

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 861 509**

(51) Int. Cl.:

A61K 38/48 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 8/64 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.12.2014 PCT/US2014/070113**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **18.06.2015 WO15089452**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.12.2014 E 14815207 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.11.2020 EP 3079714**

(54) Título: **Efecto de larga duración de nuevas formulaciones de toxina botulínica**

(30) Prioridad:

12.12.2013 US 201361915476 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.10.2021

(73) Titular/es:

**MEDY-TOX, INC. (100.0%)
78 Gak-ri 1g-I, Ochang-eup, Cheongwon-gun,
Chungchongbuk-do
363-885, KR**

(72) Inventor/es:

**JUNG, HYUN HO;
YANG, GI HYEOK;
KIM, HYUN JEE y
RHEE, CHANG HOON**

(74) Agente/Representante:

BERTRÁN VALLS, Silvia

ES 2 861 509 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

Efecto de larga duración de nuevas formulaciones de toxina botulínica

5 Antecedentes de la invención

Iniciada a mediados de la década de 1980, la denervación química de los músculos corrugador y/o prócer con toxina botulínica A (BoNT/A) cumplió muchos de los criterios de una técnica cosmética ideal para el tratamiento de líneas glabrelares del ceño. Cuando se lleva a cabo por personal experimentado, la inyección rápida y reversible de BoNT/A mejora o incluso elimina las líneas glabrelares, prácticamente sin ningún efecto adverso significativo (Becker-Wegerich P, *et al.*, Clin Exp Dermatol, octubre de 2001; 26(7):619-30; Letessier S., J Dermatol Treat, 1999; 10(1):31-6 y Alam M, *et al.*, Arch Dermatol, septiembre de 2002; 138(9):1180-5).

En 2002, una década después del primer informe publicado sobre el uso de BoNT/A en el tratamiento de líneas glabrelares del ceño (Carruthers JDA, *et al.* J Dermatol Surg Oncol, enero de 1992; 18(1):17-21), la reconocida eficacia y tolerabilidad del efecto de BoNT/A sobre las líneas glabrelares se confirmó finalmente en dos ensayos controlados con placebo, multicéntricos, grandes e idénticos (Carruthers JA, *et al.*, J Am Acad Dermatol, junio de 2002; 46(6):840-9 y Carruthers J, *et al.*, Journal of Plastic and Reconstructive Surgery 2003). Desde entonces, se ha usado BoNT/A ampliamente en una variedad de maneras para tratar temporalmente las líneas glabrelares y otras líneas faciales hiperfuncionales, incluyendo las líneas frontales horizontales ("arrugas del pensador") y las líneas orbitales laterales ("patas de gallo").

En la actualidad, todas las BoNT/A disponibles comercialmente contienen proteínas animales tales como la albúmina. Además, las composiciones de BoNT/A disponibles comercialmente, tales como BOTOX®, tienen una duración del efecto de aproximadamente 3 meses para tratar estados tales como las patas de gallo o líneas glabrelares.

Por consiguiente, existe la necesidad en la técnica de un nuevo tipo de composición de BoNT que sea eficaz y segura con un efecto de duración más largo que las composiciones de BoNT disponibles comercialmente (por ejemplo, BOTOX®, DYSPORT® o XEOMIN®). La presente invención, tal como se expone en las reivindicaciones, satisface esta necesidad.

Breve descripción de los dibujos

La siguiente descripción detallada de realizaciones preferidas de la invención se entenderá mejor cuando se lea junto con los dibujos adjuntos. Con el fin de ilustrar la invención, en los dibujos se muestran realizaciones que actualmente son preferidas. Sin embargo, debe entenderse que la invención no se limita a las disposiciones y a los instrumentos precisos de las realizaciones mostradas en los dibujos.

La figura 1 es una imagen que muestra el diseño del estudio y el cronograma de las evaluaciones.

La figura 2 es una imagen que muestra los sitios de inyección. Las líneas glabrelares recibieron una única sesión de o bien MT10109L o bien ona-BoN/T. El volumen de inyección total de 0,5 ml (20 U) se dividió en cinco inyecciones intramusculares simétricas: 0,1 ml (4 U) en el músculo prócer, 0,1 ml (4 U) en cada músculo corrugador superciliar medial y 0,1 ml (4 U) en la parte central de cada músculo corrugador superciliar.

La figura 3, que comprende las figuras 3A y 3B, es una serie de imágenes que muestran la tasa de sujetos que responden con el ceño fruncido al máximo mediante la evaluación en vivo del conjunto PP (figura 3A) y el conjunto FAS (figura 3B).

La figura 4, que comprende las figuras 4A y 4B, es una serie de imágenes que muestran la tasa de sujetos que responden mediante la evaluación por parte del sujeto (conjunto PP) (figura 4A) y la tasa de satisfacción del sujeto (conjunto PP) (figura 4B).

La figura 5 es un gráfico que demuestra la diferencia en la proporción de sujetos que responden, tal como se indica mediante la clasificación de la evaluación por parte del investigador de la gravedad de las líneas glabrelares, con el ceño fruncido al máximo el día 30 para diversas dosis de MT10109 liofilizada (10 U, 20 U y 30 U) en comparación con 20 U de Botox® (conjunto de análisis completo). Abreviaturas. IC=intervalo de confianza; vs=versus (frente a). Un sujeto que responde se definió como el que tiene una clasificación de gravedad de las líneas glabrelares nula (0) o leve (1) en la visita después del nivel inicial correspondiente. El análisis se basó en datos introducidos usando una metodología de imputación múltiple. Se usó una prueba de la chi-cuadrado de Mantel-Haenszel para comparar los tratamientos de 2 en 2 y estimar las diferencias entre los dos tratamientos.

La figura 6 es un gráfico que representa el porcentaje de sujetos que responden, tal como se indica mediante la clasificación de la evaluación por parte del investigador de la gravedad de las líneas glabrelares en todas las visitas (conjunto de análisis completo). Los sujetos incluidos en el análisis debían tener una clasificación de gravedad de las líneas glabrelares de nivel inicial de moderada (2) o grave (3). Un sujeto que responde se definió como el que tiene

una gravedad nula (0) o leve (1) en la visita después del nivel inicial correspondiente.

La figura 7 es un gráfico que representa el porcentaje de sujetos que responden, tal como se indica mediante la autoevaluación por parte del sujeto de la mejora de las líneas glabulares (conjunto de análisis completo). Los sujetos incluidos en el análisis debían tener una clasificación de gravedad de las líneas glabulares de nivel inicial de moderada (2) o grave (3). Un sujeto que responde se definió como el que tiene una puntuación de al menos +2 (mejora moderada, es decir, aproximadamente el 50%) en la escala de 9 puntos.

La figura 8 es un gráfico que representa el porcentaje de sujetos que responden, tal como se indica mediante la autoevaluación por parte del sujeto de la satisfacción con el efecto del tratamiento (conjunto de análisis completo). Los sujetos incluidos en el análisis debían tener una clasificación de gravedad de las líneas glabulares de nivel inicial de moderada (2) o grave (3). Un sujeto que responde se definió como el que tiene una puntuación de al menos 6 (satisfecho) en la escala de 7 puntos.

La figura 9 es un conjunto de gráficos que representan los resultados de los experimentos. Los datos incluyen el porcentaje de sujetos que responden en función de los días posteriores al tratamiento, tal como se indica mediante la evaluación por parte del investigador, con el ceño fruncido al máximo (parte superior izquierda), evaluación por parte del investigador en reposo (parte central izquierda), lector independiente con el fruncido de ceño (parte superior derecha), lector independiente en reposo (parte central derecha), evaluación global por parte del sujeto (parte inferior izquierda) y satisfacción del sujeto (parte inferior derecha).

La figura 10 es un conjunto de gráficos que representan los resultados de los experimentos. Los datos incluyen el porcentaje de sujetos que responden, tal como se indica por el investigador con el ceño fruncido al máximo. El gráfico superior muestra los datos en conjunto. Los gráficos de las partes central izquierda e inferior izquierda representan los datos del sitio 1, mientras que los gráficos de las partes central derecha e inferior derecha representan los datos del sitio 2.

Descripción detallada

La invención se refiere al uso cosmético de una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales para aliviar un estado en un paciente que lo necesita, tal como se define en las reivindicaciones, mediante lo cual la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales muestra un efecto de duración más largo en el paciente en comparación con una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales.

Según la invención, la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales se formula en forma liofilizada. En determinadas realizaciones, la preparación liofilizada de una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales es la formulación divulgada en el documento PCT/KR2012/002418. La formulación liofilizada de una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales permite mantener la actividad de la toxina botulínica y conseguir una estabilidad a largo plazo notablemente superior incluso en condiciones de alta temperatura que pueden producirse durante el almacenamiento, transporte o uso de la toxina botulínica.

La eficacia de la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales persiste más tiempo en el paciente en comparación con una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales. La administración de la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales en forma liofilizada permite un intervalo de tiempo más largo entre administraciones de la composición de toxina botulínica en comparación con el intervalo de tiempo cuando se usa una toxina botulínica que contiene proteínas animales administrada a la misma dosis o a una dosis comparable y en el mismo sitio o en un sitio comparable.

En determinadas realizaciones, la invención proporciona un método cosmético que incluye usar una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales, en el que la composición de toxina botulínica se administra a un paciente que lo necesita a una dosis más baja en comparación con la dosis usada con una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales.

En determinadas realizaciones, la invención proporciona un método cosmético que incluye usar una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales, en el que la composición de toxina botulínica se administra a un paciente que lo necesita en un intervalo de tiempo mayor entre administraciones en comparación con el intervalo de tiempo usado con una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales (por ejemplo, la toxina botulínica de tipo A disponible comercialmente incluye BOTOX®, DYSPORT® y XEOMIN®, la toxina botulínica de tipo B disponible comercialmente incluye MyoBloc®).

Definiciones

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto habitual en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque puede usarse cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento en la práctica o prueba de la presente invención, se describen métodos y materiales preferidos.

Tal como se usa en el presente documento, cada uno de los siguientes términos tiene el significado asociado con el mismo en esta sección.

- 5 Los artículos "un" y "uno/a" se usan en el presente documento para referirse a uno o a más de uno (es decir, a al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.
- 10 "Aproximadamente", tal como se usa en el presente documento cuando se hace referencia a un valor que puede medirse, tal como una cantidad, una duración temporal y similares, quiere decir que abarca variaciones de $\pm 20\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 1\%$ o $\pm 0,1\%$ del valor especificado, ya que tales variaciones son apropiadas para realizar los métodos divulgados.
- 15 Una enfermedad o un trastorno se "alivia" si se reduce la gravedad de un síntoma de la enfermedad o el trastorno, la frecuencia con la que un paciente experimenta un síntoma de este tipo o ambos.
- 20 Tal como se usa en el presente documento, el término "composición de toxina botulínica libre de proteínas animales" se refiere a una composición de toxina botulínica que no contiene productos derivados de sangre, combinados con sangre u otros derivados de animales (por ejemplo, no contiene albúmina). En determinadas realizaciones, la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales está libre de albúmina sérica humana o albúmina humana recombinante.
- 25 Tal como se usa en el presente documento, el término "composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales" se refiere a una composición de toxina botulínica que contiene un producto derivado de sangre, combinado con sangre u otro derivado de animales (por ejemplo, contiene albúmina). En determinadas realizaciones, la composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales contiene albúmina sérica humana o albúmina humana recombinante.
- 30 "Toxina botulínica" significa una neurotoxina botulínica, ya sea toxina pura o compleja, nativa, recombinante o modificada, e incluye toxina botulínica de tipo A, tipo B, tipo C₁, tipo D, tipo E, tipo F y tipo G. Tal como se usa en el presente documento, este término excluye aquellas que no son neurotoxinas, tales como las toxinas botulínicas citotóxicas C₂ y C₃.
- 35 Los términos "paciente", "sujeto", "individuo" y similares se usan indistintamente en el presente documento, y se refieren a cualquier animal, o células del mismo, ya sea *in vitro* o *in situ*, susceptible de los métodos descritos en el presente documento. En determinadas realizaciones no limitativas, el paciente, sujeto o individuo es un humano.
- 40 Tal como se usa en el presente documento, el término "composición" o "composición farmacéutica" se refiere a una mezcla de al menos un compuesto de la invención con otros componentes químicos, tales como portadores, estabilizantes, diluyentes, agentes de dispersión, agentes de suspensión, agentes espesantes y/o excipientes. La composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un organismo.
- 45 Tal como se usa en el presente documento, los términos "cantidad eficaz", "cantidad farmacéuticamente eficaz" y "cantidad terapéuticamente eficaz" se refieren a una cantidad no tóxica pero suficiente de un agente para proporcionar el resultado biológico deseado. Ese resultado puede ser la reducción y/o el alivio de los signos, los síntomas o las causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. Un experto habitual en la técnica puede determinar una cantidad terapéutica apropiada en cualquier caso individual usando experimentación de rutina.
- 50 Tal como se usa en el presente documento, el término "eficacia" se refiere al efecto máximo (E_{\max}) conseguido dentro del ensayo.
- 55 "Administración local" significa la administración de un agente farmacéutico a o en la proximidad de un músculo o una ubicación subdérmica en un paciente por una vía no sistémica. Por tanto, la administración local excluye las vías de administración sistémicas, tales como la administración intravenosa u oral.
- 60 "Larga duración" o "duración más larga" o "mayor duración" se refiere a la duración más larga de la eficacia de una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales en comparación con una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales que se dosifica a la misma cantidad o una cantidad comparable y se administra de la misma manera (por ejemplo, mediante inyección) a la(s) misma(s) ubicación/ubicaciones o a una(s) ubicación/ubicaciones comparable(s).
- 65 "Administración periférica" significa la administración a una ubicación lejos de una ubicación sintomática, a diferencia de una administración local.
- 65 "Farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas propiedades y/o sustancias que son aceptables para el paciente

desde un punto de vista farmacológico/toxicológico y para el químico farmacéutico fabricante desde un punto de vista físico/químico con respecto a la composición, formulación, estabilidad, aceptación por parte del paciente y biodisponibilidad. "Portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un medio que no interfiere con la eficacia de la actividad biológica del/de los principio(s) activo(s) y no es tóxico para el huésped al que se administra.

- 5 Un tratamiento "terapéutico" es un tratamiento administrado a un sujeto que muestra signos o síntomas de la patología, con el fin de disminuir o eliminar esos signos o síntomas.
- 10 Tal como se usa en el presente documento, el término "tratamiento" o "tratar" se define como la aplicación o administración de un agente terapéutico, es decir, un compuesto (solo o en combinación con otro agente farmacéutico), a un paciente, o la aplicación o administración de un agente terapéutico a una línea celular o un tejido aislado de un paciente (por ejemplo, para diagnóstico o aplicaciones *ex vivo*), que tiene un estado contemplado en el presente documento, un síntoma de un estado contemplado en el presente documento o el potencial de desarrollar un estado contemplado en el presente documento, con el fin de curar, sanar, aliviar, calmar, alterar, remediar, mejorar, progresar o afectar a un estado contemplado en el presente documento, a los síntomas de un estado contemplado en el presente documento o al potencial de desarrollar un estado contemplado en el presente documento. Tales tratamientos pueden ajustarse o modificarse específicamente, basándose en el conocimiento obtenido a partir del campo de la farmacogenómica.
- 15
- 20 Intervalos: a lo largo de esta divulgación, diversos aspectos de la invención pueden presentarse en formato de intervalo. Debe entenderse que la descripción en formato de intervalo es simplemente por comodidad y brevedad, y no debe interpretarse como una limitación inflexible del alcance de la invención. Por consiguiente, debe considerarse que la descripción de un intervalo divulga específicamente todos los posibles subintervalos, así como los valores numéricos individuales dentro de ese intervalo. Por ejemplo, debe considerarse que la descripción de un intervalo tal como desde 1 hasta 6 divulga específicamente subintervalos tales como desde 1 hasta 3, desde 1 hasta 4, desde 1 hasta 5, desde 2 hasta 4, desde 2 hasta 6, desde 3 hasta 6 etc., así como números individuales dentro de ese intervalo, por ejemplo, 1, 2, 2,7, 3, 4, 5, 5,3 y 6. Esto se aplica independientemente de la amplitud del intervalo.
- 25
- 30
- 35

Descripción

La presente invención, tal como se define en las reivindicaciones, se basa en el descubrimiento de que una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales mostró un resultado mejorado en un paciente receptor en comparación con un paciente por lo demás idéntico que recibió una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales cuando se evaluó al paciente 16 semanas después de la administración de la composición de toxina botulínica. Es decir, la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales muestra una eficacia de duración más larga en comparación con una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales.

Formulación de toxina botulínica libre de proteínas animales liofilizada

Las composiciones según la invención incluyen una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales que es una preparación liofilizada de toxina botulínica. Por ejemplo, la preparación liofilizada de una composición de toxina botulínica según la invención no contiene ningún estabilizante de proteínas derivado de un animal.

La presente invención proporciona una preparación liofilizada de una composición de toxina botulínica que comprende: 1) toxina botulínica; 2) polisorbato; 3) metionina; y 4) uno o más componentes seleccionados de un grupo que consiste en azúcar, alcohol de azúcar, un compuesto iónico y una combinación de los mismos.

El/los componente(s) desempeña(n) un papel en el mantenimiento de la actividad de la composición de toxina botulínica a la vez que facilita(n) la estabilización a temperaturas mayores que la temperatura ambiente. En el momento de la liofilización, las preparaciones que contienen 1) toxina botulínica; 2) polisorbato; y 3) metionina muestran una estabilidad reducida y, cuando se formulan como una preparación líquida, experimentan una estabilidad reducida a temperaturas mayores que la temperatura ambiente; sin embargo, la preparación liofilizada de una composición de toxina botulínica usada en la presente invención no sólo mantiene la actividad de la composición de toxina botulínica a temperaturas mayores que la temperatura ambiente, sino que también es excelente en relación con la estabilidad de almacenamiento durante largos períodos.

La toxina botulínica puede derivarse de *Clostridium botulinum*. La toxina botulínica puede separarse y refinarse a partir de estas cepas mediante métodos conocidos, o también puede usarse un producto disponible comercialmente.

La toxina botulínica puede seleccionarse al azar de un grupo que consiste en los serotipos botulínicos A, B, C, D, E, F y G.

La toxina botulínica presente en la preparación liofilizada puede estar en formas que contienen y que no contienen proteínas en complejos. La actividad de la toxina botulínica no se ve afectada esté o no la proteína en un complejo. En la preparación liofilizada de una composición de toxina botulínica usada en la presente invención, el polisorbato, que es uno de los estabilizantes de la toxina botulínica, es un tensioactivo no iónico y se usa principalmente como

emulsionante en las industrias farmacéutica o alimentaria. Como tipos de polisorbato, están el polisorbato 20, 40, 60, 80 ó 100, basándose en el número total de grupos oxietileno. Para la preparación liofilizada de una composición de toxina botulínica usada en la presente invención, es aceptable usar cualquier forma de entre estas. El polisorbato puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 2 mg por 100 unidades de la toxina botulínica. Si el polisorbato está presente dentro de este intervalo, entonces puede mantenerse la actividad de la toxina botulínica incluso a temperaturas mayores que la temperatura ambiente y puede mantenerse la estabilidad de almacenamiento a largo plazo.

En determinadas realizaciones, la metionina, que es uno de los estabilizantes, también puede usarse como un sustituto de proteínas animales, tales como la albúmina o gelatina, como estabilizante para la toxina botulínica. La metionina puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 a 10 mg por 100 unidades de la toxina botulínica. Si la metionina está comprendida dentro de este intervalo, entonces puede mantenerse la actividad de la composición de toxina botulínica incluso a temperaturas mayores que la temperatura ambiente y puede mantenerse la estabilidad de almacenamiento a largo plazo.

A diferencia de las preparaciones líquidas existentes, la preparación liofilizada de una composición de toxina botulínica usada en la presente invención comprende además al menos uno de entre azúcar, alcohol de azúcar o un compuesto iónico como componente adicional aparte de metionina y polisorbato. Se sabe que el azúcar protege frente a la desnaturalización de la macromolécula. Como azúcar que puede usarse en la preparación liofilizada usada en determinadas realizaciones de la presente invención, puede usarse trehalosa, sacarosa, maltosa, fructosa, lapinosa, lactosa o glucosa; sin embargo, el uso del mismo no se limita a estos tipos. El azúcar puede estar en una cantidad de aproximadamente 0,1 a 50 mg por 100 unidades de la toxina botulínica. Si el azúcar está presente dentro de este intervalo, entonces puede mantenerse la actividad de la composición de toxina botulínica incluso a temperaturas mayores que la temperatura ambiente y puede mantenerse la estabilidad de almacenamiento a largo plazo.

Se sabe que el alcohol de azúcar estabiliza la macromolécula en condiciones de liofilización y evita de manera útil la desnaturalización. Como alcohol de azúcar que puede usarse en la preparación liofilizada usada en determinadas realizaciones de la presente invención, puede usarse cilodextrina, manitol, sorbitol, glicerol, xilitol o inositol, etc. El alcohol de azúcar puede estar en una cantidad de aproximadamente 0,1 a 50 mg por 100 unidades de la toxina botulínica. Si el alcohol de azúcar está presente dentro de este intervalo, entonces puede mantenerse la actividad de la composición de toxina botulínica incluso a temperaturas mayores que la temperatura ambiente y puede mantenerse la estabilidad de almacenamiento a largo plazo.

En determinadas realizaciones, "compuesto iónico" se refiere a una sal, un tampón, etc. El compuesto iónico funciona con la macromolécula a través de unión específica o inespecífica. La sal puede aumentar la estabilidad térmica, aumentar la solubilidad y disminuir el grado de agregación. Sin embargo, se requiere precaución con las altas concentraciones de sal debido a la tendencia observada a la desnaturalización de proteínas. Como compuesto iónico, puede usarse cloruro de sodio, fosfato de sodio, fosfato de amonio, sulfato de magnesio, acetato de sodio, lactato de sodio, succinato de sodio, propionato de sodio o fosfato de potasio; sin embargo, el uso del mismo no se limita a estos tipos. El compuesto iónico puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 a 10 mg por 100 unidades de la toxina botulínica. Si el compuesto iónico está presente dentro de este intervalo, entonces puede mantenerse la actividad de la composición de toxina botulínica incluso a temperaturas mayores que la temperatura ambiente y puede mantenerse la estabilidad de almacenamiento a largo plazo.

En determinadas realizaciones, la preparación liofilizada de una composición de toxina botulínica usada en la presente invención se fabrica a partir del cultivo de *Clostridium botulinum* que se ha cultivado en un medio específico, aunque esto no está limitado. El complejo de toxina botulínica se purifica a través de una serie de precipitaciones con ácido como un complejo cristalino compuesto por proteína de toxina activa de alto peso molecular y proteína hemaglutinina relacionada. El complejo cristalino se disuelve en una disolución que contiene sal y estabilizante, y la preparación liofilizada de una composición de toxina botulínica se produce mediante un procedimiento de secado por congelación.

Método cosmético

La invención se refiere al uso cosmético de una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales para aliviar un estado en un paciente que lo necesita, tal como se define en las reivindicaciones, mediante lo cual la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales muestra un efecto de duración más largo en el paciente en comparación con una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales. Por ejemplo, se observó que una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales mostró una mayor mejora sobre el resultado terapéutico en un paciente en comparación con el resultado del paciente que recibió una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales.

La eficacia de la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales persiste más tiempo en el paciente en comparación con una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales. En determinadas realizaciones, la administración de la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales en forma liofilizada permite un intervalo de tiempo más largo entre administraciones de la composición de toxina botulínica en comparación con el intervalo de tiempo cuando se usa una toxina botulínica que contiene proteínas animales administrada a la

misma dosis o a una dosis comparable y en el mismo sitio o en un sitio comparable.

En determinadas realizaciones, la invención proporciona un método cosmético que incluye usar una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales, en el que la composición de toxina botulínica se administra a un paciente que lo necesita a una dosis menor en comparación con la dosis usada con una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales.

En determinadas realizaciones, la invención proporciona un método cosmético para tratar un estado en un paciente que lo necesita, comprendiendo el método la etapa de administrar localmente una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales, mediante lo cual se alivia eficazmente de ese modo al menos un síntoma del estado durante un periodo de tiempo más largo que el de una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales.

En determinadas realizaciones, la invención proporciona un método cosmético que incluye usar una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales, en el que la composición de toxina botulínica se administra a un paciente que lo necesita en un intervalo de tiempo mayor entre administraciones en comparación con el intervalo de tiempo usado con una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales.

En determinadas realizaciones, la invención proporciona un método cosmético para tratar un estado en un paciente que lo necesita, comprendiendo el método la etapa de administrar localmente una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales, en el que la composición se administra en un intervalo de tiempo entre un primer tratamiento y un segundo tratamiento eficaz para mantener el alivio de al menos un síntoma del estado, que es mayor que el intervalo de tiempo para una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales dosificada a la misma cantidad o a una cantidad comparable y administrada de la misma manera (por ejemplo, mediante inyección) a las mismas ubicaciones que el de la composición libre de proteínas animales.

En determinadas realizaciones, el tiempo entre el primer tratamiento y el segundo tratamiento de un estado en un paciente humano usando una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales es de al menos un mes, al menos 2 meses, al menos 12 semanas, al menos 13 semanas, al menos 14 semanas, al menos 15 semanas, al menos 16 semanas, al menos 17 semanas, al menos 18 semanas, al menos 19 semanas, al menos 20 semanas, al menos 21 semanas, al menos 22 semanas, al menos 23 semanas, al menos 24 semanas, al menos 25 semanas, al menos 26 semanas, al menos 27 semanas, al menos 28 semanas, al menos 29 semanas, al menos 30 semanas, al menos 31 semanas, al menos 32 semanas, al menos 33 semanas, al menos 34 semanas, al menos 35 semanas, al menos 36 semanas, al menos 37 semanas, al menos 38 semanas, al menos 39 semanas, al menos 40 semanas, al menos 41 semanas, al menos 42 semanas, al menos 43 semanas, al menos 44 semanas, al menos 45 semanas, al menos 46 semanas, al menos 47 semanas, al menos 48 semanas, al menos 49 semanas, al menos 50 semanas, al menos 51 semanas, al menos 52 semanas o más. En determinadas realizaciones, el tiempo entre el primer tratamiento y el segundo tratamiento usando una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales es mayor de 3 meses para el alivio eficaz de al menos un síntoma de un estado en un paciente. En determinadas realizaciones, el tiempo entre el primer tratamiento y el segundo tratamiento usando una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales de la presente invención es mayor de 16 semanas para el alivio eficaz de al menos un síntoma de un estado en un paciente.

La composición de toxina botulínica libre de proteínas animales de la presente invención puede usarse con fines cosméticos, tales como para tratar las deficiencias del contorno de la piel, incluyendo las arrugas, de un individuo.

En determinadas realizaciones, la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales de la presente invención puede usarse para tratar las líneas glabulares.

En determinadas realizaciones, la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales de la presente invención puede usarse para tratar las líneas cantales laterales.

El método cosmético de la invención comprende la administración local de la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales, tal como se define en las reivindicaciones. En determinadas realizaciones, el régimen de tratamiento de la invención es beneficioso debido al efecto de duración más largo y a los resultados mejorados asociados con el uso de composiciones de toxina botulínica libres de proteínas animales en comparación con el uso de composiciones de toxina botulínica que contienen proteínas animales. Sin desear estar unidos a ninguna teoría en particular, se cree que, en determinadas realizaciones, el efecto de larga duración de la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales permite un intervalo de tiempo más largo entre tratamientos con la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales en comparación con el intervalo de tiempo cuando se usa una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales.

Además, sin desear limitarse a ninguna teoría en particular, se cree que, en determinadas realizaciones, la formulación única de las composiciones usadas en la invención permite el efecto de duración más largo de la composición en el paciente.

En determinadas realizaciones, al aumentar el intervalo de tiempo entre tratamientos, el régimen de tratamiento permite una reducción de la frecuencia de tratamiento. Por tanto, la invención proporciona el potencial de mejorar la comodidad del paciente. El intervalo de tiempo aumentado entre tratamientos y la menor frecuencia de tratamiento también tiene el potencial de proporcionar efectos secundarios reducidos.

- 5 En determinadas realizaciones, el método cosmético de la invención es beneficioso debido al efecto de larga duración y a los resultados mejorados asociados con el uso de la composición botulínica libre de proteínas animales liofilizada, tal como se define en las reivindicaciones.
- 10 En determinadas realizaciones, en un método cosmético de la invención, una toxina botulínica con un nivel terapéuticamente eficaz está presente en el paciente receptor durante un periodo de tiempo ampliado de al menos 16 semanas, al menos 18 semanas, al menos 20 semanas, al menos 22 semanas, al menos 24 semanas, al menos 26 semanas, al menos 28 semanas, al menos 30 semanas, al menos 32 semanas, al menos 34 semanas, al menos 36 semanas, al menos 38 semanas, al menos 40 semanas, al menos 42 semanas, al menos 44 semanas, al menos 46 semanas, al menos 48 semanas, al menos 50 semanas o más.

15 Debe entenderse que siempre que se proporcionen valores e intervalos en el presente documento, se pretende que todos los valores e intervalos abarcados por estos valores e intervalos estén abarcados dentro del alcance de la presente invención. Además, la presente solicitud también contempla todos los valores que se encuentran dentro de estos intervalos, así como los límites superior o inferior de un intervalo de valores.

20 Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente aspectos de la presente invención. Sin embargo, no son una limitación en modo alguno de las enseñanzas o la divulgación de la presente invención tal como se expone en el presente documento.

25 **Ejemplos experimentales**

30 La invención se describe adicionalmente con detalle mediante referencia a los siguientes ejemplos experimentales. Estos ejemplos se proporcionan sólo con fines de ilustración, y no pretenden ser limitativos a menos que se especifique lo contrario. Por tanto, la invención no debe interpretarse en modo alguno como limitada a los siguientes ejemplos, más bien, debe interpretarse que abarca todas y cada una de las variaciones que resultan evidente como resultado de la enseñanza proporcionada en el presente documento.

35 Sin descripción adicional, se cree que un experto habitual en la técnica, usando la descripción anterior y los siguientes ejemplos ilustrativos, puede realizar y utilizar la presente invención y poner en prácticas los métodos cosméticos reivindicados. Por tanto, los siguientes ejemplos de realización destacan específicamente las realizaciones preferidas de la presente invención y no deben interpretarse como limitativas en modo alguno de la parte restante de la divulgación.

40 Ejemplo de referencia 1: la eficacia y seguridad de la toxina botulínica de tipo A de tipo líquida para la gestión de líneas glabulares del ceño de moderadas a graves: ensayo clínico en fase III, controlado con principio activo, multicéntrico, con doble enmascaramiento, aleatorizado y en paralelo

45 La toxina botulínica A (BoNT/A) se ha usado ampliamente en una variedad de maneras para corregir las líneas glabulares no deseadas y otras líneas faciales hiperfuncionales. Sin embargo, la mayoría de las BoNT/A que se usan actualmente requieren dilución con solución salina, lo que es muy inconveniente para el usuario y, habitualmente, es difícil obtener la concentración exacta cada vez. Los resultados presentados en el presente documento se basan en experimentos llevados a cabo que comparan la eficacia y seguridad de la BoNT/A de tipo líquida recientemente desarrollada (MT10109L) y toxina onabotulínica A (BOTOX®; ona-BoNT/A) para líneas glabulares de moderadas a graves.

50 A continuación se describen los materiales y métodos empleados en estos experimentos.

Materiales y métodos

55 Este estudio fue un ensayo clínico en fase III, controlado con principio activo, en paralelo, con doble enmascaramiento, aleatorizado y prospectivo para la evaluación de la eficacia y seguridad de MT10109L en la corrección de líneas glabulares del ceño que se realizó en tres centros (Hospital de St. Paul, Universidad Católica de Corea; Hospital Universitario de Inha; Hospital Universitario de Kyunghee en Gangdong) en Corea del Sur. El comité de revisión institucional revisó y aprobó el estudio y todas las modificaciones apropiadas en cada centro participante según las pautas publicadas en la Declaración de Helsinki (Sudáfrica, modificación 1996) y las pautas de Buenas Prácticas Clínicas. Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito para participar en el estudio.

Participantes

60 Los investigadores seleccionaron voluntarios hombres y mujeres con edades de 20-65 años con líneas glabulares.

Según la escala de arrugas faciales (FWS), en este estudio se inscribieron sujetos con líneas glabellares del ceño de moderadas a graves (puntuación de gravedad de 2 a 3) (tabla 1). Los criterios de exclusión incluían cualquier estado médico (por ejemplo, miastenia grave, síndrome de Lambert-Eaton, esclerosis lateral amiotrófica) que pudiera poner al paciente en riesgo con la toxina botulínica, el uso previo de medicamentos que pudieran afectar a la unión neuromuscular (por ejemplo, relajantes musculares, HCl de espectinomicina, aminoglucósidos, antibióticos polipeptídicos, anticolinérgicos, benzodiazepinas) o cualquier alergia o hipersensibilidad a los fármacos en estudio o a sus componentes. Otros criterios de exclusión incluían el tratamiento previo con toxina botulínica en el plazo de 3 meses, otros procedimientos que pudieran haber afectado a las líneas glabellares y frontales en el plazo de 6 meses, cualquier antecedente de tratamiento glabellar (incluyendo la frente), tal como ritidectomía y/o implantes permanentes, o cicatrices que pudieran afectar a los resultados del tratamiento. También se excluyeron los pacientes cuyas líneas glabellares no pudieron mejorarse satisfactoriamente ni siquiera con estiramiento manual. Los pacientes no eran elegibles si tenían trastornos dermatológicos o infección en los potenciales sitios de inyección o antecedentes de parálisis del nervio facial o ptosis. Se excluyeron mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.

15 Tabla 1. Escalas usadas para evaluar la eficacia de MT10109L y Ona-BoNT/A

Medición	Escala	Descripción
Escala de arrugas faciales, ceño fruncido al máximo	3	Grave; las líneas aparecen claramente formadas. Las partes inferiores de las líneas más profundas son
	2	Moderada; las líneas aparecen claramente formadas. Las partes inferiores de las líneas más profundas
	1	Leve; se observan líneas
	0	Nula; no se observan líneas
Escala de arrugas faciales, en reposo	3	Grave; líneas fácilmente evidentes
	2	Moderada; líneas apreciables
	1	Leve; líneas algo apreciables
	0	Nula; líneas no apreciables

Diseño del estudio

20 Todos los sujetos elegibles se aleatorizaron en dos grupos a una razón 1:1 y siguieron un diseño del estudio de 16 semanas de duración (figura 1.). En la visita 2 (0 semanas, nivel inicial), cada sujeto recibió una inyección intramuscular de 5 puntos con una dosis total de 20 U (4 U/0,1 ml) de BoNT/A líquida (MT10109L; Medytox Inc., Cheonwon-gun, Corea) o toxina onabotulínica A (BOTOX®; ona-BoNT/A) con doble enmascaramiento. El volumen de inyección total de 0,5 ml se dividió en cinco inyecciones: 0,1 ml (4 U) en el músculo prócer, 0,1 ml (4 U) en cada músculo corrugador superciliar medial y 0,1 ml (4 U) en la parte central de cada músculo corrugador superciliar (figura 2). Para este estudio clínico, se usó MT10109L (0,625 ml/vial (4 U/0,1 ml)) y 50 U de ona-BoNT/A. MT10109L no requirió dilución adicionales por su naturaleza líquida, sin embargo ona-BoNT/A se disolvió en 1,25 ml de NaCl al 0,9% para obtener 4 U por 0,1 ml.

30 Mediciones de la eficacia

35 Durante el periodo de observación de 16 semanas, los sujetos se evaluaron a las 4, 10 y 16 semanas. En cada visita, tanto el investigador como el paciente evaluaron la eficacia y seguridad. Además, se tomaron fotografías digitales normalizadas del área facial tratada en el mismo entorno usando el mismo equipo (EOS 600d, Canon Inc., Tokio, Japón) para garantizar la reproducibilidad (figura 1). Los médicos evaluaron la gravedad de las líneas glabellares con el ceño fruncido al máximo y en reposo usando la FWS mediante evaluación en vivo. A todos los investigadores en cada centro se les proporcionó el sistema de clasificación de fotografías normalizado. Tres evaluadores con enmascaramiento evaluaron las fotografías con el ceño fruncido al máximo y en reposo según la FWS (tabla 1).

40 El criterio de valoración primario de la eficacia fue el porcentaje de sujetos que responden con el ceño fruncido al máximo en la semana 4 basándose en la evaluación en vivo por parte del investigador (observación cara a cara). El criterio de valoración secundario de la eficacia incluyó: 1) el porcentaje de sujetos que responden con el ceño fruncido al máximo en la semana 16; 2) el porcentaje de sujetos que responden de líneas glabellares en reposo basándose en la evaluación en vivo por parte del investigador en las semanas 4 y 16; y 3) el porcentaje de sujetos que responden con el ceño fruncido al máximo y en reposo basándose en evaluación fotográfica en la semana 4. Según estudios previos para ona-BoNT/A, los sujetos que responden se definieron como aquellos que tenían puntuaciones de FWS posteriores al tratamiento de 0 ó 1 con puntuaciones de FWS antes del tratamiento de 2 ó 3. Esto significa una mejora de al menos 1 punto para los sujetos con arrugas moderadas y al menos 2 puntos para los sujetos con arrugas graves. Además, como criterio de valoración secundario de la eficacia, también se incluyeron las tasas de mejora de las líneas glabellares determinadas mediante la evaluación por parte del propio sujeto y las tasas de satisfacción en las semanas 4, 10 y 16. Los sujetos evaluaron el cambio de la gravedad de las líneas usando una escala de 9 puntos desde +4 (mejora del 100%) hasta 0 (sin cambio) hasta -4 (empeoramiento del 100%) y clasificaron su grado de satisfacción con el tratamiento en una escala de 7 puntos desde -3 (muy insatisfecho) hasta +3 (muy satisfecho). Se consideró como mejora las puntuaciones de más de +2 puntos (moderadamente mejorada). Además, Se consideró como satisfacción las puntuaciones de más de 6 puntos (satisfecho).

Mediciones de la seguridad

5 Durante el estudio, se realizó un examen físico y se comprobaron las constantes vitales en cada visita. Los signos y síntomas notificados por el investigador y el sujeto y las pruebas analíticas (hemograma completo y análisis bioquímico de la sangre) se realizaron el día de la selección y en la semana 16. Se comprobó la hCG en la orina en la selección, el día de tratamiento y en la semana 16. Se realizó un resumen y el análisis de los acontecimientos adversos sobre todos los acontecimientos adversos producidos después de recibir el consentimiento. Se documentó la incidencia de los acontecimientos adversos comparando la incidencia de todos los acontecimientos adversos, la incidencia de los acontecimientos adversos relacionados con el fármaco en estudio y la incidencia de los acontecimientos adversos graves.

10

Métodos estadísticos

15 Todos los sujetos con datos de criterios de valoración primarios se incluyeron en el conjunto de análisis completo (FAS). El conjunto por protocolo (PP) era el subconjunto de sujetos de FAS que no cometieron ninguna violación importante del protocolo. Para el parámetro de criterio de valoración primario de la eficacia, se calculó el límite inferior del intervalo de confianza (IC) unilateral del 97,5% para la diferencia en las tasas de sujetos que responden entre dos grupos. La interpretación del IC se basó en la hipótesis nula de que la diferencia esperada en las tasas de sujetos que responden entre los grupos de tratamiento era menor que el margen de no inferioridad del -15%. Si el límite inferior del IC estimado superaba el límite del -15%, pudo concluirse que MT10109L no fue inferior a ona-BoNT/A. Este análisis de confirmación se basó en el análisis PP. Para el criterio de valoración secundario de la eficacia, se realizó la prueba de la t para datos emparejados, la prueba de la chi-cuadrado de Pearson o la prueba exacta de Fisher.

20

25 La prueba exacta de Fisher se realizó para someter a prueba las diferencias entre grupos en cuanto a los acontecimientos adversos. Para las variables de laboratorio, presión sanguínea y frecuencia cardiaca, se realizó la prueba de Wilcoxon para datos emparejados para los análisis dentro de los grupos y se usó la prueba de Wilcoxon para datos independientes para los análisis entre grupos de los datos a la salida.

30 A continuación se describen los resultados de los experimentos.

Características demográficas de nivel inicial

35 De 168 sujetos inscritos, 159 sujetos completaron el estudio y, por tanto, constituyeron el conjunto PP: 78 sujetos en el grupo de MT10109L y 81 sujetos en el grupo de ona-BoNT/A. La edad de los sujetos inscritos era desde 20 hasta 65, y la edad media era de 48,94 años en el grupo de MT10109L y 49,86 años en el grupo de ona-BoNT/A, respectivamente. Todos los sujetos eran coreanos. La demografía de los dos grupos era comparable y los dos grupos no diferían en su gravedad de las líneas antes del tratamiento ni en reposo ni con ceño fruncido al máximo antes del tratamiento. Todos los sujetos tenían líneas glabelares del ceño en reposo de moderadas a graves y la mayoría de los sujetos tenían líneas glabelares del ceño graves con el ceño fruncido al máximo (el 56,41% para el grupo de MT10109L; el 50,62% para el grupo de ona-BoNT/A) (tabla 2).

40

Tabla 2. Características demográficas de los sujetos (N = 159, conjunto PP)

		MT10109L N=78	Ona-BoNT/A N=81	Valor de p
		n (%)	n (%)	
Edad	n	78	81	
	Media±DE	48,94±9,13	49,86±9,13	0,5226*
	20~29	3(3,85)	3(3,70)	0,8081†
	30~39	7(8,97)	9(11,11)	
	40~49	28(35,90)	22(27,16)	
	50~59	32(41,03)	39(48,15)	
	60~65	8(10,26)	8(9,88)	
Género	n	78	81	
	masculino	19(24,36)	15(18,52)	0,3692†
	femenino	59(75,64)	66(81,48)	
Antecedentes de inyecciones de toxina botulínica	n	78	81	
	sí	15(19,23)	12(14,81)	0,4585†
	no	63(80,77)	69(85,19)	
N.º de inyecciones de toxina botulínica	n	15	12	
	Media±DE	1,93±0,26	2,00±0,43	0,6547+
Tiempo transcurrido después de la administración de inyecciones de toxina botulínica (meses)	n	15	12	

	Media±DE	22,18±13,28	20,31±16,44	0,6428+
en la selección, evaluación en vivo por parte del investigador con el ceño fruncido al máximo (puntos)	n 3 (grave) 2 (moderada)	78 44(56,41) 34(43,59)	81 41(50,62) 40(49,38)	0,4641†

*: prueba de la t para dos muestras

+: prueba de Wilcoxon para datos independientes

†: prueba de la chi-cuadrado de Pearson

Evaluación por parte del investigador

5 Ambos grupos mostraron una mejora significativa de las líneas glabulares. Cuatro semanas después de la inyección, el porcentaje de sujetos que responden con el ceño fruncido al máximo mediante evaluación en vivo para el conjunto PP fue del 87,18% en el grupo de MT10109L y del 87,65% en el grupo de ona-BoNT/A. Además, el porcentaje de sujetos que responden de FAS en el grupo de MT10109L y el grupo de ona-BoNT/A fue similar al del conjunto PP, siendo del 85,54% y del 85,71%, respectivamente (figura 3A). Los IC del 97,5% para la diferencia del porcentaje de sujetos que responden entre los dos grupos de tratamiento (-10,79% para PP > -15%; -10,47% para FAS > -15%) demuestra que MT10109L no era inferior a ona-BoNT/A.

10 15 El porcentaje de sujetos que responden con el ceño fruncido al máximo mediante evaluación en vivo en la semana 16 fue significativamente menor en el grupo de ona-BoNT/A que en el grupo de MT10109L. El porcentaje de sujetos que responden en el conjunto PP fue del 62,34% en el grupo de MT10109L y del 40,51% en el grupo de ona-BoNT/A (valor de p = 0,0064) (tabla 3). Y el porcentaje de sujetos que responden en el conjunto FAS fue del 60,71% en el grupo de MT10109L y del 41,67% en el grupo de ona-BoNT/A (tabla 3, figura 3B). Tanto el conjunto PP como el conjunto FAS mostraron una diferencia significativa en los dos grupos y superioridad de MT10109L.

20 25 El porcentaje de sujetos que responden en reposo se evaluó en la semana 4 y 16, y no se observó ninguna diferencia significativa entre el grupo de MT10109L y el grupo de ona-BoNT/A en la semana 4 tanto en el conjunto PP como en el conjunto FAS. En la semana 16, el porcentaje de sujetos que responden en reposo en el conjunto PP fue del 50,00% en el grupo de MT10109L y del 31,58% en el grupo de ona-BoNT/A, lo que demuestra una mejora significativa en el grupo de MT10109L (valor de p = 0,0482). Sin embargo, en el conjunto FAS, el porcentaje de sujetos que responden no mostró ninguna diferencia significativa entre el grupo de MT10109L (50,00%) y el grupo de ona-BoNT/A (33,33%) (valor de p: 0,0641) (tabla 3).

Tabla 3. Tasa de sujetos que responden mediante evaluación en vivo con el ceño fruncido al máximo

		MT10109L n (%)	Ona-BoNT/A n (%)	valor de p
conjunto PP		N=78	N=81	
Semana 4	Mejora	n	78	
		Sujeto que responde	68 (87,18)	71 (87,65)
		Sujeto que no responde	10 (12,82)	10 (12,35)
		Escala de arrugas faciales	3 2 1 0	1 (1,28) 9 (11,54) 39 (50) 29 (37,18)
		n	77	0 (0) 10 (12,35) 44 (54,32) 27 (33,33)
20 Semana 16	Mejora	n	79	
		Sujeto que responde	48 (62,34)	32 (40,51)
		Sujeto que no responde	29 (37,66)	47 (59,49)
		Escala de arrugas faciales	3 2 1 0	8 (10,39) 21 (27,27) 36 (46,75) 12 (15,58)
		n	77	8 (10,13) 39 (49,37) 25 (31,65) 7 (8,86)
conjunto FAS		N=84	N=84	
25 Semana 4	Mejora	n	83	
		Sujeto que responde	71 (85,54)	72 (85,71)
		Sujeto que no responde	12 (14,46)	12 (14,29)
		Escala de arrugas faciales	3 2 1	1 (1,2) 11 (13,25) 41 (49,4)
		n	83	1 (1,19) 11 (13,1) 45 (53,57)

Semana 16	Mejora	0	30 (36,14)	27 (32,14)	0,0135†
		n Sujeto que responde	84 51 (60,71)	84 35 (41,67)	
		Sujeto que no responde	33 (39,29)	49 (58,33)	
	Escala de arrugas faciales	3 2 1 0	8 (9,52) 25 (29,76) 39 (46,43) 12 (14,29)	9 (10,71) 40 (47,62) 26 (30,95) 9 (10,71)	

†: prueba de la chi-cuadrado de Pearson

En la evaluación fotográfica, la tasa de sujetos que responden con el ceño fruncido al máximo en las semanas 4 por tres evaluadores con enmascaramiento independiente tampoco mostró ninguna diferencia significativa entre el grupo de MT10109L y el grupo de ona-BoNT/A en el conjunto PP y en el conjunto FAS. Los resultados se muestran en la tabla 4.

5

Tabla 4. Tasa de sujetos que responden mediante evaluación fotográfica (semana 4)

			MT10109L	Ona-BoNT/A	Valor de p
			n (%)	n (%)	
Ceño fruncido al máximo	conjunto PP	n Sujeto que responde	78 74 (94,87)	81 79 (97,53)	0,4369‡
		Sujeto que no responde	4 (5,13)	2 (2,47)	
		n Sujeto que responde	83 79 (95,18)	84 82 -97,62	
	conjunto FAS	Sujeto que no responde	4 (4,82)	2 -2,38	
		n Sujeto que responde	44 25 (56,82)	47 25 (53,19)	0,4431‡
		Sujeto que no responde	19 (43,18)	22 (46,81)	
En reposo	conjunto PP	n Sujeto que responde	48 26 (54,17)	49 25 (51,02)	0,7282†
		Sujeto que no responde	22 (45,83)	24 (48,98)	
	conjunto FAS	n Sujeto que responde	48 26 (54,17)	49 25 (51,02)	0,7564†
		Sujeto que no responde	22 (45,83)	24 (48,98)	

10 Evaluación por parte del sujeto

La evaluación por parte del sujeto sobre la mejora de las líneas glabulares y la satisfacción proporcionaron resultados comparables para ambos grupos. La tasa de mejora máxima, definida como la proporción de sujetos que puntuaron más de +2 puntos (moderadamente mejorada), se evaluó en la semana 4, 10 y 16. Tanto en el conjunto PP como en el conjunto FAS, la tasa de mejora máxima en la semana 4, 10 y 16 no mostró ninguna diferencia significativa entre los grupos de MT10109L y de ona-BoNT/A. La tasa de mejora de la evaluación subjetiva mostró el 89,74% y el 92,59% en la semana 4, el 81,82% y el 91,14% en la semana 10, el 70,13% y el 68,35% en la semana 16, respectivamente, en el grupo de MT10109L y el grupo de ona-BoNT/A del conjunto PP. La tasa de satisfacción, definida como los pacientes que se muestran "muy satisfechos" o "satisfechos", se evaluó en la semana 4, 10 y 16, y esto tampoco mostró ninguna diferencia significativa en el conjunto PP y el conjunto FAS entre los grupos de MT10109L y de ona-BoNT/A. La tasa de satisfacción fue del 78,21% y el 71,60% en la semana 4, el 74,03% y el 68,35% en la semana 10, el 58,44% y el 48,10% en la semana 16, respectivamente, en el grupo de MT10109L y el grupo de ona-BoNT/A del conjunto PP. Los resultados del conjunto PP se muestran en la figura 4.

15

20

25

Seguridad

Se notificaron números comparables de acontecimientos adversos que surgen con el tratamiento en el grupo de MT10109L (21,43%) y el grupo de control (16,67%) (tabla 5). No hubo ninguna reacción adversa al fármaco en el grupo de MT10109L. La única reacción adversa al fármaco relacionada con la inyección fue un incidente de edema facial notificado en el grupo de control. No se observó ninguna reacción adversa al fármaco grave en ninguno de los grupos. Ningún sujeto se retiró debido a acontecimientos adversos.

30

Tabla 5. Acontecimientos adversos (conjunto de seguridad)

acontecimientos adversos (n, %)	Grupo de MT10109L (N=84)	Ona-BoNT/A (N=84)	Valor de p-
acontecimientos adversos	19 (22,62)	15 (17,86)	0,4424
acontecimientos adversos que surgen con el tratamiento	18 (21,43)	14 (16,67)	0,4319
reacción adversa al fármaco			
edema facial	0 (0,00)	1 (1,19)	1
acontecimientos adversos graves			
infarto de miocardio agudo	0 (0,00)	1 (1,19)	1
peritonitis	0 (0,00)	1 (1,19)	1
síndrome del manguito de los rotadores	1 (1,19)	0 (0,00)	1

Se notificaron acontecimientos adversos graves que se produjeron después de que el paciente recibiera el medicamento de prueba en el 1,19% (1/84 sujetos, 1 incidente) del grupo de MT10109L y el 2,38% (2/84 sujetos, 2 incidentes) del grupo de control. Para los acontecimientos adversos graves, se notificó infarto de miocardio agudo y peritonitis en cada paciente del grupo de ona-BoNT/A. El paciente que desarrolló infarto de miocardio agudo se había tratado de su problema cardiaco en el departamento de cardiología, por tanto, este acontecimiento no parece estar relacionado con la inyección del fármaco de prueba. Y se notificó síndrome del manguito de los rotadores en un paciente del grupo de MT10109L después de que el paciente recibiera el medicamento de prueba.

En cuanto a los análisis y las constantes vitales, no se detectaron cambios anómalos significativos después de la administración del fármaco de prueba en el grupo de MT10109L ni el grupo de ona-BoNT/A.

15 Eficacia y seguridad de la toxina botulínica de tipo A de tipo líquida

Los resultados presentados en el presente documento demuestran que MT10109L es segura y eficaz para el tratamiento de líneas glaberales. El tratamiento con MT10109L dio como resultado una mejora significativa de la gravedad de las líneas glaberales del ceño tanto con la máxima contracción como en reposo mediante evaluación en vivo en la semana 4 y la semana 16. Los resultados de la evaluación fotográfica por evaluadores con enmascaramiento y la evaluación por parte del sujeto en este estudio indican que ona-BoNT/A y MT10109L no difieren significativamente en ninguna variable en ningún punto. El resultado también demostró que MT10109L puede proporcionar una mayor mejora que ona-BoNT/A en la semana 16. Los resultados presentados en el presente documento también sugieren que la eficacia de MT10109L persistió más tiempo que la de ona-BoNT/A.

25 Las preparaciones de BoNT/A disponibles comercialmente fueron muy diversas y tuvieron eficacias y seguridad diferentes debido a su naturaleza biológica única (Klein AW, *et al.*, Plast Reconstr Surg., 2008; 121(6):413e-422e). De estas, ona-BoNT/A es el tipo mejor conocido que domina el mercado de la toxina botulínica ya que se aprobó y comercializó por primera vez en los Estados Unidos en 1989 (Yang GH, *et al.*, Dermatologic Surgery, 2013; 39(1pt2):165-170). Como consecuencia, la mayor parte de la información sobre la manipulación de toxina botulínica de tipo A se encuentra para ona-BoNT/A (Trindade De Almeida AR, *et al.*, Dermatologic Surgery, 2011; 37(11):1553-1565). Por tanto, este estudio se diseñó para comparar la eficacia y seguridad de MT10109L y ona-BoNT/A.

35 Todos los productos de BoNT/A usados en la actualidad recomiendan que la reconstitución debe realizarse en sustancias variables antes de la inyección, ya que los productos se proporcionan como una formulación en polvo seca por congelación. Estos productos también tienen problemas de suministro, dilución y almacenamiento. Por ejemplo, Ona-BoNT/A debe almacenarse entre 2°C y 8°C después de su reconstitución y debe usarse en el plazo de 24 horas desde la reconstitución (Huang W, *et al.*, J Am Acad Dermatol 2000; 43:249-59).

40 Aunque la toxina rimabotulínica b (Myobloc®, Solstice Neurosciences, Louisville, KY) se ha usado como forma de inyección líquida de toxina botulínica B, no se usa tan ampliamente como BoNT/A, y la dosificación equivalente de toxina rimabotulínica b con BoNT/A no se ha estudiado completamente (Trindade De Almeida AR, *et al.*, Dermatologic Surgery, 2011; 37(11):1553-1565).

45 MT10109L es la primera forma de inyección líquida de BoNT/A. MT10109L contiene complejos macromoleculares de proteínas de tipo BoNT/A con pesos moleculares de 900 KD, que es similar a ona-BoNT/A (tabla 6). MT10109L muestra una capacidad de difusión similar a la de ona-BoNT/A.

50 MT10109L se proporciona como un líquido estéril listo para usar; no se requiere reconstitución y es más cómodo de almacenar y reutilizar en comparación con la mayoría de las BoNT/A. La vida útil de almacenamiento de MT10109L se estima actualmente en alrededor de 22 meses desde la fecha de fabricación, sin embargo, sin desear estar unidos a ninguna teoría en particular, se espera que se prolongue mediante una prueba de estabilidad ampliada. Durante el periodo, MT10109L puede reutilizarse en cualquier momento sin límite de tiempo, mientras que ona-BoNT/A se recomienda que se reutilice en el plazo de 4 horas a 6 semanas después de su reconstitución (Carruthers J, *et al.*, Plast Reconstr Surg., 2004; (supl.); 11(6):4:2S y Hexsel DM, *et al.*, Dermatol Surg., 2003; 29:523-9). Debido a que la estabilidad más duradera de MT10109L está validada tal como se menciona en otra parte en el presente documento,

MT10109L tiene una ventaja sobre ona-BoNT/A reconstituida en la reutilización. Además, MT10109L está disponible actualmente como una pequeña unidad de envase (25 U/vial), que es adecuada para el tratamiento de líneas glabulares (tabla 6).

5 Tabla 6. Características de las preparaciones de toxina botulínica

	MT10109L	Ona-BoNT/A
Fabricante	Medytox Inc.	Allergan, Inc.
Nombres comerciales	Neuranox Aqua®	Botox®, Botox cosmetic®, Vistabel®, Vistabex®
Serotipo de la toxina	A	A
Indicaciones	Líneas glabulares	Blefaroespasmo, distonía cervical, líneas glabulares, hiperhidrosis, migraña crónica
Principio activo	Toxina botulínica de tipo A	Toxina botulínica de tipo A
Peso molecular del complejo	900 kDa	900 kDa
U/vial	25	50
Estabilizante/vial	metionina (0,125 mg) polisorbato 20 (0,094 mg)	Albúmina sérica humana (0,5 mg)
Excipientes/vial	cloruro de sodio (5,625 mg)	cloruro de sodio (0,45 mg)
Formulación	Líquida	Polvo secado a vacío
Dilución, ml	No se requiere reconstitución	1,0-2,5
Almacenamiento	2-8°C	2-8°C o <-5°C
Almacenamiento después de la dilución/temperatura	sin limitación/2-8°C	24 horas/2-8°C

Los resultados presentados en el presente documento demuestran que la eficacia de MT10109L persistió más tiempo que la de ona-BoNT/A. El efecto terapéutico de BoNT/A para la mejora de las líneas glabulares pudo detectarse en el plazo de 4 semanas después de la inyección y disminuye gradualmente entre 3-6 meses. El hecho de que un periodo de mantenimiento más largo de la mejora de las líneas glabulares asociada con el uso de MT10109L proporciona una gran ventaja sobre otros tipos de BoNT/A. Los resultados de un meta-análisis por Glogau R, *et al.* mostraron que el tratamiento de las líneas glabulares con 20 unidades de ona-BoNT/A mantuvo el efecto clínico en la semana 16 en más del 50% de los sujetos que responden (Glogau R, *et al.*, Dermatol Surg., 2012; 38(11):1794-803). Sin embargo, en este estudio, la tasa de sujetos que responden de ona-BoNT/A fue menor que la de informes previos. Por tanto, son necesarios estudios grandes, con inscripción de pacientes de varios centros médicos y con periodos de seguimiento más largos, para confirmar este resultado.

20 Mientras que la BoNT/A usada en la actualidad contiene albúmina o gelatina para su estabilización, MT10109L eliminó la albúmina, pero también los materiales derivados de animales, como componente de todo el procedimiento de fabricación. Por tanto, MT10109L minimizó el riesgo de enfermedades infecciosas, incluyendo encefalopatía espongiforme transmitible. No se observaron reacciones adversas al fármaco graves con cualquier toxina en el presente estudio. Por tanto, MT10109L es tan segura como ona-BoNT/A.

25 Los resultados presentados en el presente documento demuestran que MT10109L no es inferior a ona-BoNT/A en cuanto a la mejora de las líneas glabulares y es relativamente similar en cuanto a seguridad, por tanto, puede considerarse para su uso en el tratamiento del síntoma relevante. Con su periodo de mantenimiento más largo de la mejora de las líneas glabulares, la comodidad sin la etapa de dilución adicional, el fácil almacenamiento y la reutilización y los constituyentes libres de proteínas derivadas de animales, MT10109L es un sustituto deseable para la formulación en polvo convencional de BoNT/A.

30 Ejemplo 2: Estudio para hallar la dosis óptima, en fase II, multicéntrico, con doble enmascaramiento y aleatorizado para determinar la seguridad y eficacia de MT10109 frente a BOTOX en sujetos con líneas glabulares de moderadas a graves

35 Los resultados presentados en el presente documento comparan la seguridad y eficacia de la formulación liofilizada de MT10109 y BOTOX® en sujetos con líneas glabulares de moderadas a graves. Se demuestra que la respuesta con el ceño fruncido al máximo se mantuvo en el grupo de 20 U de MT10109 durante hasta 120 días.

40 Los experimentos descritos en el presente documento compararon la administración de dosis de MT10109 a 10 U, 20 U y 30 U con BOTOX® dosificada a 20 U. La eficacia de MT10109 se evaluó principalmente el día 30 (visita los días 4; 6, 7) y la comparación de interés fue la comparación entre las tasas de sujetos que responden para 20 U de MT10109 y 20 U de BOTOX®. Un sujeto que responde se definió como una clasificación de gravedad de las líneas glabulares de nula (0) o leve (1) con el ceño fruncido al máximo o en reposo el día 30, dependiendo del análisis.

45 Los puntos de tiempo del día 14 (visita 3), día 30 (visita 4), día 60 (visita 5), día 90 (visita 6) y día 120 (visita 7) se permitieron 7 días a cada lado del día de la visita y, por tanto, el día 30, por ejemplo, puede no ser exactamente 30 días

después de la administración del tratamiento en estudio. Tal como se presenta en el presente documento, los puntos de tiempo se han etiquetado por día en lugar de por visita. Todos los análisis de eficacia se realizaron usando el conjunto de análisis completo (FAS) y se repitieron usando el conjunto por protocolo (PP) como análisis de respaldo.

- 5 Parámetro primario de la eficacia: clasificación por parte del investigador de la gravedad de las líneas glabiales con el ceño fruncido al máximo el día 30 mediante evaluación en vivo

10 La evaluación en vivo por parte del investigador de la gravedad de las líneas glabiales con el ceño fruncido al máximo el día 30 se resumen para FAS en la tabla 7. Se usó una prueba de la chi-cuadrado de Mantel-Haenszel para comparar los grupos de tratamiento y está en forma de diagrama en la figura 5. Los resultados para el conjunto PP se resumen en la tabla 8.

15 Tabla 7: Evaluación en vivo por parte del investigador de la gravedad de las líneas glabiales con el ceño fruncido al máximo el día 30, conjunto de análisis completo

Evaluación en vivo de las líneas glabiales	10 U de MT10109 N=31 n (%)	20 U de MT10109 N=28 n (%)	30 U de MT10109 N=26 n (%)	20 U de BOTOX® N=29 n (%)
Día 30, con el ceño fruncido al máximo	n=30	n=26	n=25	n=26
Sujetos que responden	18 (60,0)	18 (69,2)	22 (88,0)	19 (73,1)
Sujetos que no responden	12 (40,0)	8 (30,8)	3 (12,0)	7 (26,9)

Abreviaturas: N=número de sujetos en el conjunto de análisis; n=número de sujetos con datos.

Nota: los sujetos incluidos en el análisis debían tener una clasificación de gravedad de las líneas glabiales de nivel inicial con el ceño fruncido al máximo de moderada (2) o grave (3). Un sujeto que responde se definió como el que tiene una clasificación de gravedad de nula (0) o leve (1) en la visita después del nivel inicial correspondiente. Los porcentajes se basan en el número de sujetos con una evaluación en la visita relevante.

20 Para FAS, basándose en la evaluación en vivo por parte del investigador de la gravedad de las líneas glabiales de los sujetos con el ceño fruncido al máximo el día 30, la proporción de sujetos que responden (una clasificación de la gravedad de nula [0] o leve [1]) en el grupo de 20 U de MT10109 fue similar a la del grupo de 20 U de BOTOX® (tabla 7).

La proporción de sujetos que responden en el grupo de 20 U de MT10109 fue del 69,2% (18 de 26 sujetos) y en el grupo de 20 U de BOTOX® fue del 73,1% (19 de 26 sujetos).

- 25 No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la proporción de sujetos que responden en los grupos de 20 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® (-3,2 [IC del 95%: de -28,3 a 21,8]; valor de p de 0,760) (figura 5).

30 La proporción de sujetos que responden en el grupo de 10 U de MT10109 fue menor en comparación con el grupo de 20 U de BOTOX® y la proporción de sujetos que responden en el grupo de 30 U de MT10109 fue mayor en comparación con 20 U de BOTOX® (tabla 7).

35 La proporción de sujetos que responden en el grupo de 10 U de MT10109 fue del 60,0% (18 de 30 sujetos) y en el grupo de 30 U de MT10109 fue del 88,0% (22 de 25 sujetos) y en el grupo de 20 U de BOTOX® fue del 73,1% (19 de 26 sujetos).

40 No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la proporción de sujetos que responden en los grupos de 10 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® (-9,7 [IC del 95%: de -34,6 a 15,2]; valor de p de 0,448) o entre los grupos de 30 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® (17,6 [IC del 95%: de -4,1 a 39,3]; valor de p de 0,117) (figura 5).

- 45 No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la proporción de sujetos que responden en los grupos de 10 U de MT10109 y 20 U de MT10109 (-6,5 [IC del 95%: de -31,4 a 18,4]; valor de p de 0,614) o entre la proporción de sujetos que responden en los grupos de 30 U de MT10109 y 20 U de MT10109 (20,8 [IC del 95%: de -0,9 a 42,5]; valor de p de 0,066). La proporción de sujetos que responden en el grupo de 10 U de MT10109 fue menor que la del grupo de 30 U de MT10109 y la diferencia fue estadísticamente significativa (-27,3 [IC del 95%: de -48,8 a -5,8]; valor de p de 0,020).

50 La evaluación en vivo por parte del investigador de la gravedad de las líneas glabiales con el ceño fruncido al máximo el día 30 se resume para el conjunto PP en la tabla 8. Se usó una prueba de la chi-cuadrado de Mantel-Haenszel para comparar los grupos de tratamiento.

Tabla 8: Evaluación en vivo por parte del investigador de la clasificación de la gravedad de las líneas glabiales con el ceño fruncido al máximo el día 30, conjunto por protocolo

Evaluación en vivo de las líneas glabiales	10 U de MT10109 N=30 n (%)	20 U de MT10109 N=26 n (%)	30 U de MT10109 N=23 n (%)	20 U de BOTOX N=26 n (%)
Día 30, con el ceño fruncido al máximo	n=30	n=26	n=23	n=26
Sujetos que responden	18 (60,0)	18 (69,2)	20 (87,0)	19 (73,1)
Sujetos que no responden	12 (40,0)	8 (30,8)	3 (13,0)	7 (26,9)

Abreviaturas: N=número de sujetos en el conjunto de análisis; n=número de sujetos con datos.

Nota: los sujetos incluidos en el análisis debían tener una clasificación de gravedad de las líneas glabiales de nivel inicial de moderada (2) o grave (3). Un sujeto que responde se definió como el que tiene una clasificación de gravedad de nula (0) o leve (1) en la visita después del nivel inicial correspondiente. Los porcentajes se basan en el número de sujetos con una evaluación en la visita relevante.

5 Los resultados en el conjunto PP respaldaron los de FAS.

La proporción de sujetos que responden en el grupo de 20 U de MT10109 fue del 69,2% (18 de 26 sujetos) y en el grupo de 20 U de BOTOX® fue del 73,1% (19 de 26 sujetos) (tabla 8).

10 La diferencia entre la proporción de sujetos que responden en los grupos de 20 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® fue de -3,8 (IC del 95%: de -32,8 a 25,1; valor de p de 0,762), que no fue estadísticamente significativo.

15 La proporción de sujetos que responden en el conjunto PP en el grupo de 10 U de MT10109 fue menor en comparación con el grupo de 20 U de BOTOX® y la proporción de sujetos que responden en el grupo de 30 U de MT10109 fue mayor en comparación con 20 U de BOTOX®:

20 La proporción de sujetos que responden en el grupo de 10 U de MT10109 fue del 60,0% (18 de 30 sujetos) y en el grupo de 30 U de MT10109 fue del 87,0% (20 de 23 sujetos) y en el grupo de 20 U de BOTOX® fue del 73,1% (19 de 26 sujetos) (tabla 8).

25 No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la proporción de sujetos que responden en los grupos de 10 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® (-13,1 [IC del 95%: de -41,6 a 15,4]; valor de p de 0,307) o entre los grupos de 30 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® (13,9 [IC del 95%: de -12,6 a 40,3]; valor de p de 0,234).

30 Parámetro secundario de la eficacia: clasificación por parte del investigador de la gravedad de las líneas glabiales con el ceño fruncido al máximo y en reposo hasta el día 120 mediante evaluación en vivo

La evaluación en vivo por parte del investigador de la gravedad de las líneas glabiales con el ceño fruncido al máximo y en reposo en otras visitas se resume para FAS en la tabla 9 y en forma de diagrama en la figura 6. Se usó una prueba de la chi-cuadrado de Mantel-Haenszel para comparar los grupos de tratamiento.

Tabla 9: Evaluación en vivo por parte del investigador de la clasificación de la gravedad de las líneas glabiales en otras visitas, conjunto de análisis completo

Evaluación en vivo de las líneas glabiales	10 U de MT10109 N=31 n (%)	20 U de MT10109 N=28 n (%)	30 U de MT10109 N=26 n (%)	20 U de BOTOX N=29 n (%)
Día 14, con el ceño fruncido al máximo	n=31	n=28	n=25	n=28
Sujetos que responden	18 (58,1)	20 (71,4)	22 (88,0)	22 (78,6)
Sujetos que no responden	13 (41,9)	8 (28,6)	3 (12,0)	6 (21,4)
Día 14, en reposo	n=13	n=12	n=14	n=11
Sujetos que responden	4 (30,8)	3 (25,0)	8 (57,1)	7 (63,6)
Sujetos que no responden	9 (69,2)	9 (75,0)	6 (42,9)	4 (36,4)

responden				
Día 30, en reposo	n=12	n=10	n=13	n=9
Sujetos que responden	4 (33,3)	1 (10,0)	6 (46,2)	5 (55,6)
Sujetos que no responden	8 (66,7)	9 (90,0)	7 (53,8)	4 (44,4)
Día 60, con el ceño fruncido al máximo	n=30	n=23	n=25	n=25
Sujetos que responden	15 (50,0)	15 (65,2)	17 (68,0)	17 (68,0)
Sujetos que no responden	15 (50,0)	8 (34,8)	8 (32,0)	8 (32,0)
Día 60, en reposo	n=12	n=10	n=13	n=10
Sujetos que responden	4 (33,3)	1 (10,0)	7 (53,8)	4 (40,0)
Sujetos que no responden	8 (66,7)	9 (90,0)	6 (46,2)	6 (60,0)
Día 120, con el ceño fruncido al máximo	n=28	n=23	n=25	n=26
Sujetos que responden	9(32,1)	12 (52,2)	7 (28,0)	6 (23,1)
Sujetos que no responden	19 (67,9)	11 (47,8)	18 (72,0)	20 (76,9)
Día 120, en reposo	n=10	n=10	n=13	n=10
Sujetos que responden	1 (10,0)	1 (10,0)	5 (38,5)	3 (30,0)
Sujetos que no responden	9 (90,0)	9 (90,0)	8 (61,5)	7 (70,0)

Abreviaturas: N=número de sujetos en el conjunto de análisis; n=número de elegible sujetos con datos.

Nota: los sujetos incluidos en el análisis debían tener una clasificación de gravedad de las líneas glabiales de nivel inicial de moderada (2) o grave (3). Un sujeto que responde se definió como el que tiene una clasificación de gravedad de nula (0) o leve (1) en la visita después del nivel inicial correspondiente. Los porcentajes se basan en el número de sujetos elegibles con una evaluación en la visita relevante.

La proporción de sujetos que responden con el ceño fruncido al máximo disminuyó en todos los grupos de tratamiento desde el día 14 hasta el día 120 (basándose en la evaluación en vivo por parte del investigador). Las proporciones el día 120 fueron mayores en el grupo de 20 U de MT10109 en comparación con 20 U de BOTOX® y los otros grupos de MT10109 (figura 6).

La proporción de sujetos que responden con el ceño fruncido al máximo en el grupo de 20 U de MT10109 el día 60 y el día 120 fue del 65,2% (15 de 23 sujetos) y del 52,2% (12 de 23 sujetos), respectivamente, y en el grupo de 20 U de BOTOX® fue del 68,0% (17 de 25 sujetos) y del 23,1% (6 de 26 sujetos), respectivamente (tabla 9).

La diferencia entre la proporción de sujetos que responden en los grupos de 20 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® con el ceño fruncido al máximo el día 60 fue de -4,3 (IC del 95%: de -30,7 a 22,1; valor de p de 0,714) y el día 120 fue de 24,0 (de -0,7 a 48,7; valor de p de 0,058).

En los otros grupos de MT10109, las proporciones de sujetos que responden con el ceño fruncido al máximo el día 60 fueron menores en el grupo de 10 U de MT10109 (50,0%; 15 de 30 sujetos) y similares en el grupo de 30 U de MT10109 (68,0%; 17 de 25 sujetos) en comparación con el grupo de 20 U de BOTOX® (68,0%; 17 de 25 sujetos). El día 120, las proporciones fueron mayores en los grupos de 10 U de MT10109 (32,1%; 9 de 28 sujetos) y 30 U de MT10109 (28,0%; 7 de 25 sujetos) que en el grupo de 20 U de BOTOX® (23,1%; 6 de 26 sujetos) (tabla 9). No hubo

ninguna diferencia estadísticamente significativa en la proporción de sujetos que responden con el ceño fruncido al máximo entre los grupos de 10 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® o entre los grupos de 30 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® en ningún punto de tiempo. No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa en la proporción de sujetos que responden con el ceño fruncido al máximo entre los grupos de 10 U de MT10109 y 20 U de MT10109 o entre los grupos de 30 U de MT10109 y 20 U de MT10109 en ningún punto de tiempo. La proporción de sujetos que responden en el grupo de 10 U de MT10109 fue generalmente menor que en el grupo de 30 U de MT10109 y la diferencia fue estadísticamente significativa el día 14 (-30,4 [IC del 95%: de -55,6 a -5,2]; valor de p de 0,012).

En los análisis de la evaluación en vivo por parte del investigador de la gravedad de las líneas glabiales en reposo, el número de sujetos que fueron elegibles para la inclusión en el análisis (es decir, gravedad de las líneas glabiales de nivel inicial de moderada [2] o grave [3]) fue pequeño. Por consiguiente, las comparaciones entre grupos de tratamiento y cualquier valor de p resultante deben tratarse con precaución.

La proporción de sujetos que responden en reposo disminuyó en todos los grupos de tratamiento desde el día 14

hasta el día 120 (basándose en la evaluación en vivo por parte del investigador) (figura 9, parte central izquierda). Las proporciones fueron menores en el grupo de 20 U de MT10109 en comparación con el grupo de 20 U de BOTOX® en cada punto de tiempo.

- 5 La proporción de sujetos que responden en reposo en el grupo de 20 U de MT10109 el día 14 y el día 120 fue del 25,0% (3 de 12 sujetos) y del 10,0% (1 de 10 sujetos), respectivamente, y en el grupo de 20 U de BOTOX® fue del 63,6% (7 de 11 sujetos) y del 30,0% (3 de 10 sujetos), respectivamente (tabla 9).
- 10 Las proporciones de sujetos que responden en reposo el día 120 fueron menores en los grupos de 10 U de MT10109 (10,0%; 1 de 10 sujetos) y mayores en 30 U de MT10109 (38,5%; 5 de 13 sujetos) que en el grupo de 20 U de BOTOX® (30,0%; 3 de 10 sujetos) (tabla 9).

15 Parámetro secundario de la eficacia: evaluación por parte del sujeto de la mejora y satisfacción de las líneas glabiales con el efecto del tratamiento

- 15 La autoevaluación por parte del sujeto de la mejora de las líneas glabiales se resumen en la tabla 10 y en forma de diagrama en la figura 7. La autoevaluación por parte del sujeto de la satisfacción con el efecto del tratamiento se resumen en la tabla 11 y en forma de diagrama en la figura 8. Se usó una prueba de la chi-cuadrado de Mantel-Haenszel para comparar los tratamientos.

20 Tabla 10: Autoevaluación por parte del sujeto de la mejora de las líneas glabiales, conjunto de análisis completo

Mejora mediante la autoevaluación	10 U de MT10109	20 U de MT10109	30 U de MT10109	20 U de BOTOX
	N=31 n (%)	N=28 n (%)	N=26 n (%)	N=29 n (%)
Día 14	n=31	n=28	n=25	n=28
Sujetos que responden	18 (58,1)	21 (75,0)	22 (88,0)	23 (82,1)
Sujetos que no responden	13 (41,9)	7 (25,0)	3 (12,0)	5 (17,9)
Día 30	n=30	n=26	n=25	n=26
Sujetos que responden	16 (53,3)	19 (73,1)	19 (76,0)	18 (69,2)
Sujetos que no responden	14 (46,7)	7 (26,9)	6 (24,0)	8 (30,8)
Día 60	n=30	n=23	n=25	n=25
Sujetos que responden	13 (43,3)	15 (65,2)	17 (68,0)	13 (52,0)
Sujetos que no responden	17 (56,7)	8 (34,8)	8 (32,0)	12 (48,0)
Día 90	n=30	n=25	n=25	n=26
Sujetos que responden	6 (20,0)	14 (56,0)	10 (40,0)	9 (34,6)
Sujetos que no responden	24 (80,0)	11 (44,0)	15 (60,0)	17 (65,4)
Día 120	n=28	n=23	n=25	n=26
Sujetos que responden	8 (28,6)	10 (43,5)	7 (28,0)	8 (30,8)
Sujetos que no responden	20 (71,4)	13 (56,5)	18 (72,0)	18 (69,2)

Abreviaturas: N=número de sujetos en el conjunto de análisis; n=número de sujetos con datos.

Nota: los sujetos incluidos en el análisis debían tener una clasificación de gravedad de las líneas glabiales de nivel inicial de moderada (2) o grave (3). Un sujeto que responde se definió como el que tiene una puntuación de al menos +2 (mejora moderada, aproximadamente el 50%) en la escala de 9 puntos. Los porcentajes se basan en el número de sujetos con una evaluación en la visita relevante.

- En la autoevaluación por parte del sujeto de la mejora de las líneas glabiales, las proporciones de sujetos que responden (una puntuación de al menos +2 [mejora moderada, aproximadamente el 50%] en la escala de 9 puntos) el día 30 fueron similares a lo largo de los grupos de 20 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® (FAS), que reflejó las clasificaciones mediante la evaluación en vivo. Las proporciones también fueron similares a lo largo de los grupos de 30 U de MT10109 y 20 U de BOTOX®. El día 60, las proporciones fueron mayores en los grupos de 20 U de MT10109 y 30 U de MT10109 que en el grupo de 20 U de BOTOX® y, el día 120, las proporciones permanecieron mayores en el grupo de 20 U de MT10109 en comparación con los otros grupos de tratamiento (figura 7).

- 30 La proporción de sujetos que responden en el grupo de 20 U de MT10109 el día 30, día 60 y día 120 fue del 73,1% (19 de 26 sujetos), del 65,2% (15 de 23 sujetos) y del 43,5% (10 de 23 sujetos), respectivamente, y en el grupo de

20 U de BOTOX® fue del 69,2% (18 de 26 sujetos), del 52,0% (13 de 25 sujetos) y del 30,8% (8 de 26 sujetos), respectivamente (tabla 10). No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la proporción de sujetos que responden en los grupos de 20 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® en ningún punto de tiempo.

- 5 En los otros grupos de MT10109, el día 30 y día 60, las proporciones de sujetos que responden fueron menores en el grupo de 10 U de MT10109 y mayores en el grupo de 30 U de MT10109 en comparación con el grupo de 20 U de BOTOX® (tabla 10). El día 120, las proporciones fueron similares a lo largo de los tres grupos de tratamiento (10 U de MT10109, 28,6% [8 de 28 sujetos]; 30 U de MT10109, 28,0% [7 de 25 sujetos]; 20 U de BOTOX®, 30,8% [8 de 26 sujetos]). La diferencia en la proporción de sujetos que responden entre 10 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® el día 14 fue estadísticamente significativa (-23,6 [IC del 95%: de -46,5 a -0,6]; valor de p de 0,049). No se observó hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la proporción de sujetos que responden en los grupos de 30 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® en ningún punto de tiempo. No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa en la proporción de sujetos que responden en la evaluación por parte del sujeto de la mejora de las líneas glabiales entre los grupos de 30 U de MT10109 y 20 U de MT10109. La proporción de sujetos que responden en el grupo de 10 U de MT10109 fue menor que en los otros dos grupos en cada punto de tiempo. La diferencia fue estadísticamente significativa entre los grupos de 10 U de MT10109 y 30 U de MT10109 el día 14 (-30,4 [IC del 95%: de -52,0 a -8,7]; valor de p de 0,011) y entre los grupos de 10 U de MT10109 y 20 U de MT10109 el día 90 (-34,7 [IC del 95%: de -58,8 a -10,7]; valor de p de 0,007).
- 10
- 15
- 20 Tabla 11: Autoevaluación por parte del sujeto de la satisfacción con el efecto del Tratamiento, conjunto de análisis completo

Satisfacción mediante autoevaluación	la	10 U de MT10109	20 U de MT10109	30 U de MT10109	20 U de BOTOX
		N=31 n (%)	N=28 n (%)	N=26 n (%)	N=29 n (%)
Día 14		n=31	n=28	n=25	n=28
Sujetos que responden	que	16 (51,6)	20 (71,4)	19 (76,0)	17 (60,7)
Sujetos que no responden	que	15 (48,4)	8 (28,6)	6 (24,0)	11 (39,3)
Día 30		n=30	n=26	n=25	n=26
Sujetos que responden	que	13 (43,3)	17 (65,4)	18 (72,0)	16 (61,5)
Sujetos que no responden	que	17 (56,7)	9 (34,6)	7 (28,0)	10 (38,5)
Día 60		n=30	n=23	n=25	n=25
Sujetos que responden	que	14 (46,7)	14 (60,9)	13 (52,0)	11 (44,0)
Sujetos que no responden	que	16 (53,3)	9 (39,1)	12 (48,0)	14 (56,0)
Día 90		n=30	n=25	n=25	n=26
Sujetos que responden	que	10 (33,3)	14 (56,0)	15 (60,0)	9 (34,6)
Sujetos que no responden	que	20 (66,7)	11 (44,0)	10 (40,0)	17 (65,4)
Día 120		n=28	n=23	n=25	n=26
Sujetos que responden	que	11 (39,3)	13 (56,5)	11 (44,0)	12 (46,2)
Sujetos que no responden	que	17 (60,7)	10 (43,5)	14 (56,0)	14 (53,8)

Abreviaturas: N=número de sujetos en el conjunto de análisis; n=número de sujetos con datos.

Nota: los sujetos incluidos en el análisis debían tener una clasificación de gravedad de las líneas glabiales de nivel inicial de moderada (2) o grave (3). Un sujeto que responde se definió como el que tiene una puntuación de al menos 6 (satisfecho) en la escala de 7 puntos. Los porcentajes se basan en el número de sujetos con una evaluación en la visita relevante.

- 25 En la autoevaluación por parte del sujeto de la satisfacción con el efecto del tratamiento, un sujeto que responde se definió como el que tiene una puntuación de al menos 6 (satisfecho) en la escala de 7 puntos.

- Tal como se observa en la autoevaluación de la mejora, la proporción de sujetos que responden en la evaluación de la satisfacción el día 30 fue similar en ambos grupos de 20 U de MT10109 y 20 U de BOTOX®, que reflejó las clasificaciones mediante la evaluación en vivo. El día 120, la tasa de sujetos que responden fue mayor en el grupo de 20 U de MT10109 que en cualquier otro grupo de tratamiento (figura 8). La satisfacción parecía uniforme en el grupo de 20 U de MT10109, sin embargo fue difícil de discernir un patrón en el grupo de 20 U de BOTOX® y los otros grupos

de MT10109.

La proporción de sujetos que responden en el grupo de 20 U de MT10109 el día 30, día 60 y día 120 fue del 65,4% (17 de 26 sujetos), del 60,9% (14 de 23 sujetos) y del 56,5% (13 de 23 sujetos), respectivamente, y en el grupo de 20 U de BOTOX® fue del 61,5% (16 de 26 sujetos), del 44,0% (11 de 25 sujetos) y del 46,2% (12 de 26 sujetos), respectivamente (tabla 11). No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa en la proporción de sujetos que responden entre los grupos de 20 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® en ningún punto de tiempo.

En los otros grupos de MT10109, el día 30, las proporciones de sujetos que responden fueron menores en el grupo de 10 U de MT10109 y mayores en el grupo de 30 U de MT10109 en comparación con el grupo de 20 U de BOTOX® (tabla 11). El día 60, las proporciones fueron mayores en ambos grupos de MT10109 en comparación con 20 U de BOTOX®. El día 120, las proporciones fueron menores en los grupos de tratamiento de 10 U de MT10109 (39,3% [11 de 28 sujetos]) y 30 U de MT10109 (44,0% [11 de 25 sujetos]) en comparación con el grupo de 20 U de BOTOX® (46,2% [12 de 26 sujetos]). No se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa en la proporción de sujetos que responden entre los grupos de 10 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® o los grupos de 30 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® en ningún punto de tiempo.

No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa en la proporción de sujetos que responden en la evaluación por parte del sujeto de la satisfacción con el efecto del tratamiento entre los grupos de 10 U de MT10109 y 20 U de MT10109 o entre los grupos de 30 U de MT10109 y 20 U de MT10109. La proporción de sujetos que responden en el grupo de 10 U de MT10109 fue menor que en el grupo de 30 U de MT10109 en cada punto de tiempo y la diferencia fue estadísticamente significativa el día 30 (-27,3 [IC del 95%: de -52,8 a -1,9]; valor de p de 0,040).

Resultados de la eficacia (FAS) - eficacia sostenida mejorada de MT10109

MT10109 en una única dosis de 20 U demostró un efecto similar al de 20 U de BOTOX® en la reducción de las líneas glabulares de los sujetos.

Después de la evaluación en vivo por parte del investigador de la gravedad de las líneas glabulares con el ceño fruncido al máximo el día 30, la proporción de sujetos que responden en el grupo de 20 U de MT10109 fue del 69,2% y en el grupo de 20 U de BOTOX® fue del 73,1%. La diferencia entre la proporción de sujetos que responden en los dos grupos de tratamiento fue de -3,2 (IC del 95%: de -28,3 a 21,8) que no fue estadísticamente significativa (valor de p de 0,760).

En la autoevaluación por parte del sujeto de la mejora de las líneas glabulares y la satisfacción con el efecto del tratamiento, las proporciones de sujetos que responden fueron generalmente mayores en los grupos de 20 U de MT10109 y 30 U de MT10109 en comparación con 20 U de BOTOX®. El día 30, las tasas de sujetos que responden en los grupos de 20 U de MT10109 y 20 U de BOTOX® fueron similares, lo que refleja las clasificaciones de la evaluación en vivo (grupo de 20 U de MT10109, el 73,1% para la mejora y el 65,4% para la satisfacción con el efecto del tratamiento; grupo de 20 U de BOTOX®, el 69,2% y el 61,5%, respectivamente).

La respuesta con el ceño fruncido al máximo se mantuvo en el grupo de 20 U de MT10109 hasta el día 120. La proporción de sujetos que responden el día 120, según la evaluación en vivo por parte del investigador, fue del 52,2% en el grupo de 20 U de MT10109 en comparación con el 23,1% en el grupo de 20 U de BOTOX®. En la mayoría de los puntos de tiempo, las proporciones de sujetos que responden con el ceño fruncido al máximo fueron mayores en el grupo de 30 U de MT10109 y menores en el grupo de 10 U de MT10109 en comparación con el grupo de 20 U de BOTOX®.

Los revisores independientes consideraron a menos sujetos como sujetos que responden basándose en la evaluación fotográfica; sin embargo, las proporciones de sujetos que responden (usando la puntuación media) con el ceño fruncido al máximo el día 30 y día 60 fueron similares en los grupos de tratamiento de 20 U de MT10109 (48,1% y 40,7%, respectivamente) y 20 U de BOTOX® (51,7% y 41,4%, que reflejó la evaluación en vivo por parte del investigador).

Tanto en la evaluación en vivo por parte del investigador como en la evaluación fotográfica por parte de los revisores independientes de la gravedad de las líneas glabulares en reposo, las proporciones de sujetos que responden fueron pequeñas a lo largo de todos los grupos de tratamiento. En la mayoría de los puntos de tiempo, las tasas de sujetos que responden fueron menores en el grupo de 20 U de MT10109 en comparación con el grupo de 20 U de BOTOX®.

Usando una regresión logística el día 30 y con el ceño fruncido al máximo, la curva de dosis frente a respuesta no mostró ninguna relación entre la dosis y la respuesta.

Los datos de los experimentos se ilustran adicionalmente en la figura 9 y la figura 10. La figura 9 presenta una serie de gráficos que representan la evaluación por parte del investigador con el ceño fruncido al máximo y en reposo, la evaluación por parte de lectores independientes con el ceño fruncido al máximo y en reposo y la evaluación y satisfacción por parte de los sujetos. La figura 10 ilustra los datos generados en conjunto y divididos en los dos sitios

de tratamiento diferentes.

- En resumen, los datos presentados en el presente documento demuestran que MT10109 liofilizada dosificada a 20 U demuestra similitud a BOTOX® en puntos de tiempo tempranos (por ejemplo, el día 30). Además, se demuestra que 5 MT10109 dosificada a 20 U muestra un efecto sostenido aumentado en comparación con BOTOX®, ya que se observó que la respuesta del tratamiento aumentaba en el grupo de 20 U de MT10109 en comparación con el grupo de 20 U de BOTOX® a los 120 días posteriores al tratamiento.

REIVINDICACIONES

1. Método cosmético para aliviar un estado en un paciente que lo necesita, comprendiendo el método la etapa de administrar localmente una cantidad eficaz de una composición de toxina botulínica libre de proteínas animales, en el que la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales es una composición liofilizada que comprende toxina botulínica, polisorbato y metionina, y uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en un azúcar, un alcohol de azúcar y un compuesto iónico, en el que el estado se selecciona del grupo que consiste en líneas glabulares, líneas de expresión, pliegues frontales, líneas cantales laterales y cualquier combinación de los mismos, y mediante lo cual se alivia eficazmente de ese modo un síntoma del estado durante un periodo de tiempo más largo que el de una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales.
2. Método cosmético según la reivindicación 1, en el que la toxina botulínica se selecciona de un grupo que consiste en los serotipos A, B, C, D, E, F y G de la toxina botulínica.
3. Método cosmético según las reivindicaciones 1 ó 2, en el que la composición de toxina botulínica libre de proteínas animales persiste en el paciente durante un periodo más largo que el de una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales.
4. Método cosmético según las reivindicaciones 1-3, en el que el alivio eficaz de un síntoma del estado es la mejora temporal del aspecto de líneas glabulares de moderadas a graves asociadas con la actividad del músculo corrugador y/o prócer.
5. Método cosmético según la reivindicación 4, en el que la composición libre de proteínas animales proporciona alivio eficaz durante un periodo de tiempo de al menos 16 semanas.
6. Método cosmético según las reivindicaciones 1-5, en el que el alivio eficaz de un síntoma del estado es la mejora temporal del aspecto de líneas cantales laterales de moderadas a graves asociadas con la actividad del músculo orbicular de los párpados.
7. Método cosmético según la reivindicación 6, en el que la composición libre de proteínas animales proporciona alivio eficaz durante un periodo de tiempo de al menos 16 semanas.
8. Método cosmético según la reivindicación 1, en el que la composición se aplica en un intervalo de tiempo entre una primera aplicación y una segunda aplicación eficaz para mantener el alivio de al menos un síntoma del estado, que es mayor que el intervalo de tiempo para una composición de toxina botulínica que contiene proteínas animales dosificada en la misma cantidad y aplicada de la misma manera y a la(s) misma(s) ubicación/ubicaciones que el de la composición libre de proteínas animales.
9. Método cosmético según la reivindicación 8, en el que la toxina botulínica se selecciona de un grupo que consiste en los serotipos A, B, C, D, E, F y G de la toxina botulínica.
10. Método cosmético según las reivindicaciones 8 ó 9, en el que el intervalo de tiempo entre una primera aplicación y una segunda aplicación es mayor de 3 meses.

45

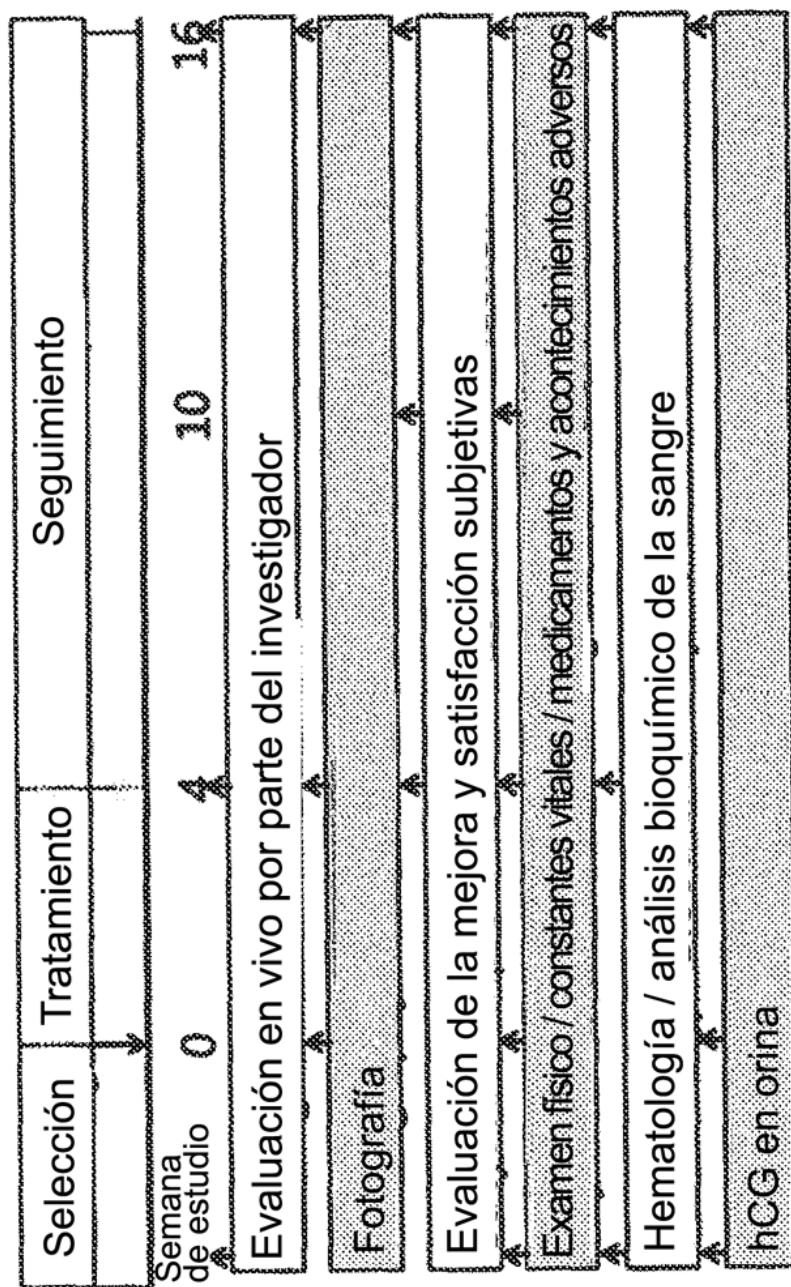


Figura 1

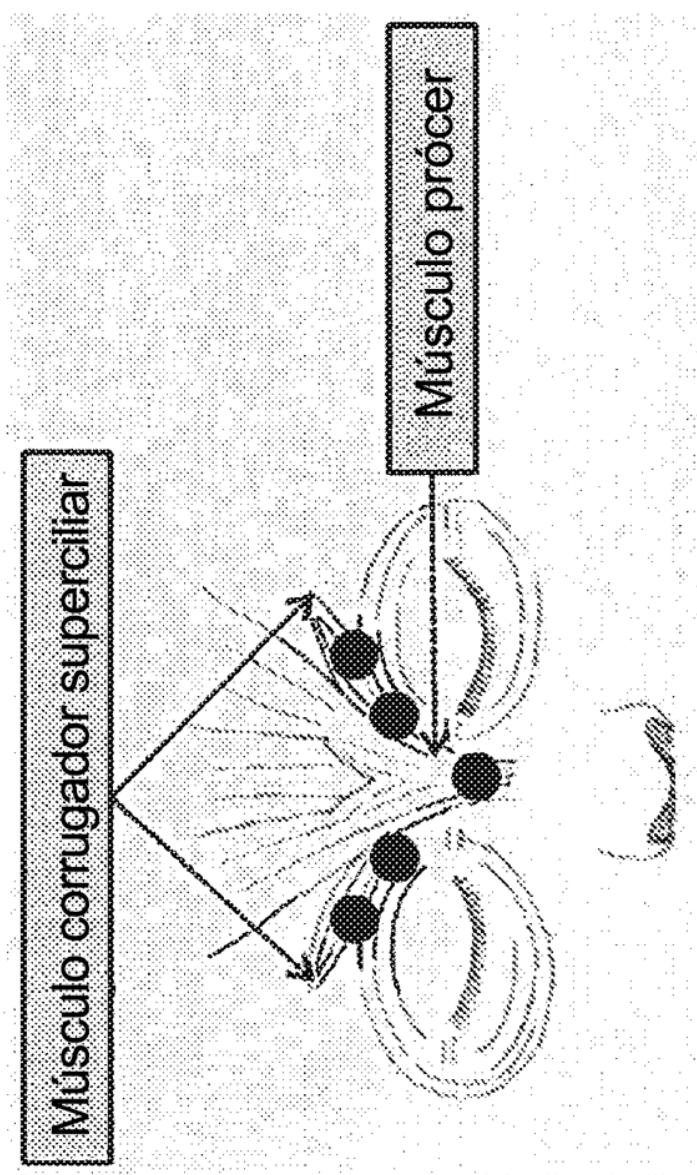


Figura 2

Figura 3A

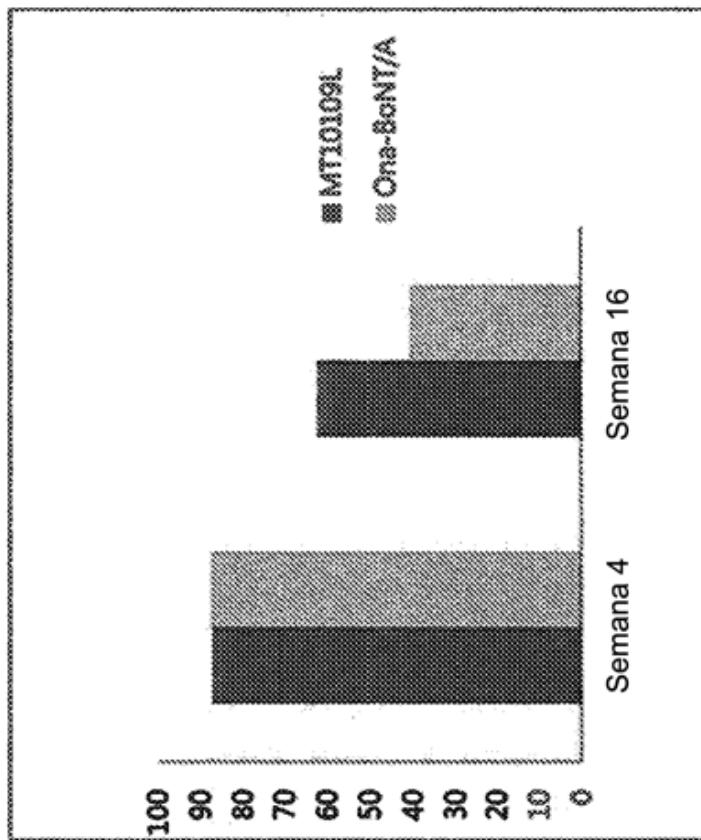


Figura 3B

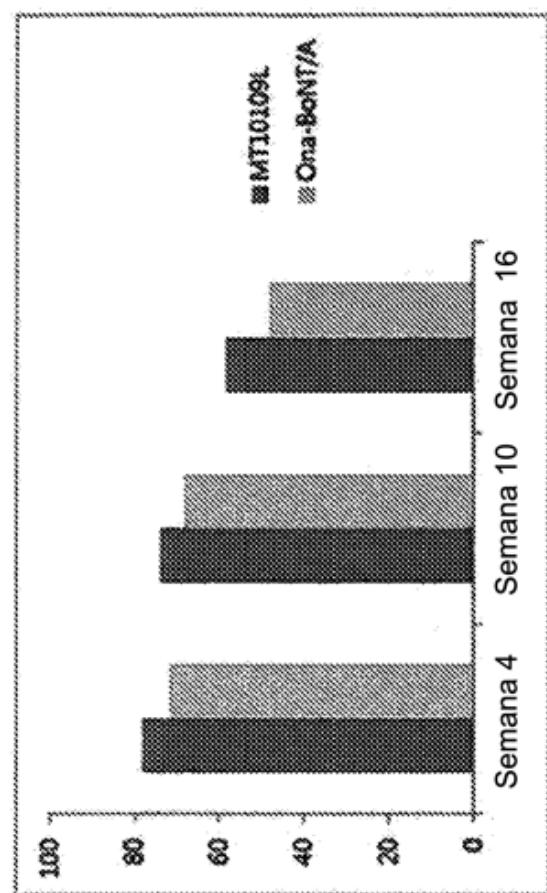


Figura 4A

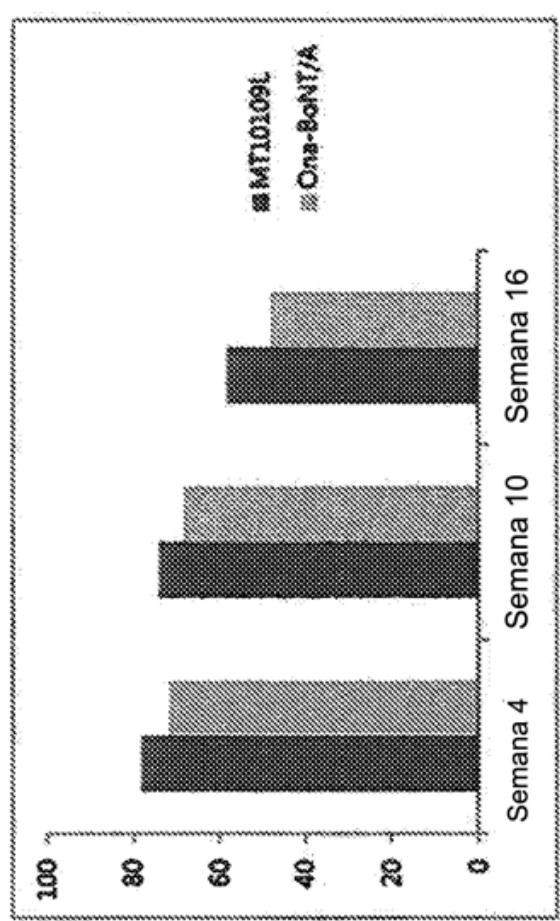
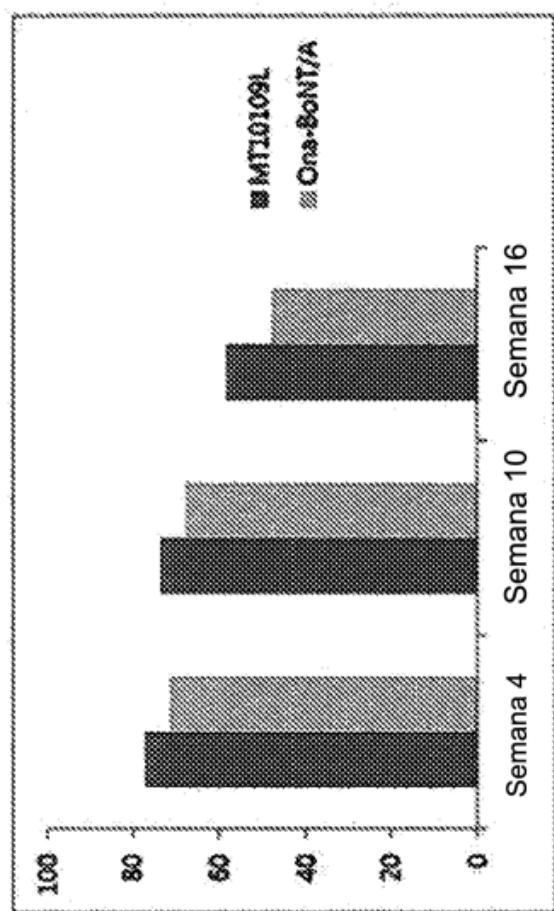
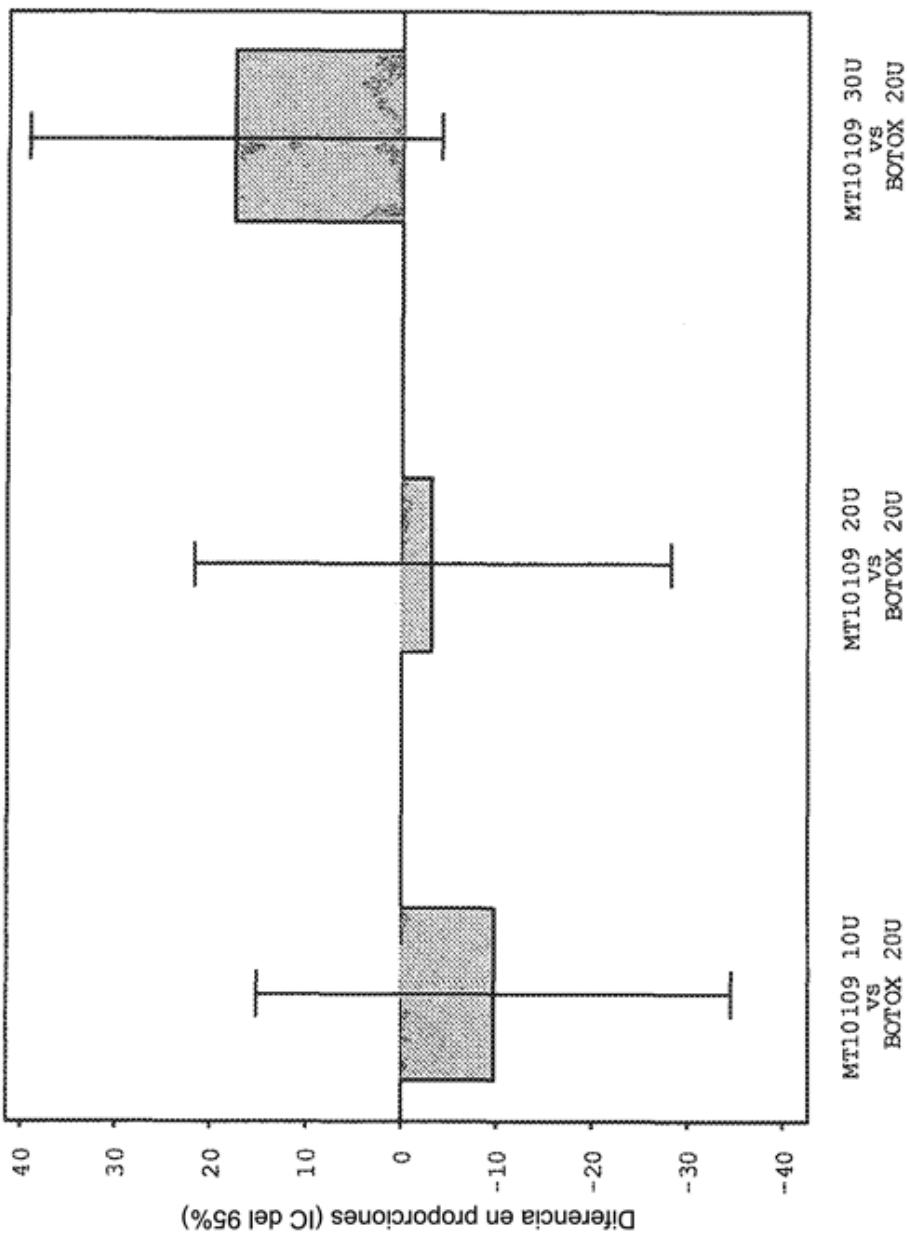


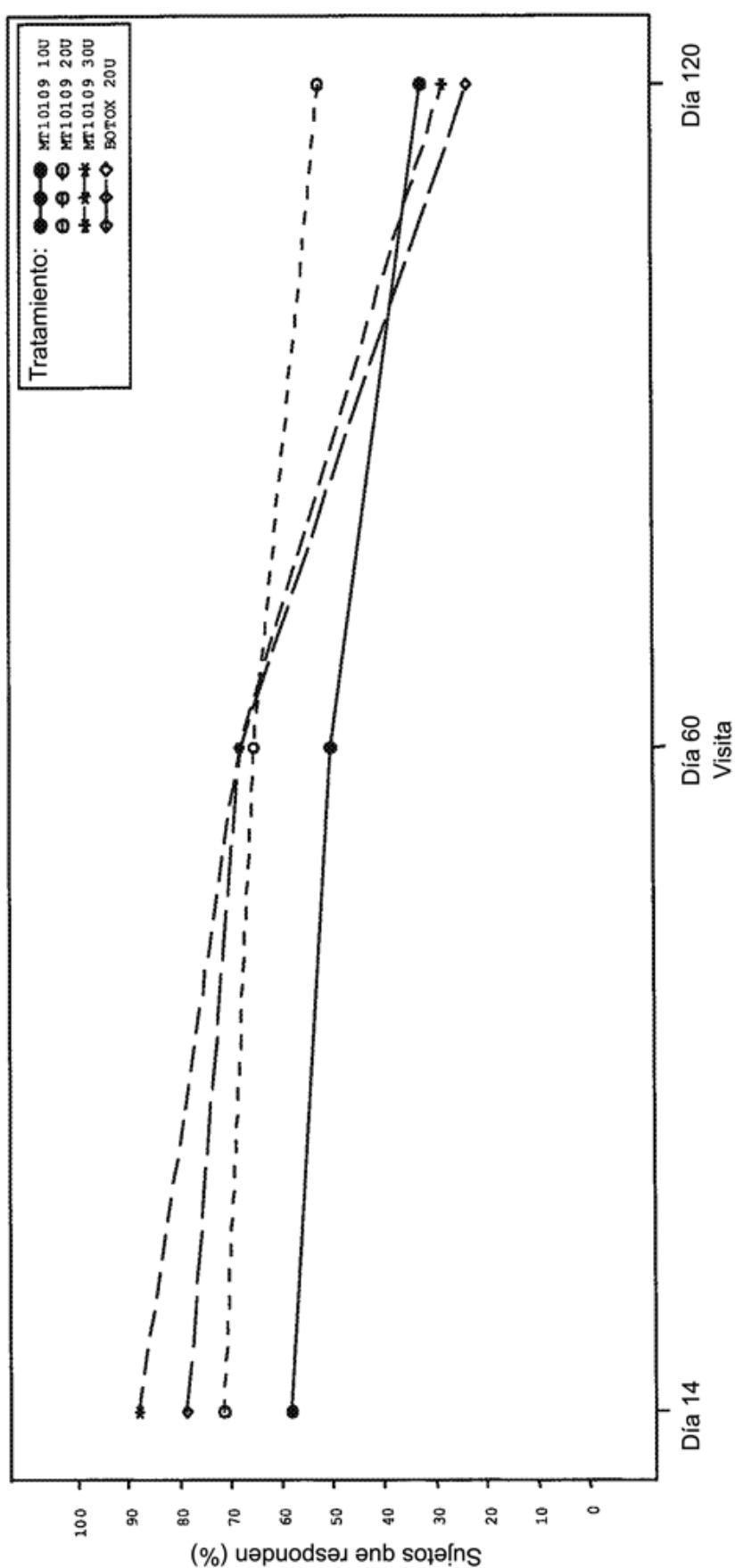
Figura 4B





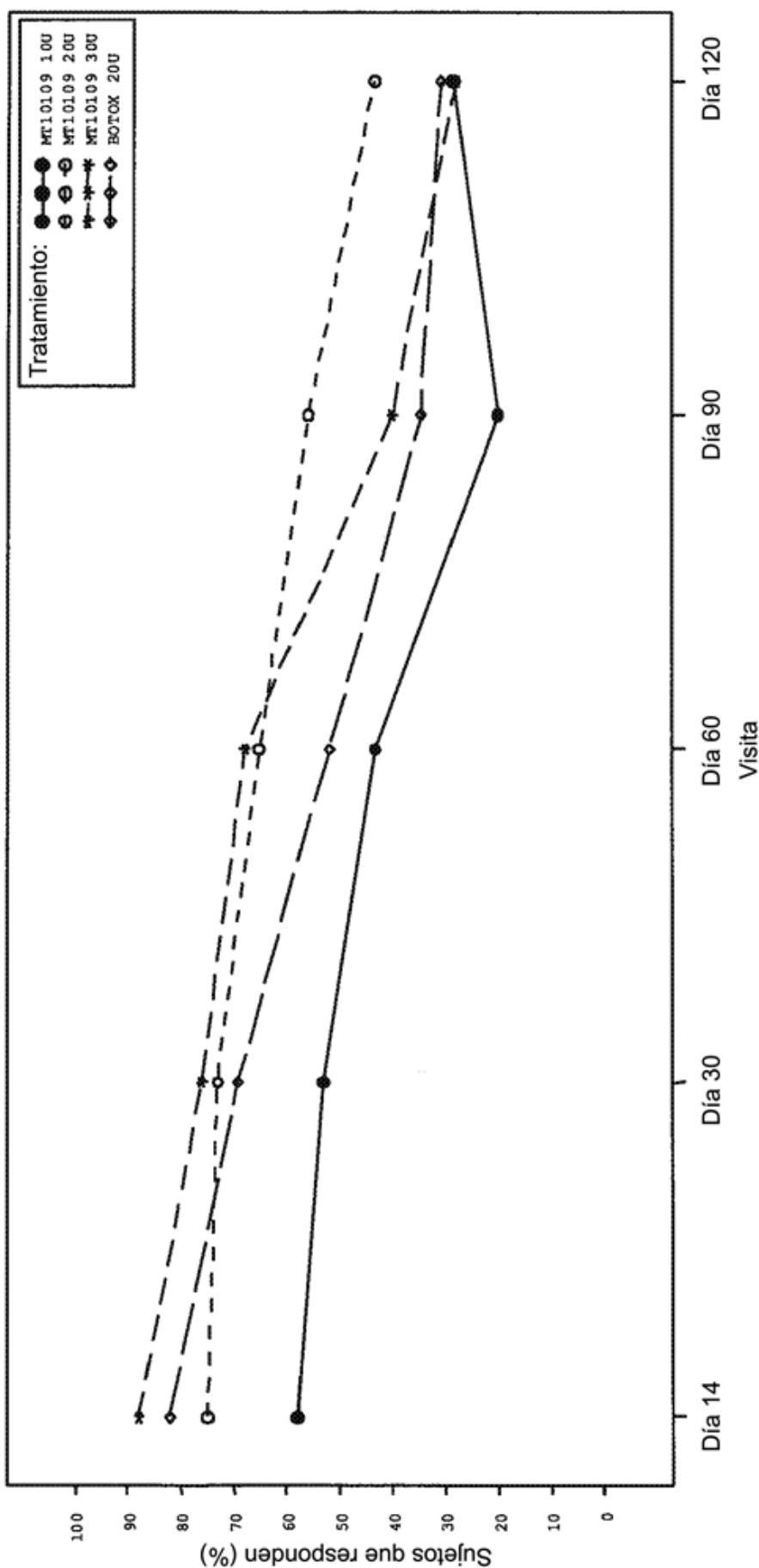
Abreviaturas: IC=intervalo de confianza; vs=versus (frente a).
 Nota: un sujeto que responde se define como el que tiene una clasificación de gravedad de las líneas glabiales de nula (0) o leve (1) en la visita después del nivel inicial correspondiente. El análisis fue sobre datos introducidos usando una metodología de imputación múltiple. Se usó una prueba de chi-cuadrado de Mantel-Haenszel para comparar los tratamientos de 2 en 2 y estimar las diferencias entre los dos tratamientos.

Figura 5



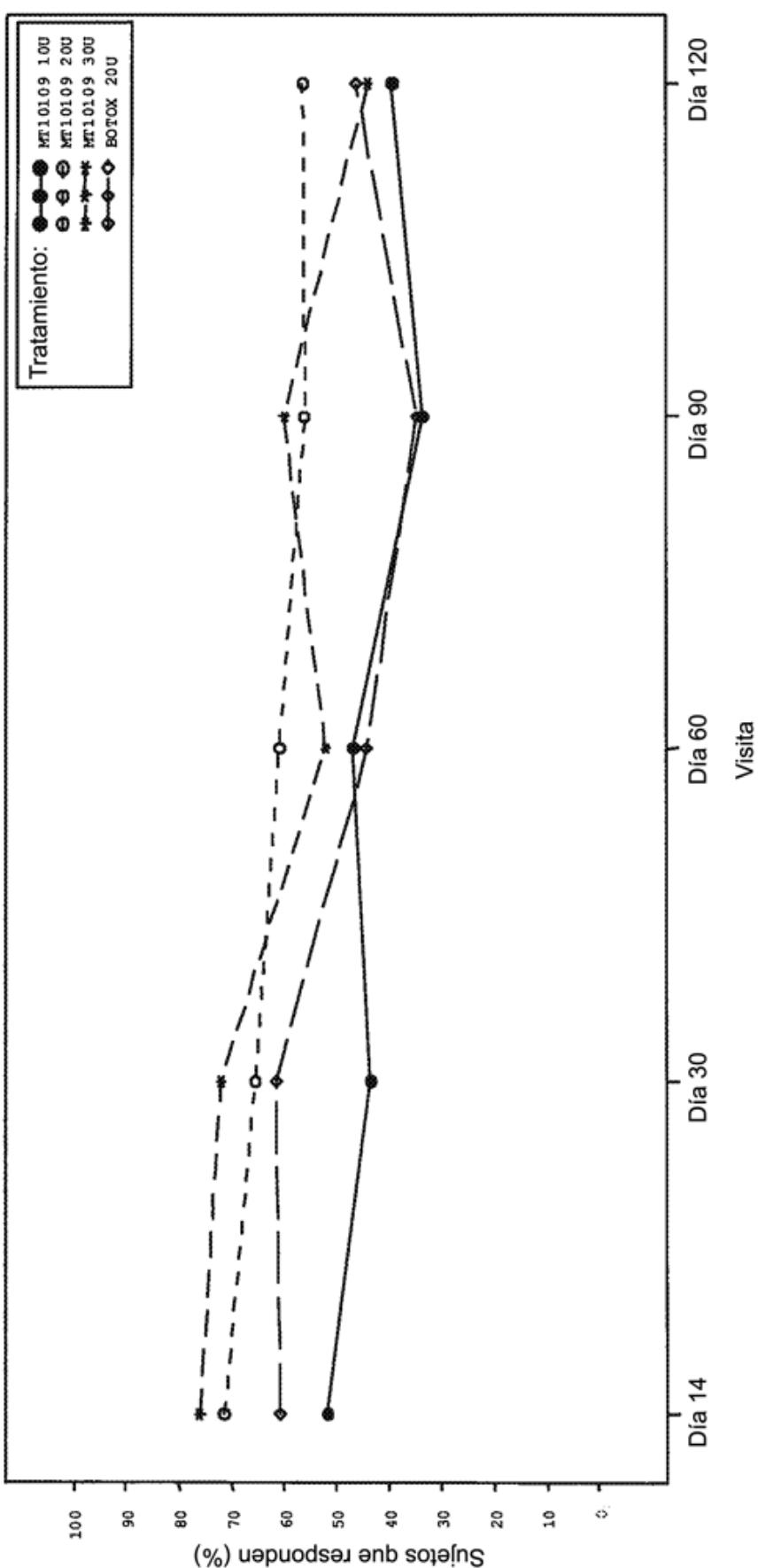
Nota: los sujetos incluidos en el análisis debían tener una clasificación de gravedad de las líneas glabiales de nivel inicial de moderada (2) o grave (3). Un sujeto que responde se definió como el que tiene una clasificación de gravedad de nula (0) o leve (1) en la visita después del nivel inicial correspondiente.

Figura 6



Nota: los sujetos incluidos en el análisis debían tener una clasificación de gravedad de las líneas glabiales de nivel inicial de moderada (2) o grave (3). Un sujeto que responde se define como el que tiene una puntuación de al menos +2 (mejora moderada, es decir, aproximadamente el 50%) en la escala de 9 puntos.

Figura 7



Nota: los sujetos incluidos en el análisis debían tener una clasificación de gravedad de las líneas glabiales de nivel inicial de moderada (2) o grave (3). Un sujeto que responde se define como el que tiene una puntuación de al menos 6 (satisfactorio) en la escala de 7 puntos.

Figura 8

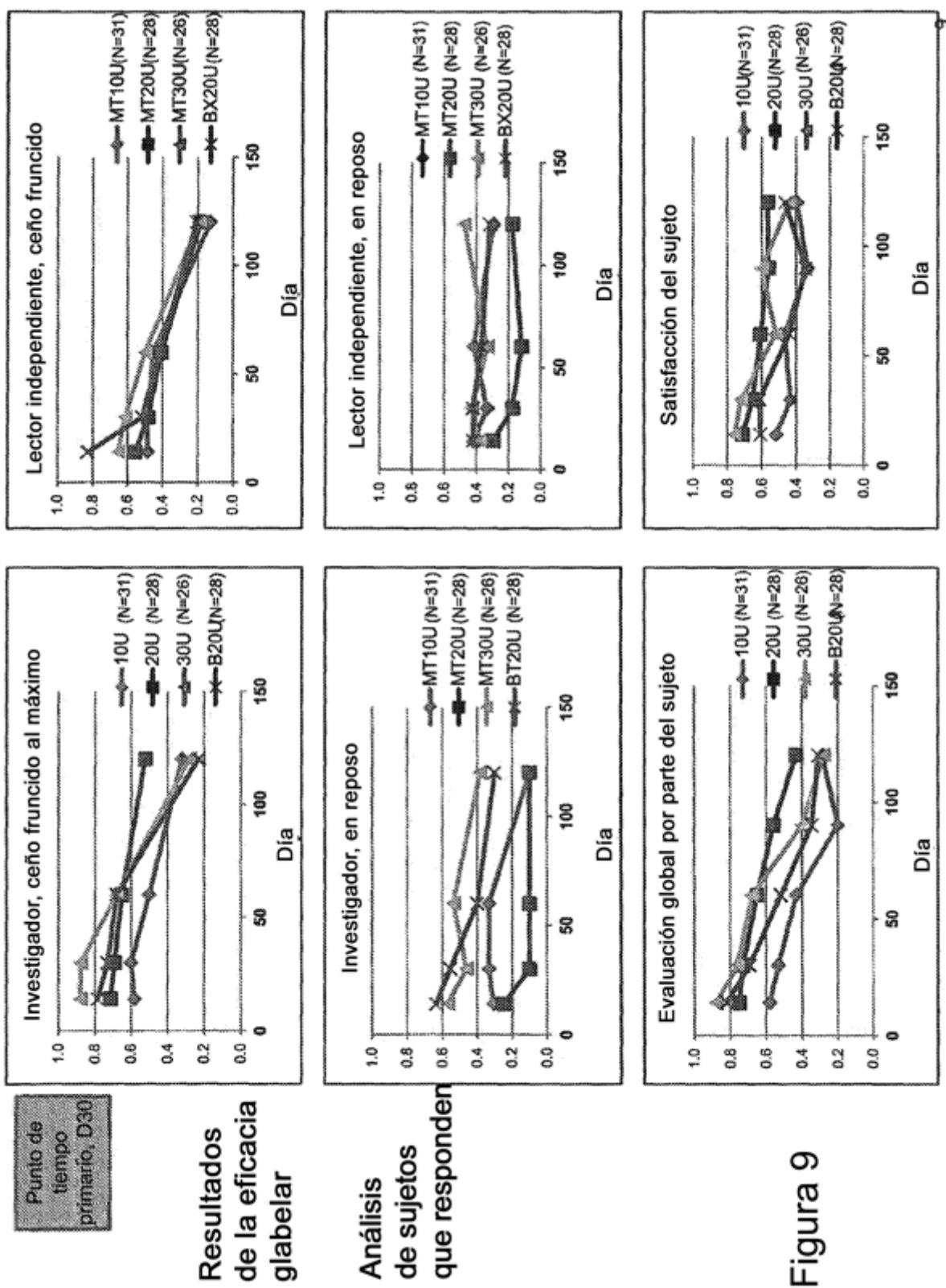
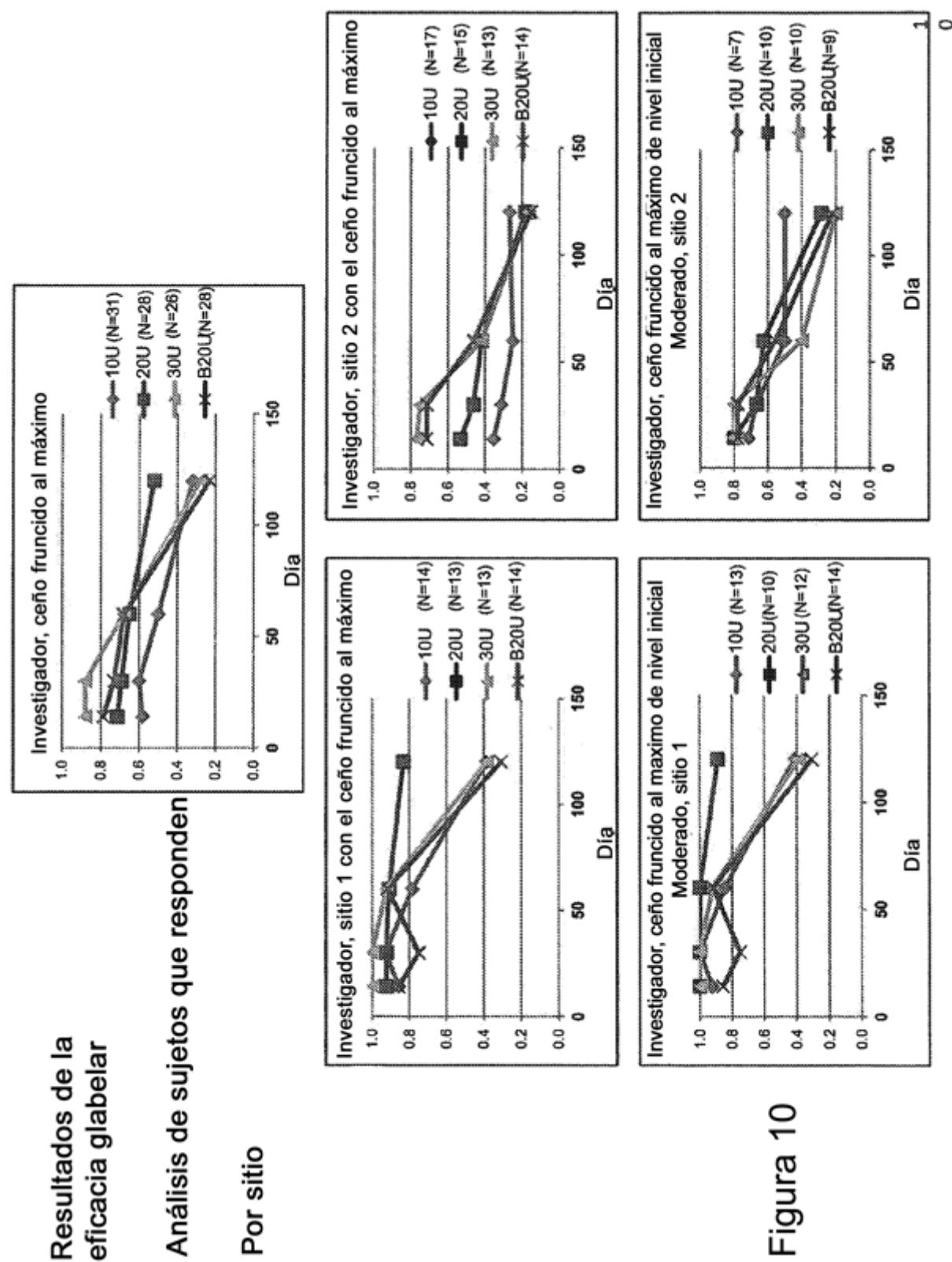


Figura 9

**Figura 10**