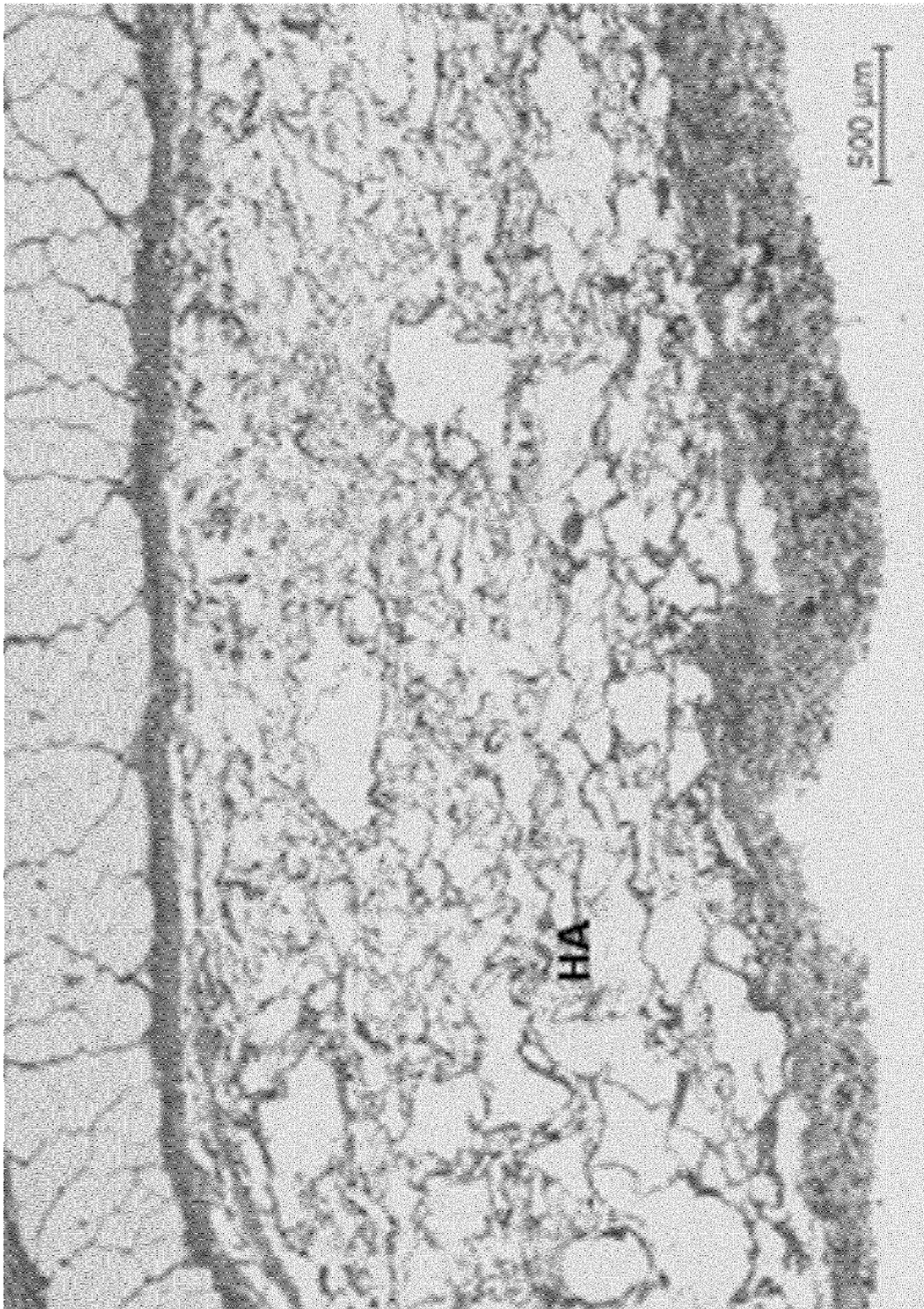


Fig. 3D

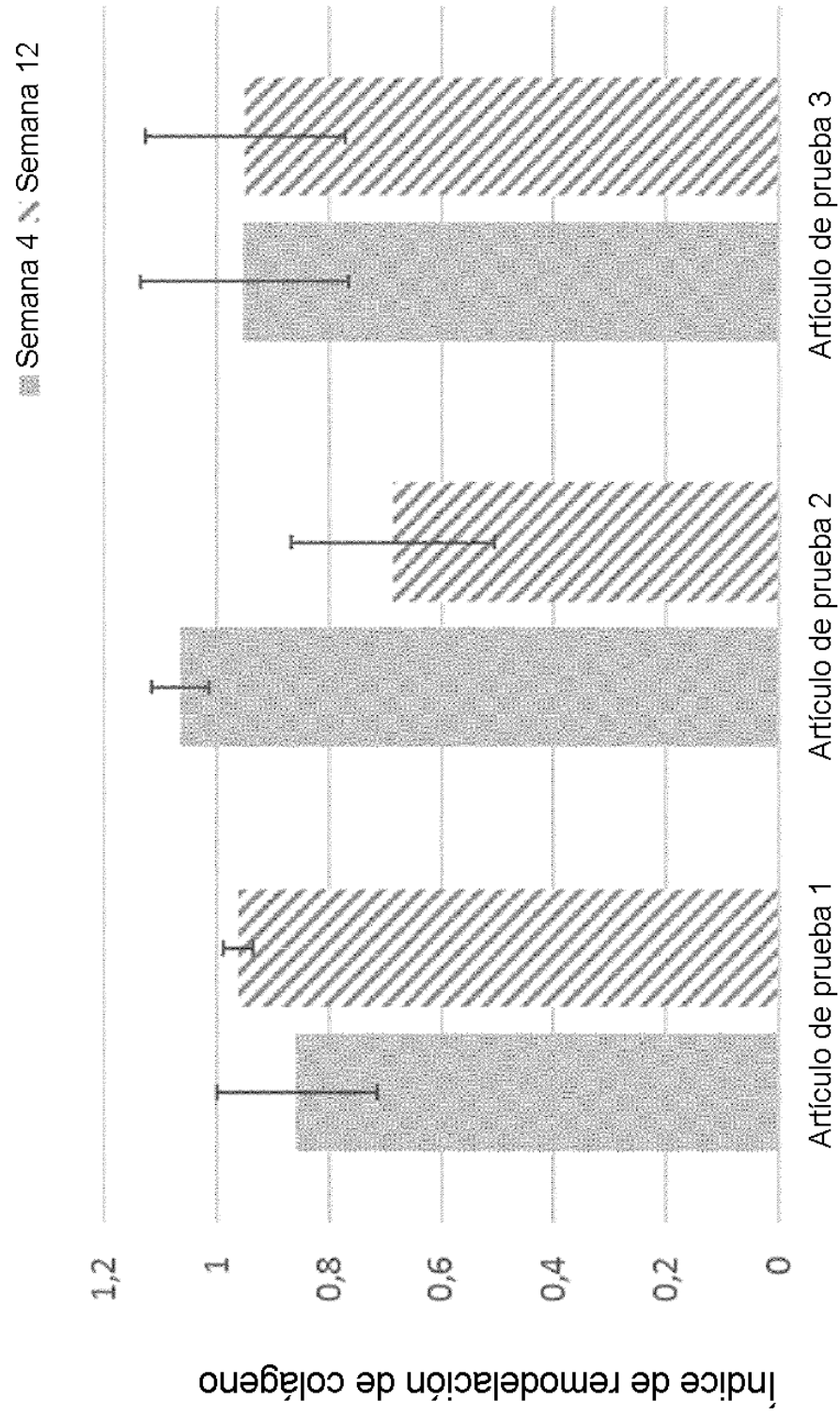


Fig. 4

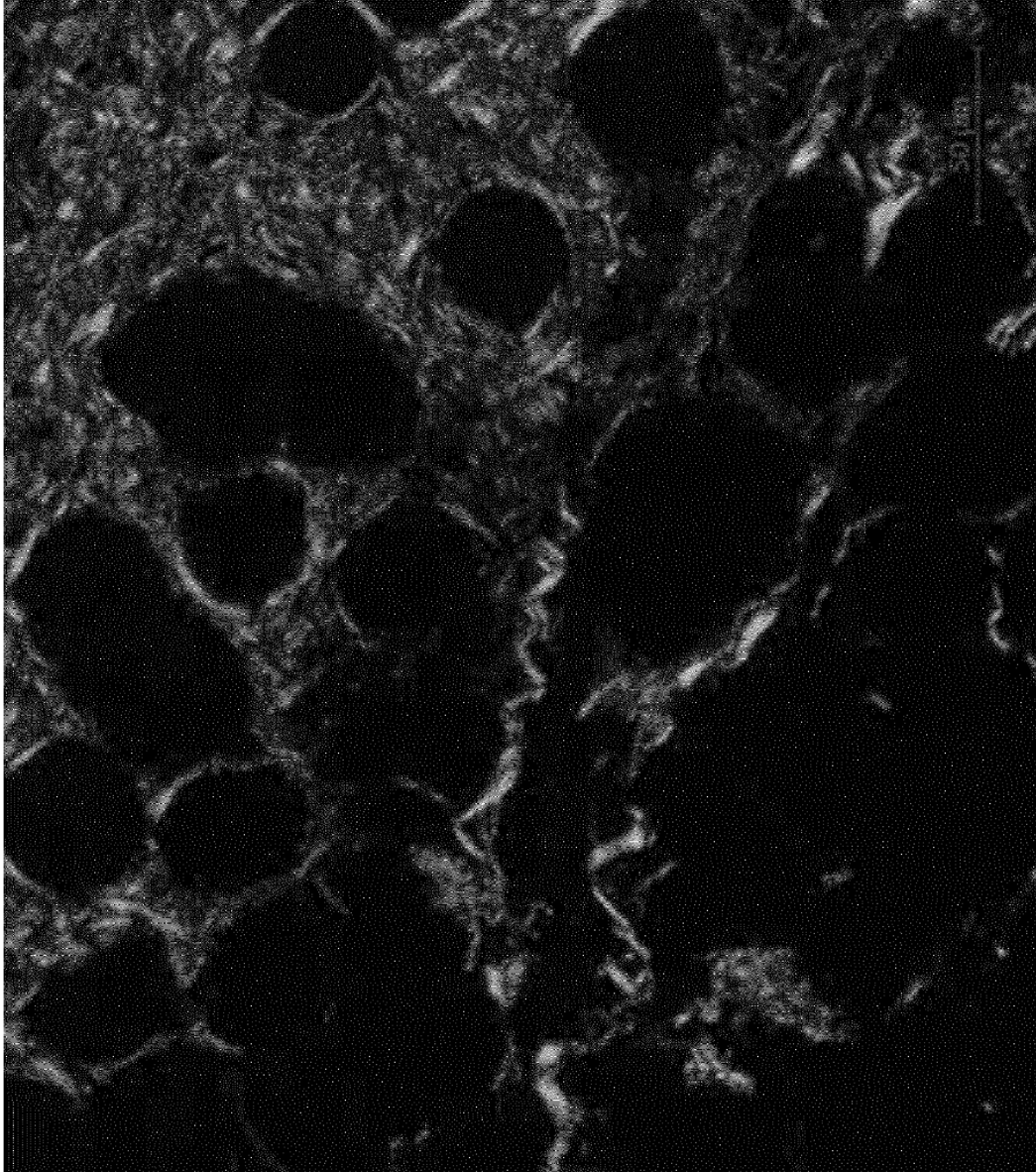


Fig. 5A

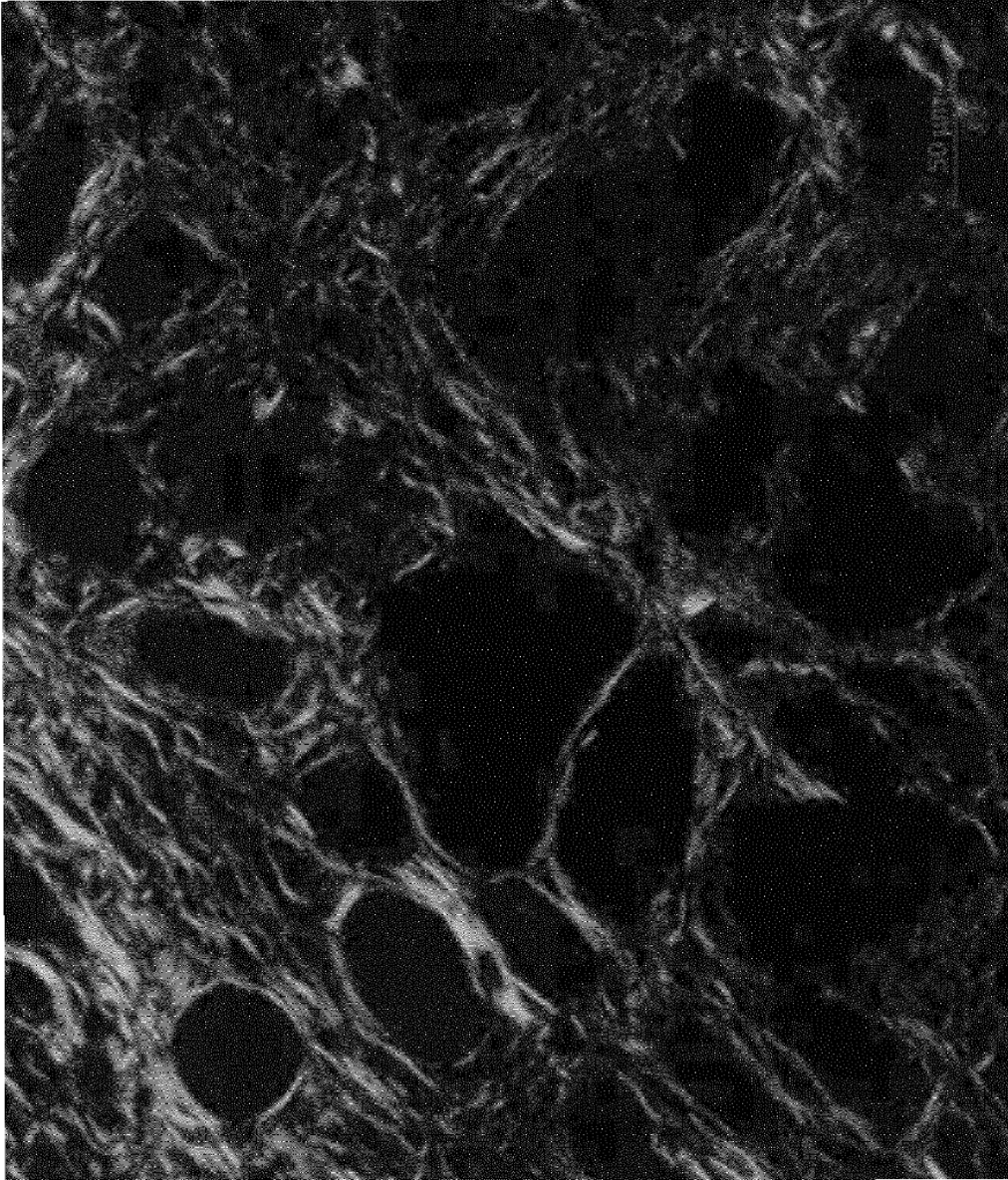


Fig. 5B

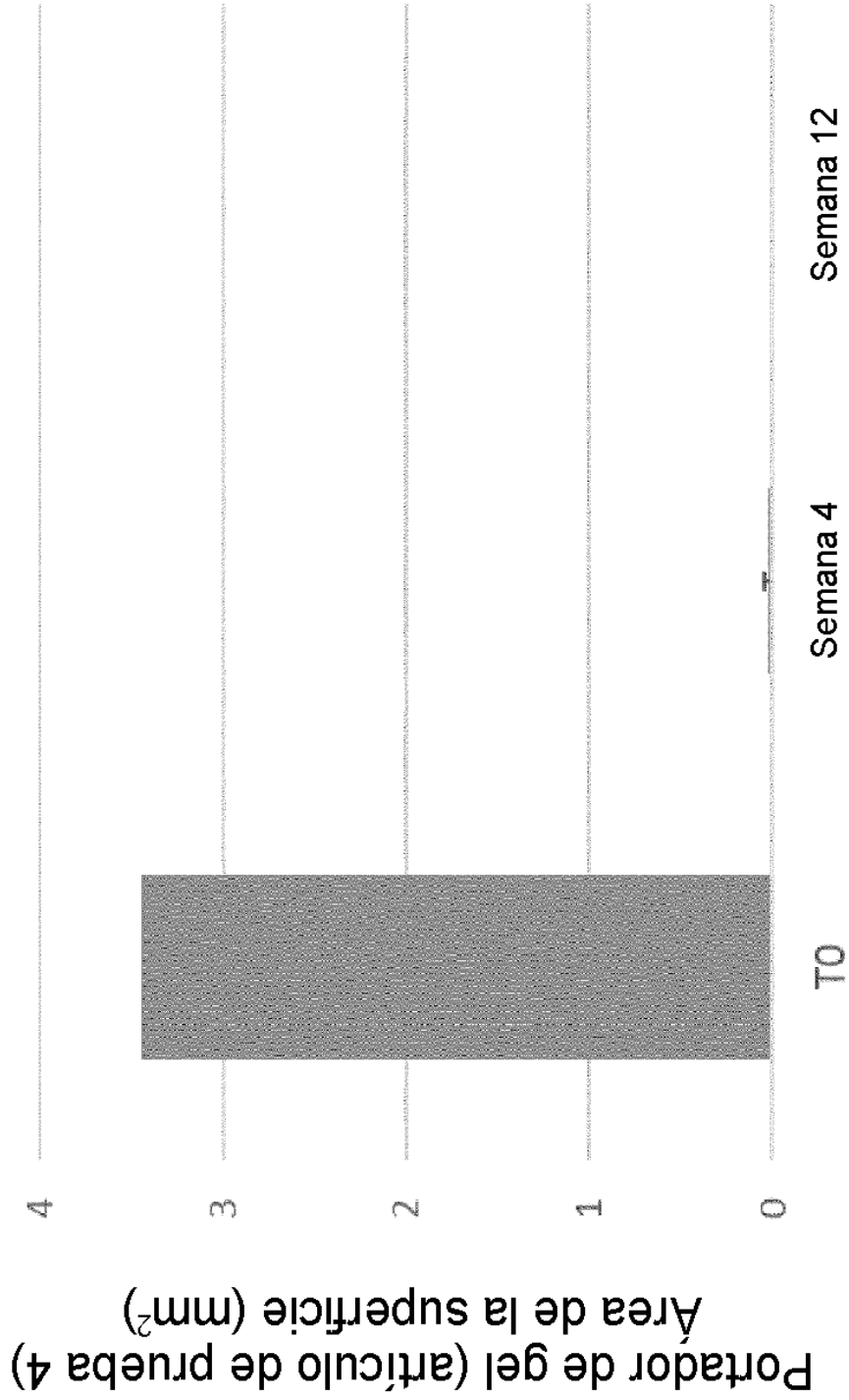


Fig. 6

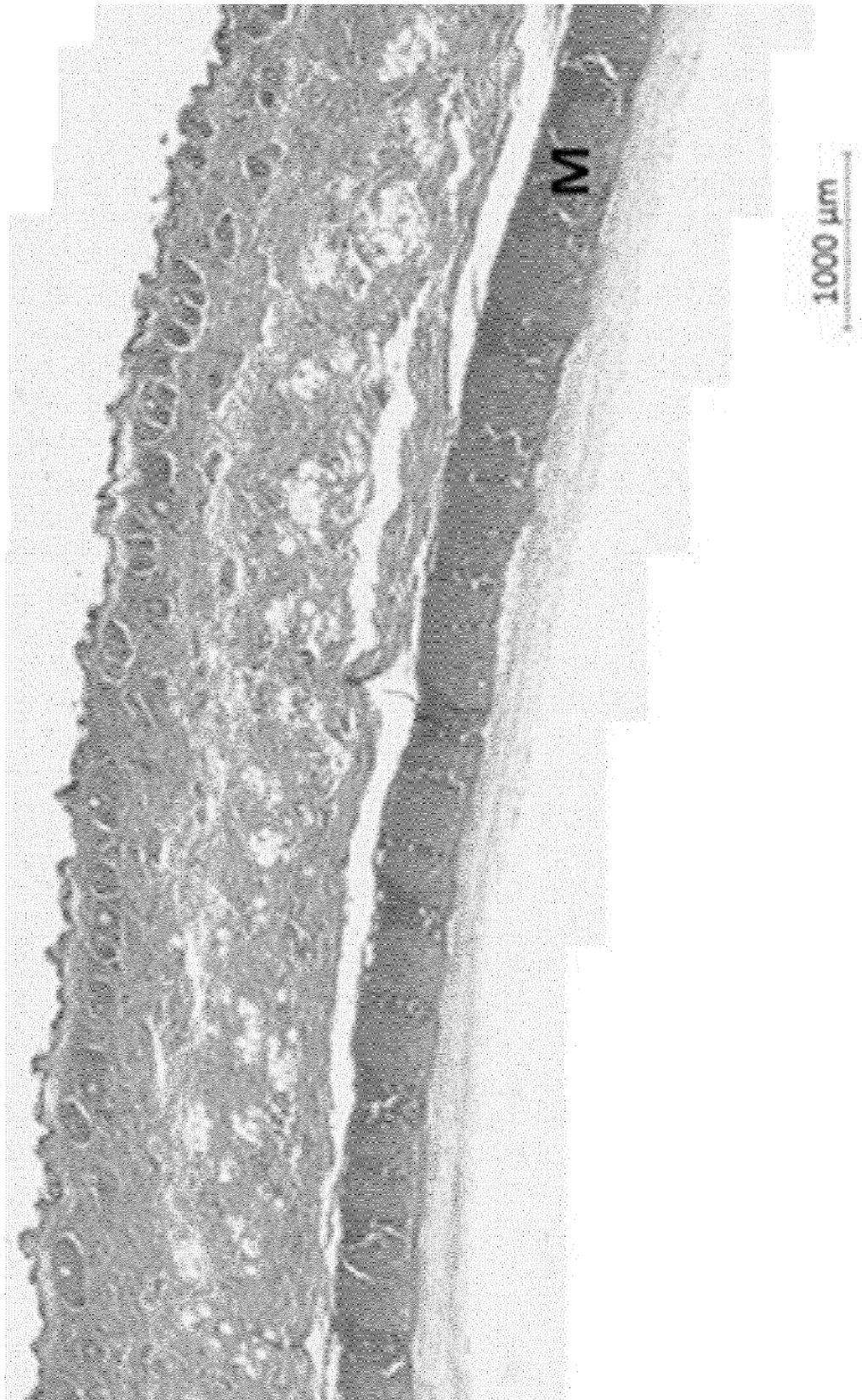


Fig. 7A

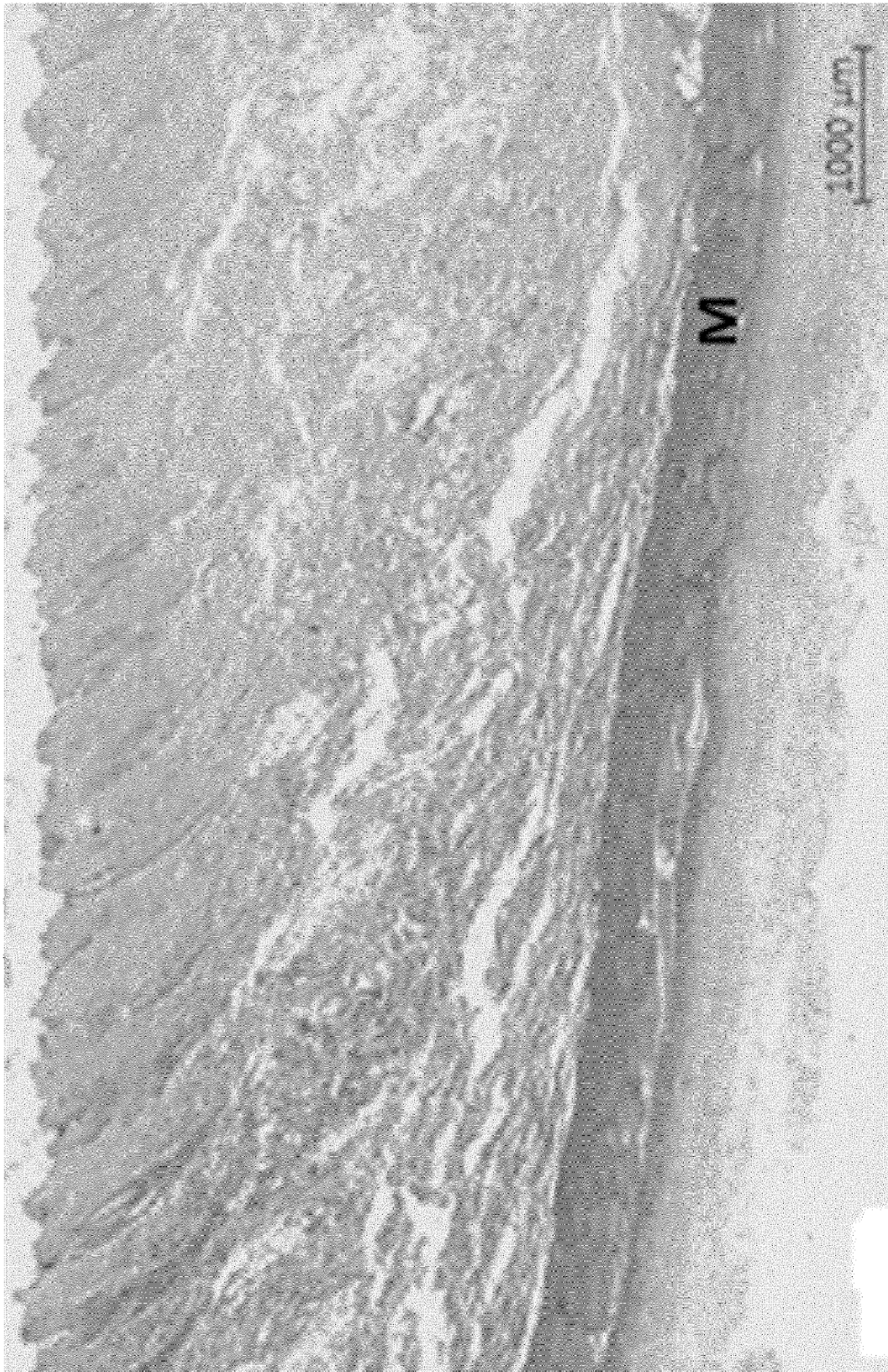


Fig. 7B